

4. Страчунский Л.С. Современная антимикробная химиотерапия [Текст]/ Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов.- М.: Боргес, 2002.- 436 с.
5. Еловикова Т.М. Заболевания пародонта при гипофункции слюнных желез (клинические проявления, диагностика, профилактика, лечение) [Текст]/ Т.М. Еловикова // Автореф. Дисс. Доктора мед. наук. - Екатеринбург. - 2000г. - с. - 44.
6. Кисельникова Л.П. Роль антибиотикотерапии и антибиотикопрофилактики в комплексном лечении заболеваний пародонта [Текст]/ Л.П. Кисельникова // Стоматолог, 2008. - №3. - С.19 – 21.
7. Орехова Л.Ю. Комплексная оценка эффективности применения препарата «Цифран СТ» при обострении воспаления в пародонте [Текст]/ Л.Ю. Орехова, О.В. Прохорова, М.В.Осипова, И.Р.Мошкевич// Пародонтология, 2006г.- № 2 (39). – С.61-63.
8. John A. Martin, Roy C. Page, Elizabeth Krall Kaye, Mohamed T. Hamed, Carl F. Loeb Periodontitis Severity Plus Risk as a Tooth Loss Predictor 2009, -Vol. 80, No. 2.- P. 202-209.
9. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases [Text]/ Martin J Blaser// EMBO Rep. 2006 October; 7(10)-P. 956–960.
10. David L. Cochran Inflammation and bone loss in Periodontal Disease 2008.-Vol. 79, 8s.- P. 1569-1576.

ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ КОЖИ

Улыбин А.И., Зубанов П.С., Малишевская Е.Г.

Научный руководитель – д.м.н., профессор Makeев О.Г.

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава»

ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Ухудшение механических качеств дермы по мере старения организма во многом определяется снижением активности и количества клеточной составляющей дермы - фибробластов. В первую очередь утрачивается способность к образованию поперечных межволоконных связей и к синтезу гиалуроновой кислоты. В то же время разрушительная способность фибробластов в основном сохраняется. Поэтому в стареющей коже толщина дермы уменьшается, содержание влаги падает, а кожа теряет упругость и эластичность, появляются морщины.

Поэтому радикальное решение проблемы коррекции возрастных изменений перенесено в область применения клеточных технологий для заместительной терапии.

Вместе с тем, целый ряд проблем как биологического, так и этического характера выводит методы, использующие генетически идентичные реципиенту аутогенные клетки, в число исключительно возможных для практического использования. Их применению с целью коррекции возрастных изменений препятствует сложность работы с «взрослыми» клетками и ограниченный восстановительный потенциал клеток стареющего организма.

Ранее нами было показано, что эти трудности могут быть успешно преодолены при условии правильного выбора участка кожи для эксплантации, условий культивирования и строгом контроле качества и безопасности клеточного материала, накапливающегося в ходе культивирования.

Цель исследования - обоснование и разработка метода коррекции изменений кожи с использованием собственных (аутогенных) фибробластов кожи пациента, культивированных *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в Лаборатории молекулярных медицинских технологий Уральской госмедакадемии с привлечением баз косметологических салонов и лечебно-профилактических учреждений г. Екатеринбурга. Работа выполнялась в соответствии с решением Этического комитета и Ученого совета Уральской госмедакадемии Росздрава, утвердившего программу научно-исследовательских работ и протоколы доклинических и клинических испытаний клеточных технологий.

Эксперименты осуществлялись с учетом международных норм GLP (Кодекс правил для лабораторных исследований) и GCP (Кодекс правил для клинических испытаний). В испытаниях принимали участие 56 пациентов в возрасте от 43 до 65 лет.

Клетки после снятия с флакона или разморозки во всех случаях отмывали центрифугированием (150g; 10 мин; 4°C) с удалением супернатанта. Жизнеспособность и пролиферативная активность клеток перед введением составляла не менее 95%. Суспензию клеток, отмытых на 0,9% растворе NaCl, разогревали до 37°C непосредственно перед введением.

Выбор зоны введения клеток для терапевтической коррекции кожи осуществлялся самим пациентом на основании субъективного определения наиболее проблемной области лица и согласовывался с врачом-косметологом.

