

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЦЕПКОЛЕНКО ГАННА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 611.91+611.92 : 572.544+572.545

ДИСЕРТАЦІЯ
ЗАСТОСУВАННЯ АУТОЛОГІЧНИХ ФІБРОБЛАСТІВ В КОРЕКЦІЇ
ІНВОЛЮЦІЙНО-ДИСТРОФІЧНИХ ЗМІН ШКІРИ

14.01.20 – Шкірні та венеричні хвороби

222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


Г.В. Цепколенко

Науковий керівник Літус Олександр Іванович, доктор медичних наук,
професор, заслужений лікар України

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Цепколенко Г.В. Застосування аутологічних фібробластів в корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.20 “Шкірні та венеричні хвороби” (222 – “Медицина”). – Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2020.

Дисертація присвячена клінічному, інструментальному й імунологічному вивченню розвитку інволюційно-дистрофічних змін у шкірі обличчя пацієнток різного віку та розробці клінічної методики їх лікування – неофіброліфтингу – застосуванням трансплантації аутофібробластів у підготовлену попереднім введенням збагаченої тромбоцитами плазми (PRP) шкіру. При розробці схеми лікування спиралися на дані про властивості клітин, що трансплантуються, клінічне, інструментальне й імунологічне вивчення особливостей дерми пацієнток.

У дослідженні брали участь 107 пацієнток, які потребували косметологічної допомоги, та 22 жінки 25-35 років без візуальних ознак наявності інволюційно-дистрофічних змін, які утворили групу порівняння (ГП). Пацієнтки були розподілені на чотири вікові групи з урахуванням властивостей шкіри обличчя за класифікацією О.С. Панової (2001). У першій групі жінок (25-35 років) були ранні вікові зміни, що насамперед характеризувалися наявністю мімічних і поверхневих статичних зморшок – 2А клас. У другій групі (36-45 років) переважали глибокі статичні зморшки з начальними проявами гравітаційного птозу – 2Б клас. У пацієнток групи 3 (46-55 років) були глибокі статичні зморшки та гравітаційний птоз 1-2 ступеня – 3А клас. У четвертій групі жінок (56 років і старше) відмічались глибокі мімічні та статичні зморшки і гравітаційний птоз 3-го ступеня – 3Б, 3В класи.

Попри доволі чіткі візуальні прояви інволюційно-дистрофічних змін, вважається доречним у проведенні інноваційних тонких досліджень підтримувати суто клінічні спостереження об'єктивними методами. Серед останніх загальне визнання та широке використання знайшли неінвазійні інструментальні методики вивчення властивостей шкіри, основні з яких використані в роботі: ультрасонографічне вимірювання товщини епідермісу та дерми, акустичної щільності шкіри, корнеометрія та вапориметрія, визначення швидкості кровотоку в мікроциркуляторному руслі з застосуванням ультразвукового доплерівського сканування та дослідження в клітинній культурі з біоптатів шкіри кількості лімфоцитів різних субпопуляцій.

Встановлено, що з віком у пацієток суттєво зменшувалася товщина епідермісу, дерми, акустична щільність, а також вологість рогового шару шкіри та підвищувалися показники трансепідермальної втрати води (ТЕВВ), що загалом узгоджується з даними літератури. Товщина епідермісу знижувалася відносно рівня показника в ГП у пацієток 36-45 років на 22 % ($p < 0,05$) і у пацієток 56 років і старше – на 21 % ($p < 0,05$). Товщина дерми була найбільшою в молодшій групі (25-35 років); як і товщина епідермісу, вона починала знижуватися у віці 36-45 років (на 21 %; $p < 0,05$) і найменшою (на 24 % менше; $p < 0,05$) була в старшій групі. Зниження акустичної щільності мало аналогічну динаміку з найбільшою щільністю в групі 25-35 років і найменшою – у віці 56 років і старше (на 22 % менше; $p < 0,05$). Спостерігалось також поступове зниження показників корнеометрії (від молодшої групи до старшої): в 36-45 років – на 19 % ($p < 0,001$), в 46-55 років – на 30 % ($p < 0,001$), у 56 років і старше – на 40 % ($p < 0,001$). Навпаки, ТЕВВ з віком поступово підвищувалася з молодшої групи до старшої: в 46-55 років – на 31 % ($p < 0,001$), в 56 років і старше – на 65 % ($p < 0,001$).

Встановлено також, що з віком суттєво знижувалася об'ємна швидкість кровотоку (ОШК) і в ділянці чола, і в ділянці щоки. У ділянці чола ОШК зменшувалася відносно рівня показника в ГП на 22 % ($p < 0,05$) у пацієток

46-55 років і на 72 % ($p < 0,001$) – у пацієток 56 років і старше. ОШК в ділянці щоки знижувалася на 35 % ($p < 0,01$) у пацієток 36-45 років, на 53 % ($p < 0,001$) – у пацієток 46-55 років і на 69 % ($p < 0,001$) – у пацієток 56 років і старше.

Дані про важливу роль функціонально повноцінних фібробластів у шкірі обґрунтовують їх використання для лікування інволюційно-дистрофічних змін. З причин безпеки й імунологічної сумісності перевага надана трансплантації аутофібробластів, які вирощували *in vitro* з експлантатів, що отримувалися методом punch-біопсії шкіри заушної ділянки.

Отримані в умовах спеціалізованої лабораторії клітинного культивування зразки культивували в ростовому середовищі при 5 %-й концентрації CO_2 . Кожні 3-4 дні проводили заміну живильного середовища.

Розроблена й апробована методика комбінованого застосування аутотрансплантації 60×10^6 дермальних фібробластів (ДФБ) у підготовлену обробкою старіючої шкіри 14 мл PRP. Як відомо, тромбоцити продукують велику кількість ростових факторів.

У результаті проведення неофіброліфтингу структурно-функціональні показники шкіри суттєво відновлювалися. Товщина епідермісу збільшувалася відносно рівня до лікування в пацієток 36-45 років після трансплантації ДФБ на 17 % ($p < 0,05$); у пацієток 46-55 років після введення PRP – на 20 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ на 22 % ($p < 0,05$), через 6 і 12 місяців – на 22 % і 23 % ($p < 0,05$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після трансплантації ДФБ на 19 % ($p < 0,05$) і через 6 місяців – на 24 % ($p < 0,05$).

Товщина дерми збільшувалася відносно рівня до лікування в пацієток 25-35 років після введення PRP на 9 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ на 11 % ($p < 0,05$), через 6 місяців на 18 % ($p < 0,05$); у пацієток 36-45 років і 46-55 років через 12 місяців на 28 % і 19 % ($p < 0,05$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після трансплантації ДФБ на 16 % ($p < 0,05$), через 6 і

12 місяців на 23 % і 27 % ($p < 0,05$) відповідно.

Акустична щільність шкіри збільшувалася відносно показників до лікування в пацієток 25-35 років і 36-45 років через 12 місяців на 19 % і 33 % ($p < 0,05$) відповідно; у пацієток 46-55 років і 56 років і старше через 6 місяців на 17 % і 31 % ($p < 0,05$), через 12 місяців на 25 % і 34 % ($p < 0,05$) відповідно.

Гідратація шкіри збільшувалася відносно показників до лікування в пацієток 25-35 років після трансплантації ДФБ на 30 % ($p < 0,001$) і через 6 місяців на 26 % ($p < 0,001$); у пацієток 36-45 років після введення PRP на 17 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 30 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 35 % і 31 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 46-55 років після введення PRP на 29 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 37 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 28 % і 29 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після введення PRP на 13 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ – на 32 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 29 % ($p < 0,001$) і 18 % ($p < 0,05$) відповідно. ТЕВВ зменшувалася відносно показників до лікування в пацієток 25-35 років через 12 місяців – на 22 % ($p < 0,001$); у пацієток 36-45 років через 6 і 12 місяців – на 16 і 25 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 46-55 років після трансплантації ДФБ – на 17 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 28 % і 28 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після трансплантації ДФБ на 13 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців на 22 % і 19 % ($p < 0,001$) відповідно.

У результаті проведення неофіброліфтингу відбувалася нормалізація параметрів кровообігу. ОШК в ділянці чола збільшувалася відносно показників до лікування в пацієток 25-35 років після трансплантації ДФБ – на 29 % ($p < 0,05$), через 6 і 12 місяців – на 34 % ($p < 0,01$) і 49 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 36-45 років після введення PRP на 24 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ – на 24 % ($p < 0,05$), через 6 і 12 місяців – на 78 % і 92 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 46-55 років після введення PRP на 50 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 79 % ($p < 0,001$), через 6 і

12 місяців – на 88 % і 69 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після введення PRP на 250 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 300 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 310 % і 300 % ($p < 0,001$) відповідно. ОШК в ділянці шоки збільшувалася відносно показників до лікування в пацієток 25-35 років після трансплантації ДФБ – на 28 % ($p < 0,01$), через 6 і 12 місяців – на 34 % ($p < 0,01$) і 40 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 36-45 років після трансплантації ДФБ – на 80 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 110 % і 100 % відповідно ($p < 0,001$); у пацієток 46-55 років після введення PRP – на 70 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 170 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 180 % і 170 % відповідно ($p < 0,001$); у пацієток 56 років і старше після введення PRP – на 90 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ – на 300 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 310 % і 260 % відповідно ($p < 0,001$).

Оцінена можлива роль імунної системи шкіри в досягненні задовільного клінічного результату зазначеним способом корекції інволюційних змін.

Отримані з заушної ділянки біоптати шкіри оброблялися розчином диспази (1 мг/мл) протягом 60 хвилин з наступним додаванням до біоптату в чашку Петрі розчину колагенази в середовищі RPMI 1640, що містило 10 % FCS і 500 U/мл GM-CSF, на 8 годин. Життєздатність зібраних мігруючих лейкоцитів дорівнювала 80-90 %. Для вивчення фенотипу клітин використовували метод проточної цитофлуориметрії FACS Calibur і антитіла Vecton Dickinson.

Проведено два дослідження. У першому вивчали безпосередній вплив введення PRP і ДФБ на вміст у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-лімфоцитів. У другому тривалому дослідженні вивчали як безпосередню дію неофіброліфтингу, так і його вплив на вміст CD4⁺- і CD8⁺-клітин через 6 і 12 місяців.

Встановлено, що відносно показників у ГП з віком у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри знижувалася кількість CD3⁺-Т-лімфоцитів на

15 % ($p < 0,05$) у пацієток 46-55 років і на 28 % ($p < 0,05$) у пацієток 56 років і старше; кількість $CD4^+$ -Т-лімфоцитів – на 12 % ($p < 0,05$) у пацієток 46-55 років і на 25 % ($p < 0,05$) у пацієток 56 років і старше; $CD8^+$ -Т-лімфоцитів – на 23 % ($p < 0,05$) у пацієток 36-45 років, на 24 % ($p < 0,05$) у пацієток 46-55 років і на 14 % ($p < 0,05$) – у пацієток 56 років і старше. Це відповідає уявленням про старіння імунної системи зі зниженням її активності по відношенню до гетероантигенів.

Кількість $CD19^+$ -В-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри, навпаки, підвищувалася на 47 % ($p < 0,01$) у пацієток 46-55 років, 56 років і старше, що, мабуть, відображає реакцію В-клітин на перманентну присутність і підвищення активності інфекційних чинників у старшому віці.

У результаті проведення неофіброліфтингу відбувалося зростання відносно показників до лікування кількості $CD4^+$ -клітин і зниження вмісту $CD8^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри з відновленням співвідношення цих клітин до нормального рівня молодих людей.

Кількість $CD4^+$ -клітин збільшувалася в пацієток 25-35 років після введення PRP на 19 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ – на 41 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців на 84 % і 36 % відповідно ($p < 0,01$); у пацієток 36-45 років після введення PRP на 31 % ($p < 0,01$), після трансплантації ДФБ – на 51 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців на 76 % і 80 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 46-55 років після введення PRP на 40 % ($p < 0,05$), після трансплантації ДФБ – на 70 % ($p < 0,05$), через 6 і 12 місяців на 160 % і 120 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієток 56 років і старше після введення PRP на 100 % ($p < 0,001$), після трансплантації ДФБ на 150 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 140 % і 150 % ($p < 0,001$) відповідно. У перших двох вікових групах зміни починалися вже після введення PRP, а в двох більш вікових кількість $CD4^+$ -лімфоцитів підвищувалася тільки після трансплантації фібробластів.

Кількість $CD8^+$ -клітин зменшувалася в пацієток 25-35 років після введення PRP на 24 % ($p < 0,01$), після трансплантації ДФБ – на 47 %

($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців – на 60 % і 43 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієнок 36-45 років після введення PRP на 37 % ($p < 0,01$), після трансплантації ДФБ – на 44 % ($p < 0,001$), через 6 і 12 місяців на 53 % і 49 % ($p < 0,001$) відповідно; у пацієнок 46-55 років через 6 місяців на 49 % ($p < 0,05$); у пацієнок 56 років і старше після введення PRP на 39 % ($p < 0,01$), після трансплантації ДФБ – на 34 % ($p < 0,05$), через 6 і 12 місяців – на 39 % і 26 % ($p < 0,05$) відповідно. Кількість $CD8^+$ -лімфоцитів суттєво знижувалася після введення PRP і потім зменшувалася далі після ауто трансплантації фібробластів. Значно нижчий, ніж до лікування, рівень $CD8^+$ -клітин зберігався протягом 12 місяців.

Отже, в результаті дослідження участі лімфоцитів у неофіброліфтингу встановлено, що клінічний ефект спостерігається при ефективному збільшенні кількості у шкірі $CD4^+$ - і зменшенні $CD8^+$ -субпопуляцій Т-лімфоцитів. Це свідчить про їхню ймовірну участь у реалізації ефекту методу і внаслідок введення PRP, і в результаті ауто трансплантації фібробластів. Важливою для оцінки перспективності процедури є встановлена довготривалість імунних змін.

Отримані результати свідчать, що імунна система шкіри піддається старінню та бере участь у реалізації механізмів неофіброліфтингу з відновленням структурно-функціональних показників шкіри. Послідовна трансплантація PRP і культивованих *in vitro* дермальних аутофібробластів є ефективним методом неофіброліфтингу.

Ключові слова: інволюційно-дистрофічні зміни шкіри, лікування, ауто трансплантація, дермальні фібробласти, збагачена тромбоцитами плазма, неофіброліфтинг.

SUMMARY

Tsepkolenko H.V. Application of autologous fibroblasts in correction the involution-dystrophic skin changes. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript. ь

Thesis for the degree of Candidate of Medical Sciences in the specialty 14.01.20 “Skin and venereal diseases” (222 – “Medicine”). – Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2020.

The thesis is devoted to clinical, instrumental and immunological studies of facial involution-dystrophic skin changes in female patients of different ages with the development of clinical method of their treatment called neofibrolifting using autologous fibroblasts transplantation into the pretreated with platelet-rich plasma skin. The treatment regimen planning was based on the data of the transplanted cells properties as well as instrumental and immunological studies of patients' dermis.

The study included 107 female patients who needed cosmetic care, and 22 women at the age of 25-35 y.o. without the obvious signs of involution-dystrophic changes, who made up comparison group (CG). The patients were divided into four age groups considering facial skin characteristics according to O.S. Panova classification. The first group included women of 25-35 years old, with early age-related changes, characterized mainly by the presence of facial and superficial static wrinkles of II A class. The second group included females of 36-45 y.o. and demonstrated mainly deep static wrinkles and early manifestations of gravitational ptosis, class II B. Group 3 female patients of 46-55 y. o. had deep static wrinkles and gravity ptosis of the 1-2nd degree, class III A. The fourth group included women of 56 y.o. and older, having deep facial and static wrinkles and gravitational ptosis of the 3rd degree, III B and III C classes.

Despite the quite clear visual manifestations of involutinal changes, it is considered appropriate to support purely clinical observations using objective methods in conducting innovative delicate studies. Among those are: non-invasive instrumental methods for studying skin characteristics. The main ones applied in the research are: ultrasonographic measurement of the epidermis and dermis thickness, acoustic density of the skin, corneometry and vaporometry, identification of blood flow rate in the microvasculature by means of ultrasound

doppler scanning and studies of different lymphocytes types number inside the cell culture taken from skin bioplates.

It was found out that with age, the thickness of epidermis, dermis, acoustic density and moisture content of skin stratum corneum significantly decreased, while TEWL indicators increased, which is generally consistent with the literature reports. The thickness of the epidermis clearly decreased in relation to the CG group indicators in 36-45 y.o. patients for 22 % ($p<0,05$) and in the older 56 y.o. and older for 21 % ($p<0,05$).

The thickness of dermis was maximal in the younger group (25-35 y.o.); the same as the thickness of the epidermis, it began to decrease at the age of 36-45 y.o. (for 21 %; $p<0,05$) and became the thinnest (decreased for 24 % ; $p<0,05$) in the older group. The decrease in acoustic density had a similar dynamics with the highest density in the 25-35-year-old group and the lowest in the 56-year-old and older group (less for 22 %; $p<0,05$). There also was a gradual decrease in corneometry indicators: from the younger to the older one. In the 36-45-year-old group for 19 % ($p<0,001$), while in the 46-55 year-old group for 30 % ($p<0,001$), at 56 y.o. and older 40 % ($p<0,001$). By contrast, transepidermal water loss gradually increased with age from the younger to the older group: at the age of 46-55 y.o. for 31 % ($p<0,001$), at the age of 56 and older for 65 % ($p<0,001$).

Therefore, according to the performed research work, age-related skin changes are associated with complex biochemical and immunopathological processes that cause damage to the structural and functional skin properties, what is shown in the decreased epidermis and dermis thickness, dermis acoustic density, decreased epidermis hydration and increased moisture loss.

Since the main skin metabolic processes depend on blood supply and microcirculation processes, further studies were conducted to examine these issues.

It was found out that the volumetric blood flow (VBF) rate decreases significantly with age in the forehead and cheek areas. VBF in the forehead area decreases in relation to the indicators level in CG for 22 % ($p<0,05$) in patients of 46-55 y.o. for 72 % ($p<0,001$) in patients of 56 y.o. and older in patients of 56 y.o.

and older. VBF in the cheek area decreased for 35 % ($p<0,01$) in patients of 36-45 y.o., for 53 % ($p<0,001$) in patients of 46-55 y.o. and for 69 % ($p<0,001$) in patients of 56 y.o. and older.

The data regarding the important role of functionally wholesome skin fibroblasts, justify their use for the correction of involution changes. For the reasons of safety and immunological compatibility, the preference was given to the transplantation of autofibroblasts, cultured in vitro from explants and obtained by skin punch-biopsy method in the postaural area.

The biopsies obtained in the environment of a specialized cell culture laboratory were cultured in a nutritional medium at 5% CO₂ concentration. Every 3-4 days, the nutrition medium was replaced.

There was developed and tested the method of combined use of autologous 60×10^6 of dermal fibroblasts (DFB) into the pre-treated with 14 ml of platelet-rich plasma (PRP) ageing skin. Plateletes are known to produce a lot of growth and proinflammatory factors.

As a result of neofibrolifting, the structural and functional parameters of the skin were significantly reconstructed. Epidermal thickness increases for 17 % ($p<0,05$) comparing to the before treatment level in patients of 36-45 y.o. following DFB transplantation; in patients of 46-55 y.o. after PRP administration for 20 % ($p<0,05$), following DFB transplantation for 22 % ($p<0,05$), in 6 and 12 months for 22 % and 23 % ($p<0,05$) correspondingly; in patients at the age of 56 y.o. and older for 19 % ($p<0,05$) following DFB transplantation and after 6 months for 24 % ($p<0,05$).

Dermal thickness increases comparing to the before treatment level in patients at 25-35 y.o. after PRP administration for 9 % ($p<0,05$), following DFB transplantation for 11 % ($p<0,05$), 6 months later for 18 % ($p<0,05$); after 12 months for 28 % and 19 % ($p<0,05$) in patients at 36-45 y.o. and 46-55 y.o. correspondingly; in patients at 56 and older following DFB transplantation for 16 % ($p<0,05$), after 6 and 12 months for 23 % and 27 % ($p<0,05$) correspondingly.

Acoustic skin density increased for comparatively to the indicators before the treatment in patients between 25-35 y.o. and 36-45 12 months afterwards for 19 % and 33 % ($p<0,05$) correspondingly; in patients between 46-55 y.o. and 56 y.o. and older after 6 months for 17 % and 31 % ($p<0,05$), after 12 months for 25 % and 34 % ($p<0,05$) correspondingly.

Skin hydratation increased comparing to the before the treatment indicators in patients at 25-35 y.o. following DFB transplantation for 30 % ($p<0,001$) and after 6 months 26 % ($p<0,001$); in patients of 36-45 y.o. after PRP administration for 17 % ($p<0,001$), following DFB transplantation for 30 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 35 % and 31 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 46-55 y.o. after PRP administration for 29 % ($p<0,001$), for 37 % ($p<0,001$) following DFB transplantation, after 6 and 12 months for 28 % and 29 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 56 y.o. and older after PRP administration for 13 % ($p<0,05$), following DFB transplantation for 32 % ($p<0,001$), 6 and 12 months later for 29 % ($p<0,001$) and 18 % ($p<0,05$) correspondingly. Transepidermal moisture loss decreased comparing to the indicators before the treatment in patients at 25-35 y.o. after 12 months for 22 % ($p<0,001$); in patients at 36-45 y.o. after 6 and 12 months for 16 % and 25 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 46-55 y.o. following DFB transplantation for 17 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 28 % and 28 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 56 and older following DFB transplantation for 13 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 22 % and 19 % ($p<0,001$) correspondingly.

