

Инновации в клеточных технологиях для эстетической медицины

ПОСЛЕДНИЕ ОТКРЫТИЯ В ОБЛАСТИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЖАЛУЙ, САМАЯ ГОРЯЧО ОБСУЖДАЕМАЯ ТЕМА, ВЕДЬ ОНИ ПОДАРИЛИ ЧЕЛОВЕЧЕСТВУ НАДЕЖДУ НА ПОБЕДУ НАД БОЛЕЗНЯМИ И СТАРОСТЬЮ. КАК ОБСТОИТ ДЕЛО С ИХ ПРАКТИЧЕСКОЙ РЕАЛИЗАЦИЕЙ, НАПРИМЕР В ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ? ЕСТЬ ЛИ УЖЕ ТЕХНОЛОГИИ, РАЗРЕШЕННЫЕ К ПРИМЕНЕНИЮ НА ПРАКТИКЕ? И КАК БЫТЬ С ЭТИЧЕСКОЙ СТОРОНОЙ ВОПРОСА?

АЛЛА ЗОРИНА, к.м.н., главный специалист по применению клеточных технологий Института стволовых клеток человека, Москва

Сегодня мало кто из практикующих врачей не знает о развитии нового направления — регенеративной медицины и важной ее составляющей — клеточных технологиях. В мировой практике эстетической медицины сегодня официально признанными являются две технологии, основанные на применении аутогенных (собственных) клеток пациента.

Одна из них — применение аутогенных дермальных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых изменений кожи — относится к области терапевтической косметологии. В России эта технология под названием SPRS-терапия (от англ. *Service for Personal Regeneration of Skin* — система индивидуальной регенерации кожи) разрешена к применению Росздравнадзором Институту стволовых клеток человека (ИСКЧ) с июля 2010 года. На год позже, в июле 2011 года, в США регуляторный орган FDA выдал лицензию на применение дермальных аутофибробластов (технологии LaViv) компании Fibro-cell Science (ранее Isolagen).

Применение аутогенных дермальных фибробластов для уменьшения/устранения возрастных изменений кожи позволяет достичь выраженный и длительный клинический результат омолаживающей коррекции. Технология, известная с 1994 года, прошла множество доклинических и клинических исследований, благодаря чему ее безопасность и клиническая эффективность уже не вызывает сомнений, и сегодня

носителем недавно доктором К. Yoshimura и его коллегами из Токийского университета (2003), и клинические исследования по ее применению еще продолжаются. В основе метода лежит использование клеток, вернее — клеточного комплекса, выделенного из жировой ткани и обладающего мощным регенеративным потенциалом. Ученые возлагают большие надежды на это направление клеточных технологий. Каковы же перспекти-

«**Жировая ткань является самым богатым источником мультипотентных мезенхимных стволовых клеток взрослого человека. К примеру, в 1 см³ этой ткани содержится в 100–1000 раз больше стволовых клеток, чем в костном мозге».**

она активно применяется в клиниках эстетической медицины России и США.

Другая официально признанная в мировой эстетической медицине клеточная технология относится к области пластической и реконструктивной хирургии — это применение выделенной из жировой ткани пациента стромально-васкулярной клеточной фракции (СВКФ) для коррекции дефектов мягких тканей лица и тела. Она разработана от-

вы применения СВКФ в эстетической медицине и почему выбор пал именно на данный клеточный комплекс? Для ответа на данный вопрос, пожалуй, стоит несколько подробнее охарактеризовать те клетки, которыми оперируют клеточные технологии.

Клетки как инструмент медицины

Известно, что в регенеративной медицине ведутся исследования в области клеточных технологий,

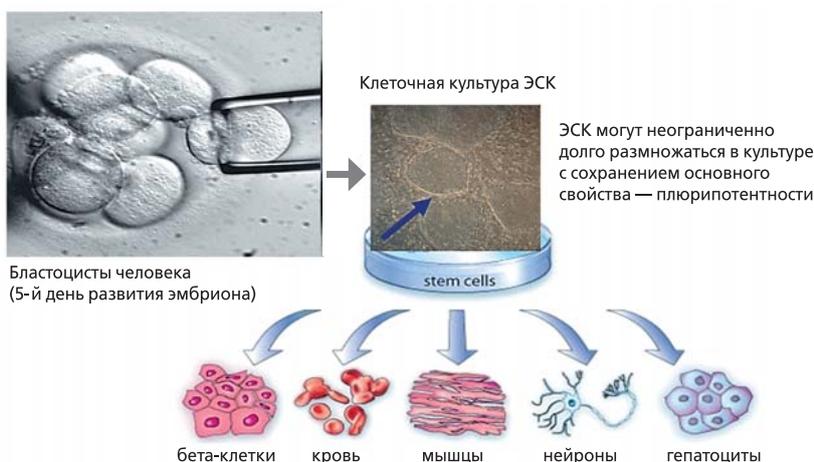


Рис. 1. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК).

