

Клеточные технологии в эстетической медицине

Зорина А.И.¹, Зорин В.Л.¹⁻², Черкасов В.Р.¹,

Ижевский П. В.³

¹Институт стволовых клеток человека

²НИИ канцерогенеза РОНЦ имени Н.Н. Блохина
РАМН

³Федеральный медицинский биофизический
центр имени А. И. Бурназяна

Зорин Вадим Леонидович

119991, Москва, ул. Губкина, д. 3, стр. 2

Тел.: 8 (495) 646 8076

E-mail: doc_zorin@pisem.net

Лечение дефектов кожи с использованием культивированных *in vitro* клеток получило широкое признание во всем мире как безопасная и эффективная технология. При этом особое значение имеют дермальные фибробласты — гетерогенная популяция клеток мезенхимного ряда — ключевой регулятор межклеточных взаимодействий и гомеостаза кожи. Введение аутологичных фибробластов может быть использовано для коррекции повреждений или старения кожи. В обзоре представлено описание свойств и функций фибробластов, а также опыт их клинического применения.

Ключевые слова: аллогенные и аутологичные фибробласты; регенерация тканей; заживление ран; косметические филлеры, стволовые клетки.

Характеристика фибробластов

Фибробласты, главные клетки стромы, распространены по всему организму и обнаруживаются практически во всех его органах. Фибробласты определяются как адгезивные клетки, которые, не являясь эндотелиальными, эпителиальными или гемопоэтическими, способны синтезировать и восстанавливать межклеточный матрикс. Они играют важную роль в регулировании процессов аутопереносимости, развития органов, заживления ран, в процессах воспаления и фиброза [1-4]. Кожа взрослого человека содержит по меньшей мере три различные субпопуляции фибробластов, занимающие «уникальные ниши» в коже: фибробласты папиллярного, ретикулярного слоев дермы и ассоциированные с волосными фолликулами. В зависимости от расположения в ткани и выполняемых функций они продуцируют проколлаген, фибронектин, гликозаминогликаны, гиалуроновую кислоту, проэластин, нидоген, ламинин, хондроитин-4-сульфат, тинасцин и другие белки. При этом коллаген и эластин формируют волокнистый каркас ткани, гликозаминогликаны и гиалуроновая кислота составляют ее межклеточный матрикс, фибронектин отвечает за адгезию, подвижность, дифференцировку и взаимную ориентацию клеток в ткани [5]. В межклеточное пространство фибробласты выделяют цитокины и факторы роста, оказывающие аутокринный и паракринный эффекты.

Особенностью фибробластов является способность проявлять специфические молекулярные черты и топографическую память вследствие дифференциальной экспрессии гомеобоксенов (HOX) [6]. В зависимости от происхождения фибробластов

экспрессия этих генов значительно различается, то есть фибробласт из определенного участка тела имеет свой особый Hox-код. Например, гены HOXB (HOXB2, HOXB4, HOXB5, HOXB6, HOXB7иHOXB9) экспрессируются в ограниченном количестве в образцах из дермы тела и недермальных образцах, тогда как HOXD4 и HOXD8 экспрессируются исключительно в образцах из дермы тела и ног. Данный механизм обеспечивает наличие у фибробластов «эпигенетической памяти», несущей информацию о расположении формируемой ими ткани и специфичности выполняемых на данном участке функций [6; 7]. Следовательно, выбор места биопсии и взятие образца для клеточной терапии необходимо проводить с учетом его анатомического расположения.

Выделение и культивирование фибробластов *in vitro*

Фибробласты получают из биоптатов кожи посредством ферментативной обработки или механической дезагрегации образцов с последующим культивированием в условиях насыщающей влажности в CO₂-инкубаторе [8]. Попытки использовать культивированные фибробласты в медицине стали предприниматься после того, как

было установлено, что дермальные фибробласты сохраняют диплоидный кариотип, имеют ограниченную продолжительность жизни, не экспрессируют антигены главного комплекса гистосовместимости класса II и не проявляют онкогенных свойств [8; 9].

