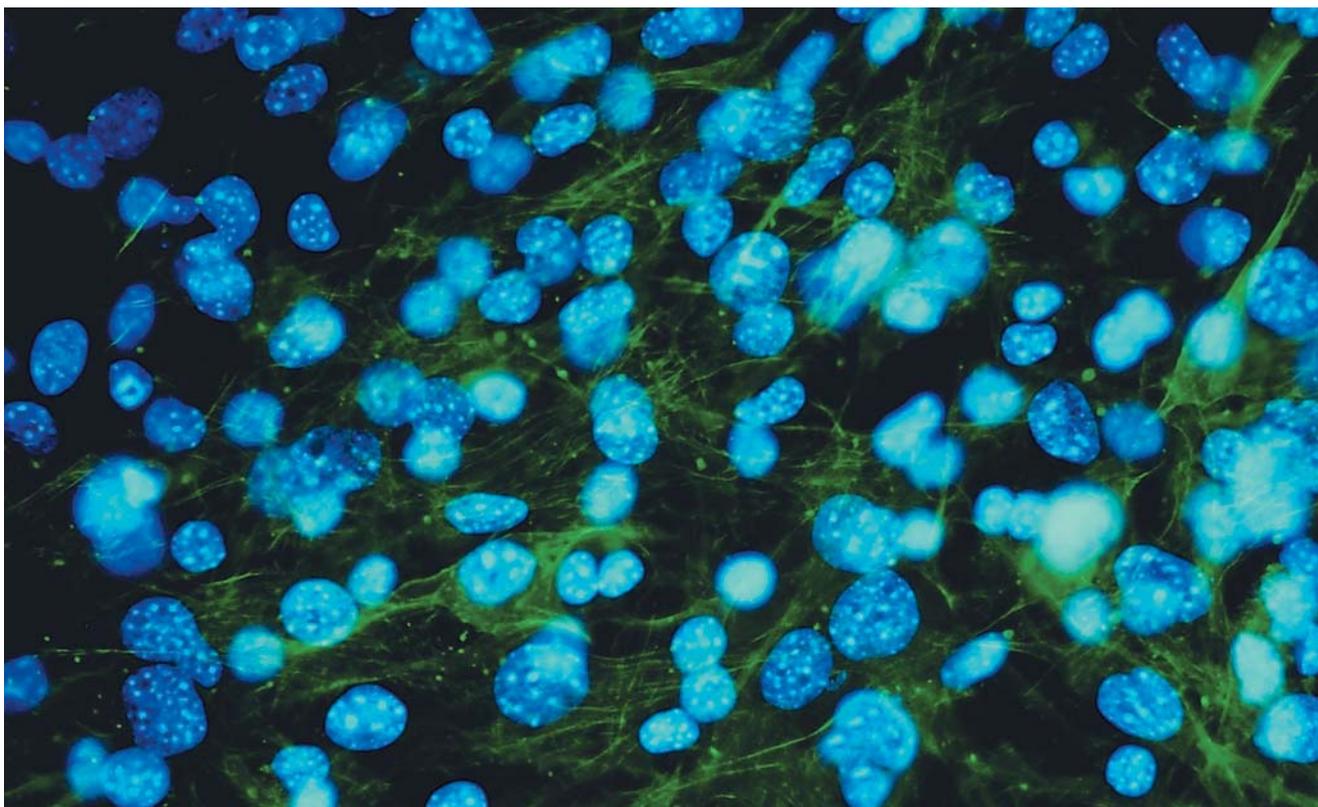


Клеточные технологии в косметологии: перспективы применения

АЛЛА ЗОРИНА, к.м.н.,
Институт стволовых клеток человека,
Москва

Для эстетической медицины клеточные технологии, безусловно, крайне перспективное направление. Применение некоторых из них — уже сегодняшние реалии, несмотря на то, что решение многих вопросов остается делом будущего, ближайшего и не очень.



Клеточные технологии представляют собой одно из направлений *регенеративной медицины*. Ее основной целью является репарация и замещение клеток в тканях и органах для восстановления утраченных (вследствие врожден-

ного дефекта, болезни, травмы, старения) структуры и функций. В основе клеточных технологий лежит применение жизнеспособных клеток — аутоло-

гичных (собственных клеток человека) или аллогенных (полученных из тканей другого человека), стволовых и/или зрелых (дифференцированных)¹.