основу которых составляют не только зрелые (специализированные) клетки (к примеру, фибробласты кожи или кератиноциты), но и стволовые клетки (СК) — недифференцированные клетки, обладающие значительным дифференцировочным и пролиферативным потенциалом. Их классифицируют в зависимости от потенциальности к дифференцированию, выделяя тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные и унипотентные СК.

Тотипотентные стволовые клетки — эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) — формируются на начальной стадии развития эмбриона — на стадии бластоцисты (рис. 1). Они обладают способностью воссоздавать любые ткани и органы человека путем своего деления и образования специализированных клеток. Несмотря на огромный терапевтический потенциал тотипотентных стволовых клеток, сегодня они используются исключительно в научно-исследовательских работах. Их не применяют для лечения человека вследствие недостаточной изученности, риска развития неопластических процессов и ограничений этического характера.

В качестве альтернативы ЭСК в настоящее время рассматриваются **индуцированные плюрипотентные стволовые клетки** —

iPS-клетки, или iPSCs (Induced Pluripotent Stem Cells), которые лишены недостатков ЭСК (рис. 2). Их получают путем репрограммирования взрослых клеток различных тканей (в первую очередь фибробластов). В 2012 году Нобелевская премия по физиологии и медицине была вручена биологам Дж. Гёрдону (J. Gurdon, Великобритания) и С. Яманаке (S.Yamanaka, Япония) «за открытие того факта, что зрелые клетки могут быть перепрограммированы обратно в плюрипотентное состояние». Аутогенные клетки человека — iPSCs — планируется использовать не только для лечения определенного заболевания у пациента, но и для изучения механизмов данной патологии, лекарственного скрининга, токсикологии. В частности, получив фибробласты кожи пациента и перепрограммировав их в нужный тип клеток, можно изу-

чить полный набор его генов, включая измененные. Полученные данные позволят с высокой достоверностью выявить патологически измененные гены с целью их дальнейшей коррекции. Важным преимуществом использования iPS-клеток по сравнению с ЭСК является и отсутствие этических ограничений при создании персонализированных клеточных линий пациента. В настоящее время многие лаборатории мира занимаются изучением возможностей применения iPS-клеток в медицинской практике.

Региональные мультипотентные стволовые клетки (другое название — взрослые, соматические, тканеспецифические) — это клетки, которые, по сравнению с ЭСК, появляются на более поздних стадиях формирования организма и присутствуют в каждой ткани (каждом органе) взрослого человека (рис. 3). Свойства мультипотентных мезенхимных стволовых клеток жировой ткани (рис. 4) легли в основу еще одного нового направления клеточных технологий — трансплантации жировой ткани, обогащенной стромально-васкулярной фракцией.

Применение стволовых клеток жировой ткани
Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки жировой ткани (СКЖТ) дифференцируются в нескольких направлениях, включая

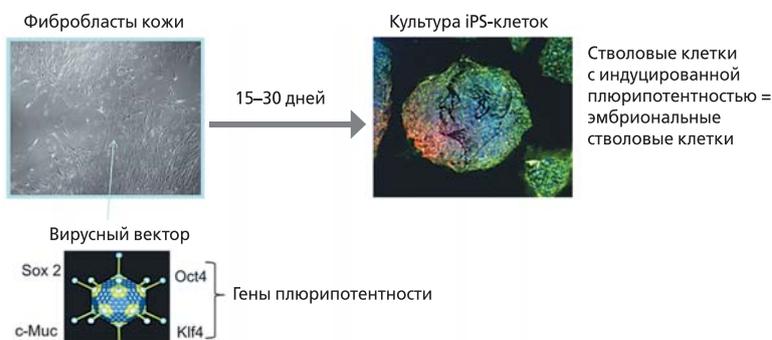


Рис. 2. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPS-клетки).