Сравнение аутологичного и аллогенного клеточного материала

Для лечения различных заболеваний кожи применяют как аллогенные, так и аутологичные фибробласты. При использовании аутологичных клеток исключен риск развития аллергических реакций, не возникает трудностей с поиском подходящих доноров, наблюдается длительный клинический эффект [8]. После однократного применения аутологичных фибробластов для лечения длительно незаживающих ран (диабетических, трофических и др.) площадью 1-10 см² полное восстановление кожи наблюдается в течение 8 недель [10]. При коррекции контура лица, носогубных складок, атрофических рубцов клинический эффект сохраняется в течение 12-48 месяцев после третьей имплантации фибробластов [11; 12]. Для получения аутологичных клеток биопсию кожи при необходимости можно проводить неоднократно, клетки можно использовать (или замораживать для последующих процедур) на ранних пассажах в больших количествах.

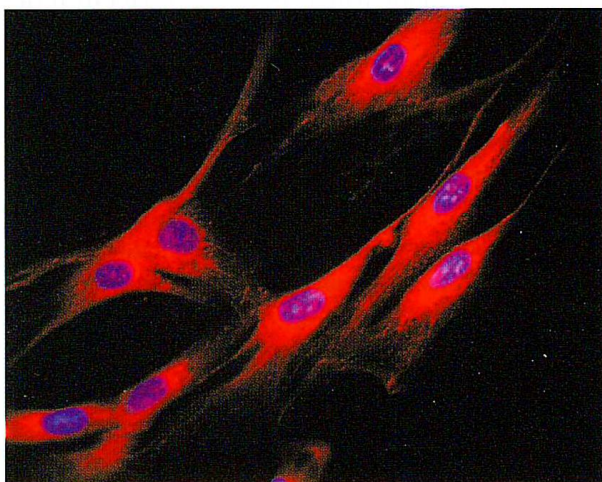
Аллогенные клетки успешно применяются в составе так называемых эквивалентов кожи для лечения ран и ожогов. В отличие от аутологичных фибробластов, для получения достаточного количества которых требуется время до 6 недель, аллогенные клетки могут быть предварительно наработаны и заморожены в больших количествах, а следовательно, доступны практически для немедленного применения. Это способствует быстрому восстановлению дермы, ускорению заживления

ран, снижению риска образования рубцов [13]. Аллотрансплантат, синтезируя цитокины и другие компоненты межклеточного матрикса, стимулирует пролиферацию и дифференцировку собственных клеток реципиента, обеспечивая тем самым заживление ран. Коллаген, продуцируемый аллогенными фибробластами, обнаруживают в трансплантате уже через 2 недели [14]. При использовании аллогенных фибробластов с матриксом из коллагена или гиалуроновой кислоты для лечения длительно незаживающих ран не выявлено аллергических реакций и реакций отторжения клеток [15]. В то же время следует учитывать, что жизненный срок аллогенных фибробластов в трансплантате весьма ограничен. Так, при использовании кожного коммерческого трансплантата Apligraf (Organogenesis Inc, США) аллогенные фибробласты не обнаруживаются уже через 6 недель после нанесения препарата на свежие раны. Таким образом, для создания трансплантата с длительным сроком жизни целесообразно использовать аутологичные клетки, сохраняющиеся гораздо дольше и оказывающие более длительное терапевтическое действие [16; 17].