¹Подробнее об этом — Ki №1/13.

В настоящее время в косметологии (как в России, так и за рубежом) внедрение клеточных технологий идет по двум доминирующим направлениям: применение аутологичных дермальных фибробластов (аутоДФ) и аутологичной плазмы крови человека, обогащенной тромбоцитами.

Аутологичные дермальные фибробласты

Эта технология связана с морфофункциональным восстановлением тканей кожи путем привнесения в нее аутологичных дермальных фибробластов (аутоДФ). Именно они представляют собой основной эффектор и точку приложения терапевтического воздействия при коррекции структурных дефектов кожи.

Показано также, что дермальные фибробласты характеризуются способностью легко культивироваться, активно синтезировать коллаген, эластин и другие компоненты межклеточного матрикса, и после трансплантации этих клеток в дерму их синтетическая активность сохраняется.

Результаты многочисленных клинических исследований, включая рандомизированные, слепые, плацебо-контролируемые, продемонстрировали безопасность и клиническую эффективность применения аутоДФ для коррекции возрастных и других структурных дефектов кожи. Достижимый при этом клинический эффект выражается в увеличении упругости, эластичности и толщины кожи, уменьшении количества и глу-

стволовых клеток человека, Россия) и LaViv-терапия (Fibrocell Science, США). SPRS-терапия разрешена Минздравом России (ФС№200 9/308 от 21 июля 2010 г.) к применению при возрастных и рубцовых изменениях кожи, без ограничений областей ее коррекции. LaViv-терапия на сегодняшний день разрешена FDA (с июня 2011 г.) только для коррекции морщин в области носогубных складок. Однако компания Fibrocell Science про-



Результаты многочисленных клинических исследований, включая рандомизированные, слепые, плацебо-контролируемые, продемонстрировали безопасность и клиническую эффективность применения аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных и других структурных дефектов кожи.

бины морщин; он имеет нарастающий на протяжении 6–12 месяцев и долговременный — как минимум 2 года — характер. На базе этой технологии разработаны SPRS-терапия (Институт

должает клинические исследования с целью расширения показаний для применения аутоДФ в косметологии.

Поскольку воздействие аутоДФ на возрастные изменения кожи

SPRS-терапия

SPRS-препарат представляет собой суспензию культивированных аутологичных дермальных фибробластов пациента в концентрации 15×10^6 клеток в 1 мл физиологического раствора. Клеточный материал получают из биоптата кожи (диаметром 4 мм) в специализированной лаборатории Института стволовых клеток человека, соответствующей международным стандартам GMP. Курс SPRS-терапии кожи состоит из 2 процедур с интервалом в 1 месяц. Непосредственно перед

проведением процедуры клеточную суспензию (SPRS-препарат) доставляют из лаборатории в косметологическую клинику. АутоДФ вводят по специальной методике интрадермально (в случае рубцовых дефектов непосредственно в/под рубец, а также в прилежащую к нему неповрежденную область кожи), туннельным способом, с помощью игл для мезотерапии (30G, 13 мм) (рис. 1). Это позволяет равномерно с адекватной плотностью на всем участке кожи, требующей коррекции, по-



Рис. 1. Внутрикожное введение SPRS-препарата.

полнить пул резидентных фибробластов функционально активными клетками. При этом

отмечается стимуляция активности и самих резидентных фибробластов.



Рис. 2. Пациентка Р., 45 лет, с атрофическими рубцами постакне: а — до, б — через 1 год после внутрикожного введения SPRS-препарата, двукратно, с интервалом в 1 месяц.

достаточно широко освещено в литературе, остановимся подробнее на таком новом направлении их применения, как коррекция рубцовых дефектов кожи, в частности атрофических рубцов постакне.

В рубцах постакне процессы коллагенолиза преобладают над процессами коллагеногенеза. Гистологически такие дефекты кожи характеризуются истонченным эпидермисом, тонким слоем фиброзной ткани, формирующейся под базальной мембраной и в более глубоких слоях рубца. Эта ткань состоит в основном из плотных пучков горизонтально расположенных коллагеновых волокон и незначительного количества фибробластов.