адипогенное и ангиогенное. Мультipotентные мезенхимные СК находятся и в костном мозге. (Их открытием мы обязаны гениальному российскому ученому А.Я. Фриденштейну и сотрудникам его лаборатории.) Однако по сравнению с другими источниками мультipotентных мезенхимных стволовых клеток взрослого человека жировая ткань является самым богатым: к примеру, в 1 см³ этой ткани содержится в 100–1000 раз больше стволовых клеток, чем в костном мозге. Это дает возможность из липоаспирата объемом, например, 200 мл выделить (без культивирования клеток!) 10⁹ мононуклеарных клеток стромально-васкулярной клеточной фракции, среди которых доля СКЖТ — не менее 10% (от 10–35%). Если еще учесть, что жировая ткань у человека легкодоступна, забор ее мало травматичен,

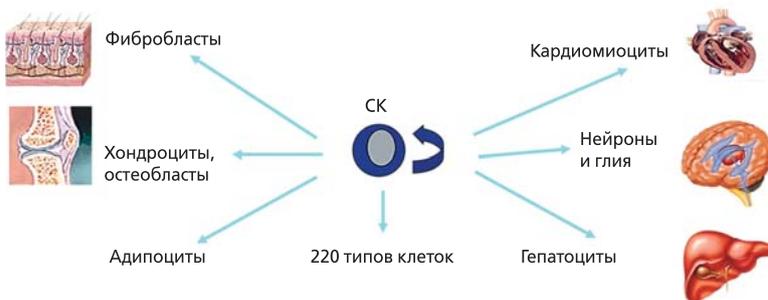


Рис. 3. Региональные стволовые клетки.

бробласты, клетки крови, включая В- и Т-лимфоциты. Обновление адипоцитов происходит за счет митотически активных СКЖТ клеток, благодаря чему в жировой ткани и поддерживается адипо- и ангиогенез.

В 2003 году K. Yoshimuro и соавт. показали, что при проведении липофиллинга обогащение жирового трансплантата СКЖТ не только увеличивает приживаемость трансплантата, но и способствует увеличению его объема. Связано

ти СКЖТ и дифференцировки их в адипоциты;

◆ модуляцию местных воспалительных реакций.

В состав стромально-васкулярной клеточной фракции входят наряду с СКЖТ также и предшественники клеток сосудов, и ряд других клеток. Благодаря кооперативному взаимодействию всех этих клеток и продуцированию ими факторов роста/цитокинов применение СВКФ значительно усиливает репаративные процессы в зоне трансплантации. Важно также, что СВКФ можно выделить из жировой ткани пациента в течение всего одного-полутора часов и использовать *ex tempore* (объединив с жировым трансплантатом), минуя стадию культивирования клеток (рис. 5).

« Несмотря на огромный терапевтический потенциал тотipotентных стволовых клеток, сегодня они используются исключительно в научно-исследовательских работах. Их не применяют для лечения человека вследствие недостаточной изученности, риска развития неопластических процессов и ограничений этического характера».

то, бесспорно, она является предпочтительным источником для выделения СК.

Известно, что интактная жировая ткань — это богатая кровеносными сосудами, самообновляющаяся структура, состоящая из адипоцитов (зрелых клеток жировой ткани), стромально-васкулярной клеточной фракции (СВКФ) и поддерживающей волокнистой стромы. СВКФ представляет собой клеточный комплекс, содержащий стволовые клетки жировой ткани — СКЖТ (которые являются ключевым компонентом СВКФ), эндотелиальные и гладкомышечные клетки кровеносных сосудов и их предшественники, перicyты, фи-

это с тем, что данные клетки оказывают существенное влияние на репаративные процессы в зоне трансплантации, осуществляя:

◆ неоангиогенез — за счет дифференцировки СКЖТ в эндотелиальные клетки, активации эндотелиальных прогениторных клеток и продукции проангиогенных факторов. Известно, что СКЖТ обладают значительной секреторной активностью: они продуцируют широкий спектр проангиогенных факторов и факторов роста/цитокинов, благодаря которым наблюдается выраженная активация процессов васкуляризации в области их присутствия;

◆ регенерацию адипоцитов — за счет антиапоптотической активнос-

Как выделяют стромально-васкулярную клеточную фракцию?