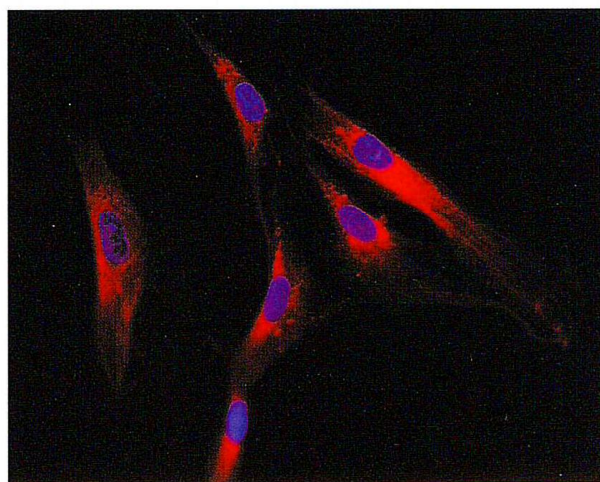
Применение аутологичных филлеров в косметологии

Со временем в коже под воздействием факторов окружающей среды наблюдаются различные изменения (образование морщин, растяжек, рубцов, снижение упругости и изменение пигментации). Наиболее значимым экзогенным фактором, усугубляющим естественные возрастные изменения, является ультрафиолетовое облучение. В коже происходит изменение баланса между процессами синтеза и деградации компонентов межклеточного матрикса, в результате чего снижается содержание гликозаминогликанов, коллагена, количество ковалентных связей между волокнами. Эластические волокна также подвергаются дегенерации, в результате чего

коллаген I типа



коллаген III типа



образуются аморфные скопления эластоидного материала (особенно на открытых участках кожного покрова), между которыми откладываются гликозаминогликаны, а их содержание между коллагеновыми волокнами снижается [18; 19].

Таким образом, образование морщин — результат множественных изменений компонентов эпидермиса, дермы и гиподермы. Показано, что эпидермис морщины подвергается значительной атрофии, одновременно с этим наблюдается снижение экспрессии некоторых маркеров дифференцировки кератиноцитов. В базальной мембране снижается содержание коллагена IV и VII типов. В дерме наблюдаются разрывы эластиновых и атрофия коллагеновых волокон, изменения в составе гликозаминогликанов [20].

Для нехирургической коррекции возрастных изменений кожи в качестве «золотого стандарта» широкое применение получил бычий коллаген (Зипласт™, Зидерм™), который у 1 - 6% пациентов вызывает аллергическую реакцию [21]. Применение аутологичного коллагена исключает риск развития аллергических реакций и отторжения. Однако метод имеет существенные ограничения: сложность получения аутологичного коллагена в достаточном количестве и необходимость повторных инъекций в результате быстрой деградации пересаженного материала [22].

Положительный и относительно длительный эффект получен при пересадке аутологичного жира (липофилинге). Обычно липофилинг используют для восполнения объема лица при старении, а также для коррекции атрофических рубцов, липодистрофии и склеродермии [23]. Хороший косметический эффект для коррекции морщин получен при использовании смеси аутологичных материалов из элементов дермы, мышечной ткани, жировой ткани и фасций. Метод апробирован на 450 пациентах, период наблюдения составил от 6 месяцев до 10 лет [24]. Недостатком метода является непредсказуемость сохранения объема ткани в долгосрочной перспективе, а именно быстрая рассасываемость собственного жира пациента в организме — до 70% от введенного объема.

Проблема была частично решена специалистами компании *Cytori Therapeutics Inc.* (США), разработавшими технологию «клеточной реконструкции» (Cell-Enhanced Reconstruction) для реконструктивной хирургии на основе комбинации трансплантированных аутологичных «мягких тканей» и стволовых клеток из жировой ткани [25]. Технология позволяет автоматизировать выделение и концентрирование аутологичных стволовых клеток пациента из его жировой ткани для последующего введения этих клеток обратно пациенту. Это позволяет достичь лучшей приживляемости трансплантированной ткани.

Жировая ткань содержит в 100-1000 раз больше плюрипотентных стволовых клеток на кубический сантиметр, чем костный мозг. При этом стволовые клетки жирового происхождения обладают значительным потенциалом к ангио-иваскулогенезу, необходимому для приживления трансплантата. Кроме того, получение жировой ткани и работа с ней являются относительно простыми процедурами, которые могут быть легко осуществлены пластическими хирургами.

