

ЛІТЕРАТУРА

1. WHO: Lead poisoning. 31 August 2022. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
2. Трахтенберг І.М. Свинець – небезпечний поллютант. Проблема стара і нова/ І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, І.С. Чекман, В.О. Купрій, А.М. Дорошенко // *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. 2015. № 3 (71). С. 13-24. URL: <http://protox.medved.kiev.ua/index.php/ru/issues/2015/3/item/450-lead-is-a-dangerous-pollutant-the-old-and-new-problem>
3. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. М.: Наука, 1990. 224 с.
4. Courtney JG, Chuke SO, Dyke K, Credle K, Lecours C, Egan KB, Leonard M. Decreases in Young Children Who Received Blood Lead Level Testing During COVID-19 – 34 Jurisdictions, January–May 2020. *MMWR*. 2021; 70(5):155-161. URL: https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm7005a2.htm?s_cid=mm7005a2_w

I. Hnidoi. Indicators of the cell section of immunity in children with different levels of lead in the blood. – Article.

Summary. *The purpose of this research was to study the condition of cell section of immunity in children affected by lead in environmentally determined doses. 50 children of age 7 – 15 were inspected. The definition of venous blood lead concentration was by atomic-absorption spectrometry with electrothermic atomization. The cell immunity data were defined according to generally accepted methods. It was obtained the verified decreasing of relative number of T-lymphocytes and active T-lymphocytes in the children with blood lead concentration 100–149 and 150µg/l and more, as compared with this index in the group of children with lead level up to 69µg/l. The number of T-helpers also decreased. With it the relative number of “zero” cells was increased reliably in these groups. It was shown also the verified decreasing of neutrophile phagocytosis index in the same groups. The conclusion about a depression of cell immunity have been made for children with blood lead concentration more than 100µg/l as compared with lower levels.*

Key words: *ecology, lead, public health, children, immunity.*

УДК 616.089.197.7: 611.018.21

DOI <https://doi.org/10.32782/2663-5682/2022/37/16>

С. Є. Коротнян

*студентка другого курсу факультету медицини та громадського здоров'я
Міжнародний гуманітарний університет
м. Одеса, Україна*

В. О. Малиновський

*кандидат біологічних наук,
доцент кафедри загальної та клінічної фармакології
факультету стоматології та фармації
Міжнародний гуманітарний університет
м. Одеса, Україна*

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ АУТОЛОГІЧНИХ ФІБРОБЛАСТІВ У КОСМЕТОЛОГІЇ

Анотація. *Розглянуто тему трансплантації аутологічних фібробластів у косметології. Особливу увагу приділено прикладним аспектам. Наведено протоколи для омолодження та елімінації постакневих рубців. Подано статистичні дані, що доводять ефективність запропонованих методик в естетичній медицині.*

Ключові слова: *шкіра, аутологічне фібробласти, трансплантація, зморшки, носогубні складки, шрами.*

Лікування дефектів шкіри з використанням культивованих *in vitro* клітин отримало широке визнання у всьому світі як безпечний та ефективний метод [1; 2]. Серед безлічі типів клітин, здатних надавати клінічний ефект, особливий інтерес викликають дермальні фібробласти (ДФ), які є гетерогенною

популяцією клітин мезенхімного ряду і відіграють ключову роль у процесах регуляції клітинних взаємодій і підтримці гомеостазу шкіри. Фібробласти не тільки формують оптимальні умови для функціонування та проліферації інших типів клітин (епітеліальних, ендотеліальних, клітин волосяних фолікулів), але й відповідають за координацію їх функцій відповідно до розташування на тілі. Здатність фібробластів формувати міжклітинний матрикс, синтезувати цитокіни, викликати міграцію та проліферацію різних типів клітин при ушкодженнях шкіри робить їх перспективними для широкого клінічного застосування [3].

Імплантація фібробластів дозволяє впливати на формування позаклітинного матриксу та репарацію старіючої та пошкодженої шкіри, стимулювати зростання кератиноцитів та судин. Відповідно до свого розташування в тканинах і виконуваними функціями фібробласти здатні продукувати проколаген, фібрoneктин, глікозаміноглікани, проеластин, нідоген (ентактин), ламінін, хондроїтин-4-сульфат, тенасцин. Колаген та еластин формують волокнистий каркас тканин, глікозаміноглікани та фібрoneктин складають аморфний (основний) компонент міжклітинного матриксу, фібрoneктин відповідає за адгезію, рухливість, диференціювання та взаємну орієнтацію клітин. Участь фібробластів в ангиогенезі внаслідок продукції проангіогенних факторів сприяє міграції ендотеліальних клітин та утворенню судин *de novo*. ДФ беруть участь у процесах нейроендокринної регуляції шкіри: синтезують біологічно активні пептиди – гормони, біогенні аміни, нейропептиди та нейротрансмітери, ідентичні таким у центральній нервовій та ендокринній системах, пролактин, ідентичний гіпоталамічному, гормон росту, 17β -естрадіол, за допомогою яких здійснюється вплив цих гормонів на шкіру людини. Таким чином, ДФ не тільки підтримують гомеостаз міжклітинного матриксу дерми, забезпечуючи його ремоделювання та оновлення, але також відіграють значну роль у підтримці фізіологічного стану інших шарів шкіри [4].