Normalisation of blood flow parameters took place as a result of neofibrolifting treatment. VBF increased in the forehead area comparing to the indicators of the before treatment parameters in patients at 25-35 y.o. following DFB transplantation for 29 % ($p<0,05$), after 6 and 12 months for 34 % ($p<0,01$) and 49 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 36-45 y.o. after PRP administration for 24 % ($p<0,05$), and following DFB transplantation for 24 % ($p<0,05$), after 6 and 12 months for 78 % and 92 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 46-55 y.o. after PRP administration for 50 % ($p<0,001$), following DFB

transplantation for 79 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 88 % and 69 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 56 y.o. and older after PRP administration for 250 % ($p<0,001$), following DFB transplantation for 300% ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 310 % and 300 % ($p<0,001$) correspondingly. VBF increased in the cheek area comparing to the indicators before treatment in patients at 25-35 y.o. following DFB transplantation for 28 % ($p<0,01$), after 6 and 12 months for 34 % ($p<0,01$) and 40 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 36-45 y.o. following DFB transplantation for 80 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 110 % and 100 % correspondingly ($p<0,001$); in patients at 46-55 after PRP administration for 70 % ($p<0,001$), following DFB transplantation for 170 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 180 % and 170 % correspondingly ($p<0,001$); in patients at 56 y.o. and older following PRP administration for 90 % ($p<0,001$), following DFB transplantation for 300 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 310 % and 260 % correspondingly ($p<0,001$).

The studies evaluated the possible role of the skin immune system in achieving satisfactory clinical result using the method of correcting involution changes.

Skin biopsies harvested from the postaural area were stimulated by dispazi solution (1 mg/ml) during 60 minutes, and then the biopsic material was supplemented by collagenase solution in a Petri dish in an RPMI 1640 medium containing 10 % FCS and 500 U/ml GM-CSF, for 8 hours. The viability of the collected migrating leucocytes equaled 80-90 %. In order to study the cell phenotype, we used the method of flow cytofluorometer FACS Calibur and Becton Dickinson antibodies.

We performed two studies, the first one examined, the short-term effect of neofibrolifting on the content of CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- and CD19⁺-lymphocytes. The second extended study, examined both the direct effect of neofibrolifting and its influence on the content of CD4⁺- and CD8⁺-cells after 6 and 12 months.

It was found out that comparing to the indicators of CG patients, the number of CD3⁺-T-lymphocytes in the culture of lymphocytes taken from skin biopates

decreased for 15 % ($p<0,05$) in patients at 46-55 y.o. and for 28 % ($p<0,05$) in patients at 56 y.o. and older; number of CD4⁺-T-lymphocytes – for 12 % ($p<0,05$) in patients at 46-55 y.o. and for 25 % ($p<0,05$) in patients at 56 y.o. and older; CD8⁺-T-lymphocytes – for 23 % ($p<0,05$) in patients at 36-45 y.o., for 24 % ($p<0,05$) in patients at 46-55 y.o. for 14 % ($p<0,05$) in patients at 56 y.o. and older. Such data corresponds to the concept of immune system ageing and decreasing activity in relation to heteroantigens.

By contrast the number of CD19⁺-B-cells in the culture of lymphocytes from skin biptates increased for 47 % ($p<0,01$) in patients at 46-55 y.o. and 56+ what may be reflected in the B-cells response towards the permanent presence and increased activity of old age infectious factors.

As a result of neofibrolifting, there was increased number of CD4⁺cells as well as decreased number of CD8⁺ cells in the culture of lymphocytes from skin biotates with the renewed correlation of these cells to the normal level of young people.

The number of CD4⁺-cells increased in patients at 25-35 y.o. following PRP administration for 19 % ($p<0,05$), following DFB transplantation for 41 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 84 % and 36 % correspondingly ($p<0,01$); in patients at 36-45 y.o. following PRP administration for 31 % ($p<0,01$), following DFB transplantation for 51 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 76 % and 80 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients at 46-55 y.o. following PRP administration for 40 % ($p<0,05$), following DFB transplantation for 70 % ($p<0,05$), after 6 and 12 months for 160 % and 120 % ($p<0,001$) correspondingly; in patients 56 y.o. and older following PRP administration for 100 % ($p<0,001$), following DFB transplantation for 150 % ($p<0,001$), after 6 and 12 months for 140 % and 150 % ($p<0,001$) correspondingly. In the first two age groups the changes began just following PRP administration, and in the other two older groups the number of CD4⁺-lymphocytes increased only after fibroblasts transplantation.

The number of CD8⁺-cells decreased in patients at 25-35 y.o. following PRP administration for 24 % ($p<0,01$), following DFB transplantation for 47 %

($p < 0,001$), after 6 and 12 months for 60 % and 43 % ($p < 0,001$) correspondingly; in patients at 36-45 y.o. following PRP administration for 37 % ($p < 0,01$), following DFB transplantation for 44 % ($p < 0,001$), after 6 and 12 months for 53 % and 49 % ($p < 0,001$) correspondingly; in patients at 46-55 y.o. after 6 months for 49 % ($p < 0,05$); in patients at 56 y.o. and older following PRP administration for 39 % ($p < 0,01$), following DFB transplantation for 34 % ($p < 0,05$), after 6 and 12 months for 39 % and 26 % ($p < 0,05$) correspondingly. The number $CD8^+$ -lymphocytes essentially decreased following PRP administration and decreased further on following fibroblasts autotransplantation. Essentially lower level of $CD8^+$ -cells comparing to the level before treatment maintained for 12 months.

Therefore, the studies of the participation of lymphocytes in neofibrolifting discovered that clinical effect occurs with the effective increased number of $CD4^+$ and $CD8^+$ subpopulations of T-lymphocytes in the skin.

This conclusion indicates that they are likely to participate in the implementation of the method action both as a result of PRP administration, and autotransplantation of fibroblasts. It is important to establish the duration of immune changes for the evaluation of this procedure perspectives.

The obtained results demonstrate that the skin's immune system tend to age and participate in the implementation of neofibrolifting mechanisms associated with restoration of structural and functional skin parameters. Sequential transplantation of PRP and cultured in vitro dermal autofibroblasts represents the effective method of neofibrolifting.

Key words: autotransplantation, dermal fibroblasts, platelet-rich plasma, involution-dystrophic skin changes, treatment, instrumental methods, neofibrolifting.

Список публікацій здобувача

1. Цепколенко АВ. Иммунная система и регенеративный потенциал кожи. Дерматология та венерология. 2017;(3):27-37.
2. Цепколенко ГВ, Літус ОІ. Автофіброласти в корекції інволюційних змін у шкірі: огляд літератури. Дерматология та венерология.

2018;(2):13-8.

3. Цепколенко АВ. Механизмы старения кожи (обзор литературы). Дерматовенерология. Косметология. 2018;4(3):309-23.

4. Цепколенко ГВ. Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу. Запорж. мед. журн. 2019;21(6):795-801.

5. Цепколенко ГВ. Неінвазивні інструментальні методи в оцінці структурно-функціональної основи старіння шкіри. Дерматологія та венерологія. 2019;(2):27-30.

6. Tsepkoenko A, Litus A, Tsepkoenko V. Results of practical application of fibroblasts in treating age-related skin changes. An open, prospective, non-randomized study. Aesthet Med. 2018 Jul/Sep;4(3):19-24.

7. Цепколенко А, Цепколенко В, Мишра А, Мелерзанов А. Коррекция инволюционных изменений кожи (новая методика неофибролифтинга). Врач. 2019;(30)7:32-8.

8. Tsepkoenko A, Tsepkoenko V, Dash S, Mishra A, Bader A, Melerzanov A, Giri S. The regenerative potential of skin and the immune system. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2019 Jul 15;12:519-32.

9. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Современные методы интенсивной регенерации кожи. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 51-2.

10. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комплексный подход к коррекции возрастных изменений. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 69.

11. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Лазеры в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. Профилактика осложнений. В: Лазерная хирургия. Материалы науч.-практ. конф. Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине.

Черкасы: Вертикаль; 2016. с. 87.

12. Tsepkoenko AV. Correction of cicatricial skin deformities by means of laser and cell technologies. In: Materials of 11th European congress of aesthetic medicine; 2016 May 13-15; Rome. Rome; 2016. p. 112.

13. Цепколенко АВ. Аутофибробласты в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104.

14. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комбинация лазерных и клеточных технологий в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104-5.

15. Цепколенко АВ. Лазерные, инъекционные и хирургические методы коррекции постакне. В: Материалы междунар. конф. Medical aesthetic synergy congress; 2018 Июнь 1-2; Киев. Киев; 2018. с. 59.

16. Цепколенко ВО, Цепколенко АВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри. Патент України № 95130. 2014 Груд 10.

17. Цепколенко ВО, Цепколенко ГВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб епігенетичного культивування аутологічних дермальних фібробластів людини. Патент України № 110281. 2016 Жовт 10.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ	20
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1. КОРЕКЦІЯ ІНВОЛЮЦІЙНО-ДИСТРОФІЧНИХ ЗМІН ШКІРИ В ЖІНОК (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	28
1.1. Механізми старіння шкіри	28
1.1.1. Структурно-функціональна основа старіння шкіри	28
1.1.2. Кровообіг і мікроциркуляція в старіючій шкірі	31
1.1.3. Патофізіологічні механізми старіння шкіри	36
1.2. Дермальні фібробласти та кератиноцити при старінні	39
1.3. Корекція інволюційних змін аутотрансплантацією дермальних фібробластів у шкіру, кондиціоновану попереднім уведенням збагаченої тромбоцитами плазми	43
Висновки до розділу 1	50
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	52
2.1. Клінічна характеристика пацієнток з інволюційно- дистрофічними змінами шкіри	52
2.2. Методи дослідження структурно-функціонального стану шкіри	53
2.3. Забір шкіри для культивування й імунологічних досліджень	54
2.4. Приготування клітинних суспензій і проведення імунологічних досліджень методом проточної цитофлуориметрії	54
2.5. Отримання препарату platelet-rich plasma	56
2.6. Отримання культури аутологічних фібробластів шкіри	56
2.7. Протокол лікування та дослідження пацієнток	58
2.8. Статистичний аналіз	61
РОЗДІЛ 3. КОРЕКЦІЯ ІНВОЛЮЦІЙНИХ ЗМІН У ШКІРІ	

ЗАСТОСУВАННЯМ РОЗРОБЛЕНОЇ МЕТОДИКИ НЕОФІБРОЛІФТИНГУ	62
3.1. Дослідження розвитку інволюційних змін у шкірі пацієнток різного віку	62
3.2. Особливості змін мікроциркуляції в шкірі пацієнток різного віку	68
3.3. Вплив неофіброліфтингу на структурно-функціональні показники старіючої шкіри	71
Висновки до розділу 3	93
РОЗДІЛ 4. ДИНАМІКА ЗМІН У СУБПОПУЛЯЦІЙНОМУ СКЛАДІ Т- І В-ЛІМФОЦИТІВ ШКІРИ В ПРОЦЕСІ НЕОФІБРОЛІФТИНГУ	96
Висновки до розділу 4	138
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	140
ВИСНОВКИ	160
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	164
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	165
Додаток А	185
Додаток Б	188
Додаток В	189

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ
ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ**

АФК	– активні форми кисню
ГП	– група порівняння
ГСК	– гемопоетичні стовбурові клітини
ДФБ	– дермальні фібробласти
ІЛ	– інтерлейкін
МКМ	– міжклітинний матрикс
МСК	– мезенхімальні стромальні клітини
ОШК	– об'ємна швидкість кровотоку
ТЕВВ	– трансепідермальна втрата води
AP-1	– activating protein-1
CCL	– CC chemokine ligand
CD	– cluster of differentiation (cluster designation)
CSF	– colony stimulating factor
CXCL	– CXC chemokine ligand
CYR61	– cysteine rich protein 61
EGF	– epidermal growth factor
FCS	– foetal calf serum
FGF	– fibroblast growth factor
GM-CSF	– granulocyte-macrophage colony stimulating factor
HGF	– hepatocyte growth factor
HOX	– homeosis genes
IFN	– interferon
KGF	– keratinocyte growth factor
M-CSF	– macrophage colony stimulating factor
MMP	– matrix metalloproteinases
NF-kB	– nuclear factor kappa B

PBS	– phosphate buffered saline
PDGF	– platelet-derived growth factor
PRP	– platelet-rich plasma
SCF	– stem cell factor
TGF	– transforming growth factor
Th1	– Т-хелпери 1
Th2	– Т-хелпери 2
Th17	– Т-хелпери 17
TLR	– Toll-like receptor
TNF	– tumor necrosis factor
Treg	– regulatory T cells
VEGF	– vascular endothelial growth factor

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми досліджень.

Старіння – комплексний біологічний процес метаболічних і структурно-функціональних змін організму, що охоплює всі органи та тканини людини. Старіння шкіри є частиною незворотних біологічних процесів, що відбуваються в організмі й обумовлені генетичними порушеннями, скороченням теломер, стійкістю клітинних структур до окислювального пошкодження, а також агресивним впливом зовнішнього середовища. [10,162] Властивості та функції шкіри, її придатків погіршуються з віком, шкіра втрачає вологу, здатність до регенерації, стоншується, порушуються процеси кератинізації, пігментоутворення, кровообігу, синтезу колагену тощо. [25,71,160]

Накопичується все більше даних щодо значної участі в загальному старінні шкіри інволюції імунної системи, що загалом визначається як процес імуносенесценції. [39,113,142] Одним з його механізмів є вікові порушення в компартментах гемопоетичних стовбурових і мультипотентних стромальних клітин з пригніченням гемопоезу та розладами в імунонейроендокринній регуляції. [77,78] Відбувається зміщення клітинних кооперативних механізмів у бік формування хронічного запалення з підвищеною продукцією клітинами адаптивного та вродженого імунітету прозапальних цитокінів, що обумовлюють появу великої кількості сенесцентних і термінально диференційованих клітин, не спроможних виконувати необхідні функції. [167] Імуносенесцентні атрофічні та дистрофічні явища в шкірі проявляються вираженим зниженням кількості дермальних фібробластів з пригніченням їхньої функціональної активності, що також негативно впливає на стан кератиноцитів. У результаті порушується нормальний процес відновлення дермальних фібробластів і кератиноцитів, формування міжклітинного матриксу, що насамперед обумовлює появу помітних інволюційних ознак. [71,155,164]

Проблема збереження та відновлення естетичного здоров'я людини нині набуває все більшої актуальності. Для регулювання вікових змін і механізмів старіння шкіри застосовуються ін'єкційні методи корекції (ботулінічний токсин типу А, контурна пластика, корекція об'єму тканин, біоревіталізація), мезотерапія, апаратна косметологія, ліфтинг, косметичний догляд тощо, проте наявні методи корекції не завжди є фізіологічними, достатньо задовільними за клінічним ефектом і тривалістю, можуть спричиняти ускладнення й обумовлювати розвиток дисморфофобії в жінок. [3,6,24] Зрозуміло, що розвиток антиейджингових підходів може реалізуватися тільки завдяки поглибленню розуміння механізмів старіння на всіх рівнях життєдіяльності організму та конструювання адекватних підходів до їх гальмування.

Останнім часом перспективні дослідження спрямовані на розробку нових клітинних методів корекції, серед яких використання фібробластів, що можуть поповнити шкіру активно синтезуючими матрикс-несенесцентними клітинами. [3] На нашу думку, перевагу має трансплантація дермальних аутофібробластів (неофіброліфтинг), коли існує повна тканинна сумісність і відсутній ризик передачі інфекцій. Ефективність методу може бути підвищена кондиціонуванням ділянок трансплантації попереднім введенням збагаченої тромбоцитами плазми, що сприятиме відновленню функціональної активності фібробластів. Питання їхньої взаємопідсилюючої дії та показання до диференційованого застосування залишаються не до кінця вивченими, що робить перспективними подальші дослідження в цьому напрямі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика відповідно до плану науково-дослідної роботи «Оптимізація алгоритмів діагностики, лікування хронічних дерматозів, новоутворень шкіри та ПСШ з урахуванням впливу фонових патологій, соціальних факторів і чинників довкілля» (№ державної

реєстрації 0115U002359, 2015-2019). Особисто вивчені особливості проявів фізіологічного старіння залежно від віку, проведений аналіз морфологічних та імунологічних змін, удосконалений метод корекції вікових змін та оцінена його ефективність.

Мета дослідження.

Оптимізація корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри жінок з фізіологічним старінням шляхом застосування аутологічних фібробластів з урахуванням вікових структурно-функціональних, мікроциркуляторних та імунологічних особливостей шкіри.

Завдання дослідження:

1. Вивчити структурні та функціональні характеристики, мікроциркуляцію шкіри в жінок різних вікових груп (у пацієнок з клінічними ознаками фізіологічного старіння шкіри).
2. Визначити вміст субпопуляцій Т- (CD3⁺-, CD4⁺- і CD8⁺-клітини) та В-лімфоцитів (CD19⁺-клітини) в шкірі жінок різних вікових груп.
3. Розробити методику проведення неофіброліфтингу шляхом трансплантації дермальних аутофібробластів.
4. Вивчити зміни структурних характеристик епідермісу та дерми в жінок з фізіологічним старінням шкіри в процесі неофіброліфтингу.
5. Оцінити динаміку функціональних змін шкіри в пацієнок різних вікових груп під впливом неофіброліфтингу.
6. Дослідити мікроциркуляцію (об'ємна швидкість кровотоку) шкіри ділянок щоки та лоба в жінок різних вікових груп під впливом неофіброліфтингу.
7. Визначити вміст CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19-клітин шкіри в пацієнок різних вікових груп у процесі неофіброліфтингу.
8. Проаналізувати отримані результати та визначити роль у корекції інволюційних змін окремих компонентів неофіброліфтингу та їх сполучення.

Об'єкт дослідження: інволюційно-дистрофічні зміни шкіри.

Предмет дослідження: товщина епідермісу та дерми, акустична

щільність шкіри обличчя в жінок різного віку, об'ємна швидкість кровотоку в шкірі, вміст вологи в епідермісі, трансепідермальна втрата вологи (TEBB), субпопуляції Т- і В-лімфоцитів у шкірі (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ і CD19⁺), трансплантація фіброblastів дерми, збагачена тромбоцитами плазма, оцінка ефективності.

Методи дослідження: клінічний (візуальна оцінка характеру/типу та кількості зморшок шкіри обличчя); інструментальний (ультразвукове дермасканування (товщина епідермісу та дерми, акустична щільність шкіри), ультразвукове доплерівське сканування (об'ємна швидкість кровотоку (ОШК) в шкірі); корнеометрія (вміст вологи в епідермісі); вапориметрія (трансепідермальна втрата вологи)); імунологічний (імунофенотипування субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів шкіри); культуральний (вирощування фіброblastів дерми); статистичний аналіз.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше встановлені особливості структурно-функціональних і мікроциркуляторних порушень у шкірі залежно від віку жінки, що поєднуються з Т-клітинною недостатністю CD4⁺- і CD8⁺-клітин, а в старших вікових групах – із суттєвим підвищенням вмісту CD19⁺-В-лімфоцитів. Вперше на підставі вивчення структурно-функціональних характеристик та імунологічних показників доведено, що проведення неофіброліфтингу з трансплантацією дермальних аутофіброblastів і попереднім кондиціонуванням місць трансплантації введенням збагаченої тромбоцитами плазми на тривалий термін суттєво покращує стан шкіри. Науково обґрунтовані та розроблені оригінальний метод комплексного неофіброліфтингу та диференційований підхід до його застосування залежно від віку жінки, що значною мірою підвищує клінічну ефективність корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.

Практичне значення отриманих результатів.

Проведене клінічно ефективне удосконалення методу неофіброліфтингу для корекції інволюційно-дистрофічних змін у шкірі

обличчя на основі доповнення трансплантації аутофібробластів попереднім кондиціонуванням місць введення клітин збагаченою тромбоцитами плазмою, що дозволило поліпшити безпосередні клінічні результати й отримати стійкий довготривалий ефект. Показана можливість моніторингу лікувального процесу за допомогою інструментальних та імунологічних методів дослідження шкіри. Диференційований підхід до корекції інволюційно-дистрофічних змін у шкірі обличчя залежно від віку жінки може запобігти розвитку вік-асоційованих захворювань шкіри.

Особистий внесок здобувача.

Дисертація є особистою науковою працею автора. Самостійно проведені клінічне обстеження та лікування 107 пацієнток з інволюційно-дистрофічними змінами шкіри, обстеження 22 здорових жінок віком 25-35 років, у яких не було ознак хроно- або фотостаріння (група порівняння), написані всі розділи дисертації. Мета та завдання дослідження сформульовані разом з науковим керівником. Самостійно проведений інформаційно-патентний пошук, здійснений аналіз літератури за темою, систематизовані результати досліджень і зроблена статистична обробка з наступною інтерпретацією даних і їх обговоренням із залученням літературних даних, сформульовані висновки роботи та практичні рекомендації, підготовлені матеріали до друку.

Опубліковані наукові праці, що містять матеріали дисертації, мають оригінальний характер і авторський внесок. Конфлікту інтересів немає.