Главная задача, которая решается применением аутоДФ, — восполнение в области структурного дефекта кожи численности фибробластов (главных «поставщиков» коллагена), уменьшившейся в процессе рубцевания. Трансплантированные аутоДФ полноценно интегрируются в клеточный пул дермы, активно включают в биосинтетические процессы, тем самым способствуя ремоделированию рубцового дефекта кожи.

Так, американские ученые еще в 1999 г., проведя пилотные клинические исследования, выявили 60–100% улучшение

состояния кожи у пациентов с атрофическими рубцами постакне, а гистологический анализ срезов кожи показал увеличение объема дермы. В 2012 году была успешно завершена II фаза исследований, проводимых Fibrocell Science, по использованию аутоДФ для коррекции рубцов этого типа. Ее результаты также продемонстрировали способность этих клеток эффективно корректировать рубцовые деформации кожи. Было показано значимое (более чем в 2 раза) улучшение микрорельефа кожи после применения аутоДФ по сравнению с плацебо-контролем, при этом не выявлено ни одного

случая осложнений или нежелательных побочных эффектов. В настоящее время Fibrocell Science продолжает рандомизированные, плацебо-контролируемые клинические исследования, в которых принимают участие 99 пациентов с атрофическими рубцами постакне средней и тяжелой степени выраженности.

В ИСКЧ были проведены двухгодичные клинические исследования по применению SPRS-терапии в эстетической медицине, в которых принимали участие 17 пациентов в возрасте 45–65 лет с признаками возрастных и др. структурных изменений кожи лица. Было выявлено существенное улучшение микрорельефа кожи с рубцовыми изменениями после применения аутоДФ (рис. 2). Гистологический анализ биоптатов кожи показал, что трансплантированные аутоДФ полноценно интегрируются в дерму, их биосинтетическая активность сохраняется в течение как минимум 12 месяцев. В результате наблюдается ремоделирование микроструктуры дермы, выражающееся в повышении содержания в ней коллаген-