Количество однократно вводимых клеток варьировало в зависимости от объема проблемной зоны и составляло в среднем от 3×10^6 до 15×10^6 . Разовый объем вводимого препарата - 1-3 мл. Клетки вводили пациентам методом «папуль» для крупных морщин, обкалывания мелких морщин или равномерно на площадь проблемной зоны с помощью микроинъекций; введение повторялось 2 – 4 раза с 7-10- дневными перерывами.

Допущенные к испытанию пациенты имели признаки естественного увядания кожи лица или косметические дефекты. Противопоказаний для взятия эксплантата и применения данной технологии выявлено не было.

Культуры аутофибробластов проходили все этапы контроля. Отводов от трансплантации аутофибробластов по превышению контрольных лабораторных показателей у допущенных к испытаниям не зарегистрировано.

Изменения кожи после трансплантации отслеживались в динамике на протяжении 36 месяцев. Степень внешней косметической коррекции оценивалась как специалистами, так и самими испытуемыми. Все пациенты с периодичностью в 3 месяца заполняли специальную анкету, в которой отмечали степень положительной динамики, побочные эффекты, их выраженность и продолжительность.

Испытуемые оценивали общую степень своей удовлетворенности косметическим эффектом по 10-балльной шкале. За «0» принималась субъективная оценка состояния кожи до начала испытаний. Полная, с субъективной точки зрения пациента, ликвидация признаков старения кожи в зоне введения клеток оценивалась 10 баллами.

Экспертная оценка производилась по аналогичной шкале двумя специалистами с усреднением результатов на завершающем этапе испытания.

Ультразвуковое сканирование кожи 12 пациентам было выполнено на УЗ-сканере DUB (TPM, Германия) до введения клеток и спустя 6 месяцев.

Результаты клинических испытаний

После трансплантации аутофибробластов все пациенты отмечали появление лёгкого покраснения, слабого зуда, а также кровоизлияний в эпидермис (у 2 пациентов) при попадании иглой в микрососуды во время введения. У 44 испытуемых признаки покраснения бесследно исчезали в течение первых суток, у одной пациентки покраснение сохранялось до двух суток.

Все испытуемые после введения аутофибробластов отмечали положительный косметический эффект в проблемной области, заключавшийся в уменьшении выраженности крупных и мелких морщин, кожных дефектов, а также в общем оздоровлении кожи лица в области трансплантации фибробластов.

Каждые 3 месяца в течении 3 лет по 10-балльной шкале испытуемые отмечали степень удовлетворенности эффектом после введения. Оценка испытуемым степени выраженности эффекта в большинстве случаев совпадала с мнением экспертов.

Отслеживалась стойкая динамика прогрессирования положительного косметологического эффекта с течением времени (рис. 1). Наибольшая его выраженность наблюдалась к 15-18 месяцам после терапии. Примечательно, что 24 из 45 пациентов за 3 года наблюдений обратились повторно, а 13 – более 2 раз с целью косметической коррекции других зон тела (кисти рук, зона декольте, передняя брюшная стенка, колени и проч.). Коррекция проводилась с использованием «персональных» клеточных линий, хранящихся в жидком азоте.

