

УДК 611.77.068:616.5-089.819.843-036.8:547.995.15

ЛОКАЛЬНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИМПЛАНТАТОВ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ КОРРЕКЦИИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ

Хлусов И.А.^{1,3}, Игумнов В.А.², Чухнова Д.Л.², Митасова О.Л.², Зайцев К.В.⁴,
Абдулкина Н.Г.⁴, Зайцев А.А.⁴, Колесова Л.Ю.⁵

¹ НОЦ «Биосовместимые материалы и биоинженерия» при Томском политехническом университете, Сибирском государственном медицинском университете, Институте физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск

² ООО «Поликлиника „Сибирская“», г. Томск

³ ООО «Биоконструктор-С», г. Томск

⁴ Томский НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России, г. Томск

⁵ ООО «НовоНексус», г. Москва

РЕЗЮМЕ

Изучено локальное и системное влияние гелевых имплантатов Repleri на основе гиалуроновой кислоты, применяемой для коррекции возрастных изменений кожи. Стромальные стволовые клетки человека, несущие рецептор CD44 к гиалуроновой кислоте, мигрируют *in vitro* в структуру геля и морфологически созревают в фибробластоподобные формы, позитивно окрашивающиеся на кислую фосфатазу. Имплантация гелей Repleri в группе женщин с локальными и системными возрастными изменениями гомеостаза дает положительный местный эстетический эффект, связанный с полным сглаживанием носогубной складки кожи лица. Введение гелей Repleri в течение 1 года снижало системные показатели реального биологического возраста в сравнении с хронологическим (паспортным). В крови пациенток статистически значимо уменьшались концентрации липопротеинов и аспаргатаминонотрансферазы. Обнаруженный эффект можно рассматривать в качестве потенциального способа антивозрастной терапии не только кожи, но и паренхиматозных органов. В то же время в связи с гормональными реакциями организма после местного назначения гелей Repleri требуется длительный контроль системных показателей гомеостаза у женщин с серьезными изменениями внутренних органов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стромальные стволовые клетки, *in vitro*, кислая фосфатаза, женщины, носогубная складка, кровь, биохимия, гормоны.

Введение

Гиалуроновая кислота (ГК) является самой крупной молекулой семейства гликозаминогликанов (ГАГ), одного из главных структурно-функциональных компонентов основного вещества в различных тканях организма. В составе протеогликанов ГК во многом определяет механические свойства соединительной ткани (прочность, упругость, объем), в том числе как стромы паренхиматозных органов [9]. Ионообменная активность ГК, способность связывать воду, катионы и низкомолекулярные вещества влияют на трофику и регенерацию клеток (через гликокаликс) и

тканей [8, 9, 16]. При дисплазиях соединительной ткани и старении организма количество и качественный состав протеогликанов меняется вследствие нарушения динамического равновесия процессов их ферментативного расщепления и синтеза клетками соединительной ткани и ее производных [9, 20, 21]. Это неизбежно отражается на трофике, репарации и механических свойствах различных тканей.

Содержание ГК в коже [9] значительно снижается по мере старения организма [8]. Это предопределило пути борьбы с ее возрастными изменениями посредством введения препаратов ГК как одного из современных инструментов эстетической медицины.

За счет способности линейных молекул ГК формировать золь-гель с регулируемой вязкостью посредством контролируемого диаметра частиц геля вещество в течение

✉ Хлусов Игорь Альбертович, тел./факс 8 (382-2) 42-64-43; e-mail: khlusov63@mail.ru

ние определенного времени биодegradации поддерживают свою желеобразную форму. Это позволило разработать и довести до клинической практики гели ГК как удобные в использовании инъекционные имплантаты для коррекции возрастных изменений кожи (например, NCTF 135HA компании Filorga или Repleri фирмы NovoNexus) и других тканей (в частности, для суставов «Ферматрон» фирмы Biomet). Предполагается, что молекулы ГК могут влиять на хемотаксис фибробластов в зону введения имплантата [8]. Вопрос о влиянии имплантатов ГК на стромальные стволовые клетки остается для регенеративной медицины открытым.

В то же время ГК представляет собой гигантскую полимерную молекулу (длина около 1,7 мкм) с чередующимися дисахаридными единицами, состоящими из глюкоурановой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Данные мономеры, неизбежно выделяющиеся в процессе ферментативной биодegradации ГК, обладают собственными как локальными, так и системными биологическими эффектами [2, 16, 17]. Однако возможность дистантного влияния имплантатов ГК на гомеостаз изучалась, по-видимому, только в плане доклинических токсикологических испытаний вещества.

Цель исследования – изучить ответ культуры стромальных клеток человека на имплантат ГК *in vitro* и оценить потенциальные системные реакции организма пациентов на ГК при коррекции возрастных изменений кожи.