У процесі старіння організму популяція фібробластів шкіри істотно змінюється, що проявляється у зменшенні товщини шкіри, зниженні її пружності та еластичності і, як наслідок, призводить до утворення зморшок. Особливе місце в цьому процесі займає фрагментація колагену в результаті дії специфічних ферментів (матриксних металопротеїназ, ММП), що порушує структурну цілісність дерми. При цьому фібробласти, які в нормі синтезують та організують колагенову матрицю, не можуть прикріплюватися до фрагментованого колагену та колабують. Вони втрачають розтяжку прикріпленими до інтегрину волокнами і переходять у стан синесценсу. В результаті в старіючій шкірі зруйновані і округлені фібробласти синтезують низькі рівні колагену, зате високі рівні матриксних металопротеїназ, що руйнують колаген. Цей дисбаланс прискорює старіння [5].

У зв'язку з цим стає очевидним, що саме ДФ є основним ефектором і точкою застосування терапевтичного впливу при корекції вікових змін шкіри. В даний час для корекції вікових змін шкіри використовують низку методів, основною метою яких є стимуляція функціональної активності ДФ. Особливе місце в цьому ряду займає метод регенеративної медицини, заснований на використанні культивованих аутологічних ДФ (аутоДФ). Його особливість полягає в тому, що він дозволяє заповнити популяцію фібробластів, що зменшилася з віком, привнесенням в шкіру спеціалізованих функціонально активних ДФ самого пацієнта. У 1994 р. американські вчені встановили, що введення в шкіру аутоДФ сприяє ефективній корекції зморшок. Американські та вітчизняні вчені провели низку клінічних досліджень, результати яких підтвердили ефективність та безпеку застосування аутоДФ в естетичній медицині, завдяки чому в даний час ця технологія отримала світове визнання [6].

Клітини, вирощені *in vitro*, здатні при культивуванні у відповідних умовах зберігати свої фізіологічні функції та можуть використовуватися при заміщенні, відновленні, коригуванні функцій пошкоджених тканин або в косметичних цілях для омолодження або покращення стану шкіри.

Найбільш близьким за технічною сутністю та досяжним результатом є спосіб омолодження шкіри, що включає терапію аутологічними недиференційованими мезенхімальними клітинами, кераціноцитами та фібробластами. У такий спосіб проблемну шкіру пацієнта вводять власну культуру фібробластів. Позитивний косметичний та клінічний ефект досягається внаслідок тканиносумісності культивованих клітин, оптимізації методик їх вирощування, особливостей техніки ін'єкції проліферативноактивного матеріалу та подальшого посттрансплантаційного ведення пацієнтів [7].

Нижче наведено два приклади використання аутологічних фібробластів в естетичній медицині.

Приклад 1. Аутологічна культура фібробластів у відновленні шкіри, що старіє.

Було відібрано вісім некурців у віці від 45 до 65 років з в'ялою періорбітальною шкірою та зморшками. Біопсія проводилася у пацієнтів в основній групі в межах 1 см^3 шкіри в паху. Лідокаїн без судинозвужувального засобу вводили перед забором зразка тканини. Відразу після біопсії зразок тканини