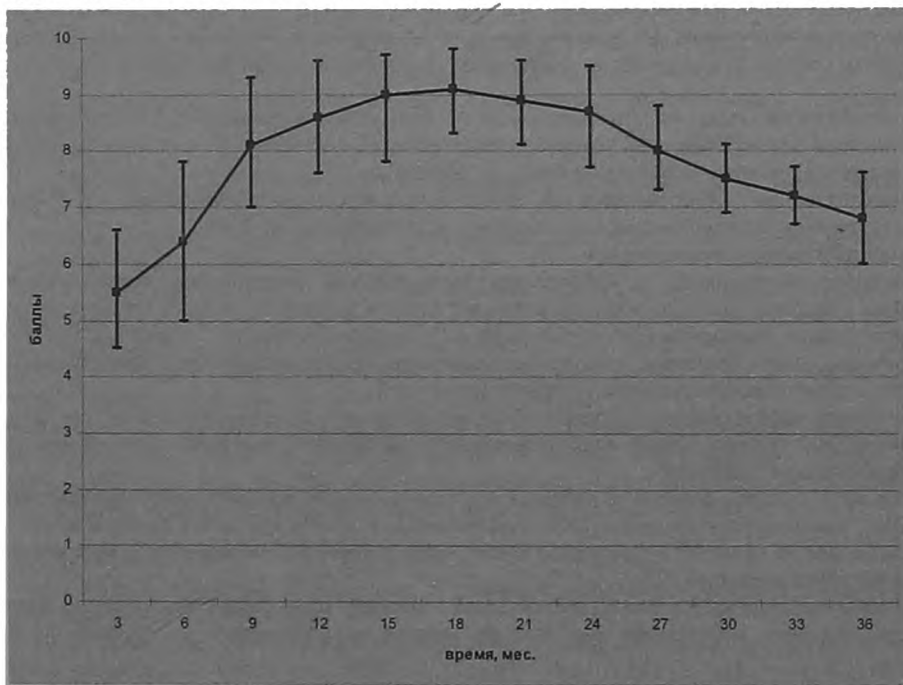


Рис.1. Представлена динамика прогрессирования положительного косметологического эффекта в течение 3 лет у 45 испытуемых. Оценка производилась по шести субъективным показателям (тургор, эластичность и утолщение кожи, ее цвет, разглаживание мелких и крупных морщин, коррекция косметических дефектов).



1



2

Рис. 1. Результаты УЗИ-сканирования проблемной зоны кожи испытуемой Н. до (1) и через 6 месяцев после (2) трансплантации клеток. Зарегистрировано утолщение дермального слоя кожи в 2,2-2,5 раза.

Обсуждение результатов исследования

Практическое применение культур клеток для омоложения кожи в косметологии с использованием аутогенных фибробластов началось сравнительно недавно. Некоторым исключением можно считать американских патентообладателей технологии их применения, выполнивших несколько тысяч пересадок аутофибробластов пациентам и проследивших сохранение положительного эффекта на состоянии кожи пациентов в течение 4 - 8 лет после пересадки[2,3].

Стойкий клинический эффект наблюдали пользователи запатентованной Boss W. K. технологии, в частности Келлер Г., введивший аутогенные фибробласты кожи пациентам в возрасте 37-61 год, а так же Chernoff G. S., проследивший результаты применения аутофибробластов у 104 пациентов с эффективностью коррекции изменений кожи от 30 до 75% [1, 4].

Полученные нами результаты также продемонстрировали эффективность применения аутоклеток для улучшения состояния кожи взрослых пациентов, что согласуется с мировым опытом.

Положительный клинический эффект применения препаратов фибробластов у пациентов в возрасте 43 - 65 лет указывает на сохранение восстановительного потенциала аутофибробластов, что позволяет использовать их для коррекции изменений кожи. Предстоящие исследования в этом направлении должны быть нацелены на оптимизацию схем терапии, количества вводимых фибробластов и установление отдаленных результатов.

Выводы

1. В результате внутридермального введения культуры аутологичных фибробластов наблюдается исчезновение мелких и коррекция глубоких морщин, увеличение тургора и толщины кожи. Эффект носит нарастающий характер, достигает максимума через 15-21 месяцев после введения клеток и сохраняется в течение 3 лет. Осложнений после трансплантации аутофибробластов за период наблюдения не зарегистрировано.

2. Полученные результаты открывают возможность практического применения данного метода в терапевтической косметологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Келлер Г., Себастиан Дж., Лакомб Ю., Тофт К., Ласк Г., Ревазова Е. Сохранность инъецируемых аутологичных человеческих фибробластов // Бюл. эксп. биол. мед. - 2000. - том 130(8). - с. 203-206.
2. Boss W.K. Autologous dermal fibroblasts for the repair of skin and soft tissue defects // United States Patent 5,665,372. - September 9. - 1997.
3. Boss W.K. Jr. Use of autologous undifferentiated mesenchymal cells for the repair of skin and soft tissue defects // United States Patent 5,858,390. -January 12. - 1999.
4. Boss W.K., Usal H., Chernoff G.S., Lask G.P., Fodor P.B. Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery // Clinics in Plastic Surgery. - 2000. - vol. 27. - № 4. - p. 613 - 626.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОБЛАСТИ ЭКСПЛАНТАЦИИ КОЖИ КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ПОСТНАТАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

Улыбин А.И., Шуман А.Е., Коротков А.В.

Научный руководитель – д.м.н., профессор Макеев О.Г.

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрав»

ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Положительный эффект, достигаемый после трансплантации постнатальных аутологичных фибробластов при лечении ряда заболеваний, до сих пор оставляет нерешенными многие вопросы. Прежде всего это относится к представлению об ограниченном восстановительном потенциале клеток стареющего