Материал и методы

В экспериментах *in vitro* использована культура пренатальных клеток человека, выделенных из легкого (ПКЛЧ) (линия FL-42, ООО «Банк стволовых клеток», г. Томск). После размораживания препараты представляют собой популяцию клеток округлой формы и размеров с ограниченным сроком жизни, сохраняющую при пассажах стабильный кариотип и онкогенно безопасную. Клетки прилипают к пластику и к 8-м сут культивирования принимают фибробластоподобную морфологию. Иммунофенотип клеточной культуры представлен CD34⁻, CD44⁺-антигенами, что позволяет отнести их к негемопоэтическим клеткам, несущим рецептор (CD44) к гиалуроновой кислоте (ГК). В присутствии остеогенных добавок часть клеток дифференцируется в остеобласты [13]. Представленная характеристика позволяет отнести линию FL-42 к пулу мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток.

Для культивирования клеток пользовались протоколом следующего состава: 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты, 10^{-6} моль дексаметазона, 280 мг/л L-глутамина, 50 мг/л гентамицина сульфата, 20% сыво-

ротки крови эмбрионов коров, 80% среды ДМЕМ/F12 (1 : 1). Клеточную взвесь добавляли в концентрации $2 \cdot 10^4$ жизнеспособных кариоцитов в 1 мл полной культуральной среды в лунки 24-луночных планшетов (Orange Scientific, Бельгия) и культивировали при 36 °С для прилипания клеток к пластиковой поверхности. Через 1 ч в лунки добавляли по 250 мкл геля Repleri (ООО «НовоНексус», Россия), чтобы заполнить всю площадь лунки планшета (площадь 1,77 см²). Контролем роста служила культура клеток на пластике с добавлением эквивалентного объема культуральной среды. В каждой группе использовали по четыре лунки, что позволило использовать по одному шприцу (объем 1 мл) гелей № 1, 2, 3 или 5.

Лекарственное средство представляет собой микроинъекционный гель ГК неживотного происхождения разной вязкости, предназначенный для имплантации в кожу лица для эстетической коррекции объемных дефектов кожного покрова посредством его заполнения (филерный эффект). Препарат (концентрация 24 мг/мл), содержащийся в филерах Repleri, представляет собой гелевые частицы стабилизированной ГК, суспендированные в менее стабилизированной ГК в растворе хлорида натрия до 1 мл. Других наполнителей не содержит.

Линейный размер частиц ГК варьирует от 0,1–0,15 мм (гель № 1) до 1,25–2 мм (гель № 5). Различная плотность инъекционной формы имплантата была необходима для контурной пластики носогубных, периорбитальных, носощечных и носослезных морщин в зависимости от глубины кожных дефектов.

Через 5 сут культивирования при температуре 36 °С и 100% влажности гель Repleri удаляли из лунок, сушили культуры клеток на воздухе в течение 24 ч. Затем выполняли фиксацию прилипших клеток в течение 30 с в парах 100%-го формалина. Из удаленного геля готовили тонкие мазки на стекле, сушили на воздухе, фиксировали в метаноле. В дальнейшем осуществляли цитохимическую окраску клеток на пластике и стекле на щелочную (ЩФ) и кислую (КФ) фосфатазы.

Активность ЩФ определяли в клетках методом азосочетания по G. Gomogí в модификации А.Г. Михеева, КФ – методом азосочетания по А. Goldberg и Т. Barka (1962) [6]. Применяли реактивы нафтол-AS-VI фосфат, соль прочного синего РР фирмы Lachema (Чехия). Кроме того, для исследования морфологии клеток часть препаратов окрашивали азуром II и эозином в течение 5 мин, изучали и фотографировали препараты с разрешением 8 мегапикселей на дюйм с использованием возможностей оптического микроскопа и системы видеодокументации Carl Zeiss.

В пилотном клиническом исследовании с марта 2011 г. по март 2012 г. принимали участие восемь женщин в возрасте 34–55 лет (средний возраст (42 ± 2) года). Каждой пациентке в проблемные зоны лица вводили имплантаты внутридермальные Repleri (регистрационное удостоверение Росздравнадзора № ФСЗ 2008/03147 от 02.12.2008) в суммарной дозе ГК 48 мг). При этом пяти пациенткам проводилась коррекция средних и глубоких морщин носогубных складок и носощечных морщин (гели № 3, 4). У трех женщин выполнялась коррекция носогубных складок, периорбитальных морщин и носослезной борозды гелями № 1, 2. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения пациенток из исследования: гиперчувствительность к ГК, беременность и кормление грудью, острые воспалительные или инфекционные поражения зоны интереса, отсутствие информированного согласия пациента и его отказ от процедуры. Препарат ГК нельзя сочетать с лазерными процедурами, пилингом и другими дермальными наполнителями.