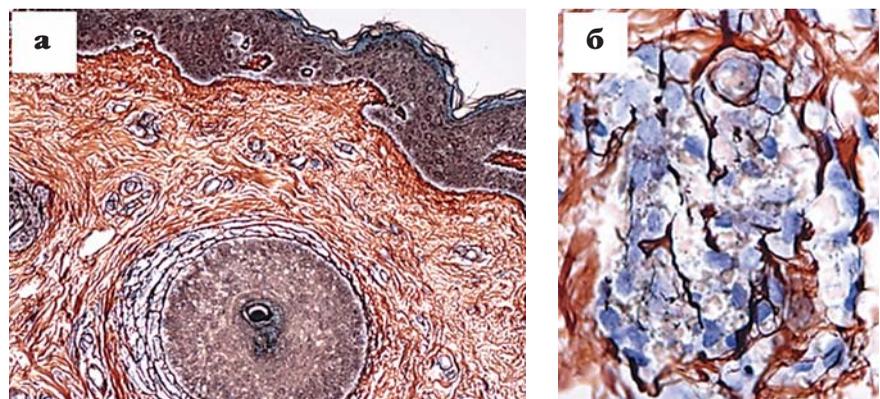


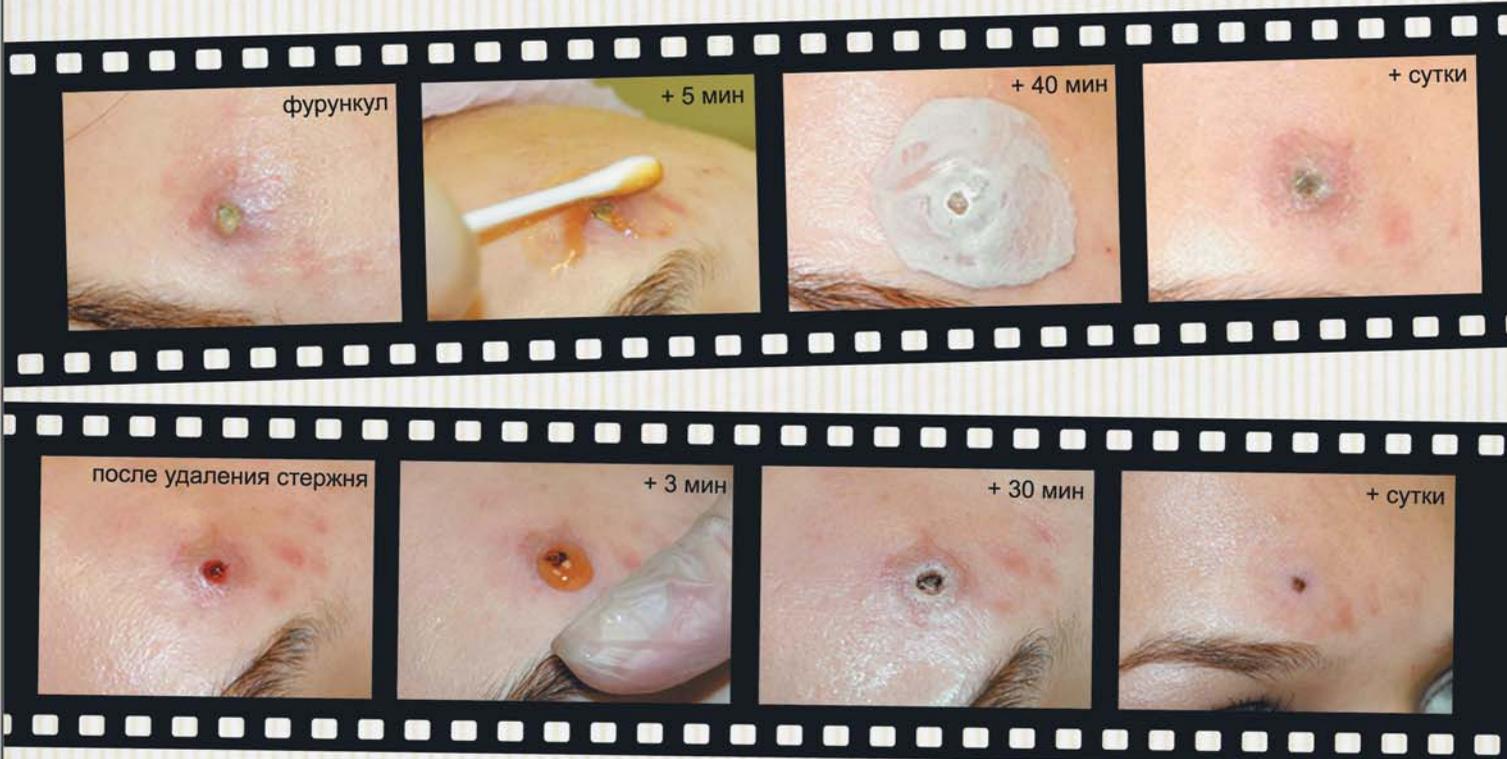
Рис. 3. Участки активного коллагеногенеза в дерме после применения аутологичных дермальных фибробластов.

Увеличение: А — $\times 400$; Б — $\times 1000$. Импрегнация нитратом серебра по Гордону, $\times 400$. Фотография и препараты Р. Деева.

Holyland Laboratories
Always Active



Корпорация Эстетической
Медицины "ОПТИМЕД"