Апробація матеріалів дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи оприлюднені на: міжнародній конференції «Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии» (м. Одеса, 28-29 травня 2015 р.), науково-практичній конференції «Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине» (м. Черкаси, 8-9 квітня 2016 р.), міжнародній науково-практичній конференції «Sakura Esty Derm. Симбіоз дерматології та естетики» (м. Ужгород, 26-27 квітня 2016 р.), конференції

Української академії дерматовенерології «11-ті Київські дерматологічні дні» (м. Київ, 12-14 жовтня 2016 р.), міжнародній конференції «Регенеративные технологии в современной медицине» (м. Одеса, 25-26 травня 2017 р.), конференції «12-ті Київські дерматологічні дні: Весняний симпозиум» (м. Київ, 7-8 квітня 2017 р.), Medical Aesthetic Synergy Congress (м. Київ, 1-2 червня 2018 р.), Medical Aesthetic Synergy Congress (м. Київ, 31 травня – 1 червня 2019 р.).

Публікації.

Матеріали дисертації опубліковані в 19 наукових працях, зокрема 5 статтях у наукових фахових виданнях з переліку МОН України, 3 – у закордонних виданнях, 7 тезах у збірниках матеріалів наукових конференцій і симпозиумів. Отримані 2 патенти України на корисну модель, 1 авторське свідоцтво на науковий твір, 1 інформаційний лист про нововведення в галузі охорони здоров'я.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена українською мовою на 193 сторінках комп'ютерного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 6 рисунками, 22 таблицями. Список використаної літератури містить 188 джерел, зокрема 58 – кирилицею, 130 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

КОРЕКЦІЯ ІНВОЛЮЦІЙНО-ДИСТРОФІЧНИХ ЗМІН ШКІРИ В ЖІНОК (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Механізми старіння шкіри

1.1.1. Структурно-функціональна основа старіння шкіри. Розвиток інволюційних змін – складний мультифакторний генетично детермінований процес, що відображає онтогенетичну реалізацію загально-біологічних закономірностей, у які тим чи іншим чином включаються практично всі органи та тканини. Темп старіння залежить від ендогенних і екзогенних факторів. До перших головним чином належать зміни в діяльності регуляторних систем, особливо імуно-нейро-ендокринної осі, хронічні захворювання та психоемоційний стан; до других насамперед – ультрафіолетове випромінювання, кліматичні та соціальні умови, що мають особливе значення в південних регіонах. Зазвичай ендо- й екзогенні фактори діють спільно, спричинюючи часто необоротні зміни шкірних структур.

Основою структури шкіри є колаген, що забезпечує її пружність і еластичність. [72] Відомо кілька типів колагену. У шкірі дорослої людини головним чином наявні волокна I типу. Їх оплітають більш тонкі волокна III типу, що надає можливість просторової орієнтації. Колаген V типу об'єднується з колагенами I і III типів, бере участь у регуляції діаметра фібрил, формуванні базальних мембран і судинних стінок. Тут же зустрічається колаген IV типу. А колаген VI типу виявляється на всьому просторі дерми та бере участь у формуванні проміжної речовини. Колаген VII типу формує якірні фібрили в дермо-епідермальній пластинці та пов'язаний з фібрилами сосочкового шару дерми. Колагени I, II, III, V і XI типів є фібрилярними. Колаген IV типу є сіткоподібним; він формує опорну сітку базальних мембран. Колаген VI типу – ниткоподібний. У дермі людини інтерстиціальні фібрилярні колагени (I, III і V типи) є найбільшою фракцією.

Причому на частку колагену I типу припадають 80-90 %, III типу – 8-12 %. Колагенові волокна перманентно відновлюються. Усього нині ідентифіковано близько 20 генетичних типів колагену. Велику тонку сітку в дермі утворюють еластичні волокна, що містять близько 90 % еластину. Як і колаген, вони вміщують багато гліцину та проліну, а також дві унікальні амінокислоти – десмозин і ізодесмозин. Еластинові волокна утворюють мікрофібрили (так звані окситаланові волокна), що можуть слугувати для відкладення еластину, який поступово накопичується в центральній частині аморфного компонента (елаунінові волокна). Тонкі окситаланові еластичні волокна розташовуються перпендикулярно поверхні шкіри безпосередньо під епідермісом. Тому їх порушення проявляється в'ялістю, провисанням шкіри, а потім – утворенням зморщок. Ретикулярні волокна представлені переважно на межі епідермісу та дерми близько до судин і навколо придатків шкіри, складаються з колагенових фібрил III типу, які включені в аморфний матрикс.

Тканина сосочкового шару визначається як рихла волокниста неоформлена сполучна тканина, в якій переважає основна речовина, що на 90 % складається з води. Значно меншу частку складають глікопротеїни, протеоглікани, глікозаміноглікани, білки крові, жири, вуглеводи та мінеральні речовини. Найбільш важливими глікозаміногліканами є гіалуронова та хондроїтинсірчана кислоти, що внаслідок своєї гідрофільності утримують велику кількість води та формують гель, через який дифундують метаболіти. Залежно від функціонального стану основна речовина може знаходитися в стані гелю або більш рідкому стані – золі. Глікозаміноглікани – це довгі нерозгалужені ланцюги з дисахаридних одиниць, що повторюються. Особлива роль належить гепарину та гуалуроновій кислоті. Остання швидко синтезується та так само швидко руйнується, що забезпечує підвищення проникності основної речовини та сприяє міграції клітин.

Протеоглікановий компонент матриксу внаслідок своїх поліаніонних

властивостей відповідає за гідrataцію, міцність на стискання, здатність деформуватися, відновлення після деформування та підтримку гідратованого стану (пружності). Також він сприяє упаковці молекул тропоколагену у фібрили й обмежує їхній ріст у довжину.

В основній речовині присутні також інші фібрилярні структури – фібронектин і фібрин. Клітинний фібронектин може входити до складу клітинних мембран, а позаклітинний може відкладатися у вигляді фібрилярних полімерів, формуючи разом з колагеном і глікозаміногліканами опорний матрикс. Розчинний фібронектин присутній у сироватці крові, що спеціально зв'язується з колагеном, іншими позаклітинними білками. Однією з найважливіших функцій фібронектину є участь у взаємодії між клітинами, а також між ними та позаклітинним матриксом. Також фібронектин зв'язується з компонентами комплементу та виконує функції неспецифічного опсоніну. Подібні функції виконує глікопротеїд ламінін. За його участі до базальної мембрани прикріплюються епітеліальні й ендотеліальні клітини. [72,172]

Складна будова сполучної тканини з віком зазнає деградації, що клінічно проявляється виникненням інволюційних змін. Характерною для них є комбінація низки ознак: стонщення, сухість, в'ялість, зниження еластичності та пружності, формування зморщок і тріщин. Також до проявів старіння зараховують гравітаційний птоз, вогнищеву та дифузну пігментацію, телеангіектазії, ангіоми та кератоми. [100]

Зморшки здавна вважаються головними ознаками старіння шкіри. Виділяють ортостатичні, динамічні, гравітаційні та комбіновані зморшки. Ортостатичні – це уроджені зморшки, що не мають відношення до старіння; динамічні відображають активність мимічної мускулатури; гравітаційні формуються до 40-50 років.

Зморшки підрозділяють на ступені. За R. Glogau – слабкі, помірні, виражені та глибокі. [100] Є ще кілька схожих класифікацій. [1,12,27] Ступінь періоральних і періорбітальних зморщок розглядається в класифікації R. Fitzpatrick. І.І. Кольгуненко виділяє головні та другорядні

ознаки старіння, згруповані за віком. [27] Основу класифікації складають три ознаки: зниження пружності м'яких тканин, вираженість і розповсюдженість зморщок і вікова деформація. Виділяють 5 типів ранніх стадій старіння й 1 – пізнього: 1-й – «стомлене обличчя»; 2-й – «зморшкувате обличчя»; 3-й – «деформоване обличчя»; 4-й – комбінований (зниження пружності та наявність деформації); 5-й – мускульний («старече обличчя»); 6-й – настає після 75 років, коли виражено проявляються і головні, і другорядні ознаки старіння. Є також класифікація за класами: 1А й 1Б (початкові ознаки); 2А, 2Б, 2В (середній ступінь вираженості); 3А, 3Б, 3В (глибокі зморшки). [33]

Встановлено, що перманентна підтримка нормальної об'ємності структурно-функціональних будов шкіри з високим рівнем її гідrataції необхідна для нормального функціонування й ефективної регенерації. [141] Було показано, що рівень об'ємності та гідrataції є важливим для експресії ряду генів ключових цитокінів: ІЛ-1 β , ІЛ-8, TNF- α та циклогенази-2. Зниження гідrataції шкіри сприяє підвищенню експресії генів прозапальних цитокінів, з яких ІЛ-8 контролює продукцію матриксної металопротеїнази-9 кератиноцитами. [141] Отже, зменшення дермального об'єму та рівня гідrataції шкіри постає як один з найважливіших факторів розвитку старіння шкіри, а основою протидії цим чинникам, формуванню та функціонуванню здорової шкіри насамперед є нормальний кровообіг і ефективна мікроциркуляція.

1.1.2. Кровообіг і мікроциркуляція в старіючій шкірі. Судини шкіри формують кілька сіток з артерій і вен різного діаметра, а також капілярів, тісно пов'язані з загальною системою кровообігу. [131,133,143] Важливе значення має і лімфатична система, що представлена відвідними судинами та капілярами. Значною мірою архітектура кровопостачання шкіри визначається кількістю, формою та вираженістю дермальних сосочків, що може мати вирішальне значення при їх віковому розгладжуванні.

Наявні три групи артерій і крупні артеріальні стволи, що проходять у фасціальних перегородках, м'язово-шкірні артерії та надкіснично-шкірні. У

підшкірній клітковині вони створюють гіподермальну судинну агломерацію та з неї у власне дерму переходять мікроскопічні артерії, що можуть вважатися артеріолами, що поділяються на численні гілки, що, анастомозуючи, формують широкопетлисту дермальну артеріальну сітку. Судини цієї сітки живлять фолікули волос, клубочки потових залоз, сальні залози, оточуючу клітковину, м'язи та нерви. На межі з сосочковим шаром артерії розгалужуються, анастомозуючи між собою, формують підсосочкову вузькопетлисту артеріальну сітку. При поділі артеріол виникають дрібні відгалуження, що належать до термінальних артеріол. Артеріоли поверхневих шарів дерми здатні до скорочення та тим самим регулюють надходження крові в шкіру. Артеріоло-венулярні анастомози – це прямі сполучення між судинами артеріальної та венозної ланок, що забезпечують потрапляння артеріальної крові у вени позакапілярного русла.

Внутрішньошкірне судинне русло майже повністю складається з кровоносних судин мікроскопічного розміру. Склалося уявлення про мікрогемодиркуляторну одиницю. До неї входять: найменші артеріальні судини, здатні реагувати на фактори центральної та місцевої регуляції, капіляри та найменші венозні судини, що збирають кров з відповідних капілярів. Ці судини мають один сформований суцільний клітинний шар з ендотеліоцитів, розташованих на власній базальній мембрані. Ззовні до базальної мембрани прилягають стромальні перицити. Вони оточені власною базальною мембраною, що зливається з базальною мембраною ендотелію. Адвентиціальний шар у стінці капілярів і посткапілярних венул сформований елементами сполучної тканини та фібробластами, опасистими клітинами, макрофагами та дендритними клітинами, колагеновими, еластичними волокнами, а також безм'якотними нервовими волокнами. Однією зі структур, що регулюють капілярний кровоток, є прекапілярний сфінктер – сукупність гладких м'язових клітин у гирлі капіляра. Скорочення або розслаблення цих клітин змінює діаметр капіляра та потік крові, що надходить.

Ділянка переходу капілярів у венули відрізняється більшою проникністю, що зумовлене низькою щільністю міжклітинних сполучень, а також більшою кількістю наскрізних пор в ендотелії. Але проникність капілярів залежить не тільки від будови їхньої стінки та гідростатичного капілярного тиску, а й від функціонального стану судин, який насамперед визначається нервовою регуляцією. Гістамін і ацетилхолін мають судинорозширювальну дію, а адреналін і норадреналін чинять протилежний ефект зі зменшенням проникності капілярів. У нормальних умовах велика кількість капілярів шкіри знаходиться в нефункціонуючому стані. Кількість функціонуючих капілярів у шкірі людини 25-35 років становить 59-68 %. [29]

Глибоке дермальне венозне сплетіння в підшкірній клітковині більш широке, ніж відповідна дермальна артеріальна сітка. Велика кількість венул у шкірі забезпечує відновлення уражених судин, а продукований плазмін зумовлює фібриноліз. Водночас епідерміс синтезує речовини, які пригнічують фібриноліз, що сприяє ефективному відновленню ураженої шкіри. Важливою особливістю внутрішньошкірного судинного русла є високий ступінь міжсудинного анастомозування з утворенням артеріо-венозних шунтів, що відіграють велику роль у теплообміні та трофічній функції.

З кровоносною системою шкіри тісно пов'язана лімфокапілярна сітка, що формується з сосочкових синусів, які складаються з широких лімфокапілярів, що сліпо починаються та розташовані в сосочках дерми.

Загалом структура та розташування судин шкіри забезпечують можливість швидкої зміни притоку крові до поверхневих ділянок і її перерозподілу між глибокими та поверхневими відділами.

З віком у шкірі відбуваються структурно-функціональні зміни мікроциркуляції. Зменшується кількість функціонуючих капілярів, блідне та мутніє капіляроскопічний фон, запусівають верхівки судинних розгалужень. [180] У цьому процесі бере участь перебудова структури колагену зі зменшенням товщини фібрил і підвищенням вмісту аморфного компонента.

Проникність функціонуючих капілярів стає значно вище нормальної з появою екстравазатів. У результаті атрофії та спустошення сосочків у дермі створюється хаотичне розташування капілярів і поява ділянок шкіри, цілком позбавлених капілярної сітки. Порушення трофічної функції призводить до сплюснення епідермісу та крізь нього може проглядатися підсосочкове венозне сплетіння. У великій кількості виявляються функціонуючі анастомози, але з віком швидкість кровотоку в них уповільнюється, більш вираженою стає звивистість і артеріальної, і венозної частки капілярів. [138] Ендотеліоцити капілярів зменшуються в об'ємі, переважним стає компактне розташування фібрил, а структура органел зазнає різномірних змін. Базальні мембрани стають розширеними й ущільнюються.

Характерною ознакою порушення мікроциркуляції в шкірі людей похилого віку стає уповільнена течія крові та підвищена частота розвитку стазів. Часто виявляються аневризми капілярів зі зменшенням просвіту їх артеріального коліна та збільшенням – венозного. Переважають спастичні та спастико-атонічні форми тону капілярів. З віком відбувається збільшення дистанції між капілярними петлями та між артеріальними і венозними відділами кожної капілярної петлі. Також змінюються фізіологічні показники мікросудин шкіри. Особливо важливим є зменшення кількості резервних капілярів. Причому при рефлекторному подразненні кількість функціонуючих капілярів майже не збільшується.

Загалом вікові зміни мікроциркуляції в шкірі є вираженими та системними, слабо піддаються дії регуляторних механізмів, призводять до порушення обміну речовин і засвоєння кисню в шкірі, що постає одним з основних механізмів розвитку інволюційних змін. Стоншення шкіри та зменшення кількості капілярів у дермі призводить до зниження реакції кровоносних судин на зміни температури. [97]

Порушення мікроциркуляції є обов'язковою умовою для розвитку в шкірі інволюційних процесів, що наприкінці спричиняють зміну функцій клітин і міжклітинних тканинних структур. [23] Численні дослідження

вказують на безпосередню кореляцію кількісних показників мікроциркуляції з віком. Встановлено, що вікові зміни мікроциркуляції шкіри обличчя та шиї зумовлені порушенням структури внутрішньососочкової мікроциркуляції за рахунок локальних розширень капілярів у внутрішньососочковому просторі та звуженні початкових і кінцевих сегментів петель, дезорганізації артеріальних компонентів мікроциркуляторного русла в складі сосочкового та сітчастого шарів дерми, а також у порушенні ураженої ланки мікроциркуляції в результаті змін фібрилярного каркасу мікрооточення в зоні підсосочкових венозних сплетінь.

У папілярній дермі виявлено залежне від віку зменшення чисельності та розмірів судин, що призводить до зниження кровотоку в шкірі. [145] Фотостаріння має тенденцію до ангіогенезу. Під впливом ультрафіолетового випромінення кератиноцити вивільняють замість інтерферону- β , гальмуючого рост судин, основний фактор росту фібробластів, що стимулює ангіогенез. [66]

У пацієнтів з дрібнозморшкуватим підтипом старіння шкіри спостерігається переважно спастичний тип мікроциркуляції на рівні артеріол і венул. Порушення полягають у підвищенні тонуусу артеріол і наявності застійних явищ у венозному ланцюзі русла з низькими показниками мікроциркуляції.

Серед пацієнтів з деформаційним підтипом старіння переважав тип мікроциркуляції, коли зміни відмічалися на рівні артеріол і капілярів. Порушення характеризувалися зниженням тонуусу артеріол, збільшенням об'єму крові в артеріолах і наявністю застійних явищ у нутритивних судинах мікроциркуляторного русла. Водночас показники мікроциркуляції збільшувалися приблизно вдвічі порівняно з дрібнозморшкуватим підтипом старіння.

Третій підтип старіння був спастико-застійним типом мікроциркуляції. У цій групі зміни відбувалися на рівні всіх ланок мікроциркуляторного русла з підвищенням міогенного тонуусу артеріол і стазом на рівні капілярів і у

венозному ланцюзі. [28]

Найвищі показники кровообігу в шкірі виявлені в ділянці щоки, нижчі – в ділянці чола, і найнижчі – в ділянці підборіддя. Ці показники знаходяться в прямій залежності від структурних особливостей мікроциркуляторного русла названих ділянок, глибини залягання та густини функціональних кіпілярів. [15]

Вивчення перфузії крові капіляроскопічними методами виявило зменшення на 40 % кількості капілярних петель у дермі та незначні зміни в чисельності горизонтально розташованих судин (посткапілярних венул, висхідних артеріол і частини капілярів субпапілярного сплетіння) у процесі старіння. Виявлено значне зниження з віком капілярної циркуляції в шкірі чола методом фотоплетизмографії. За допомогою лазерної доплеровської флуориметрії виявлено зниження кровообігу в процесі старіння в шкірі губ, носа, чола та подушечках пальців. [118]

1.1.3. Патофізіологічні механізми старіння шкіри. Старіння шкіри умовно підрозділяється на внутрішнє (природне) хроностаріння та зовнішнє (передчасне). У розвитку останнього велику участь беруть екологічні фактори, особливо ультрафіолетове випромінювання (фотостаріння). Обидва процеси мають подібні та навіть загальні біохімічні шляхи розвитку. Але це й не дивно, оскільки передчасне старіння розвивається на тлі природного.

Природне старіння шкіри – це процес загальноорганізованого старіння, для його розуміння треба враховувати всі численні фактори, що беруть участь у процесі. Виявилось велике значення генних порушень. При вивченні експресії генів у крайньої плоти здорових людей віком 3-4 роки і 68-72 роки встановлено, що при старінні у шкірі змінюється активність 105 генів. Причому експресія 43 генів знижується, а в 62 генів – підвищується, що навело на висновок про те, що старіння пов'язане з дисрегуляцією різноманітних клітинних процесів, як-от контроль клітинного циклу, зміни в цитоскелеті, запалення, метаболізм і сигнальні зв'язки. Виявлені відмінності в експресії генів шкіри при хроно- та фотостарінні, хоча обидва типи

старіння мали багато співпадаючих змін. При фотостарінні порушення були частішими та вираженими рельєфніше. [153]

При природному старінні шкіра стоншується, втрачає еластичність, здоровий колір, набуває зморщок, пігментних плям, кератозу, стає в'ялою, сухою та тонкою. У дермі знижується кількість фібробластів, згладжується епідермально-дермальне сполучення зі зменшенням і в ньому чисельності фібробластів і появою ознак дегградації колагену й еластина. Передчасне старіння зумовлено дією зовнішніх екологічних факторів, особливо ультрафіолетового випромінювання. [11] Воно призводить до зниження загальної кількості колагену приблизно на 20 %, руйнування нормального еластину й одночасно до продукування фібробластами патологічного еластину, що супроводжується дегенерацією навколишньої колагенової сітки (еластоз). [152,160] При цьому старінні шкіра звичайно стовщена, має жовтуватий відтінок з підкресленим рисунком зморщок.