До имплантации и через 10–12 мес после нее у пациенток проводили ультразвуковое исследование кожи. С помощью комплекса Aramo TS тестировали влажность, эластичность и жирность кожи.

Потенциальное системное влияние дермальных имплантатов Repleri оценивали по изменению показателей крови у каждой пациентки до имплантации и через 10–12 мес после нее. Периферическую кровь выделяли из локтевой вены, собирали в пробирки типа Vacuette (BD Diagnostics, США). В ООО «Открытая лаборатория» по общепринятой биохимической технике [10] согласно инструкциям фирм-производителей определяли концентрации глюкозы (ммоль/л), общего белка (г/л), мочевины (ммоль/л), креатинина (мкмоль/л), общего кальция (ммоль/л), холестерина (ммоль/л), липопротеидов низкой (ЛПНП, ммоль/л) и высокой плотности (ЛПВП, ммоль), триглицеридов (ТГ, ммоль/л), активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы (Ед/л) на биохимическом анализаторе, исследовали уровни кортизола (нмоль/л) и соматотропного гормона (СТГ, нг/мл) с помощью иммуноферментного анализа.

При оценке полученных данных были использованы методы статистического описания, а также методы проверки статистических гипотез, использующиеся в стандартных пакетах программ Statistica 6.0. Полученные результаты выражали как медиану Me , 25%-й (Q_1) и 75%-й (Q_3) квартили. Для оценки статистической значимости различий использовали непараметрический T -критерий Вилкоксона для зависимых вы-

борок. С целью выявления связи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ по Спирмену. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В настоящее время активно изучаются *in vitro* двумерные (2D) и трехмерные (3D) конструкции, имитирующие естественное микроокружение для стволовых клеток на основе полимерных и гелевых матриц [23]. В связи с этим было выполнено сокультивирование линии FL-42 культуры ПКЛЧ с гелевыми имплантатами Repleri различной плотности. Подобные работы необходимы для понимания механизмов влияния имплантатов на процессы клеточной регенерации при их введении пациентам.

Исследование *in vitro* реакции стромальных стволовых клеток человека показало, что в контрольной группе роста наблюдалось достаточно равномерное распределение клеток по поверхности лунок культурального планшета (рис. 1,а). Клетки различного диаметра (10–30 мкм) имели преимущественно округ-

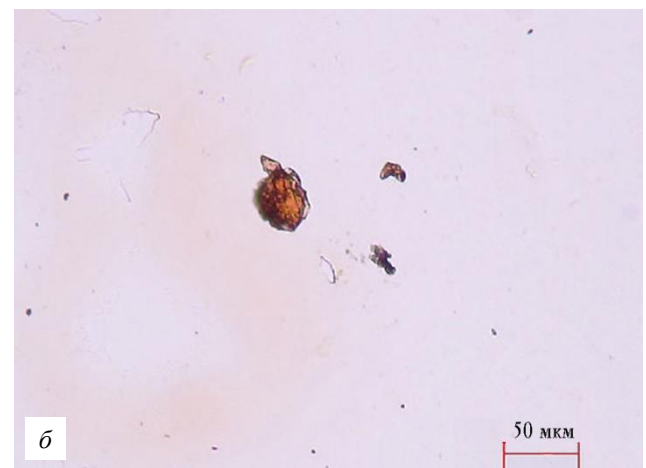
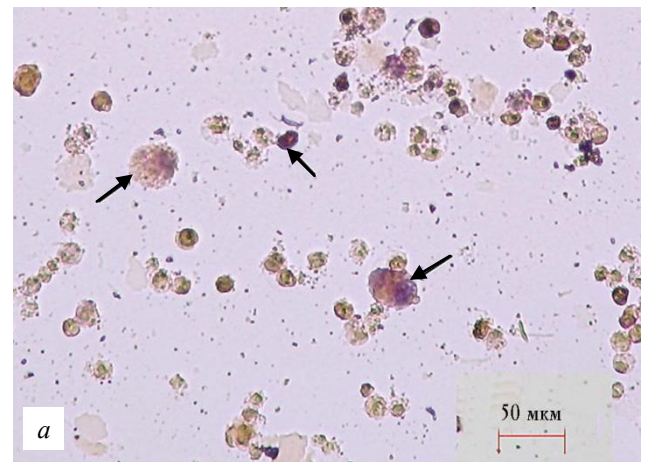


Рис. 1. Состояние культуры стромальных стволовых клеток человека на пластике через 5 сут сокультивирования с гелем гиалуроновой кислоты. Окраска на щелочную фосфатазу: *a* – контрольная культура вне контакта с гелем; *б* – одиночные клетки на пластике после удаления геля. Стрелками отмечены клетки, окрашенные на щелочную фосфатазу

форму, единичные мононуклеары окрашивались на щелочную фосфатазу (ЩФ). В целом описанные морфофункциональные свойства характерны для данной линии клеток человека при краткосрочном культивировании в среде без остеогенных добавок.