фурункул

+ 5 мин

+ 40 мин

+ сутки

после удаления стержня

+ 3 мин

+ 30 мин

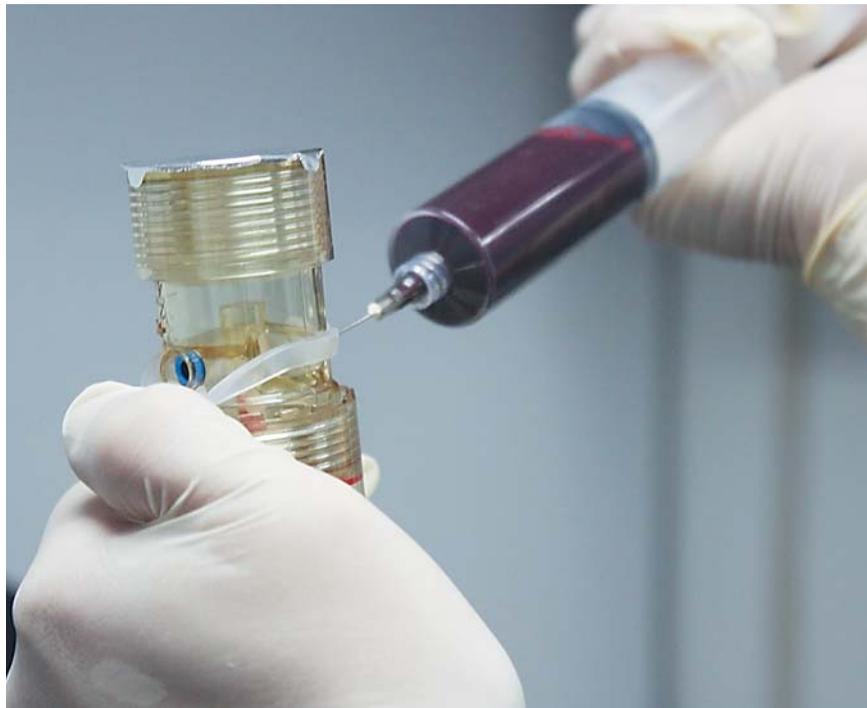
+ сутки

NO COMMENTS

новых волокон (рис. 3) и увеличении толщины дермы, что в свою очередь приводит к улучшению микрорельефа кожи (рис. 2).

Итак, трансплантированные аутоДФ, восполняя клеточную популяцию дермы в зоне рубцового дефекта, за счет синтеза компонентов межклеточного матрикса (МКМ) и паракринного эффекта продуцируемых ими факторов роста/цитокинов (что улучшает состояние базальной мембраны и эпидермиса) приводят к ремоделированию микроструктуры кожи. Тем самым аутоДФ способствуют увеличению толщины дермы и улучшению ее микрорельефа.

Заслуживает внимания еще один новый аспект использования культур аутологичных дермальных фибробластов в кос-



PRP-терапия предусматривает забор крови пациента, последующее отделение плазмы и обогащение ее тромбоцитами.



Заслуживает внимания еще один новый аспект использования культур аутологичных дермальных фибробластов в косметологии. Речь идет о создании персонализированного питательного крема, основанного на использовании кондиционированной среды, образующейся в ходе процессинга препарата аутоДФ.

метологии, который предлагает компания Fibrocell Science. Речь идет о создании персонализированного питательного крема, основанного на использовании кондиционированной среды, образующейся в ходе процессинга препарата аутоДФ. Кондиционированные среды получают в результате стандартного культивирования клеток человека в синтетической питательной среде. Они содержат метаболиты, являющиеся факторами роста для гомологичных и гетерологичных клеток. Извест-

но, что в процессе культивирования аутоДФ происходит секреция и высвобождение ими в культуральную среду множества биологически активных факторов. Последние способны стимулировать пролиферацию клеток кожи (кератиноцитов и фибробластов) и синтез ими МКМ. Разработчики полагают, что кремы, в состав которых будут включены эти биологически активные факторы (при строгом соблюдении определенных условий!), могут способствовать улучшению состоя-

ния кожи. В настоящее время проходят клинические исследования эффективности применения такого крема в косметических целях.

Аутологичная плазма крови человека, обогащенная тромбоцитами

Речь идет о такой клеточной технологии в косметологии, как PRP-терапия — применение аутологичной плазмы крови человека, обогащенной тромбоцитами (Platelet Rich Plasma), которые секретируют множество факторов роста и цитокинов. Суть PRP-терапии заключается в ремоделировании тканей кожи путем стимуляции пролиферативной и синтетической активности ее клеточных популяций содержащимися в препаратах PRP биологически активными факторами.

Механизм действия PRP на ткани, особенно на здоровую кожу

(например, при коррекции ее возрастных изменений) пока еще до конца не ясен. Однако установлено, что факторы роста и цитокины, содержащиеся в PRP, оказывают существенное нормализующее влияние на биологические процессы, лежащие в основе регенерации и ре-

ность фибробластов дермы. Последние, как известно, являются не только «мини-фабриками» по производству практически всех компонентов МКМ дермы, но также осуществляют контроль межклеточного взаимодействия «фибробласты — кератиноциты — эндотелиоциты» и обеспечи-

кожи, уменьшения количества/глубины морщин, выравнивания тона кожи, увеличения ее эластичности.