Механізм фотостаріння переважно полягає в тому, що ультрафіолетова радіація індукує появу активних форм кисню (АФК) (O_2^- , H_2O_2 , OH^\cdot , $OSCl^\cdot$, O_3), які активують поверхневі клітинні рецептори для EGF, IL-1, інсуліну, KGF і $TNF\alpha$. Активація рецепторів частково опосередкована пригніченням АФК ферменту протеїн-тирозинфосфатази-к, чия функція полягає в збереженні рецепторів, подібних до рецептора EGF, у неактивному стані – гіпофосфорильованих. Активація рецепторів призводить до інтенсифікації внутрішньоклітинної сигналізації через стимуляцію стрес-асоційованого мітоген-активованого протеїну (MAP) кіназ р38 і c-Jun амінотермінальної кінази (JNK). Активація кіназ індукує нуклеарну транскрипцію комплексу AP-1 (activating protein-1), що складається з білків c-Jun і c-Fos. Відомо, що транскрипція AP-1 індукується навіть при дії суберитемних доз ультрафіолету. [30]

Важливу роль у розвитку процесу відіграють матриксні металопротеїнази. [148] MMPs – це ендопептидази, що містять цинк, з великою широтою субстратної специфічності. Разом ці ферменти здатні

деградувати практично всі білкові компоненти міжклітинного матрикса (МКМ). За специфічністю до субстрату вони можуть бути розділені на 5 основних груп: 1) колагенази (MMP-1, MMP-8, MMP-13); 2) желатинази (MMP-2, MMP-9); 3) стромелізини (MMP-3, MMP-10, MMP-11); 4) матрилізини (MMP-7, MMP-26); 5) MMPs мембранного типу (MMP-14, MMP-15, MMP-16). Викликана MMPs альтерація МКМ призводить до появи в шкірі ознак передчасного старіння. [148] AP-1 підсилює транскрипцію MMPs і пригнічує експресію генів проколагену I і II, а також TGF β -рецептора, чим знижує ефект TGF β , тобто цитокіну, що підсилює транскрипцію гена колагену та пригнічує проліферацію кератиноцитів. У результаті знижується ефективність утворення матриксу. Ультрафіолет також активує транскрипційний рецептор NF- κ B і, внаслідок міграції нейтрофілів у тканину і вивільнення матриксних металопротеїназ, деградація матриксу підсилюється далі.

AP-1 також активується завдяки індукованій ультрафіолетом інгібіції фосфатази PTEN і активації кінази Akt, що опосередковують свою дію активацією фосфоінозитид-3-кіназного сигнального шляху. AP-1 також індукується цистеїн-насиченим протеїном 61 (CYR61) – регулятором синтезу колагену, що активується ультрафіолетом у фібробластах. CYR61 бере участь у деградації матриксу завдяки індукції синтезу MMP-1 (колагенази). Також CYR61 пригнічує продукцію проколагену-I і знижує експресію TGF β -рецептора. У результаті CYR61 підвищує активність металопротеїназ, особливо MMP-1, MMP-3 (стромелізину-1) і MMP-9 (92-kDa-желатинази). [168]

Активований ультрафіолетом нуклеарний транскрипційний фактор NF- κ B індукує експресію прозапальних цитокінів: IL-1, IL-6, VEGF і TNF β , що стимулюють експресію MMP. Індукована ультрафіолетом неповна деградація колагену призводить до накопичення частково деградованого колагену та порушує інтегральну структуру шкіри. [93]

1.2. Дermalні фібробласти та кератиноцити при старінні

Старіння шкіри зі зменшенням активності та кількості юних і зрілих фібробластів пов'язують з відносним віковим накопиченням сенесцентних фібробластів зі зниженою стійкістю по відношенню до активаційних і проапоптотичних сигналів. Значно скорочується також і загальна кількість дермальних клітин з втратою їхньої різноманітності. Відзначається, що інволюційні зміни шкіри зачіпають всі її відділи, включаючи похідні. Водночас спостерігаються виражені дистрофічні та деструктивні зміни епідермісу, а межа між епідермісом і дермою сплющується, виявляється як патологічна рівна смуга. [70]

Зниження пружності й еластичності шкіри, утворення зморщок, пігментацій та інших проявів старіння зумовлено дисконпозицією МКМ у результаті дисрегуляції умов функціонування фібробластів і кератиноцитів, порушення їхньої синтетичної та ремодулювальної діяльності.

Фібробласти здатні конститутивно продукувати більшість притаманних стромальним клітинам цитокінів: M-CSF, Flt-3L, SCF, IL-7, MCP-1, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15. [122] До того ж є переконливі дані, що фібробласти відіграють фундаментальну роль у лімфоцитопоезі, беруть участь у позитивній селекції тимоцитів, а незрілі Т-клітини виявляють мембранну спорідненість до них. Розвиток В-лімфоцитів також потребує тісної взаємодії незрілих В-клітин зі стромальними. Описаний регуляторний вплив фібробластів і на CD4⁺, і CD8⁺-Т-клітини, В-клітини, NK-клітини, дендритні клітини моноцитарного походження та нейтрофіли. [32]

Фібробласти продукують більшість молекул позаклітинного матриксу: проколаген, фібронектин, глікозаміноглікани, проеластин, нідоген, ламінін, хондроїтин-4-сульфат, тенасцин. Колаген і еластин формують волоконний каркас, а глікозаміноглікани і фібронектин утворюють дифузний цементуючий компонент матриксу. Причому фібронектин відповідає за адгезію, міграцію та взаємну орієнтацію клітин. Активність дермальних

фібробластів значною мірою регулюється цитокінами. Проліферацію клітин стимулюють ІЛ-1 α , TNF α , лімфотоксин. Антипроліферативну дію виявляють інтерферони. ІЛ-1 α також стимулює продукцію колагену, особливо III типу, TNF α синтез колагену пригнічує, зате стимулює активність колагенази. Дермальні фібробласти (ДФБ) широко використовуються в біоінженерних технологіях. Цитокіни, що виділяються в міжклітинний простір, здійснюють аутокринний і паракринний ефекти, що є одним з головних механізмів стимулювальної дії трансплантованих фібробластів. [123]

Аутокринний ефект виявляє низку ростових факторів. Фактор росту сполучної тканини індукує продукування TGF- β , що відповідає за хемотаксис фібробластів і продукцію ними колагену та фібронектину. Паракринну активність фібробластів можна помітити за стимуляцією ними утворення кровоносних і лімфатичних судин за рахунок секреції ендотеліальних факторів росту VEGF-A, -B, -C, -D. [169] При спільному культивуванні на колагеновому гелі ендотеліальних клітин і дермальних фібробластів відбувається активація ендотеліальних клітин з підвищенням експресії ними MMP-1. У результаті ендотеліальні клітини руйнували навколо поля колагену й утворювали капіляроподібні розгалужені структури. Паракринний ефект забезпечується також секрецією фібробластами фактора росту кератиноцитів (KGF), епідермального фактора росту (EGF), GM-CSF, ІЛ-6 і фактора росту фібробластів (FGF). Кератиноцити зі свого боку синтезують ІЛ-1, який за принципом зворотного зв'язку стимулює фібробласти до синтезу FGF. [68]

У культурі кератиноцити можуть формувати тонкий епідермальний шар. Але без фібробластів уже через два тижні кератиноцити гинуть в апоптозі. При культивуванні кератиноцитів на колагеновому гелі разом з фібробластами останні стимулюють проліферацію кератиноцитів і сприяють стратифікації епідермісу на базальний, шипуватий, зернистий і роговий шари. Фібробласти розташовані в різних ділянках тіла, від цього залежать деякі їхні властивості, що визначаються рівнем експресії тканинних генів.

[76]

Дермальні фібробласти утворюють гетерогенну популяцію клітин і відповідно до їх локалізації в дермі. Дві субпопуляції фібробластів локалізовані в папілярній і ретикулярній дермі, вони мають різні властивості. [111] Третя субпопуляція асоційована з волосяними фолікулами. Ці клітини знаходяться в дермальному сосочку фолікула та впродовж його піхви. [114] Папілярні фібробласти локалізуються близько до поверхні дерми та можуть слугувати для епітеліально-мезенхімальних взаємодій, а також доставки розчинних молекул в епідерміс. Темп поділу папілярних фібробластів швидший, ніж у ретикулярних, *in vitro* вони формують більш щільний моношар, оскільки мають недостатньо ефективний механізм контактного гальмування. [111]

Також вивчали кінетику утворення базальної мембрани в органій культурі за присутності або відсутності фібробластів. В останньому випадку продукція колагену IV та III типів і ламініну-1 кератиноцитами, що культивувалися самі, або значно затримувалася, або була відсутньою, що свідчило про необхідність фібробластів для індукції синтезу названих молекул кератиноцитами. З іншого боку, в присутності кератиноцитів у фібробластах відмічалось підвищення рівня mRNA колагену III типу.

Зрілі постмітотичні кератиноцити, окрім бар'єрної функції, здійснюють захист організму від інфекції, як належить клітинам уродженого імунітету. Для цього насамперед вони мають відповідний рецепторний апарат у вигляді кількох видів PRR (pattern recognition receptor), включаючи toll-рецептори. Внаслідок їх активації відбувається продукування прозапальних цитокінів, хемокінів і антимікробних пептидів: β -дефензинів і каталіцидів. Сильна активація TLR кератиноцитів приводить до синтезу інтерферону I типу та поляризації Th1-реакцій. Конститутивно кератиноцити синтезують численні цитокіни та хемокіни, що створюють широкий діапазон для взаємодії з фібробластами й іншими клітинами в епідермісі. [134]

У культурі було виявлено, що опромінені фібробласти підтримують

ріст дорослих кератиноцитів людей, після чого був ідентифікований KGF, що продукується виключно мезенхімальними клітинами. Фібробласти продукують ще низку факторів, які регулюють проліферацію кератиноцитів і відіграють роль у репарації пошкоджень: GM-CSF, KGF-2, HGF, EGF і IL-1. Фактори, що секретують фібробласти, ефективно модулюють активність кератиноцитів. Зі свого боку IL-1 α , що секретується кератиноцитами, суттєво підвищує синтез цитокінів фібробластами. Взаємодія фібробласт-кератиноцит є вирішальною в репарації шкіри після пошкодження. [161]

Кількість фібробластів і їхня синтетична діяльність значно знижуються з віком. [166] Одним з механізмів сенесценції дермальних фібробластів може бути зміна ступеня метилування ДНК та десіалізація CD44 зі зростанням активності сіалідази, що блокує диференціювання клітин і сприяє появі в людей похилого віку косметичних відхилень. [156] У культурах фібробластів від донорів похилого віку клітини представлені більш крупними зрілими елементами, спостерігається більш швидке їх старіння з суттєвим пригніченням проліферативної активності. Але певна частка дермальних фібробластів не втрачає своєї здатності до поділу і після 60 років, а первинні культури, отримані навіть від 95-річних людей, містили близько 14 % проліферуючих фібробластів. [26] Дані свідчать, що в дермі завжди знаходяться незрілі попередники фібробластів, завдяки клоногенному потенціалу яких можна отримати достатню кількість активних клітин на ранніх пасажах у людей будь-якого віку. [20] Але в деяких роботах повідомляється про зниження ефективності аутотрансплантації фібробластів у людей старше 65 років. Водночас показано, що фібробласти донорів похилого віку зберігають частку свого проліферативного потенціалу та здатності до помірної продукції колагену I типу. Показано, що тривалість життя фібробластів у культурі з віком донора не корелює, що, мабуть, пов'язано з позитивною селекцією в культурі молодих і активних фібробластів, негативною селекцією сенесцентних клітин, або з відсутністю у культурі молекул МКМ, які мають стимулюючу фібробласти дію. [83]

З викладеного зрозуміло, яку важливу та центральну роль відіграють фібробласти і їхня взаємодія з кератиноцитами в забезпеченні функціонування шкіри в нормі та при старінні.

1.3. Корекція інволюційних змін аутотрансплантацією дермальних фібробластів у шкіру, кондиціоновану попереднім уведенням збагаченої тромбоцитами плазми

Фібробласти, як вище зазначено, є найважливішими клітинними елементами сполучної тканини та розповсюджені по всьому організму, складаючи основу строми всіх органів. У шкірі вони відіграють найвидатнішу роль, утворюючи каркас органа, підтримуючи епідерміс, оптимізуючи умови функціонування клітин імунної системи, формування імунної відповіді, секретуючи широкий спектр ростових, трофічних факторів, цитокінів, хемокінів і більш простих за складом медіаторів.

Мезенхімальне походження дермальних фібробластів виказує їхній фенотип з високим рівнем експресії CD73, CD90, CD105, CD44, CD49b і CD54, відсутністю маркерів гемопоетичних клітин (CD45, CD34, CD133, CD117, HLA-DR) і ендотеліальних клітин (CD106), здатність до лінійного диференціювання. [92] Коли до цього додати фібробластоподібну морфологію, здатність прилипати до пластику та формувати КУО-Ф, виникає портрет мультипотентної стромальної клітини, що відрізняється від кістково-мозкових мезенхімальних стромальних клітин (МСК) і таких клітин іншої локалізації розвитком спеціалізованих клітинних механізмів, що відповідають необхідності реалізації функцій у шкірі. [124] Можна також припустити, що наявність спільних властивостей у МСК і дермальних фібробластів дозволяє останнім використовувати деякі добре відомі функції МСК, особливо ті, що пов'язані з впливом на імунну систему. Використання дермальних фібробластів у регенеративній медицині обов'язково потребує урахування їхньої функціональної активності, субпопуляційної

приналежності їй, особливо, гетерогенності.

З практично важливих якостей фібробластів насамперед треба відмітити їхню гетерогенність на генному рівні. У спадок від ембріональних клітин фібробласти отримують гени сімейства транскрипційних факторів НОХ (homeosis genes). У період тканинного морфогенезу експресія НОХ-генів визначає певну позиційну особливість, що обумовлює сайт-специфічне диференціювання. Тим самим у фібробластів зберігається епігенетична пам'ять про розташування клітин у якомусь місці на тілі та про характерні напрямки функціональної активності цих клітин. Приналежність дермальним фібробластам певних НОХ-генів визначає фенотип розташованих над ними кератиноцитів. [144] Ясно, що, з урахуванням відміченого, місце біопсії треба обирати адекватне тому, що потребує корекції.

Має значення, що фібробласти гетерогенні і за місцем їхньої локалізації в дермі. Фібробласти сосочкового шару проліферують з більшою швидкістю, ніж фібробласти сітчастого; їхній ріст не повністю інгібується контактним гальмуванням, вони швидше ростуть на підложці з колагену І типу та синтезують версикан, водночас фібробласти сосочкового шару продукують декорин. Важливо, що за синтезом колагену І та ІІІ типів дермальні фібробласти не розрізняються.

Клітинні культури фібробластів теж гетерогенні насамперед тому, що фібробласти в них знаходяться на різних стадіях розвитку: від невеликих веретеноподібних і активно проліферуючих до більш великих дозріваючих клітин.

На швидкість росту та властивості фібробластів у культурі впливають різні фактори: вік донора, кількість пасажів, спосіб культивування, властивості культуральних середовищ, ділянка проведення біопсії. Клітинна культура також характеризується за поняттям ефективності клонування. Це частка фібробластів, що утворює описані ще в лабораторії О.Я. Фріденштейна фібробластні колонії. У процесі культивування здатність утворювати фібробластні колонії зростає десь до 5-го пасажу, потім

формується плато, яке далі йде на спад. Найімовірніше до 5-6-го пасажів у силу селективної переваги зростає частка активних фібробластів.

У дермальних фібробластів перших пасажів окиснювальних уражень ДНК не було виявлено. Не спостерігали трансформації фібробластів і в патологічних клітин, що викликають тканинний фіброз. Також після внутрішньошкірних ін'єкцій дермальних аутофібробластів не спостерігали утворення келоїдних і гіпертрофічних рубців. Показано, що при тривалому культивуванні фібробласти поступово втрачають активність і здатність синтезувати молекули МКМ, виникає ризик накопичення в клітинах хромосомних аномалій. Тому вважається, що найбільш безпечними для клінічного застосування є фібробласти ранніх 4-6-го пасажів. Рекомендується також проведення цитогенетичних аналізів. Висновок про безпечність трансплантації фібробластів роблять після того, як було встановлено, що в культурі фібробласти зберігають диплоїдний каріотип, мають обмежену тривалість життя і не виявляють онкогенних властивостей. [105]

У косметології та дерматології використовують аутологічні й алогенні фібробласти. Аутологічні фібробласти мають вже значну перевагу в тому, що при їх використанні знімаються питання інфекційної безпеки та ризик розвитку тканиної несумісності. Але для отримання аутологічних фібробластів треба мати час на культивування клітинної культури, тому вони можуть використовуватися, коли такий час є. Це стосується косметологічних методик, що можуть застосовуватися при лікуванні хронічних захворювань, як-от діабет, з довготривалими невиліковними трофічними ураженнями тощо, де використання аутофібробластів дає суттєву клінічну ефективність. При їх використанні для лікування діабетичних ран площею до 10 см², що не загоювалися, отримали повне відновлення шкіри за 8 тижнів. [99]

У косметології трансплантація аутофібробластів з успіхом використовується для корекції контурів обличчя, різних складок і зморщок, атрофічних рубців. Задовільний клінічний ефект спостерігається після трьох трансплантацій протягом кількох місяців. [181] Зручно те, що біопсію можна

проводити багаторазово, клітини отримувати на ранніх пасажах і в достатній кількості; їх можна кріоконсервувати до наступного використання.

Для лікування ран і опіків сьогодні використовують й алогенні фібробласти, особливо в складі шкірних еквівалентів. Кріоконсервовані алофібробласти можуть бути використані практично негайно, що призводить до швидкого відновлення дерми, загоювання ран і зниження ризику утворення рубців. Час життєдіяльності фібробластів у складі алотрансплантатів обмежений – вони не виявляються в дермі вже через 6 тижнів після нанесення на свіжі рани. Але алофібробласти, що опиняються в рані, встигають швидко продукувати молекули МКМ і цитокіни, які стимулюють проліферацію та диференціювання власних клітин реципієнта, це забезпечує клінічний ефект навіть в умовах відторгнення алотрансплантату, зокрема завдяки паракринному ефекту. [73]

У косметології нині перспективи пов'язують з розробкою методів аутологічної трансплантації фібробластів, особливо для корекції інволюційних змін при природному і, особливо, передчасному старінні.

Перші кроки щодо створення методики інтрадермального введення культури аутологічних фібробластів людини здійснювалися з 1994 р. американською компанією «Isolagen Technologies Inc.». До 2009 р. 50 груп вчених з 22 країн Європи повідомили про трансплантацію клітинного матеріалу різного походження 814 пацієнтам. З них 13 % пацієнтів пересаджували дермальні аутофібробласти. [137]

Тривалий і клінічно виражений, більше 2 років, ефект трансплантації аутофібробластів був отриманий у США й Європі за участі 1450 пацієнтів при корекції порушень шкіри після акне, атрофічних рубців і зморщок. Курс лікування зазвичай складався з трьох процедур з 3-6-тижневими інтервалами. За одну процедуру вводилося приблизно 20 млн клітин. Дані гістологічних досліджень після введення аутологічних фібробластів показали збільшення у шкірі кількості фібробластів, зростання чисельності проліферуючих кератиноцитів, суттєве збільшення вмісту та щільності колагену й еластину,

а також стовщення дермального шару та зниження рельєфності шкіри. [95]

Задовільний клінічний результат з аутотрансплантації фібробластів при корекції інволюційних змін у шкірі отримали також і інші автори. [19]

Введення аутологічних культивованих фібробластів сприяло розвитку ревіталізації шкіри за рахунок стимуляції власних фібробластів до синтезу колагену та глікозаміногліканів з вираженим клінічним ефектом тривалістю до 12 місяців. [58] Велику роль в активації резидентних фібробластів з посиленням синтезу колагену та пригніченням такого матриксних металопротеїназ, зниженням апоптозу фібробластів і посиленням ангиогенезу показали інші дослідники. [112]

Безпека й ефективність аутотрансплантації дермальних фібробластів доведена результатами низки багатоцентрових рандомізованих плацебо-контрольованих подвійних сліпих клінічних досліджень. [158] Сьогодні найбільш відома й офіційно визнана технологія з використанням аутологічних дермальних фібробластів, розроблена в США – LAVIV (azficel-T) компанією Fibrocell Science. У 2011 р. FDA (Управління з нагляду за якістю продуктів і ліків США) видало Fibrocell Science дозвіл на використання LAVIV (azficel-T) для корекції носо-губних складок. [158] Суть технології полягає в отриманні фібробластів з біоптату шкіри пацієнта, їх культивуванні та наступному введенні в ділянку, що корегується. У результаті досягається ремодулювання мікроструктури дерми, що виражається в підвищенні вмісту в ній колагенових волокон, збільшенні гідратації дерми та її товщини. [55] Як повідомляється, комерційне використання аутотрансплантації дермальних фібробластів було здійснено в кількох країнах: у США в 1995-1999 рр. (більше 1000 пацієнтів), у Великобританії в 2002-2007 рр. (більше 6000 пацієнтів), у Австралії та Новій Зеландії в 2003-2004 рр. (4027 пацієнтів). [19]

Однак, незважаючи на достатньо переконливі результати аутотрансплантації фібробластів, не завжди отримується цілком задовільний ефект і за клінічною вираженістю, і за тривалістю. Тому наразі продовжують

розроблятися нові підходи щодо удосконалення методу, іноді з трансплантацією клітин іншого тканинного походження. [57] Вивчається дія адипозних МСК, встановлено, що через різні причини загалом надійні результати трансплантації іноді можуть бути недостатніми. Це може бути по'язано з тим, що на розподіл МСК після трансплантації та її ефективність загалом негативно впливають вік і донора, і реципієнта. [91] Але більш ймовірно, що трансплантовані дермальні аутофібробласти мають перевагу тому, що від самого початку вони призначені для функціонування в шкірі, тому добре адаптовані до відповідних умов, краще, ніж будь-які клітини іншого тканинного походження. Тому створюються методи підвищення ефективності трансплантації саме дермальних фібробластів.