После контакта клеточной популяции с гелем Repleri различной плотности в сравнении с контролем в поле зрения отмечались только единичные клетки, прилипшие к пластиковой поверхности культуральных планшетов (рис. 1,б). Мазки геля, извлеченного из лунок планшета, позволили обнаружить неправильной формы клетки с псевдоподиями, расположенные между частями ГК (рис. 2).



Рис. 2. Стромальная клетка человека с псевдоподией между частями геля гиалуроновой кислоты. Окраска на кислую фосфатазу. Стрелкой отмечена окрашенная клетка

Полученные данные позволили заключить, что стромальные клетки, несущие рецептор к гиалуроновой кислоте, мигрируют в структуру геля и претерпевают морфологическое созревание в фибробластоподобные формы. Примерно двукратное уменьшение площади

клеток, расположенных в геле, по сравнению с культурой на пластике (рис. 1,б, 2) говорит о принятии ими трехмерной (3D) ориентации. Таким образом, хемотаксический эффект ГК реализуется не только на уровне зрелых фибробластов кожи, как полагают [8], но и их клеток-предшественников.

Цитохимическое исследование показало, что стромальные клетки, эмигрировавшие с пластиковой поверхности лунок планшетов в гель, практически не окрашивались на ЩФ, но воспринимали краситель для кислой фосфатазы (рис. 2). Кислая фосфатаза – лизосомальный фермент многих стромальных (фибробласты, остеобласты) и кроветворных клеток (моноциты-макрофаги, гранулоциты, лимфоциты) [9, 11, 15]. Позитивно окрашивающиеся на КФ клетки обнаруживаются в составе колониеобразующих [22] и кластеробразующих единиц фибробластов [12], которые представляют собой гетерогенную популяцию родоначальных мезенхимальных клеток в разной стадии дифференцировки [22]. Фибробласты, экспрессирующие КФ [9], назвали фиброкластами, способными ремоделировать межклеточный матрикс соединительной ткани и ее производных.

В связи с этим инъекция имплантатов Repleri в качестве наполнителей (филеров) для эстетической коррекции глубоких морщин должна сопровождаться ферментативной деградацией и клеточной резорбцией искусственного материала, что отмечается в инструкции к препарату. В таком случае неизбежно высвобождение мономерных единиц ГАГ (гиалуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина). Они легко проникают в кровь и могут оказывать системный эффект на организм пациенток.

Как следствие, в группах пациенток до и после имплантации геля было проведено изучение биохимических показателей крови (таблица) как интегральной системы, отражающей общее состояние всего организма.

Морфологические, гормональные и биохимические показатели пациентов в условиях коррекции возрастных изменений кожи лица у женщин (Me (Q1-Q3))														
Гормоны		Биохимические показатели крови											Глубина носогубной складки, мм	
Кортизол	СТГ	Глюкоза	Холестерин	ЛПНП	ЛПВП	ТГ	Общий белок	Мочевина	Креатинин	АСТ	ЩФ	Са общий	слева	справа
До введения имплантата														
186,55 (142,95– 231,35)	0,60 (0,39– 3,09)	3,74 (3,62– 5,13)	5,42 (4,01– 5,93)	3,15 (2,45– 3,61)	1,42 (1,07– 1,60)	1,29 (0,88– 1,63)	65,7 (64,8– 71,5)	4,77 (4,21– 6,01)	78,15 (65,95– 82,55)	19,5 (13–23,5)	69,1 (52,6– 76,7)	2,28 (2,19– 2,36)	1,5 (1,2– 2,4)	1,35 (1,2– 2,3)
После введения имплантата														

376,40*	1,24	5,06	4,76*	2,66*	1,48	0,84*	69,5	3,23	67,0	13,5*	75,1*	2,32	0*	0*
(329,35–421,55)	(0,42–2,96)	(4,72–5,29)	(4,15–5,05)	(2,41–2,97)	(1,29–1,74)	(0,49–1,1)	(68,0–71,0)	(2,94–4,13)	(55,85–75,45)	(12,0–22,5)	(66,7–83,45)	(2,1–2,45)	$p < 0,01$	$p < 0,01$
$p < 0,01$			$p < 0,03$	$p < 0,04$		$p < 0,02$				$p < 0,05$	$p < 0,05$			

* Статистически значимые различия согласно *T*-критерию Вилкоксона.