Существует два способа выделения СВКФ — вручную и аппаратный. В основе обоих лежит один и тот же принцип — ферментативная обработка липоаспирата, центрифугирование для выделения и концентрации нужной клеточной

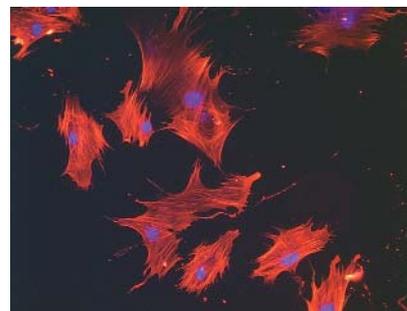


Рис. 4. Стволовые клетки жировой ткани (СКЖТ).

фракции и ее многократная отмывка от ферментов. Вручную СВКФ выделяют в специализированной лаборатории, куда поставляют липоаспират сразу после операции. Это открытый и нестандартизированный метод выделения клеточной фракции. Аппаратный способ — выделение СВКФ с помощью прибора Celution 800/CRS Device, разработанного учеными американской компании Cytori Therapeutics (разрешен к применению регуляторными медицинскими органами США, Европы, России). Он позволяет непосредственно в операционной, сразу после липосакции, в течение 80 минут получить концентрированную клеточную фракцию в закрытой стандартизированной системе.

Возможности использования СВКФ в эстетической медицине

Прежде всего следует сказать, что применение СВКФ значительно улучшает результаты липофилинга в области лица и тела. По данной технологии с 2003 года



Рис. 5 Алгоритм получения жирового трансплантата, обогащенного СВКФ.

уже тысячам пациентов проведено липомоделирование молочных желез, восполнение утраченных объемов мягких тканей лица, рук, бедер.

Так, А. Sterodimas и соавт. (2011) показали, что липофилинг с использованием СВКФ позволяет достичь хорошего эстетического результата после всего одной процедуры коррекции дефектов мягких тканей лица (срок наблюдений за такими пациентами составил 1,5 года). А для достижения такого же результата с применением стандартного липофилинга требуется не менее 3 процедур. К. Yoshimura и соавт. (2010) наблюдали 269 пациентов (из них

40 человек после мастэктомии вследствие онкологического заболевания), которым была проведена реконструкция молочных желез посредством обогащенного СВКФ жирового трансплантата. Срок наблюдений составил более 6 лет (с 2003 по 2009 год). Результаты этого исследования показали, что при применении обогащенного СВКФ жирового трансплантата происходит формирование жирового слоя значительной толщины не только непосредственно подкожно, поверх и вокруг молочных желез, но также между молочными железами и грудными мышцами. В исследованиях К. Kitamura и соавт. (2007, 2008) в сроки более

Иерархия стволовых клеток

Тотипотентные клетки (лат. totus — весь, целый) способны дифференцироваться в любой тип клеток организма, включая внешние эмбриональные ткани; при определенных условиях способны развиться до целого организма.

Плюрипотентные клетки (лат. plures — многие) способны образовать множество специализированных типов клеток, кроме клеток внешних эмбриональных тканей (воссоздать целый организм, в отличие от тотипотентных, они не могут).

Мультипотентные клетки (лат. multum — много) способны дифференцироваться в разные типы специализированных клеток одного вида ткани.

Унипотентные клетки (лат. unus — один, единый) дают начало только одному типу клеток.

Основная функция стволовых клеток (СК) — восстановление и поддержание тканей, в которых данные клетки присутствуют. В отличие от эмбриональных стволовых клеток региональные мультипотентные СК имеют меньший дифференцировочный потенциал, а их дочерние клетки развиваются прежде всего в клетки ткани «своего происхождения». В коже, к примеру, это стволовые клетки дермы. Они дифференцируются в зрелые, специализированные клетки дермы — фибробласты, пред-

ставляющие собой ключевое звено этой ткани, поскольку вырабатывают для нее все необходимые компоненты.

Зрелые клетки отличаются от стволовых тем, что это уже дифференцированные клетки, запрограммированные на ограниченное количество циклов деления, после чего они погибают, замещаясь новыми поколениями клеток. СК (недифференцированные, способные к самообновлению клетки) такого ограничения не имеют и могут делиться очень длительное время, поддерживая тем самым клеточные популяции данной ткани. Главная задача зрелых (специализированных) клеток — продукция компонентов межкле-

точного матрикса ткани и участие в его обновлении.