У стадії розробки перебуває спосіб використання властивостей тромбоцитів при їх котрансплантації з фібробластами. Тромбоцитарні фактори є одним з основних чинників проліферації фібробластів. [86] Але переконливих даних про ефективність такого підходу в косметології поки що не надано. Деякі дані, отримані переважно з МСК, які за своїми властивостями близькі до дермальних фібробластів, хоча останні мають і суттєві відмінності у функціонуванні й активності, можна розглядати як переконливі.

На лізаті тромбоцитів темп нарощування МСК у 2-3 рази вище, ніж у звичайному середовищі. Отримані МСК пригнічували антигеніндуковану цитотоксичність $CD8^+$ -Т-цитотоксичних лімфоцитів, сприяли диференціюванню $CD4^+$ -лімфоцитів у бік Treg-клітин і підвищували секрецію лімфоцитами ІЛ-10, що загалом можна сприймати як позитивні антизапальні, протиейджингові зрушення. [129] Культивовані в середовищі з PRP адипозні МСК давали певний клінічний ефект при корекції інволюційних змін у шкірі. [136]

Важливо відмітити, що в гіподермі кількість МСК на 1 г маси у 500 разів більша, ніж у кістковому мозку. Навряд чи така кількість мультипотентних клітин потрібна для забезпечення суто жирової тканини.

Мабуть, адипозні МСК можуть розглядатися як джерело факторів антизапальної, антиапоптозної, антифібротичної та регенеративної дії, що потрібні для нормального функціонування всіх шарів шкіри. [98]

Нині функціонування тромбоцитів відкрилося з принципово нової, несподіваної сторони. Виявилось, що тромбоцити беруть активну участь в індукції запалення, необхідного для індукції імунної відповіді, відновленні та формуванні імунологічних реакцій клітинами природного й адаптивного імунітету (містять TLR-2, TLR-4, TLR-7 і TLR-9). [120] Вони виробляють багато ростових факторів та інших біологічно активних субстанцій. [106] Є дані про те, що в гранулах тромбоцитів міститься 827 протеїнів, секреція яких забезпечує перехресну взаємодію тромбоцитів з імунними та стромальними клітинами. [188] Через Р-селектин, який експресується на поверхні тромбоцитів, і його взаємодію зі своїм лігандом (P-selectin glycoprotein ligand 1, PSG-L-1) тромбоцити активують нейтрофіли та моноцити. [179] Великий вплив на нейтрофіли, моноцити, макрофаги й ендотеліальні клітини чинять хемокіни з гранул: CXCL4, CXCL7, β -thromboglobulin, NAP (neutrophil activating peptide). CCL3 (Macrophage inhibitory protein-1 α . MIP 1 α), CCL5 (RANTES) і CXCL1 (GRO α), CXCL5. [103] Активну протимікробну дію надають thrombosidin 1 і 2, а ростові фактори PDGF, TGF- β . EGF і VEGF мають виражену ангіогенну та репаративну дію. [63]

Ефективне рекрутування тромбоцитів необхідне для загоєння ран. [65] З цією метою все більше застосування знаходить збагачена тромбоцитами аутоплазма. [40] Методика ефективна і при регенерації тканин опорно-рухового апарату при травмах і їхніх ускладненнях. [2] Введення збагаченої тромбоцитами аутоплазми з успіхом використовується в дерматології та косметології, в акушерстві та гінекології при захворюваннях шийки матки, лейкоплакії, ендocerвіциті, ерозії шийки матки, краурозі вульви. [16,52,62,90,127,146,184]

Показано, що стимульовані цитокінами трансплантовані фібробласти

відповідають активним синтезом колагену та неколагенових білків. Попереднє по відношенню до дермальних фібробластів уведення тромбоцитів або їхніх продуктів призводить до обмеженого помірною запалення, що, мабуть, створює умови для адекватного впливу на трансплантовані фібробласти прозапальних цитокінів, що забезпечують позитивну селекцію молодих клітин і стимуляцію їхньої активності. Отже, підвищення клінічної ефективності аутофібробластів, трансплантованих слідом за тромбоцитами, можна очікувати в результаті підвищення в шкірі кількості молодих фібробластів і внаслідок їхньої високої ремодулювальної активності.

Висновки до розділу 1

У літературному огляді наведені та проаналізовані дані про механізми розвитку інволюційних процесів у шкірі, в яких задіяні структурно-функціональні, мікроциркуляторні, клітинні й імунологічні фактори. Показано, що значну роль відіграє ейджингова сенесценція дермальних фібробластів, кератиноцитів і клітин імунної системи, що виявляються їх кількісними та функціональними порушеннями, які помітні і в міжклітинному молекулярному мікрооточенні. На зазначеній основі обґрунтовується необхідність корекції вікових змін створенням технології неофіброліфтингу з послідовною трансплантацією збагаченої тромбоцитами плазми та дермальних фібробластів.

Основні положення даного розділу викладені у таких роботах здобувача:

1. Цепколенко АВ. Иммуная система и регенеративный потенциал кожи. Дерматология та венерология. 2017;(3):27-37.
2. Цепколенко ГВ, Літус ОІ. Аутофібробласти в корекції інволюційних змін у шкірі: огляд літератури. Дерматология та венерология. 2018;(2):13-8.
3. Цепколенко АВ. Механизмы старения кожи (обзор литературы). Дерматовенерология. Косметология. 2018;4(3):309-23.
4. Tsepkoenko A, Tsepkoenko V, Dash S, Mishra A, Bader A, Melerzanov A,

Giri S. The regenerative potential of skin and the immune system. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2019 Jul 15;12:519-32.

5. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Современные методы интенсивной регенерации кожи. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 51-2.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Клінічна характеристика пацієток з інволюційно-дистрофічними змінами шкіри

Основою цього дослідження послужили спостереження за 107 пацієнтками, у віці від 25 до 60 років, які звернулися до відділення терапевтичної косметології Інституту пластичної хірургії «Віртус», на клінічній базі кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (Інституті пластичної хірургії «Віртус»), зі скаргами на вікові зміни шкіри, яким проводили неофіброліфтинг. У групі порівняння (ГП) були 22 практично здорові жінки віком 25-35 років, у яких не було візуальних ознак інволюційно-дистрофічних змін.

Критерії включення в дослідження: наявність інволютивних ознак шкіри, жіноча стать, вік – 25-60 років, підписана інформована згода на включення в дослідження. Критерії виключення з дослідження: захворювання шкіри в активній фазі, герпетичні й інші інфекційні процеси на шкірі в період загострення, загальні інфекційні захворювання, хронічні соматичні захворювання в стадії загострення, психічні захворювання, епілепсія, схильність до утворення келоїдних рубців, онкологічні захворювання, вагітність, лактація, патологія системи згортання крові, виражена імунодепресія, захворювання сполучної тканини (синдром Елерса-Данлоса, склеродермія).

Пацієнтки були розподілені на чотири вікові групи з урахуванням даних класифікації О.С. Панової (2001). [33] У першій групі жінок (25-35 років) були ранні вікові зміни, що переважно характеризувалися наявністю мімічних і поверхневих статичних зморщок – 1С клас. У другій групі (36-45 років) переважали глибокі статичні зморшки з початковими

проявами гравітаційного птозу – 2В клас. У пацієнок групи 3 (46-55 років) були глибокі статичні зморшки та гравітаційний птоз 1-2-го ступенів – 3А клас. У 4-й групі жінок (56 років і старше) відмічалися глибокі м'які та статичні зморшки, гравітаційний птоз 3-го ступеня – 3В. Розподіл жінок за віковими групами, а також дані про відносну чисельність кожної з груп наведені в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл пацієнок за віковими категоріями

Групи	Кількість	
	абс.	%
1 (25-35 років)	22	17,1
2 (36-45 років)	32	24,8
3 (46-55 років)	28	21,7
4 (56 років і старше)	25	19,4
Усього пацієнок, залучених до проведення неофіброліфтингу	107	82,9
ГП (25-35 років)	22	17,1
Усього	129	100

Пацієнткам, які були включені до цього дослідження, до початку проведення корекційного курсу проводили комплексне обстеження.

2.2. Методи дослідження структурно-функціонального стану шкіри

Визначення кровотоку проводили з застосуванням ультразвукового доплерівського сканування (прилад «Мінімакс-Допплер-К», СПб, Росія). Швидкість кровотоку в мікроциркуляторному руслі вимірювали за допомогою датчика з частотою випромінювання 25 МГц. Досліджували

ОШК в шкірі чола та щоки (мл/с/см³).

Для оцінки структурних змін у шкірі використовували метод УЗ дермасканування за допомогою портативного високочастотного УЗ приладу «DUB – Digital Ultraschall Bildsystem-tpm» і ПЗ DUB-SkinScan ver.3.2 (Німеччина).

Вміст вологи в епідермісі оцінювали методом корнеометрії, заснованим на вимірюванні електричної ємності діелектричного середовища. Дослідження стану бар'єрної функції епідермісу проводили методом вимірювання парів, що випаровуються з поверхні шкіри, ТЕВВ (транsepідермальна втрата вологи). Для проведення цих досліджень використовували діагностичний комбайн Multi Skin Test Center® MC 1000 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Німеччина). Застосовували методичні підходи і здійснювали аналіз результатів, враховуючи дані інших робіт. [4,5,17,36,67,75,102,116,132,178]

2.3. Забір шкіри для культивування й імунологічних досліджень

Punch-біоптат забирався з дотриманням усіх правил асептики й антисептики в умовах маніпуляційного кабінету або операційної.

Біопсія виконувалася під місцевою анестезією 1 %-м розчином лідокаїну за допомогою спеціальної голки для punch-біопсії, діаметром 3,5 мм. Попередньо були проведені проби на чутливість до лідокаїну. Отримували 2 зразки шкіри. Зразок тканини для отримання культури фібробластів і другий зразок, для імунологічних досліджень, поміщали в стерильний контейнер і передавали в лабораторію Біотехнологічної компанії “Smart Cell” для подальшої роботи.

2.4. Приготування клітинних суспензій і проведення імунологічних досліджень методом проточної цитофлуориметрії

Отримані біоптати шкіри обробляли розчином диспази (1 мг/мл) у

середовищі RPMI (Invitrogen) протягом 60 хвилин при температурі 37°C. Потім проводили обробку розчином колагенази з концентрацією 0,8 мг/мл (Тип IV) в середовищі RPMI з 10 %-ї ембріональної телячої сироватки (FCS, foetal calf serum) і 500 U/ml GM-CSF протягом 8 годин у бактеріальній чашці Петрі для збирання мігруючих клітин. Життєздатність виділених таким чином лейкоцитів зазвичай була 80-90 %, визначена за методом виключення трипанового синього. Загалом методика відповідала підходам, зазначеним авторами. [102]

У своїй роботі ми використовували «Загальний протокол для імунофенотипування з використанням кон'югатів первинних антитіл», який складався з наступних етапів:

- 1) Зібрані після ферментативного виділення мігруючі клітини суспендували до кінцевої концентрації $1-5 \times 10^6$ /мл в холодному PBS (phosphate buffered saline, фосфатному буфері) з 10 % FCS і 1 % азиду натрію.
- 2) Потім до них додавали 0,1-10 мг/мл первинних антитіл, кон'югованих з флуорохромами (за рекомендаціями виробника).
- 3) Інкубували клітини з антитілами як мінімум 30 хвилин при кімнатній температурі або при температурі 4°C (залежно від використовуваних антитіл).
- 4) Відмивання клітин проводили тричі центрифугуванням при 400g 5 хвилин і розводили їх у 500-1000 мкл холодного PBS з 10 % FCS і 1 % азиду натрію.
- 5) Аналіз забарвлених клітин здійснювали методом проточної цитофлуориметрії. Всі вимірювання проведені на приладі для проточної цитофлуориметрії FACSCalibur виробництва Becton Dickinson (США). Були використані набори антитіл для фенотипування клітин компанії Becton Dickinson: BD Multitest IMK Kit (BD Multitest™ CD3FITC/CD8PE/CD45PerCP/CD4APC reagent, BD Multitest CD3FITC/CD16PE+CD56PE/CD45PerCP/CD19APC reagent).

Методологічні підходи до проведення цитофлуориметричного дослідження аналогічні таким, які опубліковані з дотриманням рекомендацій фірм-виробників щодо використання обладнання та реагентів.

2.5. Отримання препарату platelet-rich plasma

Для отримання препарату PRP використовували автоматичну центрифугу Harvest Smart PReP2 (США). У пацієнтки проводили забір цільної венозної крові (20 мл), яку потім розміщували в спеціальний контейнер центрифуги. Далі проводили автоматичне двостадійне центрифугування з різними швидкостями та зміною швидкості обертання. Час центрифугування – 15 хвилин. Після центрифугування отримували 3 мл готового продукту PRP. Концентрація тромбоцитів у отриманому продукті була в 5-7 разів вище початкової, що відповідає вимогам до якості препаратів збагаченої тромбоцитами плазми.

2.6. Отримання культури аутологічних фібробластів шкіри

Отримання культури аутологічних фібробластів шкіри та їхнє нарощування проводили в умовах лабораторії Біотехнологічної компанії «Smart Cell», обладнаної за вимогами GMP.

Усі маніпуляції з культуральними середовищами та розчинами, а також культурами клітин проводили в ламінарному боксі (Biological Safety Cabinet, Class II). Клітини в культуральних флаконах інкубували в ростовому середовищі, що являє собою суміш живильних середовищ DMEM і F12, змішаних у співвідношенні 1:1, яка містила 4 мл/500 мл готового середовища розчину глютаміну (CTS™ GlutaMAX™-I Supplement, Gibco, кат. номер A1286001), 4 мл/500 мл середовища розчину незамінних амінокислот (MEM Non-Essential Amino Acids Solution, 100×, Gibco, кат. номер 11140035) з

додаванням основного фактора росту фібробластів (FGF-Basic (AA 1-155) Recombinant Human Protein, Gibco, кат. номер PHG0261) до кінцевої концентрації 6 нг/мл, у присутності 15 % FBS (Fetal Bovine Serum, certified, heat inactivated, US origin, Gibco, кат. номер 10082147) 500 мкл/500 мл готового середовища антибіотиків (Penicillin-Streptomycin, 5000 U/mL, Gibco, кат. номер 15070063) в інкубаторах при температурі $(37\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ з 5 % CO_2 і 93-98 % вологості.

В умовах ламінарного боксу біоптат шкіри з пробірки з транспортним середовищем (DPBS, no calcium, no magnesium, кат. номер 14190144) акуратно за допомогою стерильного пінцета переносили в стерильну чашку Петрі, що містила промивний буферний розчин (DPBS, no calcium, no magnesium, кат. номер 14190144) з 1000 мкл/10 мл готового середовища розчину антибіотиків.

Обертальними рухами проводили промивання біоптату шкіри в промивному розчині протягом 1-2 хвилин. Процедуру повторювали 2-3 рази. Потім за допомогою стерильного пінцета відмитий біоптат переносили в нову стерильну пластикову чашку Петрі з невеликою кількістю буферного розчину для запобігання підсиханню. За допомогою стерильного хірургічного скальпеля та стоматологічного зонда проводили механічну фрагментацію біоптату на шматочки розміром 0,5-1 мм³. Отримані фрагменти шкіри переносили в культуральний флакон або чашку Петрі, або 6-комірковий планшет за допомогою того ж стоматологічного зонда та рівномірно розподіляли по поверхні дна. Потім за допомогою стерильної серологічної піпетки у флакон, чашку або планшет акуратно, щоб не зачепити отримані експланти (шматочки шкіри), вносили тепле $(37\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ ростове середовище. Флакон, чашку або планшет з отриманою первинною культурою фібробластів поміщали в CO_2 -інкубатор із заданими параметрами температури, вмісту CO_2 та вологості.

Кожні 3-4 дні проводили заміну живильного середовища на свіже. За необхідності проводили промивку експлантатів буферним розчином. Стан

первинної культури в середньому тривав 12-18 діб. Потім проводили перший пасаж (пересівання) клітин.

Пасування культури включало в себе: зняття клітин з пластику, їхній підрахунок і визначення життєздатності, а також розсівання на велику площу. Клітини з поверхні культурального пластику знімали за допомогою підігрітого до $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ розчину трипсин-ЕДТА (Trypsin-EDTA, 0,05 %, phenol red, Gibco, кат. номер 25300054). Підрахунок та визначення життєздатності клітин проводили за допомогою автоматичного лічильника клітин. Після визначення кількості живих клітин проводили обчислення необхідної нової ростової площі, з урахуванням заданої концентрації клітин на 1 cm^2 площі. Час між пасажами тривав від 4 до 7 днів, залежно від посадкової щільності та проліферативного потенціалу кожної конкретної культури клітин.

Отримані з моношару культури дермальні фібробласти мали типову фібробластну морфологію, адгезивність і життєздатність 90-95 %.

2.7. Протокол лікування та дослідження пацієток

При зверненні пацієток зі скаргами на інволюційно-дистрофічні зміни шкіри обличчя, після проведення всіх клінічних аналізів проводили процедуру забору біоптату шкіри з метою культивування дермальних фібробластів і для імунологічних досліджень (рис. 2.1). Також здійснювали інструментальні дослідження (дослідження «до лікування»). Через 2 тижні проводили процедуру введення PRP у вигляді інтрадермальних ін'єкцій в об'ємі 14 мл препарату. Ще через 2 тижні проводили процедуру забору біоптату шкіри для імунологічних досліджень і виконували інструментальні дослідження (дослідження «після ведення PRP»). Одночасно проводили процедуру трансплантації аутофібробластів у вигляді інтрадермальних ін'єкцій (60 млн). Ще через 2 тижні після проведеної трансплантації фібробластів проводили процедуру забору біоптату шкіри для здійснення імунологічних досліджень і виконували інструментальні дослідження

(дослідження «після трансплантації аутофібробластів»). Процедуру забору біоптату шкіри для імунологічних досліджень та інструментальні дослідження повторювали через 6 і 12 місяців після ауотрансплантації фібробластів (дослідження «через 6 місяців» і «через 12 місяців»).

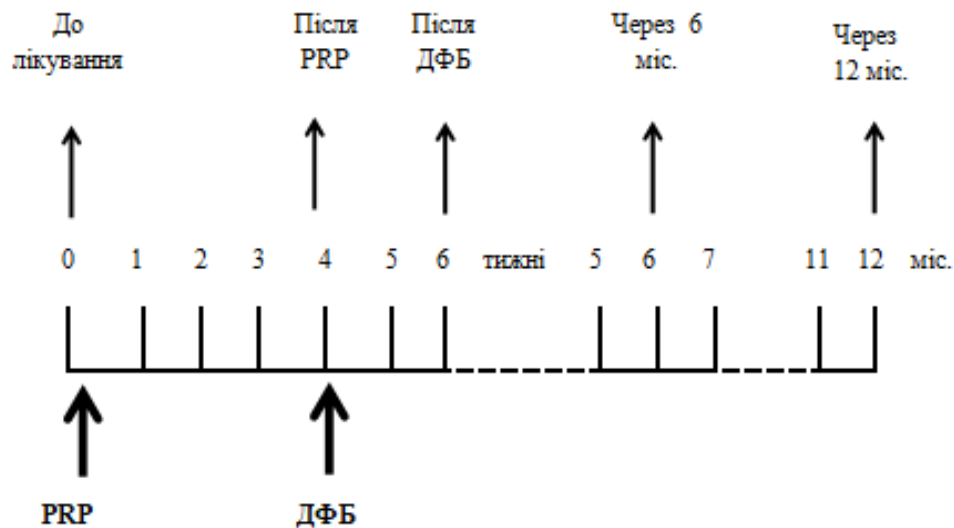


Рис. 2.1. Схема лікування та дослідження пацієнток.

Кількість пацієнток і терміни обстеження надані в табл. 2.2.

При виконанні 1-го дослідження визначали вміст $CD3^+$ -, $CD4^+$ -, $CD8^+$ - і $CD19^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри тричі: до лікування, після введення PRP і після трансплантації аутофібробластів. Аналізували дані тих пацієнток, які пройшли обстеження на всі три терміни: 1-ша група (25-35 років) – 8 пацієнток, 2-га група (36-45 років) – 17 пацієнток, 3-тя група (46-55 років) – 15 пацієнток, 4-та група (56 років і старше) – 13 пацієнток; усього – 53 пацієнтки. У групу порівняння при виконанні 1-го дослідження входили 10 жінок 25-35 років без візуальних ознак інволюційних змін.

При виконанні 2-го, уже тривалого, дослідження визначали найбільш інформативні зміни, а саме вміст $CD4^+$ - і $CD8^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри, проводили інструментальні дослідження. Обстеження виконували 5 разів: до лікування, після введення PRP (через 2 тижні), після трансплантації аутофібробластів (через 2 тижні), через 6 і 12 місяців після трансплантації фібробластів.

Таблиця 2.2

Кількість пацієнок, обстежених у процесі неофіброліфтингу

Терміни обстеження	Дослідження 1					Дослідження 2				
	Пацієнтки				ГП (25-35 років)	Пацієнтки				ГП (25- 35 років)
	1 група (25-35 років)	2 група (36-45 років)	3 група (46-55 років)	4 група (56 років і старше)		1 група (25-35 років)	2 група (36-45 років)	3 група (46-55 років)	4 група (56 років і старше)	
До лікування	8	17	15	13	10	14	15	13	12	12
Після введення PRP	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
Після введення ДФБ	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
Через 6 міс.						8	7	9	8	
Через 12 міс.						↓	↓	↓	↓	
Усього	8	17	15	13	10	14	15	13	12	12
	53					54				

Були залучені 54 пацієнтки: група 1 (25-35 років) – 14 пацієнок, група 2 (36-45 років) – 15 пацієнок, група 3 (46-55 років) – 13 пацієнок, група 4 (56 років і старше) – 12 пацієнок), які пройшли обстеження на перші три терміни. 32 пацієнтки із них (1 група (25-35 років) – 8 пацієнок, група 2 (36-45 років) – 7 пацієнок, група 3 (46-55 років) – 9 пацієнок, група 4 (56 років і старше) – 8 пацієнок) пройшли обстеження на всі 5 термінів.