До инъекции имплантатов гормональные и биохимические показатели крови варьировали в пределах референтных значений. В то же время выявлена тесная корреляционная связь с возрастом пациенток: для СТГ ($r = -0,73$; 0,042), холестерина ($r = 0,88$; 0,004), ЛПВП ($r = 0,80$; 0,016), ЛПНП ($r = 0,84$; 0,01), мочевины ($r = 0,91$; 0,001). В свою очередь, увеличение уровня мочевины в крови сопряжено с ростом концентраций креатинина ($r = 0,81$; 0,015). Полученные результаты совпадают с данными ранее проведенных исследований [14, 18], отражают функциональные изменения гормональной системы, печени и почек как центральных звеньев контроля гомеостаза организма.

Другими словами, имплантация гелей Repleri проводилась в группе пациенток с возрастными изменениями гомеостаза. При этом одним из первых органов-мишеней вследствие дополнительного воздействия экстремальных факторов внешней среды является кожа. Отмечены симметричные возрастные изменения кожи лица, поскольку глубина носогубной складки слева и справа коррелировала на 99% ($p < 0,0003$). Введение филера показало хорошие результаты в контурной пластике морщин. Имплантаты Repleri обладают хорошей субъективной переносимостью, дают положительный местный эстетический эффект, корригируя текстуру кожи и глубину зон дермальной атрофии.

Так, через 10–12 мес после их имплантации, по данным ультразвукового исследования (УЗИ), у всех испытуемых подкожно-жировой и мышечный слои не изменены. Субдермальные скопления жидкости не определяются. Эхогенность и структура дермального слоя обычная. Состояние окружающих мягких тканей без особенностей. У всех пациенток произошло полное сглаживание носогубной складки (таблица).

Применение комплекса Агато TS продемонстрировало незначительное повышение влажности и эластичности кожи, ее жирность не изменилась.

Кроме позитивного местного влияния имплантаты ГК или продукты их биодеградации оказывали выраженное системное действие на показатели гомеостаза. В крови пациенток статистически значимо снижены индексы жирового обмена (холестерин на 12%, ЛПНП на 16%, ТГ на 35%) и печеночные функциональные пробы (АСТ на 31%).

Существует множество способов определения реального биологического возраста человека, включая

анализы крови [1]. Согласно ранее полученным данным [18], биологический возраст у женщин Томской области тесно сопряжен с 10 индексами здоровья, включая прямую корреляцию с липидным спектром крови (холестерин, ЛПНП, ТГ). В связи с этим имплантация гелей Repleri реально (в течение 1 года) улучшает показатели биологического возраста в сравнении с хронологическим (паспортным). Обнаруженный эффект можно рассматривать в качестве средства антивозрастной терапии не только кожи, но и паренхиматозных органов.

По-видимому, если печень является основным органом-мишенью дистантного действия имплантатов Repleri, то их эффект во многом опосредован мономерами глюкуроновой кислоты, длительно (в течение 1 года) выделяющимися в кровь при биодеградации ГК. Как известно, молекулы глюкуроновой кислоты являются компонентом системы детоксикации организма посредством реакции глюкуронирования метаболитов, протекающей в гепатоцитах.

С другой стороны, глюкуроновая кислота – непосредственный участник и регулятор процессов кроветворения и воспаления [2, 4], что может объяснять повышающуюся у шести из восьми пациенток (в среднем на 9%; $p < 0,05$) активность ЩФ после введения имплантатов Repleri в кожу (таблица). Рост общей активности фермента в крови считается маркером воспалительных процессов [7]. В таком случае механизм действия имплантата на регенерацию кожи может быть связан с запуском длительного (в течение 1 года), вяло текущего локального воспаления.

В пользу этого предположения свидетельствует факт повышенного (до 202% по сравнению с исходным уровнем; $p < 0,01$) содержания кортизола в крови через 1 год после введения имплантата. Глюкокортикоиды являются гормонами стрессреализующей системы, запускающей в том числе системный ответ организма на инородное тело и (или) локальное воспаление [19]. В таком случае кортизол наряду с глюкуроновой кислотой также может быть посредником дистантного влияния имплантатов Repleri на гомеостаз.

Согласно классификации В.И. Кулинского и И.А. Ольховского [5], глюкокортикоиды реализуют резистентную стратегию адаптации организма к чрезвычайным раздражителям, протекающую через мобилизацию внутренних ресурсов организма. В условиях

заболеваний внутренних органов система регуляции гомеостаза теряет пластичность и организму труднее адаптироваться к дополнительным нагрузкам. Стресс может провоцировать переход компенсаторно-приспособительных реакций в патологическую плоскость [3], сопровождающийся обострением болезней и преждевременным старением.

Согласно данным УЗИ, в популяции жителей Томской области с 45-летнего возраста выявляются структурные изменения в среднем двух-трех внутренних органов, в первую очередь, печени и желчного пузыря, почек, щитовидной и поджелудочной желез [14, 18].