В основе технологии Cell-Enhanced Reconstruction лежат результаты, полученные Yoshimura [26], произведшим трансплантацию жировой ткани с добавлением стволовых клеток для восполнения мягких тканей у 23 пациентов с отчетливыми дефектами мягких тканей или нуждавшихся в увеличении объема груди. Эффективность и практическая осуществимость данного подхода подтверждена данными наблюдений за поведением трансплантатов на протяжении 26 месяцев, показавшими долгосрочность сохранения объема тканей у пациентов, которым проводилось подкожное наполнение тканей или увеличение объема груди. В настоящее время технология разрешена для применения в странах ЕС и Японии.

Аутологичные фибробласты в эстетической медицине

Косметологические процедуры с использованием фибробластов относятся к «клеточной мезотерапии». У пациента берут небольшой (3 x 3мм) фрагмент кожи, из которого в лабораторных условиях получают его собственные (аутологичные) фибробласты. Затем посредством серии инъекций проводят локальное введение живых клеток в кожу с целью восстановления ее микроструктуры и улучшения внешнего вида. Фибробласты хорошо культивируются в лабораторных условиях без потери своих свойств, при трансплантации не вызывают аллергических и других побочных реакций, хорошо сохраняются при сверхнизкой температуре в течение многих лет — при необходимости клетки можно извлечь, разморозить и использовать в лечебных целях.

В 2000 году были представлены результаты клинических исследований по применению аутологичных дермальных фибробластов для восполнения дефектов мягких тканей лица у 20 пациентов в возрасте 37-61 года с морщинами и атрофическими рубцами [11]. Наблюдали значительный и стойкий клинический эффект у пациентов при коррекции носогубных складок, а также у пациентов с рубцами через 7 и 12 месяцев после третьей трансплантации аутофибробластов. По данным проточной цитометрии, культивированные фибробласты продуцировали большое количество коллагена I типа. Показано, что культивированные фибробласты, даже полученные от пациентов в

возрасте 60 лет, не потеряли своей способности размножаться и продуцировать коллаген. Экспериментальные исследования, проведенные на мышах Nude линии BALB/c посредством введения фибробластов 7-го пассажа подкожно в дозе 4×10^7 , продемонстрировали отсутствие онкогенных свойств у инъецируемых клеток [11].

Гистологические исследования биоптатов кожи после введения аутологичных фибробластов продемонстрировали значительное снижение рельефности кожи, утолщение дермального слоя, увеличение в нем числа фибробластов и плотности коллагена [27 - 31].

В специализированных центрах США курс коррекции дефектов кожи аутологичными дермальными фибробластами прошли 1200 пациентов [29; 31], в Ирландии — 4027 [32], в Великобритании — 6000 пациентов [31]. Длительное последующее наблюдение выявило продолжающееся улучшение результатов по сравнению с изначальной коррекцией у 70% пациентов.

В 2003 году компания *Isolagen* [31] инициировала проведение многоцентровых, рандомизированных, слепых, плацебоконтролируемых исследований по применению аутологичных дермальных фибробластов для лечения дефектов кожи, включая морщины, складки колеи и рубцы постаکنе. Исследования проводились 6 лет и включали три фазы. В общей сложности выполнено 7 клинических испытаний, (включивших 862 пациента, из них 354 — контроль), 2 из которых — опорные (III фаза, многоцентровые, рандомизированные, двойные слепые, плацебоконтролируемые клинические исследования) в координации с FDA (США) для получения лицензии на применение дермальных аутофибробластов для лечения носогубных складок средней и тяжелой степени выраженности и других

морщин кожи. Основная цель исследований — изучение безопасности и клинической эффективности аутологичных дермальных фибробластов для коррекции дефектов кожи. Суспензию аутофибробластов в концентрации $(10-20) \times 10^6$ /мл вводили интрадермально, трехкратно, с интервалом между процедурами 1-6 недель. Эффективность оценивали посредством профилометрии и визуального контроля «слепым» исследователем и самими пациентами через 1, 2, 4, 6, 9 и 12 месяцев после последней процедуры введения аутофибробластов. Результаты исследований продемонстрировали достоверное уменьшение морщин и улучшение состояния кожи. Клинический эффект — постепенно нарастающий и сохраняющийся не менее года.