У групу порівняння при виконанні 2-го дослідження входили 12 жінок 25-35 років без візуальних ознак інволюційно-дистрофічних змін.

2.8. Статистичний аналіз

Одержані результати були опрацьовані статистично з використанням пакету програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з обчисленням медіани (Me) та міжквартильного розмаху (25-75 %). Порівняння між двома незалежними групами з розподілом даних, що відрізняється від нормального, проводили за U-критерієм Манна-Уїтні. Результати вважалися статистично значущими на рівні 95 % ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

КОРЕКЦІЯ ІНВОЛЮЦІЙНИХ ЗМІН У ШКІРІ ЗАСТОСУВАННЯМ РОЗРОБЛЕНОЇ МЕТОДИКИ НЕОФІБРОЛІФТИНГУ

3.1. Дослідження розвитку інволюційних змін у шкірі пацієнток різного віку

З викладених в огляді літератури даних зрозуміло, яким складним й багатогранним процесом є старіння шкіри, і що найбільш перспективним методом позитивного впливу на нього може бути аутотрансплантація найважливіших для функціонування шкіри фібробластних клітин в умовах створення сприятливої для їхнього розвитку ситуації, можливо, за допомогою тромбоцитарних факторів росту. Але перш, ніж розпочати дослідження з аутотрансплантації, слушно було вивчити, які саме і в якому ступені відбуваються інволюційні зміни в досліджуваного контингенту.

Враховуючи вищенадані літературні дані про процеси старіння в шкірі, в нашій роботі насамперед були проведені дослідження вікових структурно-функціональних змін у шкірі пацієнток, які звернулися за допомогою в Інститут пластичної хірургії «Віртус».

Як уже згадувалося, пацієнтки були розподілені на чотири вікові групи з урахуванням наявності в жінок інволюційно-дистрофічних змін згідно класифікації О.С. Панової. [33]

У першій групі жінок (25-35 років) були ранні вікові зміни, що переважно характеризувалися наявністю мімічних і поверхневих статичних зморщок – I C клас. У другій групі (36-45 років) переважали глибокі статичні зморшки з початковими проявами гравітаційного птозу – II B клас. У пацієнток групи 3 (46-55 років) були глибокі статичні зморшки та гравітаційний птоз 1-2-го ступеня – III A клас. У четвертій групі жінок (56 років і старше) відмічалися глибокі мімічні та статичні зморшки, гравітаційний птоз 3 ступеня – III B клас. У ГП були жінки 25-35 років без

візуальних ознак інволюційних змін.

У проведенні інноваційних тонких досліджень вважається доречним, попри доволі чіткі візуальні прояви інволюційних змін, підтримувати суто клінічні спостереження об'єктивними методами. Серед останніх загальне визнання та широке використання знайшли неінвазійні інструментальні методики вивчення властивостей шкіри, основні з яких використані в роботі: ультрасонографічне вимірювання товщини епідермісу та дерми, акустичної щільності шкіри, корнеометрія та вапориметрія, визначення швидкості кровотоку в мікроциркуляторному руслі з застосуванням ультразвукового доплерівського сканування.

Як впливає з табл. 3.1, товщина епідермісу в двох молодших групах (1 і 2) суттєво не відрізнялася від показників у ГП, а у двох більш вікових групах спостерігалось суттєве по відношенню до ГП зменшення товщини епідермісу: в 3-й групі – на 22 % ($p < 0,05$), в 4-й – на 21 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.1

Товщина епідермісу, товщина дерми та акустична щільність шкіри у пацієток різних вікових груп

Показники	Статистичні показники	Показники шкіри у пацієток				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
Товщина епідермісу, мкм	Me	108,2	105,7	87,1	84,7	85,5
	25 %	88,4	84,2	76,5	63,4	73,4
	75 %	124,0	122,8	112,0	94,3	102,1
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,01	<0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05

Продовження табл. 3.1

Показники	Статистичні показники	Показники шкіри у пацієток				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
Товщина дерми, мкм	Me	1874	1899	1473	1688	1432
	25 %	1537	1540	1355	1292	1278
	75 %	2041	2067	1853	1748	1725
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05
Акустична щільність шкіри, ум. од.	Me	106,9	108,8	93,1	97,2	83,0
	25 %	87,1	87,3	82,5	75,9	70,9
	75 %	122,7	125,9	118,0	106,8	99,6
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «25-35 років»;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «36-45 років»;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «46-55 років».

Товщина дерми в наймолодшій 1-й групі була практично однаковою з показниками в ГП. У більш вікових групах показник суттєво знижувався, як по відношенню до ГП: в 2-й групі – на 22 % (p<0,05), в 3-й групі – на 10 % (p<0,05),

в 4-й групі – на 24% ($p < 0,05$), так і у порівнянні з 1-ю групою ($p < 0,05$).

Акустична щільність шкіри в групі 1 була майже однаковою з рівнем у ГП. У групах 2 і 3 вона дещо, але не достовірно, знижувалася. Тільки в групі 4 спостерігалось зниження показника на 22 % ($p < 0,05$) по відношенню до ГП і групи 1.

У групі 1 показники корнеометрії практично не відрізнялися від рівня в ГП (табл. 3.2). А в інших групах вони були значно меншими, ніж у ГП: в 2-й групі – на 19 % ($p < 0,001$), в 3-й групі – на 30 % ($p < 0,001$), в 4-й – на 40% ($p < 0,001$), і меншими, ніж в групі 1 ($p < 0,001$). Статистично достовірно показник зменшувався в групі 3 по відношенню до його значення у групі 2 ($p < 0,001$). Ще більш вологість епідерміса зменшувалася в останній віковій групі 4, достовірно по відношенню до показника у групі 2 ($p < 0,001$) і у групі 3 ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2

Показники корнеометрії та трансепідермальної втрати вологи шкіри в пацієнток різних вікових груп

Показники	Статистичні показники	Показники шкіри у пацієнток				
		у ГП	у групі 1 (25-35 років)	у групі 2 (36-45 років)	у групі 3 (46-55 років)	у групі 4 (56 років і старше)
Корнео метрії, од.	Me	74,0	73,8	60,0	51,6	44,1
	25 %	70,3	67,7	56,1	44,7	36,4
	75 %	78,8	76,9	65,1	54,4	47,6
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,001	<0,001
	p ₄				–	<0,05

Показники	Статистичні показники	Показники шкіри у пацієток				
		у ГП	у групі 1 (25-35 років)	у групі 2 (36-45 років)	у групі 3 (46-55 років)	у групі 4 (56 років і старше)
ТЕВВ, г/год/м ²	Me	11,9	12,1	12,4	15,6	19,6
	25%	9,6	9,3	10,4	13,9	17,2
	75%	13,2	13,4	14,4	18,5	21,9
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
	p ₂		–	>0,05	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,01	<0,001
	p ₄				–	<0,01

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «25-35 років»;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «36-45 років»;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «46-55 років».

Як видно з табл. 3.2, в групі 2 ТЕВВ тільки трохи, але не суттєво збільшувалася відносно рівня в ГП, не зважаючи на достовірне зменшення товщини епідермісу в цій групі. Мабуть, стан останнього визначається не тільки втратою вологи. У двох старших вікових групах, особливо в останній, показник ТЕВВ значно зростав по відношенню до рівня в ГП: в 3-й групі – на 31 % (p<0,001), в 4-й групі – на 65 % (p<0,001), і по відношенню до рівня в групах 1 і 2 (p<0,01). Найбільшим він був в останній віковій групі 4, в якій його значення суттєво (p<0,01) перевищувало рівень ТЕВВ у групі 3.

Отже, видно, що всі вивчені структурно-функціональні показники стану шкіри змінювалися в процесі старіння, але в різному темпі. Якщо показник акустичної щільності достовірно зменшувався тільки в найбільш

віковій 4-й групі, то товщина епідермісу та ТЕВВ суттєво змінювалися в 3-й і 4-й групах, і в протилежному напрямку. Найбільш рано, починаючи з групи 2, відзначалося зменшення товщини дерми та вологості епідермісу, що може свідчити про поєднання розвитку вікових змін в епідермісі та власне дермі.

У літературі є переконливі дані про вікове стоншення епідермісу та дерми. [82,85] Навіть у людей молодше 40 років виявлені початкові інволюційні зміни функціонального характеру, де провідними знахідками були зниження гідратації шкіри та підвищення втрати нею вологи. [18] Також показана досить висока чутливість до вікових процесів показників корнеометрії в різних досліджуваних групах. Вони чітко знижуються від (91,12±17,13) (39 років) до (65,89±23,58) (40-49 років) і до (38,81±13,61) Од. (старше 50 років). [13] Дані про залучення епідермісу в розвиток інволюційних змін підтверджуються гістологічними дослідженнями, що реєструють і стоншення епідермісу, і розгладження епідермальних виростів, що зрозуміло сполучалося зі спазмуванням капілярних петель і розплітанням колагенових волокон з хаотичним їх розподілом у сітчастому шарі дерми. [48]

Також є дані, що разом з епідермісом з віком знижується і товщина дерми, виникає еластоз, а також зменшується кількість дермальних клітин. [21] Водночас знижується вміст глікозаміногліканів, зокрема гіалуронової кислоти, що значною мірою зумовлює дегідратацію шкіри. З віком також зменшується акустична щільність епідермісу та дерми. [85] Зниження товщини дерми й епідермісу відбувається одночасно. [35,82,85] Характерно, що знижені показники корнеометрії сполучаються з підвищеними показниками ТЕВВ. [28,34,35]

Внаслідок порушення балансу між процесами утворення та деградації молекул міжклітинного матриксу відбувається зменшення товщини дерми. Знижується синтез фібробластами колагену, еластину, фібриліну та глікозаміногліканів, водночас активується продукція руйнуючих їх протеолітичних ферментів. MMP-1 синтезується переважно фібробластами, а

ММР-8 – переважно нейтрофілами. У результаті таких тканинних змін порушується міжклітинна взаємодія, і численні фактори росту, що підтримуються зв'язками з гіалуроновою кислотою, виявляються до певної міри деактивованими, і передача сигналів фібробластам падає до низького рівня, що призводить до зниження синтезу колагену й інших молекул міжклітинного матриксу. Зниження синтезу колагену та його деградація є провідним фактором дезорганізації сполучної тканини і, разом зі зменшенням вмісту фіксуєчих епідерміс фібрил, призводить до утворення зморщок. [31]

Отже, у формуванні інволюційних змін провідну роль відіграють структурні порушення на основі пригнічення синтезу фібробластами молекул міжклітинного матриксу та недостатнім темпом видалення зі шкіри деградованих з часом складно збудованих молекул матриксу, що, мабуть, насамперед є наслідком метаболічної недостатності. [81,104] Оскільки метаболічні процеси багато в чому підтримуються кровопостачанням і мікроциркуляцією, наступні дослідження проведені для вивчення питань кровообігу в шкірі.

3.2. Особливості змін мікроциркуляції в шкірі пацієнток різного віку

Відомо, що зниження гідратації шкіри перебігає разом зі збільшенням ТЕВВ, і з цим суттєво корелюють параметри кровообігу. [174] При стимуляції мікроциркуляції разом з підсиленням метаболічних процесів відбувається збільшення надходження вологи в епідерміс з нормалізацією корнеометричних показників. Особливо важливо відмітити, що стоншеним епідерміс стає у ділянках шкіри, де є ознаки пригнічення кровообігу, та не змінюється в інших, де кровообіг нормальний. При старінні шкіри часто спостерігається субепідермальна полоса ехогенності. Наявність її свідчить про порушення мікроциркуляції в шкірі. [154]

Дослідження кровопостачання шкіри при старінні потребує особливої уваги тому, що кількісні показники мікроциркуляторного русла суттєво корелюють з показниками вікової динаміки стану епідермісу та рівня гідратації шкіри. [84]

Як видно з табл. 3.3, ОШК в ділянці чола знижувалася відносно рівня в ГП, хоча і не достовірно, уже в групі 2. У групі 3 спостерігалось достовірне зниження показника на 22 % ($p < 0,05$) по відношенню до ГП. У найбільш віковій групі ОШК в області чола зменшувалася по відношенню до ГП на 72 % ($p < 0,05$) і по відношенню до всіх вікових інших груп ($p < 0,001$).

Таблиця 3.3

Об'ємна швидкість кровотоку в пацієнток різних вікових груп

Показники	Статистичні показники	Об'ємна швидкість кровотоку в пацієнток				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
ОШК в ділянці чола, мкл/сек/см ³	Me	85,7	82,5	72,7	67,1	23,9
	25 %	65,9	61,0	62,1	45,8	19,5
	75 %	101,5	99,6	97,6	76,7	28,2
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,001
	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,001
	p ₃			–	>0,05	<0,001
	p ₄				–	<0,001
ОШК в ділянці щоки, мкл/сек/см ³	Me	99,9	102,8	64,7	46,8	30,9
	25%	80,1	81,3	54,1	45,1	26,5
	75%	115,7	119,9	89,6	53,7	35,2
	n	12	14	15	13	12

Показники	Статистичні показники	Об'ємна швидкість кровотоку в пацієнтках				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
ОШК в ділянці щоки, мкл/сек/см ³	p ₁	–	>0,05	<0,01	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,01	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,01	<0,001
	p ₄				–	<0,001

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «25-35 років»;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «36-45 років»;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «46-55 років».

При вивченні ОШК в ділянці щоки виявилось, що вона достовірно знижувалася на 35 % (p<0,01) в групі 2 по відношенню до ГП і групи 1 (p<0,01). Далі спостерігалось ще більше зменшення ОШК в ділянці щоки по відношенню до ГП: в 3-й групі – на 53 % (p<0,01), в 4-й – на 69 % (p<0,001), і по відношенню до груп 1 і 2 (p<0,01). Як і в області чола, найбільше достовірне зниження ОШК в ділянці щоки було у 4-й віковій групі і по відношенню до всіх інших груп (p<0,001).

Отже, ОШК з віком суттєво знижувалася і в ділянці чола, і в ділянці щоки. Виражене пригнічення кровообігу спостерігається в області щоки уже після 35 років, і в наступних вікових групах об'ємна швидкість зазнавала ще більш значного зменшення показників, які її характеризують в обох ділянках. Ці зміни переважно, мабуть, є наслідком вікових клітинних і молекулярних порушень у шкірі, про що йшлося вище.

Відомо, що регіональні порушення кровообігу є наслідком вікових змін загальної гемодинаміки, що зі свого боку формується значною мірою на

основі виникаючих ендотеліальних дисфункцій, коли відбувається стоншення глікокаліксу разом з підвищенням проникності епітелію до білків плазми. [41] У таких ділянках відбувається адгезія нейтрофілів і моноцитів та проникнення їх в інтиму. Швидкість оновлення ендотеліальних клітин зростає, але вони містять велику кількість пошкоджень, а концентрація холестерину та ліпопротеїдів низької щільності збільшується, розвиваються фібрино-м'язові стовщення. Наростає гіпоксія, що прискорює загибель ушкоджених ендотеліоцитів з подальшим підвищенням проникності ендотелію та формуванням порушень гемодинаміки.

Мабуть, одним з найбільш важливих тригерних факторів розвитку ендотеліальних дисфункцій є імунологічні процеси. При старінні в крові з'являються аутоантитіла, циркулюючі імунні комплекси, активуються клітини та фактори природного імунітету, у Т-клітинному імунітеті виникають регуляторні й ефекторні розлади. [8]

3.3. Вплив неофіброліфтингу на структурно-функціональні показники старіючої шкіри

Наведені в роботі дані свідчать про важливу роль у розвитку інволюційних змін у шкірі при старінні, з одного боку, структурно-функціональних змін, які виникають у результаті участі в старінні загальних організмених механізмів, як-от генетичні, імунонейроендокринні й інші загальні процеси, з іншого, – місцеві порушення, що проявляються зниженням активності тканинної регенерації насамперед за рахунок кількісної недостатності та функціонального пригнічення шкірних фібробластів і клітин імунної системи.

Трансплантація аутофібробластів дозволяє кількісно поповнити дерму фібробластами, а також внести певну кількість функціонально повноцінних клітин, які мають більшу синтетичну та регуляторну активність. З урахуванням необхідності підвищення ефективності методу та чутливості

фібробластів до обробки прозапальними цитокінами, завдяки наявності відповідних рецепторів вбачалося перспективним перед уведенням фібробластів індукувати в шкірі запальний процес попередніми ін'єкціями тромбоцитів, що забезпечує появу в тканині прозапальних цитокінів і факторів росту, що значною мірою активують проліферацію та диференціювання фібробластів. Для оцінки ефективності неофіброліфтингу застосовані інструментальні методи, що дозволяють дати об'єктивну характеристику структурним компонентам і функціональному стану шкіри.

Під впливом неофіброліфтингу відбуваються суттєві зміни показників. Як видно з табл. 3.4, товщина епідермісу в групі 1 (25-35 років) не відрізнялася від рівня в ГП та не змінювалася в процесі неофіброліфтингу.

Таблиця 3.4

Товщина епідермісу в пацієток різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина епідермісу в пацієток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фібробластів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	Me	108,2	105,7	103,2	114,5	102,2	97,7
	25%	88,4	84,2	81,7	93,0	86,0	81,5
	75%	124,0	122,8	120,3	131,6	129,5	125,0
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина епідермісу в пацієнток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
2 (36-45 років)	Me	108,2	87,1	87,5	102,2	98,1	95,6
	25 %	88,4	76,5	76,9	91,6	92,7	90,2
	75 %	124,0	112,0	112,4	127,1	101,6	99,1
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p ₃			–	<0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
3 (46-55 років)	Me	108,2	84,7	102,0	103,2	103,6	103,9
	25 %	88,4	63,4	80,7	81,9	84,7	85,0
	75 %	124,0	94,3	111,6	112,8	112,3	112,6
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
4 (56 років і старше)	Me	108,2	85,5	83,4	102,0	105,6	85,4
	25 %	88,4	73,4	71,3	89,9	97,4	77,2
	75 %	124,0	102,1	100,0	118,6	117,1	96,9
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина епідермісу в пацієнток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
4 (56 років і старше)	p ₂		–	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₃			–	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фіброblastів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 2 (36-45 років) вона не відрізнялася від показників в ГП, підвищувалася на 17 % (p<0,05) відносно рівня до лікування після трансплантації фіброblastів, але поверталася до вихідного рівня через 6 і 12 місяців.

У пацієнток 46-55 років (група 3) до лікування товщина епідермісу була меншою, ніж у ГП, на 22 % (p<0,05). У цій групі зростання на 20 % (p<0,05) товщини епідермісу по відношенню до показника до лікування спостерігалось уже після введення PRP і було на тому ж рівні в результаті введення аутофіброblastів одразу, через 6 і 12 місяців

спостереження.

У пацієток 56 років і старше (група 4) до лікування товщина епідермісу була меншою, ніж у ГП, на 21 % ($p < 0,05$). Одразу після трансплантації аутофібробластів товщина епідермісу в цій групі також підвищувалася (на 19 %; $p < 0,05$), але на досягнутому рівні залишалася тільки до 6 місяців. Введення PRP у цій групі було неефективним.

Товщина дерми в наймолодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнялася від рівня в ГП (табл. 3.5). Вона збільшувалася відносно рівня до лікування на 9 % ($p < 0,05$) після введення PRP, на 11 % ($p < 0,05$) після трансплантації фібробластів і на 18 % ($p < 0,05$) через 6 місяців спостереження. Через 12 місяців товщина дерми вже практично не відрізнялася від рівня до лікування.

Таблиця 3.5

Товщина дерми в пацієток різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина дерми в пацієток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	після введення фібробластів	через 6 місяців	через 12 місяців
1 (25-35 років)	Me	1874	1899	2074	2115	2246	1841
	25 %	1537	1540	1715	1756	1918	1513
	75 %	2041	2067	2242	2283	2493	2088
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Продовження табл. 3.5

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина дерми в пацієток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
2 (36-45 років)	Me	1874	1473	1470	1489	1679	1881
	25 %	1537	1355	1352	1371	1621	1823
	75 %	2041	1853	1850	1869	1685	1887
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	<0,01
3 (46-55 років)	Me	1874	1591	1679	1704	1758	1889
	25 %	1537	1195	1283	1308	1380	1511
	75 %	2041	1651	1739	1764	1806	1937
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
4 (56 років і старше)	Me	1874	1432	1437	1661	1761	1815
	25%	1537	1278	1283	1507	1624	1678
	75%	2041	1725	1730	1954	1991	2045
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Вікові групи	Статистичні показники	Товщина дерми в пацієток, мкм					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
4 (56 років і старше)	p ₂		–	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фіброblastів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групах 36-45 років і 46-55 років товщина дерми до лікування була меншою, ніж у ГП, на 21 % і 10 % (p<0,05) відповідно. Суттєве збільшення товщини дерми відносно рівня до лікування в цих групах спостерігалось тільки через 12 місяців після введення фіброblastів: у групі 3 – на 28 % (p<0,05), групі 4 – на 19 % (p<0,05).