промивали фосфатно-сольовим буфером (PBS) з додаванням 1% пеніциліну та стрептоміцину. Потім зразок транспортували до камери культуральної лабораторії в пробірці, що містить Дульбекко PBS, етилендіамін-тетраоцтову кислоту (ЕДТО) і ферментний розчин, в якому він залишався протягом 3-4 годин при 37°C. Далі дерма механічно відокремлювалася від епідермісу та волосяних фолікулів, подрібнювалася та її фрагменти переносилися в культуральні флакони площею 25 см² та інкубувалися протягом 30 хвилин при 37°C в атмосфері з 5% вуглекислим газом (CO₂). Для отримання аутологічної сироватки зразок крові по 45 мл відбирався у кожного пацієнта у суху пробірку, що містить сироватковий сепаратор-гель з активатором згортання. Сироватки відділяли центрифугуванням при 2000 г/хв протягом 10 хвилин. Після цієї процедури 5 мл культурального середовища, що містить L-амінокислоти, солі Ерла, бікарбонат натрію і доповненої 10% сироваткою крові, були перенесені в культуральні флакони з фрагментами шкірних тканин. Культура клітин проліферувала при температурі 37°C з 5% CO₂ у зволоженому повітрі. Поживне середовище змінювали кожні 2 дні до утворення повного моношару клітин та кожні 4 дні після цього. Три пасажі гарантували відсутність генетичних змін у клітинах. Після того, як первинна культура досягла 70% злиття, клітини обробляли 0,25% розчином трипсину, тричі відмивали PBS і центрифугували при 1500 г/хв протягом 5 хвилин. Осад клітин ресуспендували в 2 мл PBS і ділили на дві аліквоти: 1 мл для відновного росту культури та 1 мл для ін'єкцій. Аліквоти для розмноження культивували у 75 мл флаконах, що містять 10 мл середовища M199 та 20% людської сироватки, що становило перший клітинний пасаж. Поживне середовище, що містить клітини, що розмножуються, змінювали кожні 4 дні, і коли контактне злиття досягло 70%, клітини при першому подвоєнні популяції знову піддавали процесу трипсинізації, 50% клітин використовували для ін'єкцій, а залишок – для зростання до завершення другого подвоєння культури. Цей процес повторювали до четвертого подвоєння популяції, і тоді для ін'єкцій використовувався весь вміст клітини. Популяція клітин збільшувалася повільно, із середнім значенням 0,16×10⁶ клітин/мл у першому подвоєнні, 0,70×10⁶ клітин/мл у другому, 1,70×10⁶ клітин/мл у третьому та 3,85×10⁶ клітин/мл у четвертому подвоєнні популяції.

Перед трансплантацією аутологічних фібробластів періорбітальна область пацієнта оброблялася 70% спиртом і за 30 хвилин до введення фібробластів – анестезуючим кремом, що містить 4% лідокаїну. Використовували 1 мл шприц із тонкими голками. Ін'єкції в поверхневий шар дерми виконували з використанням технології ретроградного лінійного різьблення Ніке. Уколи робили в шкіру чола, в зморшки навколо рота, носогубні складки, підборіддя та періорбітальну шкіру чотирма сеансами кожні 15 днів після першого, другого, третього та четвертого подвоєння аутологічної популяції клітин. Два лікарі та самі пацієнти проводили оцінку вирівнювання поверхневих шкірних ліній, складок та згладжування глибоких зморшок. Через шістьдесят днів після завершення чотирьох внутрішньошкірних ін'єкцій значне поліпшення відмічено в періорбітальному тонусі у двох пацієнтів з невеликим поліпшенням поверхневих ліній в одному випадку і без змін у зоні глибоких зморшок. У контрольній групі покращення тонусу, поверхневих та глибоких зморшок не спостерігалось. Через шість місяців після завершення лікування подальших змін не було виявлено. Безпосередніми побічними ефектами в клінічній та контрольній групі були відчуття болю в момент ін'єкцій та короткочасні набряки пропорційні обсягу рідини, що вводиться, які спалали через 24-48 годин. Жоден із пацієнтів, яким вводили культивовані аутологічні фібробласти, не зазнавали будь-яких подальших ускладнень [8].

Приклад 2. Ін'єкція аутологічних культивованих фібробластів для корекції контуру особи.

У цьому дослідженні взяли участь 158 пацієнтів, з яких 151 лікувалися у 10 центрах США. Більшість складалася з пацієнтів з контурною деформацією обличчя, включаючи шрами від висипу вугрів, носогубні складки, міжбрівні лінії, лобові зморшки та інші дефекти. Ін'єкції живих фібробластів у кількості 20 мільйонів клітин на 1 мл або 1 мл плацебо (середовище без живих клітин) без анестетиків вводили у вигляді трьох доз з одно-двох тижневими інтервалами. Ці інтервали були випадковими. Оцінки ефективності проводилися через 1, 2, 4, 6, 9 та 12 місяців після першої ін'єкції. Хорошим результатом вважалося зрушення на 2 бали як мінімум в одній з областей, що обробляється, за участю спостерігача, встановленого в ході живого огляду пацієнта через 4 місяці після початку лікування. Пацієнти, які досягли цього зсуву, вважалися чуйними на процедуру. Тим, кому вводили живі аутологічні фібробласти, повернулися для оцінки через 9 та 12 місяців. Пацієнтам, які отримували плацебо, пізніше було надано можливість переходу на активне лікування. Всі проліковані пацієнти, у тому числі перехресного лікування, спостерігалися повних 12 місяців після першої ін'єкції. Були отримані такі результати. З 151 пролікованого пацієнта 6 були виключені з кількох причин: додаткові косметичні процедури, процедури під час дослідження чи добровільний вихід із програми. Зі 145 пацієнтів, які піддавалися оцінці, 106