По результатам проведенных исследований учеными компании *Isolagen* был сделан вывод, что технология применения аутологичных дермальных фибробластов для коррекции дефектов кожи представляет собой новый метод

лечения кожи, основанный на уникальном биологическом механизме, позволяющем достичь длительного клинического результата, а сама технология — безопасна и эффективна [31].

Применение метода трансплантации аутологичных дермальных фибробластов в практике дерматологии и эстетической медицины признано перспективным и российскими специалистами. На базе факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова совместно с компанией «Генная и клеточная терапия» и клиникой «Деваль-Жальде» проведены исследования биологической безопасности и эффективности применения аутологичных дермальных фибробластов человека для улучшения состояния кожи [33; 34]. Для оценки безопасности трансплантации фибробластов использована стандартная модель формирования опухолей под кожей у бестимусных иммунодефицитных мышей линии Nude. Мышам подкожно вводили дермальные фибробласты человека или контрольные клетки линии HEK293 — линейных трансформированных клеток человека, формирующих в описанных условиях подкожные опухоли. При введении дермальных фибробластов человека формирования опухолей у мышей не было отмечено ни в одном случае. При иммунофлюоресцентном анализе различных органов и тканей мышей после подкожного введения фибробластов было показано отсутствие клеток человека в скелетных мышцах, головном и спинном мозге, мазках крови, печени, селезенке и костном мозге. Клетки человека у мышей обнаруживались только в зоне подкожного введения. Для подтверждения эффективности введения дермальных фибробластов с целью улучшения состояния кожи проведено гистологическое и иммунофлюоресцентное исследование на срезах биоптатов кожи добровольцев до и после введения фибробластов. Показано отсутствие воспалительной реакции и увеличения васкуляризации в зоне введения аутофибробластов. Обнаружено достоверное увеличение числа пролиферирующих кератиноцитов в базальном слое эпидермиса, достоверное увеличение содержания коллагена (до 67%) и эластина (на 10-25%) в дерме через 2 месяца после введения фибробластов по сравнению с контрольными образцами кожи. По результатам проведенных исследований отечественные авторы также пришли к выводу о безопасности применения аутологичных дермальных фибробластов в эстетической медицине.

На базе Самарского государственного медицинского университета и косметологического отделения ООО «Институт красоты» (Самара) проведены клинические исследования по применению аутологичных дермальных фибробластов для сглаживания атрофических рубцов кожи. В исследовании участвовал 61 пациент с атрофическими рубцами постаکنе, локализованными на лице, из

которых 30 пациентам интрадермально в рубцовую зону трехкратно с интервалом 4 недели вводили суспензию культивированных аутологичных дермальных фибробластов. В группу сравнения входил 31 пациент с рубцами постакне, которым был проведен срединный химический пилинг трихлоруксусной кислотой (2 курса, каждый из которых включал 4 процедуры, с интервалом 2 недели). Показано, что интрадермальная трансплантация культуры аутологичных фибробластов у пациентов с атрофическими рубцами постакне позволяет значительно (на 67%) улучшить результаты лечения по сравнению с традиционной терапией. У пациентов с «молодыми» атрофическими рубцами (срок существования до года) отмечено улучшение результатов на 71% [35].