У групі 56 років і старше товщина дерми до лікування була меншою, ніж у ГП, на 24 % (p<0,05). Реакція на лікування в цій групі була найбільш вираженою: стовщення дерми спостерігалось одразу після трансплантації аутофіброblastів (на 16 %; p<0,05), через 6 і 12 місяців після неї на 23 % і

27 % ($p < 0,05$) відповідно.

У групах 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) акустична щільність шкіри до лікування не відрізнялася від значень показника в ГП (табл. 3.6). У результаті неофіброліфтингу акустична щільність шкіри в цих групах підвищувалася від показників до лікування на 19 % ($p < 0,05$) у групі 1 і на 33 % ($p < 0,05$) у групі 2 через 12 місяців після трансплантації фібробластів.

Таблиця 3.6

Акустична щільність шкіри в пацієнток різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	Акустична щільність у пацієнток, ум. од.					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	Me	106,9	108,8	107,7	110,3	107,9	129,5
	25 %	87,1	87,3	86,2	88,8	91,7	113,3
	75 %	122,7	125,9	124,8	127,4	135,2	156,8
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	<0,05
	p ₅					–	>0,05
2 (36-45 років)	Me	106,9	93,1	93,6	96,2	107,9	123,6
	25 %	87,1	82,5	83,0	85,6	102,5	118,2
	75 %	122,7	118,0	118,5	121,1	111,4	127,1
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Продовження табл. 3.6

Вікові групи	Статистичні показники	Акустична щільність у пацієнток, ум. од.					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
2 (36-45 років)	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	<0,01
3 (46-55 років)	Me	106,9	97,2	103,9	105,8	113,3	121,1
	25 %	87,1	75,9	82,6	84,5	94,4	102,2
	75 %	122,7	106,8	113,5	115,4	122,0	129,8
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	<0,05
4 (56 років і старше)	Me	106,9	83,0	93,7	95,4	108,7	111,5
	25 %	87,1	70,9	81,6	83,3	100,5	103,3
	75 %	122,7	99,6	110,3	112,0	120,2	123,0
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,01
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p_1 – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p_2 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p_3 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p_4 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p_5 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 3 (46-55 років) акустична щільність шкіри до лікування не відрізнялася від значень показника в ГП. У групі 4 (56 років і старше) вона була меншою, ніж у ГП, на 22 % ($p < 0,05$). У двох старших групах підвищення акустичної щільності спостерігалось через 6 місяців після трансплантації: в групі 3 – на 17 % ($p < 0,05$), групі 4 – на 31 % ($p < 0,05$) і трималося до 12 місяців, тобто до закінчення терміну спостереження.

Показники корнеометрії в молодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнялися від рівня в ГП (табл. 3.7). Вони зростали на 30 % ($p < 0,001$) від рівня до лікування одразу після введення аутофібробластів і зберігалися підвищеними на 26 % ($p < 0,001$) через 6 місяців.

В інших трьох групах корнеометричні показники були нижчими, ніж у ГП: в групі 2 (36-45 років) – на 19 % ($p < 0,001$), групі 3 (46-55 років) – на 30 % ($p < 0,001$), групі 4 (56 років і старше) – на 40 % ($p < 0,001$). Вони зростали відносно рівня до лікування вже в результаті введення PRP: у групі 2 – на 17 % ($p < 0,001$), у групі 3 – на 29 % ($p < 0,001$), у групі 4 – на 13 % ($p < 0,05$), і далі трималися на високому рівні ($p < 0,05$) до кінця обстеження.

У молодшій групі 1 (25-35 років) показник ТЕВВ до лікування не відрізнявся від рівня в ГП (табл. 3.8). У результаті проведення неофіброліфтингу показник ТЕВВ в цій групі достовірно знижувався

відносно показника до лікування через 12 місяців після трансплантації аутофібробластів на 22 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.7

Показники корнеометрії шкіри в пацієнок різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	Показники корнеометрії в пацієнок, Од.					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	Me	74,0	73,8	76,0	95,9	92,7	71,8
	25 %	70,3	67,7	69,9	89,8	88,4	67,5
	75 %	78,8	76,9	79,1	99,0	99,9	79,0
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05
	p ₃			–	<0,001	<0,001	>0,05
	p ₄				–	>0,05	<0,001
	p ₅					–	<0,001
2 (36-45 років)	Me	74,0	60,0	70,1	78,1	81,2	78,7
	25 %	70,3	56,1	66,2	74,2	78,0	75,5
	75 %	78,8	65,1	75,2	83,2	85,7	83,2
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	<0,001	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,011	<0,001	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Вікові групи	Статистичні показники	Показники корнеометрії в пацієнток, Од.					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
3 (46-55 років)	Me	74,0	51,6	66,4	70,5	65,9	66,6
	25 %	70,3	44,7	59,5	63,6	60,3	61,0
	75 %	78,8	54,4	69,2	73,3	71,5	72,2
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01	<0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
4 (56 років і старше)	Me	74,0	44,1	49,8	58,0	56,9	52,3
	25%	70,3	36,4	42,1	50,3	52,3	47,7
	75%	78,8	47,6	53,3	61,5	63,7	59,1
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,05	<0,001	<0,001	<0,05
	p ₃			–	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;

4. p_4 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p_5 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

Таблиця 3.8

Показники трансепідермальної втрати вологи в пацієнок різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	Показники ТЕВВ у пацієнок, г/год/м ²					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	після введення фібробластів	через 6 місяців	через 12 місяців
1 (25-35 років)	Me	11,9	12,1	12,2	11,7	10,1	9,4
	25 %	9,6	9,3	9,4	8,9	8,6	7,9
	75 %	13,2	13,4	13,5	13,0	10,7	10,0
	n	12	14	14	14	8	8
	p_1	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p_2		–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p_3			–	>0,05	>0,05	<0,05
	p_4				–	>0,05	>0,05
	p_5					–	>0,05
2 (36-45 років)	Me	11,9	12,4	12,5	10,6	10,4	9,3
	25 %	9,6	10,4	10,5	8,6	9,1	8,0
	75 %	13,2	14,4	14,5	12,6	10,6	9,5
	n	12	15	15	15	7	7
	p_1	–	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p_2		–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,01

Вікові групи	Статистичні показники	Показники ТЕВВ у пацієток, г/год/м ²					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
2 (36-45 років)	p ₃			–	>0,05	<0,05	<0,01
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
3 (46-55 років)	Me	11,9	15,6	13,8	13,0	11,2	11,3
	25 %	9,6	13,9	12,1	11,3	10,6	10,7
	75 %	13,2	18,5	16,7	15,9	15,3	15,4
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
4 (56 років і старше)	Me	11,9	19,6	18,8	17,1	15,2	15,8
	25%	9,6	17,2	16,4	14,7	12,7	13,3
	75%	13,2	21,9	21,1	19,4	17,5	18,1
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01
	p ₂		–	>0,05	<0,05	<0,01	<0,05
	p ₃			–	>0,05	<0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;

2. p_2 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p_3 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p_4 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p_5 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 2 (36-45 років) показник ТЕВВ до лікування також не відрізнявся від рівня в ГП. Він суттєво знижувався через 6 місяців після введення фібробластів відносно показників до лікування на 16 % ($p < 0,05$) і відносно показників після введення PRP ($p < 0,05$). Зменшення ТЕВВ відносно показників до лікування на 25 % ($p < 0,01$) спостерігалось і через 12 місяців. Але в цей термін показник ТЕВВ становився достовірно ($p < 0,05$) меншим і по відношенню до ГП ($p < 0,05$).

У групі 3 (46-55 років) ТЕВВ до лікування була більшою, ніж у ГП, на 31 % ($p < 0,001$). Вона суттєво знижувалася по відношенню до рівня показника до лікування одразу після введення фібробластів на 17 % ($p < 0,05$) і через 6 і 12 місяців після цього на 28 % ($p < 0,05$).

У групі 4 (56 років і старше) ТЕВВ до лікування була більшою, ніж у ГП, на 65 % ($p < 0,001$). Спостерігалось суттєве зменшення ТЕВВ по відношенню до рівня показника до лікування одразу після введення фібробластів на 13 % ($p < 0,05$), через 6 – на 22 % ($p < 0,01$) і через 12 місяців – на 19 % ($p < 0,05$) після цього. У терміни 6 і 12 місяців зменшення ТЕВВ було також достовірним ($p < 0,05$) і по відношенню до рівня після введення PRP.

Отже, структурні та функціональні показники стану шкіри: товщина дерми й епідермісу, акустична щільність шкіри, корнеометричні та вапориметричні показники в результаті проведення неофіброліфтингу суттєво покращувалися практично в усіх вікових групах, частіше після введення фібробластів. Але доволі часто само собою введення PRP

призводило до позитивного антиейджингового ефекту. Позитивні структурно-функціональні зміни під впливом неофіброліфтингу могли бути зумовлені покращенням кровообігу та мікроциркуляції.

Результати вивчення ОШК надані далі.

Як видно з табл. 3.9, у динаміці неофіброліфтингу відбувалися суттєві зміни ОШК в ділянці чола. У молодшій групі ОШК в ділянці чола до лікування не відрізнялася від рівня в ГП. Вона зростала після трансплантації фібробластів відносно значень показника в ГП та до лікування на 29 % ($p < 0,05$). Високий рівень ОШК зберігався через 6 місяців (на 34 % більший; $p < 0,05$) і через 12 місяців (на 49 % більший; $p < 0,001$). Через 12 місяців ОШК була достовірно вищою ($p < 0,001$), ніж у пацієток після введення PRP.

Таблиця 3.9

Об'ємна швидкість кровотоку в області чола в пацієток різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці чола в пацієток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фібробластів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	Me	85,7	82,5	92,6	106,2	110,9	123,1
	25 %	65,9	61,0	71,1	84,7	94,7	106,9
	75 %	101,5	99,6	109,7	123,3	138,2	150,4
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,001
	p ₂		–	>0,05	<0,05	<0,01	<0,001
	p ₃			–	>0,05	>0,05	<0,001
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці чола в пацієнток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
2 (36-45 років)	Me	85,7	72,7	89,8	89,8	129,4	139,6
	25 %	65,9	62,1	79,2	79,2	124,0	134,2
	75 %	101,5	97,6	114,7	114,7	132,9	143,1
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001
	p ₃			–	>0,05	<0,01	<0,001
	p ₄				–	<0,01	<0,001
	p ₅					–	<0,05
3 (46-55 років)	Me	85,7	67,1	100,4	120,2	126,0	113,6
	25 %	65,9	45,8	79,1	98,9	107,1	94,7
	75 %	101,5	76,7	110,0	129,8	134,7	122,3
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,05	>0,05	<0,01	<0,01	<0,01
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,05	<0,01	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
4 (56 років і старше)	Me	85,7	23,9	82,9	95,2	98,6	96,1
	25%	65,9	19,5	70,8	83,1	90,4	87,9
	75%	101,5	28,2	99,5	111,8	110,1	107,6
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці чола в пацієнток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
4 (56 років і старше)	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фіброblastів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 2 (36-45 років) ОШК в ділянці чола до лікування також не відрізнялася від рівня в ГП. Вона була значно більшою відносно ГП після введення PRP (на 24 %; p<0,05), після трансплантації фіброblastів (на 24 %; p<0,05), через 6 і 12 місяців після трансплантації фіброblastів (на 78 і 92 % відповідно; p<0,001). Через 6 і 12 місяців підвищення ОШК було достовірно вищим (p<0,01) і відносно рівня показника в пацієнток після введення PRP. Через 12 місяців після трансплантації аутофіброblastів показник був вищим, ніж через 6 місяців (p<0,05).

У групі 3 (46-55 років) ОШК в ділянці чола до лікування була меншою,

ніж у ГП, на 22 % ($p < 0,05$). Вона значно зростала після введення PRP на 50 % ($p < 0,001$) і залишалася на високому рівні до 12 місяців. Одразу після трансплантації аутофібробластів і через 6 місяців значення ОШК було більшим, ніж після введення PRP ($p < 0,05$). Після трансплантації аутофібробластів ОШК в ділянці чола була суттєво вищою відносно ГП ($p < 0,01$).

У жінок групи 4 (56 років і старше) ОШК в ділянці чола до лікування була меншою, ніж у ГП, на 72 % ($p < 0,001$). Вона значно зростала вже після введення PRP на 250 % ($p < 0,001$) і залишалася на високому рівні ($p < 0,001$) відносно рівня показника у пацієток до лікування в усі терміни спостереження.

ОШК в ділянці щоки в наймолодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнялася від рівня в ГП (табл. 3.10). Вона значно зростала відносно рівня показника до лікування одразу після трансплантації аутофібробластів на 28 % ($p < 0,01$) і знаходилася на високому рівні до кінця спостереження ($p < 0,01$). На ці терміни ОШК в ділянці щоки була суттєво більшою ($p < 0,01$) відносно рівня показника після введення PRP і в ГП.

Таблиця 3.10

Об'ємна швидкість кровотоку в області щоки в пацієток різних вікових груп у динаміці лікування

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці щоки в пацієток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	в процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фібробластів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	Me	99,9	102,8	105,1	131,5	138,1	143,7
	25 %	80,1	81,3	83,6	110,0	121,9	127,5
	75 %	115,7	119,9	122,2	148,6	165,4	171,0
	n	12	14	14	14	8	8

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці щоки в пацієток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	в процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
1 (25-35 років)	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,01	<0,01	<0,001
	p ₂		–	>0,05	<0,01	<0,01	<0,001
	p ₃			–	<0,01	<0,01	<0,01
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
2 (36-45 років)	Me	99,9	64,7	74,7	116,5	137,5	127,2
	25 %	80,1	54,1	64,1	105,9	132,1	121,8
	75 %	115,7	89,6	99,6	141,4	141,0	130,7
	n	12	15	15	15	7	7
	p ₁	–	<0,01	<0,05	<0,05	<0,001	<0,01
	p ₂		–	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₄				–	>0,05	>0,05
3 (46–55 років)	Me	99,9	46,8	79,7	128,3	129,7	125,0
	25 %	80,1	45,1	58,4	107,0	110,8	106,1
	75 %	115,7	53,7	89,3	137,9	138,4	133,7
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,001	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₄				–	>0,05	>0,05
p ₅					–	>0,05	

Вікові групи	Статистичні показники	ОШК в ділянці щоки в пацієток, мкл/с/см ³					
		у ГП	до лікування	в процесі лікування		після лікування	
				після введення PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
4 (56 років і старше)	Me	99,9	30,9	59,3	123,6	126,6	112,6
	25 %	80,1	26,5	47,2	111,5	118,4	104,4
	75 %	115,7	35,2	75,9	140,2	138,1	124,1
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,001	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

ОШК в ділянці щоки в групі 2 (36-45 років) до лікування була меншою, ніж у ГП, на 35 % (p<0,01). Вона значно зростала відносно рівня показника до лікування одразу після трансплантації аутофібробластів на 80 % (p<0,001) і знаходилася на високому рівні до кінця спостереження (p<0,001). На ці

терміни ОШК в ділянці щоки була суттєво більшою ($p < 0,001$) відносно рівня показника після введення PRP і в ГП. Через 12 місяців ОШК суттєво знижувалася порівняно з її значенням через 6 місяців ($p < 0,05$).

ОШК в ділянці щоки в групі 3 (46-55 років) до лікування була меншою, ніж у ГП, на 53 % ($p < 0,05$). Вона зростала відносно рівня до лікування вже після введення PRP на 70 % ($p < 0,001$) і введення фібробластів на 170 % ($p < 0,001$); далі показники залишалися на високому рівні ($p < 0,001$) протягом усього терміну спостереження. ОШК в ділянці щоки в цій групі була суттєво меншою відносно ГП після введення PRP ($p < 0,05$) і суттєво більшою після трансплантації аутофібробластів ($p < 0,01$), через 6 і 12 місяців ($p < 0,05$).

Майже аналогічні дані отримані по групі 4 (56 років і старше), за винятком зниження показника ОШК в ділянці щоки до рівня ГП через 12 місяців після введення аутофібробластів.

Отримані результати свідчать, що неофіброліфтинг спричинює антиейджингові структурно-функціональні зміни в шкірі. Дані визначили ефективний вплив на старіючу шкіру PRP, який часто проявляється вже після їхнього введення. Також PRP ефективно готує шкіру до ауто трансплантації фібробластів, що найімовірніше зумовлено прозапальними цитокінами та факторами росту, що секретуються тромбоцитами та стимульованими клітинами шкіри.

Проведення неофіброліфтингу суттєво тією чи іншою мірою покращувало стан шкіри практично в усіх вікових групах. Ефект зберігався в більшості випадків через 6 і 12 місяців після ауто трансплантації.

Можна припустити, що позитивні зміни в шкірі в процесі проведення неофіброліфтингу значною мірою зумовлені значним стимулювальним впливом лікування на ОШК. Як можна побачити з отриманих даних, ОШК в процесі неофіброліфтингу підвищується і в ділянці чола, і в ділянці щоки.

Одержані результати свідчать, що при старінні в шкірі відбуваються суттєві структурно-функціональні зміни, які стосуються як епідермісу, так і дерми. Вони носять комплексний і багатогранний характер, у результаті чого

порушуються різнорівневі механізми регуляції, тому дермальні фібробласти припиняють отримувати належну метаболічну підтримку мікроциркуляції, ушкодженої ендотеліальною дисфункцією, в розвитку якої значну роль відіграють імунологічні механізми. Очевидно, що вивчення механізмів формування імунопатології при старінні шкіри та її впливу на розвиток інволюційних змін тим самим стає ключовим питанням у розробці підходів до регенерації старіючої шкіри.

Висновки до розділу 3

1. Встановлено, що в результаті проведення неофіброліфтингу акустична щільність шкіри достовірно збільшувалася відносно показників до лікування в пацієток 1 та 2 вікових груп через 12 місяців (на 19 і 33 % відповідно); у пацієток 3-ї і 4-ї груп через 6 (на 17 і 31 %) і 12 місяців (на 25 і 34 % відповідно). Товщина епідермісу зростала в пацієток групи 2 після трансплантації ДФБ на 17 %; у пацієток групи 3 після введення PRP на 20 %, після трансплантації ДФБ на 22 %, через 6 і 12 місяців на 22 і 23 % відповідно; у пацієток групи 4 після трансплантації ДФБ на 19 % і через 6 місяців на 24 %. Товщина дерми збільшувалася в пацієток групи 1 після введення PRP на 9 %, після трансплантації ДФБ на 11 %, через 6 місяців на 18 %; у пацієток груп 2 і 3 через 12 місяців на 28 % і 19 % відповідно; у пацієток групи 4 після трансплантації ДФБ на 16 %, через 6 і 12 місяців на 23 % і 27 % відповідно.

2. Гідратація шкіри зростала в пацієток групи 1 після трансплантації ДФБ на 30 % і через 6 місяців на 26 %; у пацієток групи 2 після введення PRP на 17 %, після трансплантації ДФБ на 30 %, через 6 і 12 місяців на 35 % і 31 % відповідно; у пацієток групи 3 після введення PRP на 29 %), після трансплантації ДФБ на 37 %), через 6 і 12 місяців на 28 % і 29 % відповідно; у пацієток групи 4 після введення PRP на 13 %, після трансплантації ДФБ на 32 %, через 6 і 12 місяців на 29 % і 18 % відповідно. ТЕВВ зменшувалася в пацієток 1 групи через 12 місяців (на 22 %); у пацієток 2 групи через 6 і 12 місяців на 16 % і 25 % відповідно; у пацієток групи 3 після трансплантації ДФБ на 17 %, через 6 і 12 місяців на 28 % і 28 %

відповідно; у пацієнок групи 4 після трансплантації ДФБ на 13 %, через 6 і 12 місяців на 22 % і 19 % відповідно.

3. Встановлено, що в результаті проведення неофіброліфтингу відбувалася нормалізація параметрів кровообігу. ОШК в ділянці чола збільшувалася в пацієнок групи 1 після трансплантації ДФБ на 29 %, через 6 і 12 місяців на 34 % і 49 % відповідно; у пацієнок групи 2 після введення PRP на 24 %, після трансплантації ДФБ на 24 %, через 6 і 12 місяців на 78 % і 92 % відповідно; у пацієнок групи 3 після введення PRP на 50 %, після трансплантації ДФБ на 79 %, через 6 і 12 місяців на 88 % і 69 % відповідно; у пацієнок групи 4 після введення PRP в 3,5 рази, після трансплантації ДФБ в 4 рази, через 6 і 12 місяців в 4,1 і 4 рази відповідно. ОШК в ділянці щоки зростала в пацієнок групи 1 після трансплантації ДФБ на 28 %, через 6 і 12 місяців на 34 % і 40 % відповідно; у пацієнок групи 2 після трансплантації ДФБ в 1,8 рази, через 6 і 12 місяців в 2,1 рази та 2 рази відповідно; у пацієнок групи 3 після введення PRP в 1,7 рази, після трансплантації ДФБ в 2,7 рази, через 6 і 12 місяців в 2,8 і в 2,7 рази відповідно; у пацієнок групи 4 після введення PRP в 1,9 рази, після трансплантації ДФБ в 4 рази, через 6 і 12 місяців в 4,1 і 3,6 рази відповідно.