Результаты клинических исследований, проведенных А. Redaelli и соавт. (2008) (использовалась жидкая форма препарата PRP сразу же после активации тромбоцитов CaCl_2) и другими исследователями, подтверждают эффективность действия PRP на возрастные изменения кожи.



Говоря о новых разработках в области клеточных технологий для косметологической практики, стоит подчеркнуть, что по-прежнему перспективным остается создание технологии, основанной на применении аутологичной стромально-васкулярной клеточной фракции (СВКФ), выделенной из жира пациента.

парации тканей: пролиферацию клеток и их миграцию, воспаление, ангиогенез, а также адекватный синтез компонентов МКМ.

Так, в частности, показано, что содержащиеся в PRP клеточные митогены, такие как PDGF, TGF, VEGF и IGF (табл. 1), способны индуцировать пролиферативную и синтетическую актив-

вают гомеостаз и морфофункциональную организацию всех слоев кожи.

На сегодняшний день изучение возможностей использования PRP в косметологии развивается по нескольким направлениям.

1. Применение PRP-терапии в целях улучшения текстуры

2. Использование PRP-терапии для репарации кожи после косметологических лазерных процедур, в частности после фракционного фототермолиза (как абляционного, так и неабляционного).

Известно, что использование лазерных технологий (особенно абляционного CO_2 -лазера) сопровождается риском развития такого осложнения, как гиперпигментация кожи. Одной из основных причин, скорее всего, служит длительный — не менее 6 недель — воспалительный процесс, сопровождающийся выраженной эритемой. В недав-

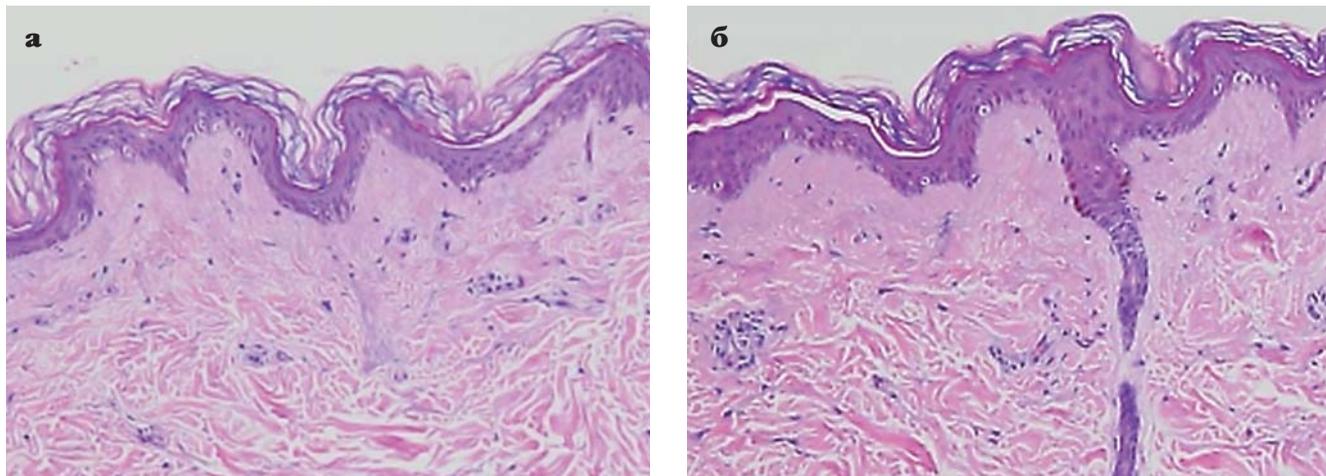


Рис. 4. А — кожа после применения CO_2 -лазера; б — кожа после применения сочетанной методики: CO_2 -лазер + PRP. На срезе кожи, обработанном PRP, регистрируется бóльшая толщина эпидермиса, более организованный роговой слой кожи, бóльшая плотность коллагена.

Окраска: гематоксилин и эозин.

них клинических исследованиях корейских ученых (J. Na и соавт., 2011; M. Shin и соавт., 2012) были показаны безопасность и клиническая эффективность применения PRP-терапии после воздействия лазера.