Клиническое исследование по использованию аутологичных фибробластов для коррекции дефектов кожи, проведенное на базе Уральской государственной медицинской академии, Средне-Уральского НЦ РАМН и ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», включало 45 пациентов в возрасте 43 - 60 лет. Выявлено, что после интрадермального введения аутологичных дермальных фибробластов в количестве $(3-15) \times 10^6$ клеток наблюдается исчезновение мелких и коррекция глубоких морщин, повышается тургор кожи и увеличивается ее толщина. Эффект носит нарастающий характер, достигает максимума через 15 месяцев после введения клеток и сохраняется не менее двух лет. Осложнений после трансплантации аутофибробластов за период наблюдения выявлено не было [36].

Клинические исследования в рамках межотраслевой программы «Новые клеточные технологии — медицине» проведены на базе РГМУ и Института биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН [37]. Целью данных исследований было изучение безопасности и эффективности использования культивированных аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи при старении и регенерации ран. Авторы провели доклинические и две фазы клинических исследований. На доклиническом этапе исследования доказана нетоксичность и апирогенность клеточных культур аутологичных фибробластов, отсутствие у них иммуногенности и онкогенности. На первом этапе клинических исследований на 30 добровольцах доказана безопасность введения суспензии фибробластов. На втором этапе многоцентрового исследования изучали клиническую эффективность клеточной терапии. В исследование были включены 68 пациенток с признаками возрастных изменений кожи в возрасте 30-65 лет. Из них 38 пациенткам вводили интрадермально культуру аутологичных фибробластов в дозе 2-5 млн. в 5,0 мл раствора NCTF (препарат, используемый в эстетической медицине для внутрикожных инъекций), 1-3 раза. Контрольную группу составили 30 пациенток, которым вводили только раствор NCTF.

Результаты оценивали с использованием инструментальных методов анализа кожи (эластометрия, лазерная доплеровская флоуметрия, профилометрия, УЗИ) до момента введения аутофибробластов, а затем через 14 дней, 1, 3 и 8 -12 месяцев после проведения первой процедуры. Гистологические исследования кожи после введения аутологичных фибробластов выявили повышение показателей эластичности, микроциркуляции кожи, увеличение ее толщины. Эластичность кожи после введения клеточного материала повышалась на 15-26%. Клинический эффект носил нарастающий характер и сохранялся не менее 8-12 месяцев. Гистологическое исследование биопсийного материала через 28 дней после интрадермального введения клеток показало увеличение количества функционально активных и юных фибробластов в основной группе по сравнению с контролем. Авторы сделали вывод о безопасности и эффективности использования клеточной культуры дермальных аутологичных фибробластов для лечения возрастных изменений кожи.

Следует отметить еще одну особенность технологии по применению дермальных аутологичных фибробластов — возможность создания банка аутологичных фибробластов кожи, которые можно разморозить в любое время и использовать при необходимости [19]. Известно, что срок жизни дифференцированных клеток ограничен и соответственно фибробласты, взятые у пациентов в более молодом возрасте, более эффективны [8]. Поэтому представляет интерес создание банка фибробластов кожи, взятых у пациентов в молодом возрасте, чтобы позже при необходимости трансплантировать им в зрелом возрасте их собственные клетки с высоким пролиферативным потенциалом. Такое «банкирование» аутологичных фибробластов кожи представляет собой своеобразную систему «биологического страхования».

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют заключить, что наиболее перспективным направлением развития технологий для коррекции косметических дефектов кожи является использование аутологичных дермальных фибробластов, неоспоримые преимущества которых — долговременность клинического эффекта и исключение контаминации пациента инфекционными агентами за счет применения его собственного биоматериала.