В клеточной иерархии имеется еще одно звено, которое находится между СК и зрелыми клетками, — так называемые прогениторные клетки (малодифференцированные, неспособные к самообновлению), другое название — клетки-предшественницы. Они представляют собой клетки, дифференцирующиеся в направлении клеточной линии, специализированной для данной ткани, и обладающие высоким пролиферативным потенциалом. Благодаря этому происходит поддержание необходимой в конкретных условиях численности клеточной популяции.

1 года наблюдалась 21 пациентка после мастэктомии и лучевой терапии (с серьезными структурными изменениями окружающих тканей — фиброзом и атрофией мягких тканей и подлежащей стенки грудной клетки). В этой работе было выявлено, что использование жирового трансплантата, обогащенного СВКФ, приводит к статистически значимому увеличению объема мягких тканей молочной железы.

Последние исследования T. Tiryaki и соавт. (2011) проходили с участием 29 пациентов с дефектами мягких тканей лица и тела. Пациентов наблюдали в течение 3 лет. Результаты исследования подтвердили, что однократная процедура трансплантации обогащенного СВКФ жирового трансплантата приводит к стабильной коррекции дефектов мягких тканей. Авторы описывают клинический случай пациентки с гемифациальной атрофией лица, когда удалось устранить дефект проведением всего одной процедуры с использованием СВКФ. Причем предыдущая коррекция, состоящая из 4 процедур стандартного липофиллинга, не увенчалась успехом.

В настоящее время компания Sutoji в клиниках Европы завершает IV фазу клинических исследований (постмаркетинговые исследования, Restore II) эффективности и безопасности применения данной технологии с целью реконструкции молочных желез после частичной мастэктомии вследствие онкологического заболевания.

Таким образом, применение СВКФ позволяет не только усовершенствовать стандартный способ липофиллинга, но и значительно расширить ресурсы реконструктивной хирургии, поскольку открывается возможность эффективно корректировать дефекты мягких тканей, ассоциированных с такими нарушениями, как фиброз и ишемия, что ранее вызывало большие трудности.

Вторым направлением, наряду с применением в реконструктивной хирургии, является использование СВКФ в хирургической косметологии. Речь идет о так называемом micro-fat grafting. Технология заключается в том, что жировой трансплантат, обогащенный СВКФ, посредством микроинъекций с помощью микроканюль (25G) вводится в дермальный и субдермальный слои кожи. В настоящее время французские ученые G. Magalon и соавт. проводят клинические исследования по применению данной технологии для коррекции возрастных изменений кожи (морщин, носогубных складок), рубцов (как постравматических, так и постакне), очагов фиброза и изменений кожи при склеродермии. Уже полученные результаты демонстрируют безопасность и хороший эстетический эффект.

ячейке криобанка в течение неограниченного времени. При необходимости клетки можно заморозить и использовать как для коррекции дефектов кожи, так и для коррекции дефектов мягких тканей.

Итак, на сегодняшний день получены убедительные доказательства того, что в качестве основы липофиллинга можно рассматривать жировой трансплантат, обогащенный СВКФ, который содержит стволовые/прогениторные клетки, обеспечивающие и поддерживающие столь важные для репарации пересаженного жирового трансплантата процессы, как ангио- и адипогенез. Исследования в этом направлении продолжаются. В частности, перспективным является использование при липофиллинге PRP (плазмы, обогащенной тромбоцитами),

«**Важно также, что стромально-васкулярную клеточную фракцию можно выделить из жировой ткани пациента в течение всего одного-полутора часов и использовать (объединив с жировым трансплантатом) ex tempore, минуя стадию культивирования клеток».**

В этой же области работают и российские ученые. Так, на базе ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России проводятся клинические исследования по использованию СВКФ для коррекции стрий. Промежуточные результаты исследования (срок наблюдения — 6 месяцев) также показали клиническую эффективность применения СВКФ при указанной патологии кожи.

Следует отметить еще одну особенность технологии с применением СВКФ — часть выделенной из жировой ткани пациента стромально-васкулярной клеточной фракции можно криоконсервировать по специальной методике и хранить в именной

которая обладает, как известно, стимулирующей активностью за счет содержащихся в ней факторов роста/цитокинов. Введение PRP, безусловно, будет способствовать усилению действия СВКФ, а соответственно, и улучшению клинического эффекта липофиллинга.

Применение в эстетической медицине инновационных клеточных технологий, несомненно, позволит достичь эффективной и долговременной коррекции возрастных изменений кожи, дефектов мягких тканей лица и тела, а также решить многие проблемы при таких серьезных патологиях, как фиброз мягких тканей и склеродермия. K1