отримали ін'єкції живих фібробластів та 39 плацебо. Було 89,7% жінок та 10,3% чоловіків. Середній вік під час першої ін'єкції – 46 років. Європейці становили 92,4% учасників дослідження, 4,8% пацієнтів були азіатського походження, 1,4% були латиноамериканцями, а 1,4% афроамериканцями. Частка людей з видимими результатами була вищою там, де вводили фібробласти, ніж у тих, хто отримав плацебо. При наступному спостереженні через 1 міс показник задоволення серед пацієнтів, які отримували фібробласти, був 54,4% проти 30,8% у групі з плацебо, який збільшився до 77,3% через 2 місяці, тоді як частота плацебо залишалася відносно незмінною – 34,3%. Через 4 місяці показники були 75,5% проти 34,3%, а через 6 місяців – 81,0% проти 36,4%. Різниця між застосуванням живих фібробластів та плацебо досягли статистичної достовірності. При наступному спостереженні через 9 та 12 місяців пацієнти, які отримували лікування ДФ, продовжували демонструвати користь від лікування з коефіцієнтом відповіді 75,0 (за 100 бальною шкалою) та 81,6% відповідно. Клінічний ефект від ін'єкції фібробластів був особливо виражений серед пацієнтів, які лікувалися від рубців. У цій підгрупі частота позитивних відповідей через 6 місяців спостереження становила 48,4% проти 7,7% для плацебо. При 4-місячному спостереженні у 87 пацієнтів з носогубними складками та через 6 місяців у 84 аналогічних пацієнтів було відзначено видиме покращення [9].

На закінчення слід зазначити, що трансплантація аутологічних фібробластів займає особливе становище з огляду на те, що цей підхід дозволяє регенеративним шляхом власних культивованих фібробластів коригувати не тільки естетичні дефекти в косметології, а й відновлювати функціональну активність шкіри після опіків, акне, трофічних, діабетичних, променевиких ран, що довго не гояться, виразкової гангренозної піодермії, бульозної склеродермії, виразковому саркоїдозі та інших шкірних хвороб. Це безумовно дуже перспективна область косметології та медицини, що швидко розвивається [4].

ЛІТЕРАТУРА

1. Boss W.K.Jr., Usal H., Chernoff G. et al. Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery. *Clinics in Plastic Surgery*. 2000. V. 27. № 4. P. 613-626.
2. Oram Y., Turgut G. Autologous Dermal Filler Derived from Cultured Dermal Fibroblasts and Plasma Gel (Fibrogel): One-year Follow-up of a Case. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 2019. V. 12. № 4. P. 237–239.
3. Mine S., Fortunel N.O., Pigeon H. et al. Aging alters functionally human dermal papillary fibroblasts but not reticular fibroblasts: a new view of skin morphogenesis and aging. *PLoS ONE*. 2008. V. 3. № 12. e4066. P. 1-13.
4. Зорин В.Л., Зорина А.И., Петракова О.С. и др. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи. *Гены & Клетки*. 2009. Том IV. № 4. С. 26-40.
5. Fisher G.J., Varani J., Voorhees J.J. Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications. *Archives of Dermatology*. 2008. V. 144. № 5. P. 666–672.
6. Зорина А.И., Зорин В.Л., Черкасов В.Р. и др. Метод коррекции возрастных изменений кожи с применением аутологичных дермальных фибробластов. *Клиническая дерматология и венерология*. 2013. № 3. С. 30-37.
7. Парфенова Е.В., Ткачук В.А., Калинина Н.И. и др. Способ культивирования фибробластов для заместительной терапии. *Федеральная служба по интеллектуальной собственности и товарным знакам РФ*. 2008. Бюллетень № 9. Патент RU 2 320 720 C2. С. 1-13.
8. Eca L.P., Pinto D.G., de Pinho A.M.S. et al. Autologous Fibroblast Culture in the Repair of Aging Skin. *Dermatologic Surgery*. 2012. V. 38. № 2. P. 180–184.
9. 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. *Dermatologic Surgery*. 2007. V. 33. № 3. P. 263-268.

S. Korotnyan, V. Malinovskii. Transplantation of autologous fibroblasts in cosmetology – Article.

Summary. The topic of transplantation of autologous fibroblasts in cosmetology is considered. Particular attention is paid to applied aspects. Protocols for rejuvenation and elimination of post-acne scars are given. Statistical data are presented that prove the effectiveness of the proposed methods in aesthetic medicine.

Key words: skin, autologous fibroblasts, transplantation, wrinkles, nasolabial folds, scars.