Было высказано предположение о том, что в механизме благоприятного воздействия PRP на кожу, подвергшуюся лазерной обработке, ключевую роль играет паракринный эффект, достигаемый благодаря содержащимся в препаратах PRP проангиогенным факторам. Именно эти факторы индуцируют ангиогенез и, соответственно, при применении лазерного излучения, неизбежно повреждающего кровеносные сосуды, стимулируют образование и стабилизацию новых сосудов. Ранний ангиогенез, по всей видимости, способствует редукции эритемы, что, в свою очередь, приводит к снижению риска развития гиперпигментации.

Выяснилось также, что ростовой фактор TGF- β , содержащийся в PRP, способен влиять на нормализацию в коже процессов меланогенеза. Поскольку эти два метода (лазеро- и PRP-терапия) используют разные биологические механизмы воздействия на инволюционно измененную кожу, их суммарный эффект может быть оценен как синергетический (рис. 4а, б).

3. Применение PRP-терапии для коррекции носогубных складок как альтернатива филлингу.

A. Sclafani использует препарат PRP, обозначенный как PRFM (Platelet Rich Fibrin Matrix — обогащенный тромбоцитами фибриновый матрикс). Технология получения препарата предусматривает использование устройства Selphyl, в котором сепарация компонентов крови происходит без добавления ан-

тикоагулянтов, с помощью тиксотропного геля с последующей активацией тромбоцитов CaCl₂. По мнению A. Sclafani, при применении PRFM устойчивый клинический эффект достигается за счет образования в препарате трехмерной фибриновой сети, которая служит естественным

Следует отметить, что применение PRP-терапии для коррекции различных кожных нарушений, несмотря на успешные результаты, показываемые в клинической практике, пока еще остается достаточно дискуссионным направлением. Так, в ряде исследований кон-



Механизм действия PRP на ткани, особенно на здоровую кожу (например, при коррекции ее возрастных изменений) до конца не ясен. Однако установлено, что факторы роста и цитокины, содержащиеся в обогащенной тромбоцитами плазме крови, оказывают существенное нормализующее влияние на биологические процессы, лежащие в основе регенерации и репарации тканей.

скаффолдом (матриксом-носителем) для тромбоцитов и факторов роста, интегрированных в фибриновую сеть во время полимеризации препарата. Этот процесс аналогичен протекающему в естественных условиях процессу, в частности при ранозаживлении. Такой естественный фибриновый скаффолд, как считает исследователь, позволяет существенно увеличить локальную концентрацию факторов роста в зоне коррекции дефектов кожи.

Важно также, что интегрированные в PRFM тромбоциты, как уже отмечалось выше, продолжают секретировать биоактивные факторы роста и цитокины на протяжении не менее 7 дней. Совокупность обоих этих факторов (увеличение локальной концентрации факторов роста и длительное их секретирование тромбоцитами), считает A. Sclafani, способствует направленному ремоделированию дермы и служит решающим фактором в развитии устойчивого клинического эффекта.

стативируется отсутствие положительного эффекта при использовании PRP-препаратов в целях эстетической коррекции кожных дефектов. Возможно, это связано с теми или иными нарушениями в процессе приготовления PRP-препарата, ведь на сегодняшний день так и не разработана единая стандартизованная технология получения PRP для использования в косметологической практике. По-прежнему отсутствуют результаты рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований в рамках доказательной медицины, подтверждающих эффективность воздействия PRP-терапии на инволюционно измененную кожу. Нет четкого ответа на многие вопросы. Например, некоторые исследователи отдают предпочтение активированным препаратам PRP (в виде жидкой формы), которые используют сразу же после активации тромбоцитов до полимеризации препарата, считая эту форму более активной. Однако, по мнению других ученых,



Один из способов введения плазмы — использование микроигльчатой насадки.

неактивированные препараты PRP не стоит рассматривать как неактивные, поскольку их полная активация просто носит отложенный характер и происходит после контакта с тканями в области введения препарата. Нужны статистически достоверные данные о том, насколько сильно отличается клинический эффект при использовании тех или иных форм PRP-препаратов, насколько разнятся их сферы применения (показания и противопоказания).

Другой важный вопрос — какой тип препарата: P-PRP (Pure Platelet Rich Plasma — чистую обогащенную тромбоцитами плазму крови) или L-PRP (Leucocyte and Platelet Rich Plasma — обогащенную лейкоцитами и тромбоцитами плазму

крови) предпочтительнее использовать? И, опять-таки, в каких случаях? Есть ли разница в показаниях к их применению и в терапевтических возможностях? Необходимо проведение исследований воздействия PRP на фотоповреждения кожи. Будет ли оно так же эффективно, как и на инволюционные изменения кожных покровов?