Системные реакции организма позволяют считать гели Repleri биоактивными имплантатами, требующими после их местного применения длительного контроля показателей гомеостаза у основного контингента пациенток, нуждающихся в эстетической коррекции возрастных изменений кожи.

Заключение

Стромальные стволовые клетки человека, несущие рецептор CD44 к гиалуроновой кислоте, мигрируют *in vitro* в структуру геля и претерпевают морфологическое созревание в фибробластоподобные формы, позитивно окрашивающиеся на кислую фосфатазу.

Имплантация гелей Repleri в группе пациенток с локальными и системными возрастными изменениями гомеостаза дает положительный местный эстетический эффект, связанный с полным сглаживанием носогубной складки кожи лица.

Введение в кожу гелей Repleri реально (в течение 1 года) улучшает системные показатели биологического возраста в сравнении с хронологическим (паспортным). В крови пациенток статистически значимо снижаются уровни липопротеидов и аспаргатаминотрансферазы. Обнаруженный эффект можно рассматривать в качестве средства антивозрастной терапии не только кожи, но и паренхиматозных органов.

В то же время в связи с гормональными реакциями организма при местном назначении гелей Repleri требуются меры длительного контроля показателей гомеостаза у контингента пациенток с серьезными изменениями внутренних органов.

Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке программы «Старт-2012» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (контракт 10294р/18112 от 21.05.2012).

Коллектив авторов выражает благодарность ООО «НовоНексус» (г. Москва) за предоставленную линейку имплантатов Repleri.

Литература

1. Белозерова Л. Алгоритм создания методов определения биологического возраста человека // Эстетическая медицина. 2006. № 2. С. 199–204.
2. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Карпова Г.В. и др. Влияние D-глюкуроновой кислоты на процессы регенерации грануломоноцитопоза при цитостатической миелодепрессии // Эксперим. и клинич. фармакология. 1993. № 6. С. 25–28.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Удут В.В. и др. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1996. 304 с.

4. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 276 с.
5. Кулинский В.И., Ольховский И.А. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов // Успехи современной биологии. 1992. Т. 112, вып. 5–6. С. 697–714.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 364 с.
7. Лифищ В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике: справочник. М.: МИА, 1998. 303 с.
8. Рубина К., Калинина Н., Сысоева В. и др. Фенотипическая и функциональная характеристика клеток, используемых для аутотрансплантации // Эстетическая медицина. 2006. № 3. С. 291–297.
9. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М.: Медицина, 1981. 312 с.
10. Тиц Н. Клиническое руководство по лабораторным тестам: пер. с англ. / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Юни-мед-Пресс, 2003. 943 с.
11. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. М.: Медицина, 1983. 320 с.
12. Хлусов И.А., Нечаев К.А., Шевцова Н.М. и др. К вопросу о фибробластоподобных клетках в периферической крови человека // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010. Т. V, № 4. С. 72–78.
13. Хлусов И.А., Хлусова М.Ю., Зайцев К.В. и др. Пилотное исследование *in vitro* параметров искусственной ниши для остеогенной дифференцировки пула стромальных стволовых клеток человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2010. № 4. С. 216–224.
14. Хлусов И.А., Чухнова Д.Л., Слепченко Г.Б. Проблемы деадаптации, патологии внутренних органов и старения в условиях техногенного загрязнения // Микроэлементы в медицине. 2008. Т. 9, № 1–2. С. 32–33.
15. Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я. Клеточные основы кроветворения. М.: Медицина, 1977. 272 с.
16. Юшков Б.Г., Понов Г.К., Северин М.В., Ястребов А.П. Гликопротеины и гемопоэз. Екатеринбург: Изд-во Ур-ГМИ, 1994. 127 с.
17. Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н. Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. Свердловск: УрО АН СССР, 1988. 153 с.
18. Antipov S.A., Choukhnova D.L., Nekrasova A.M. et al. Novel technologies to determine microelements status and real biological age are the basis of diseases diagnostics and premature aging prophylaxis // New technology in integrative medicine and biology: Proc. Intern. Scient. Interdisciplinary Workshop, Bangkok-Pattaya, Thailand, 1–13 March, 2006. Bangkok – Pattaya, 2006. P. 7–8.
19. Biomaterials Science: an introduction to Materials in Medicine / ed. by B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons. 2nd ed. Elsevier Inc. 2004. 851 p.
20. Fedarko N.S. Isolation and purification of proteoglycans // Experientia. 1993. V. 49. P. 369–382.
21. Fedarko N.S., Vetter U.K., Gehron Robey P. Age-related changes in hyaluronan, proteoglycan, collagen and osteonectin synthesis by human bone cells // J. Cell Physiol. 1992. V. 151. P. 215–227.
22. He Q., Wan C., Li G. Concise review: multipotent mesenchymal stromal cells in blood // Stem cells. 2007. V. 25. P. 69–77.
23. Lutolf M.P., Gilbert P.M., Blau H.M. Designing materials to direct stem-cell fate // Nature. 2009. V. 462. P. 433–441.