Литература

1. *Fries K. M., Blieden T, Looney R.J. et al.* Evidence of fibroblast heterogeneity and the role of fibroblast subpopulations in fibrosis // *Clin. Immunol. Immunopathol.* — 1994. - Vol. 72.-P.283-292.
2. *Mebius R.E.* Organogenesis of lymphoid tissues // *Nat. Rev. Immunol.* - 2003. - Vol. 3. - P. 292-303.
3. *Parsonage G., Filer A. D., Haworth O. et al.* A stromal address code defined by fibroblasts // *Trends Immunol.* — 2005. - Vol. 26.-P. 150-156.
4. *Serhan C.N., Brain S.D., Buckley C.D. et al.* Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms // *Faseb. J.* - 2007. - Vol. 21. - P. 325-332.
5. *Хрупкий В. И., Зубрицкий В.Ф., Ивашкин А. Я. и др.* Дерматопластика раневых дефектов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
6. *Chang H. Y., Chi J. T., Dudoit S. et al.* Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* - 2002. - Vol. 99, № 20. -P. 12877-12882.
7. *Rinn J.L., Bondre C, Gladstone H.B. et al.* Anatomic demarcation by positional variation in fibroblast gene expression programs // *PLoS Genet.* - 2006. - Vol. 2, №7. - P. 119.
8. *Зорин В.Л., Зорина А. И., Петракова О. С. и др.* Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи // *Клет. транс-плантол. и тканевая инженерия.* — 2009. - Т. 4, №4. — С. 26-40.
9. *Theobald V.A., Lauer J.D., Kaplan F.A. et al.* «Neutral allografts»- lack of allogeneic stimulation by cultured human cells expressing MHC class I and class II antigens // *Transplantation.* - 1993. - Vol. 55, №1. - P. 128-133.
10. *Gibbs S., van den Hoogenband H.M., Kirtschig G. et al.* Autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds//*Br. J. Dermatol.* - 2006. - Vol. 155, №2. -P. 267-274.
11. *Келлер Г., Себастиан Дж., Лакомбе Ю. и др.* Сохранность инъекцируемых аутологических человеческих фибробластов//*Бюлл. эксп. биол. мед.* - 2000. - Т. 130, №8. - P. 203-206.
12. *Weiss R.A., Weiss M.A., Beasley K.L. et al.* Autologous cultured fibroblast injection for facial contour deformities: a prospective, placebo-controlled, Phase III clinical trial // *Dermatol. Surg.* - 2007. - Vol. 33, №3. - P. 263-268.
13. *Nie X., Zhang J. Y., Cai K.J. et al.* Cosmetic improvement in various acute skin defects treated with tissue-engineered skin // *Artif. Organs.* - 2007. - Vol. 31, №9. - P. 703-710.
14. *Yoon E. S., Han S. K., Kim W. K.* Advantages of the presence of living dermal fibroblasts within restylane for soft tissue augmentation // *Ann. Plast. Surg.* - 2003. - Vol. 51, №6. -P. 587-592.
15. *Yonezawa M., Tanizah H., Inoguchi N. et al.* Clinical study with allogeneic cultured dermal substitutes for chronic leg ulcers // *Int.J. Dermatol.* - 2007. - Vol. 46, № 1. - P. 36-42.
16. *Lamme E. N., van Leeuwen R. T., Mekkes J. R. et al.* Allogeneic fibroblasts in dermal substitutes induce inflammation and scar formation // *Wound Repair Regen.* — 2002. - Vol. 10, №3.-P. 152-160.
17. *Morimoto N., Saso Y., Tomihata K. et al.* Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation // *J. Surg. Res.* — 2005. - Vol. 125, №1. - P. 56 -67.
18. *Смирнова И. О.* Функциональная морфология старения кожи // *Усп. геронтол.* - 2004. - Т. 13. - P. 44-51.
19. *Fisher G.J., Varolii J., Voorhees J.J.* Looking older: fibroblast collapse and therapeutic implications // *Arch. Dermatol.* — 2008. - Vol. 144, № 5. - P. 666 - 672.
20. *Игнатьева Н.* Коллаген — основной белок соединительной ткани//*Эстетич. мед.* - 2005. - Т. 4, №3. - С. 243-256.
21. Минимально инвазивная косметическая хирургия лица/Под. ред. Дж. Нимату III, Р. Хога. - М., 2007.
22. *Apesos J., Muntzing M. G.* Autologen // *Clin. Plast. Surg.* — 2000. - Vol. 27, №4. - P. 507-513.
23. *Schmeller W., Meier-Vollrath I.* Autologous fat grafting // *Hautarzt.* - 2003. - Vol. 54, №12. - P. 1185-1189.
24. *Erol O. O.* Facial autologous soft-tissue contouring by adjunction of tissue cocktail injection (micrograft and mini-graft mixture of dermis, fascia, and fat) // *Plast. Reconstr. Surg.* - 2001. - Vol. 106, №6. - P. 1375-1387.
25. *Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В. Р.* Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины // *Клет. транс-плантол. и тканевая инженерия.* — 2009. - Т. 4, №3. -С. 68-78.
26. *Yoshimura, K., Matsumoto, D., Gonda, K.* A clinical trial of soft tissue augmentation by lipoinjection with adipose-derived stromal cells (ASCs). Presented at the International Fat Applied Technology Society (IFATS). Annual Meeting, The role of adipose tissue in regenerative medicine: Opportunities for clinical therapy. - Charlottesville, Va., September 11, 2005.
27. *Watson D., Keller G. S., Lacombe V. et al.* Autologous fibroblasts for treatment of facial rhytids and dermal depressions. A Pilot Study // *Arch Facial Plast Surg.* - 1999. - Vol. 1. -P. 165-170.
28. *Mentz H., Ruiz A., Patronella C. et al.* Use of cultured autologous fibroblasts for facial rejuvenation. Annual Meeting, American Society of Plastic Surgeons. -Philadelphia, Pennsylvania, October 12, 2004.