И, наконец, крайне необходима стандартизация технологии PRP-терапии и правовое обеспечение ее использования в эстетической медицине.

Применение аутологичной стромально-васкулярной клеточной фракции

Говоря о новых разработках в области клеточных технологий для косметологической

практики, стоит подчеркнуть, что по-прежнему перспективным остается создание технологии, основанной на применении аутологичной стромально-васкулярной клеточной фракции (СВКФ), выделенной из жира пациента. На сегодняшний день такая клеточная фракция успешно применяется в пластической/реконструктивной хирургии при липофиллинге — для повышения приживаемости жирового трансплантата и сохранения объема пересаженного жира. СВКФ можно выделить из жировой ткани пациента в течение 1–1,5 часов и использовать *ex tempore*, минуя стадию культивирования клеток.

Актуальность разработки этого направления клеточной терапии обусловлена тем, что СВКФ

содержит стволовые/прогениторные мезенхимные и эндотелиальные клетки, которые, за счет дифференцировки последних в адипо- и ангиогенном направлениях и продукции ими множества факторов роста и цитокинов, способны активно участвовать в репаративных процессах мягких тканей лица и тела.

В этой связи весьма перспективным представляется применение СВКФ при фиброзе и ишемии тканей за счет улучшения их ангиогенеза. В этом направлении активно проводятся исследования как в России, так и за рубежом. В частности, получены хорошие результаты пи-

лотных клинических исследований, демонстрирующие эффективность СВКФ в коррекции стрий (ФМБЦ, Москва) и склеродермии (G. Magalon, Франция). Разработка такой технологии имеет большое значение для эстетической медицины, поскольку она позволит корректировать самые сложные дефекты кожи и мягких тканей лица и тела, связанные с фиброзом и ишемией.

Несомненно, для специалистов в области косметологии и пластической хирургии клеточные технологии представляют большой интерес, поскольку их внедрение в практику поможет зна-

чительно расширить спектр возможностей регенеративной, в том числе антивозрастной, эстетической медицины. Речь идет о восстановлении функций и структуры мягких тканей лица и тела, утраченных с возрастом и/или вследствие других причин (травм, ожогов, осложнений после пластических операций или обработки кожи агрессивными косметологическими методами). Подчеркнем, при этом регенерация (репарация) тканей стимулируется с помощью малоинвазивных и естественных способов, основанных на уникальных биологических механизмах собственных клеток организма. K1

Таблица. Основные факторы роста, входящие в состав PRP, и их функции (по С.Е. Sommeling)

Факторы роста	Функции
PDGF	Активация миграции и пролиферации мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), фибробластов, гладкомышечных клеток, остеобластов; активация миграции моноцитов, макрофагов, нейтрофилов; активация макрофагов
TGF-β1	Индукция синтеза межклеточного матрикса, регуляция пролиферации кератиноцитов и стимуляция продукции коллагена
VEGF	Стимуляция пролиферации эндотелиальных клеток и ангиогенеза, стимуляция лимфангиогенеза, повышение проницаемости сосудистой стенки
EGF	Стимуляция миграции кератиноцитов, пролиферации эпителиальных, мезенхимных клеток и фибробластов; стимуляция миграции и пролиферации эндотелиальных клеток и ангиогенеза, регуляция продукции коллагеназ
FGF	Индукция пролиферации фибробластов; стимуляция роста эндотелиальных клеток; стимуляция ангиогенеза, роста стабилизации сосудов
IGF	Стимуляция пролиферации фибробластов, синтез коллагена и др. компонентов МКМ

Примечание:

- PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) — тромбоцитарный фактор роста;
- TGF-β1 (Transforming Growth Factor-beta1) — трансформирующий фактор роста бета1;
- VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) — фактор роста эндотелия сосудов;
- EGF (Epidermal Growth Factor) — эпидермальный фактор роста;
- FGF (Fibroblast Growth Factor) — фактор роста фибробластов;
- IGF (Insulin-like Growth Factor) — инсулиноподобный фактор роста.