Поступила в редакцию 15.10.2012 г.

Утверждена к печати 07.12.2012 г.

Хлусов Игорь Альбертович (✉) – д-р мед. наук, профессор, научный руководитель НОЦ «Биосовместимые материалы и биоинженерия», профессор кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ, директор ООО «Биоконструктор-С» (г. Томск).

Игумнов Виталий Александрович – канд. мед. наук, пластический хирург ООО «Поликлиника „Сибирская“» (г. Томск).

Чухнова Диана Леонидовна – канд. мед. наук, директор ООО «Поликлиника „Сибирская“» (г. Томск).

Митасова Ольга Леонидовна – врач-косметолог ООО «Поликлиника „Сибирская“» (г. Томск).

Зайцев Константин Васильевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией изучения механизмов действия физических факторов Томского НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России (г. Томск).

Абдулкина Наталья Геннадиевна – д-р мед. наук, зам. директора по науке Томского НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России (г. Томск).

Зайцев Алексей Александрович – канд. мед. наук, директор Томского НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России (г. Томск).

Колесова Лия Юрьевна – врач-косметолог ООО «НовоНексус» (г. Москва).

✉ **Хлусов Игорь Альбертович**, тел./факс 8 (382-2) 42-64-43; e-mail: khlusov63@mail.ru

LOCAL AND SYSTEM EFFECTS OF HYALURONIC ACID IMPLANTS IN CONDITIONS OF CORRECTIONS OF AGE-RELATED CHANGES IN SKIN

Khлusov I.A.^{1,3}, Igumnov V.A.², Choukhnova D.L.², Mytasova O.L.², Zaitsev K.V.⁴, Abdulkina N.G.⁴, Zaitsev A.A.⁴, Kolesova L.Yu.⁵

¹ Scientific Educational Center "Biocompatible Materials and Bioengineering" attached to Tomsk Polytechnic University and Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Siberian Polyclinics Ltd., Tomsk, Russian Federation

³ Bioconstructor-S Ltd., Tomsk, Russian Federation

⁴ Tomsk SRI of Balneology and Physiotherapy, Tomsk, Russian Federation

⁵ NovoNexus Ltd., Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Local and system influence the Repleri gel implants on the base of hyaluronic acid used to correct age-related changes in skin has been studied. Human stromal stem cells with CD44 membrane receptor to hyaluronic acid migrates in vitro into gel structure and matures morphologically in fibroblast-like forms stained positively with acid phosphatase. Repleri gels implantation in the group of women with local and system age-related changes in homeostasis has positive local effect connected with full deletion of nasolabial fold in facial skin. Repleri gels injection has been decreasing during 1 year the system indices of real biological age as compared with chronological (passport) one. Lipoproteins and aspartate aminotransferase concentrations diminished statistically in women blood. An effect revealed may be considered as potential way of anti-age therapy of not only skin but parenchymal organs. At the same time, a long-term control of homeostasis distant indices in women with serious changes in parenchymal organs is necessary after local Repleri gels injection because of organism's hormonal reactions.

KEY WORDS: stromal stem cells, *in vitro*, acid phosphatase, women, nasolabial fold, blood, biochemistry, hormones.

Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 1, pp. 61–68.