29. *Boss W. K., Hakan Usal, Chemoff G. et al* Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery // *Clin. Plast. Surg.* - 2000. - Vol. 27, №4. - P. 613-626.
30. *Boss W.K., Hakan Usal, FedorP.B., Chemoff G.* Autologous cultured fibroblast: protein repair system // *Ann. Plast. Surg.* - 2000. - Vol. 44. - P. 536-542.
31. Briefing Document. Advisory Committee Materials: Available for Public Release. Isolagen Therapy TM. - Autologous Cell Therapy. - 2009.
32. *Трейси П.* Isolagen — face-лифтинг будущего. Тезисы симпозиума «Intercharm, Биотехнологии в эстетической медицине». - М., 2005. - С. 36.
33. *Сысоева В.Ю. и др.* Аутологичные культивируемые фибробласты дермы: перспективы применения в медицине // Всерос. школа-конф. «Аутологичные стволовые и прогениторные клетки: экспериментальные и клинические достижения». - Москва, 9-11 июня 2008 г.
34. *Рубина К. и др.* Аутофибробласты: эстетические перспективы // *Kosmetik international.* - 2008. - № 1. - С. 73-75.
35. *Золо/повицкая Н.Н.* Экспериментально-клиническая оценка эффективности применения культуры фиброб-ластов // Колсанов А.В., Иванова В.Д., Волова Л.Т., Дорожкина Е.Б. Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия: Ежегодник Российской ассоциации клинических анатомов в составе ВНОАГЭ. Приложение к журналу «Морфологические ведомости». - 2006. -Т. 6.-С. 68-73.
36. *Макеев О.Г., Улыбин А.И., Зубанов П. С. и др.* Использование аутологичных культивируемых дермальных фибробластов для коррекции дефектов кожи // *Бестн. эстетич. мед.* - 2008. - Т. 7, №2. - С. 4-18.
37. *Бурунова В. В., Мантурова Н.Е., Смирнова Г. О. и др.* Клеточные технологии в ревитализации кожи лица // *Рус. мед. журн.* - 2009. - Т. 17, №17. - С. 1058-1062.