References

1. Belozerova L. *Esthetic medicine*, 2006, no. 2, pp. 199–204 (in Russian).
2. Gol'dberg Ye.D., Dygaj A.M., Karpova G.V. i dr. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 1993, no. 6, pp. 25–28 (in Russian).
3. Gol'dberg Ye.D., Dygaj A.M., Udut V.V. i dr. *Determinants of structural organization of life support systems in norm and under pathologic process development*. Tomsk, Tomsk State University Publ., 1996. 304 p. (in Russian).
4. Dygaj A.M., Klimenko N.A. *An inflammation and hemopoiesis*. Tomsk: Tomsk State University Publ., 1992. 276 p. (in Russian).
5. Kulinskij V.I., Ol'hovskij I.A. Two adaptative strategy – resistant and tolerant. A role of hormones and receptors. *Uspehi sovremennoj biologii*, 1992, vol. 112, issue. 5–6, pp. 697–714 (in Russian).
6. *Laboratory methods of investigation in clinic: Handbook*. V.V. Men'shikova ed. Moscow, Medicina Publ., 1987. 364 p. (in Russian).
7. Lifshic V.M., Sidel'nikova V.I. *Biochemical analyses in clinic: Handbook*. Moscow, MIA Publ., 1998. 303 p. (in Russian).
8. Rubina K., Kalinina N., Sysoeva V. i dr. *Esthetic medicine*, 2006, no. 3, pp. 291–297 (in Russian).
9. Serov V.V., Shehter A.B. *Connective tissue (functional morphology and general pathology)*. Moscow, Medicina Publ., 1981. 312 p. (in Russian).
10. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1998. (Russ. ed.: *Klinicheskoe rukovodstvo po laboratornym testam*. pod red. prof. Norberta U. Tica; gl. red. rus. izd. prof. V.V. Men'shikov ; per. s angl. prof. V.V. Men'shikov i dr. Moscow, JuNIMED-Press Publ., 2003. 942 p.
11. Hayhoe F.G.J., Quaglino D. *Hematological cytochemistry*. Churchill Livingstone, Edinburgh, London & N.Y., 1980. (Russ. ed.: Hejhou F.G. Dzh., Kvaglino D. *Gematologicheskaja citohimija*. Moscow, Medicina Publ., 1983. 320 p.).
12. Khлusov I.A., Nechaev K.A., Shevcova N.M. i dr. *Kletchnaja transplantologija i tkanevaja inzhenerija*, 2010, vol. V, no. 4, pp. 72–78 (in Russian).
13. Khлusov I.A., Khлusova M.Yu., Zaitsev K.V. et al. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2011, vol. 150, no. 4, pp. 535–542. doi: 10.1007/s10517-011-1184-4 (in Russian).
14. Khлusov I.A., Chuhnova D.L., Slepchenko G.B. *Trace elements in medicine*, 2008, vol. 9, no. 1–2, pp. 32–33 (in Russian).
15. Chertkov I.L., Fridenshtejn A.Ja. *Cellular basis of hemopoiesis*. Moscow, Medicina Publ., 1977. 272 p.
16. Jushkov B.G., Popov G.K., Severin M.V., Jastrebov A.P.

- Glycoproteins and hemopoiesis*. Ekaterinburg: UrGMI Publ., 1994. 127 p. (in Russian).
17. Jastrebov A.P., Jushkov B.G., Bol'shakov V.N. *Hemopoiesis regulation under extreme factors action on organism*. Sverdlovsk: UrB AS USSR Publ., 1988. 153 p. (in Russian).
 18. Antipov S.A., Choukhnova D.L., Nekrasova A.M. et al. Novel technologies to determine microelements status and real biological age are the basis of diseases diagnostics and premature aging prophylaxis. *New technology in integrative medicine and biology: Proc. Intern.Scient. Interdisciplinary Workshop, Bangkok-Pattaya, Thailand, 1–13 March 2006*. Bangkok-Pattaya, 2006, pp. 7–8.
 19. *Biomaterials Science: an introduction to Materials in Medicine*. Ed. by B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons. 2nd ed. Elsevier Inc., 2004. 851 p.
 20. Fedarko N.S. Isolation and purification of proteoglycans. *Experientia*, 1993, vol. 49, pp. 369–382.
 21. Fedarko N.S., Vetter U.K., Gehron Robey P. Age-related changes in hyaluronan, proteoglycan, collagen and osteonectin synthesis by human bone cells. *J. Cell Physiol*, 1992, vol. 151, pp. 215–227.
 22. He Q., Wan C., Li G. Concise review: multipotent mesenchymal stromal cells in blood. *Stem cells*, 2007, vol. 25, pp. 69–77.
 23. Lutolf M.P., Gilbert P.M., Blau H.M. Designing materials to direct stem-cell fate. *Nature*, 2009, vol. 462, pp. 433–441.

Khlusov Igor A. (✉), Scientific Educational Center “Biocompatible Materials and Bioengineering”, Chair of Morphology and General Pathology of Siberian State Medical University, Bioconstructor-S Ltd., Tomsk, Russian Federation.

Igumnov Vitali A., Siberian Polyclinics Ltd., Tomsk, Russian Federation.

Choukhnova Diana L., Siberian Polyclinic Ltd., Tomsk, Russian Federation.

Mytasova Olga L., Siberian Polyclinics Ltd., Tomsk, Russian Federation.

Zaitsev Konstantin V., Laboratory of Study of Mechanisms of Physical factors Action, Tomsk SRI of Balneology and Physiotherapy, Tomsk, Russian Federation.

Abdulkina Natalya G., Tomsk SRI of Balneology and Physiotherapy, Tomsk, Russian Federation.

Zaitsev Aleksey A., Tomsk SRI of Balneology and Physiotherapy, Tomsk, Russian Federation.

Kolesova Liah Yu., NovoNexus Ltd., Moscow, Russian Federation.

✉ **Khlusov I.A.**, Ph./Fax +7 (3822) 42-64-43; e-mail: khlusov63@mail.ru