Основні положення даного розділу викладені у таких роботах здобувача:

1. Tsepkoenko A, Litus A, Tsepkoenko V. Results of practical application of fibroblasts in treating age-related skin changes. An open, prospective, non-randomized study. *Aesthet Med.* 2018 Jul/Sep;4(3):19-24.
2. Цепколенко ГВ. Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу. *Запорозж. мед. журн.* 2019;21(6):795-801.
3. Цепколенко ГВ. Неінвазивні інструментальні методи в оцінці структурно-функціональної основи старіння шкіри. *Дерматологія та венерологія.* 2019;(2):27-30.
4. Цепколенко А, Цепколенко В, Мишра А, Мелерзанов А. Коррекция инволюционных изменений кожи (новая методика неофибрилифтинга). *Врач.*

2019;(30)7:32-8.

5. Цепколенко ВО, Цепколенко АВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри. Патент України № 95130. 2014 Груд 10.
6. Цепколенко ВО, Цепколенко ГВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб епігенетичного культивування аутологічних дермальних фібробластів людини. Патент України № 110281. 2016 Жовт 10.
7. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комплексный подход к коррекции возрастных изменений. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 69.
8. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Лазеры в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. Профилактика осложнений. В: Лазерная хирургия. Материалы науч.-практ. конф. Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине. Черкассы: Вертикаль; 2016. с. 87.
9. Tsepkoenko AV. Correction of cicatricial skin deformities by means of laser and cell technologies. In: Materials of 11th European congress of aesthetic medicine; 2016 May 13-15; Rome. Rome; 2016. p. 112.
10. Цепколенко АВ. Аутофибробласты в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104.
11. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комбинация лазерных и клеточных технологий в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104-5.
12. Цепколенко АВ. Лазерные, инъекционные и хирургические методы коррекции постакне. В: Материалы междунар. конф. Medical aesthetic synergy congress; 2018 Июнь 1-2; Киев. Киев; 2018. с. 59.

РОЗДІЛ 4

ДИНАМІКА ЗМІН У СУБПОПУЛЯЦІЙНОМУ СКЛАДІ Т- І В-ЛІМФОЦИТІВ ШКІРИ В ПРОЦЕСІ НЕОФІБРОЛІФТИНГУ

У сучасній дерматології все більше привертає увагу думка, що розробку нових підходів до підвищення ефективності, профілактики та корекції інволюційно-дистрофічних змін у шкірі необхідно проводити з урахуванням ролі імунної системи.

Елементи імунної системи представлені в шкірі широко та так особливому розташовані, що склалася одностайна точка зору про те, що шкіра належить до одного з найважливіших периферичних органів цілісної імунної системи. [113,142] Без досконалого вивчення імунної складової шкіри неможливо скласти правильне уявлення ані про структуру, ані про її функціонування. З урахуванням зазначеного, по-перше, постає логічне питання про поглиблене вивчення імунної системи шкіри в процесі її старіння, по-друге, добре обґрунтовується думка про використання імунних механізмів при розробці нових лікувально-профілактичних заходів.

Кількість $\alpha\beta$ Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів у дермальних навколосудинних ділянках приблизно відповідає їхньому вмісту в периферичній крові. В епідермальному ж просторі локалізуються тільки Т-лімфоцити, $CD4^+$ - і $CD8^+$ -субпопуляцій. Про важливість та інформативність дослідження субпопуляцій $CD4^+$ - і $CD8^+$ -Т-лімфоцитів у процесі старіння свідчить і те, що імуносенесценція супроводжується вираженим зниженням кількості $CD4^+$ -клітин, особливо наївних, а іноді підвищенням кількості $CD8^+$ -субпопуляції. [8,163,183] Значення вікового фактора в появі імунних дисфункцій в останні роки стало підкреслюватися характеристикою, як-от імуносенесценція, однією з причин якої зі свого боку є процес млявого хронічного запалення, для якого введений термін «inflamm-aging». [89,94,121,177]

Відомо, що в умовах запалення з наївних $CD4^+$ -лімфоцитів виникають і

проліферують клітини різних субпопуляцій, так звані індуковані Treg, а також Th1, Th2 і Th17, що збільшують загальний пул CD4⁺-клітин, і на ці процеси значний вплив справляють МСК. [87,108] Мезенхіма необхідна для проліферації Т-лімфоцитів; МСК вважаються найбільш важливими клітинами, що забезпечують екстратимічний периферичний Т-лімфоцитопоез. [32] При «inflamm-aging» активуються практично всі 23 з відомих на сьогодні металопротеїназ і основними їх продуцентами є фібробласти. [149]

У зв'язку з зазначеною природною роллю фібробластів у механізмах імуносенесценції для антиейджингової терапії розробляються методи використання стромальних клітин різного походження.

Сьогодні з причин тканинної сумісності (не гістосумісності) перевага все ж таки віддається дермальним фібробластам, а з урахуванням антигенної сумісності, мікробіологічної безпеки та близьких результатів щодо ефективності найбільш перспективною вважають трансплантацію аутологічних дермальних фібробластів. [109,110]

Але до ауто трансплантації фібробластів, здавалося б, є логічне запитання, що потребує відповіді: яким чином може реалізовуватися ефект омолодження від трансплантації клітин того пацієнта, що вже має інволюційні ознаки в шкірі, що, як вважається, насамперед зумовлені функціонально неповноцінними сенесцентними фібробластами, що вже *in situ* не справляються з підтримкою дерми в адекватному молодому віку стані. Показано, що фібробласти найбільше піддаються дії факторів старіння. Їхні кількість і активність значно знижуються з віком. [166] Синтез колагену в людей старше 80 років порівняно з молодими знижений приблизно на 75 %, а загальна кількість фібробластів менше на 35 %. [176] Є дані про знижену ефективність терапії аутофібробластами в людей старше 65 років.

Водночас показано, що фібробласти старших людей зберігають свій проліферативний потенціал і здатність до продукції колагену II типу близько до рівня клітин молодих людей. Не залежить від віку здатність фібробластів

відповідати на цитокіни та тривалість життя в культурі. [83]

Є дані, що вплив культивованих фібробластів на синтетичну активність у шкірі, її товщину та щільність колагену практично однаковий тому, що дають МСК. Вважається, що це пов'язано з омолодженням клітинного пулу, що спостерігається при культивуванні фібробластів *in vitro*. Первинні культури фібробластів, отримані навіть від донорів віку 95 років, містили 14 % проліферуючих фібробластів. Подальше культивування з пересівами, коли відсіваються недостатньо життєздатні клітини, дозволяє отримати фібробласти, схожі за проліферативним потенціалом навіть з фетальними. [20] При культивуванні *in vitro* спостерігається збільшення кількості синтезуючих ДНК фібробластів до 170-180 % у другому та третьому пассажах, що свідчить про відбір у цих умовах активно синтезуючих клітин.

Отже, культивування фібробластів можна розглядати не тільки як метод накопичення необхідної кількості клітин, а й як спосіб селекції найбільш функціонально активних фібробластів, що зберігаються після перших пасажів.

З наведених даних можна зробити висновок, що незалежно від віку пацієнта в нього може бути отримана необхідна кількість повноцінних фібробластів завдяки отриманню біоптату з нормальних ділянок шкіри, нерівномірному старінню резидентних клітин, через що в шкірі зберігається достатня кількість повноцінних фібробластів, які ще й селекціонуються в процесі культивування та згаданої локальної запальної реакції.

Для додаткового підвищення ефективності аутотрансплантації фібробластів людей старших вікових груп, коли клітини все ж таки можуть виявитися недостатньо функціонально активними, пропонуються методи їх стимуляції інкубацією перед трансплантацією на різних хімічно оброблених поверхнях, введення цитокінів і, останнім часом, з використанням тромбоцитів, які містять у гранулах велику кількість різноманітних факторів росту та взагалі 827 протеїнів, послідовна й адекватна секреція яких забезпечує перехресну взаємодію тромбоцитів з різними типами імунних і

стромальних клітин. [2,150,188]

Можна припустити, що одним з найбільш адекватних підходів до корекції інволюційних змін стане запобігання й усунення імуносенесценції трансплантацією аутофібробластів. Для визначення ефективності трансплантації було поставлено завдання вивчення кількісного складу субпопуляцій лімфоцитів у шкірі в динаміці неофіброліфтингу.

Проведені два дослідження. У першому вивчали вплив безпосередньої дії через 2 тижні після введення PRP і ДФБ на вміст у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-лімфоцитів і визначали найбільш характерні кількісні зміни В-лімфоцитів і субпопуляцій Т-лімфоцитів. У другому тривалому дослідженні спочатку теж вивчали безпосередній вплив введення PRP і ДФБ на зміни найбільш інформативних показників – вмісту CD4⁺- і CD8⁺-клітин, а далі спостерігали за наявністю цих змін через 6 і 12 місяців. Результати першого дослідження надані в табл. 4.1-4.5, другого – в табл. 4.6-4.10. У кожному дослідженні визначали вміст різних субпопуляцій лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток кожної вікової групи.

Таблиця 4.1

Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток різних вікових груп

Суб популяції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	Me	61,5	62,9	68,7	52,1	44,6
	25 %	50,5	50,5	48,6	32,8	41,4
	75 %	72,8	73,8	70,8	55,1	64,3
	n	10	8	17	15	13
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Продовження табл. 4.1

Суб популяції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05	<0,01
	p ₄				–	>0,05
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	40,2	38,8	44,0	35,5	30,1
	25 %	34,2	31,4	33,9	26,2	26,9
	75 %	46,5	44,7	46,1	38,0	39,8
	n	10	8	17	15	13
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₃			–	<0,05	<0,01
	p ₄				–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,7	26,4	19,8	19,5	22,1
	25 %	22,2	22,9	18,9	18,2	15,7
	75 %	28,9	29,9	25,9	25,5	22,5
	n	10	8	17	15	13
	p ₁	–	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	Me	10,8	10,3	13,7	15,9	15,9
	25%	8,5	7,5	9,5	12,4	15,2
	75%	13,0	12,8	14,3	17,9	20,0
	n	10	8	17	15	13
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,01	<0,001

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	p ₂		–	>0,05	<0,01	<0,001
	p ₃			–	<0,01	<0,01
	p ₄				–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «25-35 років»;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «36-45 років»;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «46-55 років».

Як видно з отриманих даних, вміст CD3⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) суттєво не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD3⁺-клітин був суттєво меншим від рівня у ГП на 15 % і 28 % відповідно (p<0,05) і меншим від рівня в пацієнток групи 2 (36-45 років) (p<0,05 і p<0,01 відповідно).

Вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD4⁺-клітин був суттєво меншим від рівня у ГП на 12 % і 25 % відповідно (p<0,05); і меншим від рівня у пацієнток групи 2 (36-45 років) (p<0,05 і p<0,01 відповідно). У групі 4 показник був достовірно меншим (p<0,05), ніж у групі 1.

Вміст CD8⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток групи 1 (25-35 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 2 (36-45 років), 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD8⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 23 %, 24 % і 14 % відповідно (p<0,05) і нижчим від

рівня в пацієток групи 1 (25-35 років) ($p < 0,05$). Але в групі 4 показник був суттєво більшим ($p < 0,05$), ніж у групі 2.

Вміст CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD19⁺-клітин був суттєво більшим від рівня в ГП на 47 % ($p < 0,01$) і 47 % ($p < 0,001$) відповідно і більшим від рівня в пацієток групи 2 (36-45 років) ($p < 0,01$).

У процесі неофіброліфтингу відбувалися зміни в кількісному субпопуляційному складі лімфоцитів.

У групі 1 (25-35 років) вміст CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієток до лікування не відрізнявся від значень у ГП (табл. 4.2). Вміст CD3⁺- і CD19⁺-клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався. Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 29 % ($p < 0,05$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 19 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 29 % ($p < 0,05$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 30 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів.

Таблиця 4.2

Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієток 1 вікової групи (25-35 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	Me	61,5	62,9	64,4	62,8
	25 %	50,5	50,5	52,0	50,4
	75 %	72,8	73,8	75,3	73,7

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	n	10	8	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	40,2	38,8	50,2	50,0
	25 %	34,2	31,4	42,8	42,6
	75 %	46,5	44,7	56,1	55,9
	n	10	8	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,7	26,4	21,4	18,4
	25 %	22,2	22,9	17,9	14,9
	75 %	28,9	29,9	24,9	21,9
	n	10	8	8	8
	p ₁	–	>0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	Me	10,8	10,3	8,6	10,2
	25%	8,5	7,5	5,8	7,4
	75%	13,0	12,8	11,1	12,7
	n	10	8	8	8
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD19 ⁺	p ₂		–	>0,05	>0,05
(В-лімфоцити)	p ₃			–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP.

У групі 2 (36-45 років) вміст CD3⁺-, CD4⁺- і CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП (табл. 4.3). Вміст CD8⁺-лімфоцитів до лікування був меншим на 23 %, ніж у ГП (p<0,05).

Таблиця 4.3

Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток вікової групи 2 (36-45 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺	Me	61,5	68,7	74,7	73,5
(Т-лімфоцити)	25 %	50,5	48,6	54,6	53,4

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	75 %	72,8	70,8	76,8	75,6
	n	10	17	17	17
	p ₁	–	>0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	40,2	44,0	51,1	51,1
	25 %	34,2	33,9	41,0	41,0
	75 %	46,5	46,1	53,2	53,2
	n	10	17	17	17
	p ₁	–	>0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,7	19,8	16,8	14,9
	25 %	22,2	18,9	15,9	14,0
	75 %	28,9	25,9	22,9	21,0
	n	10	17	17	17
	p ₁	–	<0,05	<0,05	<0,001
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	Me	10,8	13,7	12,3	12,9
	25 %	8,5	9,5	8,1	8,7
	75 %	13,0	14,3	12,9	13,5
	n	10	17	17	17

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP.

У цій групі після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 9 % (p<0,05) кількість CD3⁺-лімфоцитів, на 16 % (p<0,05) зростала чисельність CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 15 % (p<0,05) кількість CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 7 % (p<0,05) чисельність CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 16 % (p<0,05) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 25 % (p<0,05) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Вміст CD19⁺-клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався.

У групі 3 (46-55 років) кількісний субпопуляційний склад у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був змінений: вміст CD3⁺-лімфоцитів був меншим на 15 %, ніж у ГП (p<0,05); CD4⁺-лімфоцитів – на 12 % меншим (p<0,05); CD8⁺-лімфоцитів – на 24 % меншим (p<0,05); CD19⁺-лімфоцитів – на 47 % більшим, ніж у ГП (p<0,01) (табл. 4.4).

Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток вікової групи 3 (46-55 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	Me	61,5	52,1	63,2	66,6
	25 %	50,5	32,8	43,9	47,3
	75 %	72,8	55,1	66,2	69,6
	n	10	15	15	15
	p ₁	–	<0,05	>0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	40,2	35,5	34,9	42,3
	25 %	34,2	26,2	25,6	33,0
	75 %	46,5	38,0	37,4	44,8
	n	10	15	15	15
	p ₁	–	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,7	19,5	19,7	18,5
	25 %	22,2	18,2	18,4	17,2
	75 %	28,9	25,5	25,7	24,5
	n	10	15	15	15
	p ₁	–	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₂		–	>0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	Me	10,8	15,9	10,9	11,9
	25 %	8,5	12,4	7,4	8,4
	75 %	13,0	17,9	12,9	13,9
	n	10	15	15	15
	p ₁	–	<0,01	>0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,01
	p ₃			–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP.

У групі 3 після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 21 % (p<0,05) кількість CD3⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 31 % (p<0,001) чисельність CD19⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 28 % (p<0,05) кількість CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 19 % (p<0,05) чисельність CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 25 % (p<0,01) кількість CD19⁺-лімфоцитів. Вміст CD8⁺-клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався.

У групі 4 (56 років і старше) кількісний субпопуляційний склад у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був змінений: вміст CD3⁺-лімфоцитів був меншим на 28 %, ніж у ГП (p<0,05); CD4⁺-

лімфоцитів – на 25 % меншим ($p < 0,05$); CD8⁺-лімфоцитів – на 14 % меншим ($p < 0,05$); CD19⁺-лімфоцитів – на 47 % більшим, ніж у ГП ($p < 0,01$) (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнок 4 вікової групи (56 років і старше) в динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнок, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD3 ⁺ (Т-лімфоцити)	Me	61,5	44,6	45,7	50,1
	25 %	50,5	41,4	42,5	46,9
	75 %	72,8	64,3	65,4	69,8
	n	10	13	13	13
	p ₁	–	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	40,2	30,1	32,6	39,7
	25 %	34,2	26,9	29,4	36,5
	75 %	46,5	39,8	42,3	49,4
	n	10	13	13	13
	p ₁	–	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₂		–	>0,05	<0,05
	p ₃			–	<0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,7	22,1	19,0	19,2
	25 %	22,2	15,7	12,6	12,8
	75 %	28,9	22,5	19,4	19,6

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %			
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення	
				PRP	фібробластів
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	n	10	13	13	13
	p ₁	–	<0,05	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,05	<0,05
	p ₃			–	>0,05
CD19 ⁺ (В-лімфоцити)	Me	10,8	15,9	10,9	11,9
	25 %	8,5	12,4	7,4	8,4
	75 %	13,0	17,9	12,9	13,9
	n	10	15	15	15
	p ₁	–	<0,01	>0,05	>0,05
	p ₂		–	<0,001	<0,01
	p ₃			–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP.

У цій групі після введення PRP відносно рівня до лікування зменшувалася на 14 % (p<0,05) кількість CD8⁺-лімфоцитів і на 18 % (p<0,001) чисельність CD19⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 12 % (p<0,05) кількість CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 32 % (p<0,05) чисельність CD4⁺-лімфоцитів, зменшеною на 13 % (p<0,01) кількість CD8⁺-лімфоцитів і

зменшеною на 19 % ($p < 0,01$) чисельність CD19⁺-лімфоцитів.

З отриманими результатами принципово подібні дані, одержані в тривалому експерименті.

Як видно з табл. 4.6, вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD4⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 13 % ($p < 0,05$) і 39 % ($p < 0,001$) і меншим від рівня в пацієнток групи 2 (36-45 років) ($p < 0,05$ і $p < 0,001$ відповідно).

Таблиця 4.6

Вміст CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток різних вікових груп

Суб популяції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	29,1	31,7	31,5	25,3	17,7
	25 %	23,3	22,5	22,2	14,6	13,9
	75 %	34,4	33,9	32,8	26,7	22,3
	n	12	14	15	13	12
	p ₁	–	>0,05	>0,05	<0,05	<0,001
	p ₂		–	>0,05	<0,01	<0,001
	p ₃			–	<0,05	<0,001
	p ₄				–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,6	24,3	18,2	11,3	18,8
	25 %	22,2	22,7	16,5	10,6	15,0
	75 %	28,9	30,2	23,4	17,0	23,3
	n	12	14	15	13	12

Суб популяції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %				
		у ГП	у 1 групі (25-35 років)	у 2 групі (36-45 років)	у 3 групі (46-55 років)	у 4 групі (56 років і старше)
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	p ₁	–	>0,05	<0,05	<0,001	<0,05
	p ₂		–	<0,01	<0,001	<0,01
	p ₃			–	<0,01	>0,05
	p ₄				–	<0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «25-35 років»;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «36-45 років»;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з групою «46-55 років».

Вміст CD8⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток групи 1 (25-35 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 2 (36-45 років), 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD8⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 29 % (p<0,05), 56 % (p<0,001) і 27 % (p<0,05) відповідно і меншим від рівня у пацієнток групи 1 (25-35 років) (p<0,01; p<0,001 і p<0,01 відповідно).

У процесі неофіброліфтингу відбувалися зміни в кількісному субпопуляційному складі CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцитів.

У групі 1 (25-35 років) вміст CD4⁺- і CD8⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП (табл. 4.7). Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 19 % (p<0,05) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 24 % (p<0,01) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофіброblastів відносно рівня до лікування була збільшеною на 41 % (p<0,001) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на

47 % ($p < 0,001$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 84 % ($p < 0,001$) і на 36 % ($p < 0,05$), відповідно, кількість $CD4^+$ -лімфоцитів та зменшеною на 60 % ($p < 0,001$) і на 43 % ($p < 0,01$), відповідно, чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів.

Таблиця 4.7

Вміст $CD4^+$ - і $CD8^+$ -лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток 1 вікової групи (25-35 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
$CD4^+$ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	29,1	31,7	37,8	44,6	58,3	43,3
	25 %	23,3	22,5	28,6	35,4	55,2	40,1
	75 %	34,4	33,9	40,0	46,8	60,1	45,0
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01
	p ₂		–	<0,05	<0,001	<0,001	<0,01
	p ₃			–	<0,05	<0,001	<0,05
	p ₄				–	<0,001	>0,05
	p ₅					–	<0,01
$CD8^+$ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,6	24,3	18,4	12,9	9,7	13,9
	25 %	22,2	22,7	16,8	11,3	9,2	13,4
	75 %	28,9	30,2	24,3	18,8	12,0	16,1
	n	12	14	14	14	8	8
	p ₁	–	>0,05	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фібробластів	6 місяців	12 місяців
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	p ₃			–	<0,05	<0,001	<0,01
	p ₄				–	<0,01	>0,05
	p ₅					–	<0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 2 (36-45 років) вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП (табл. 4.8). Вміст CD8⁺-клітин був меншим від рівня в ГП на 29 % (p<0,01). Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 31 % (p<0,01) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 37 % (p<0,01) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 51 % (p<0,001) кількість CD4⁺-лімфоцитів і

зменшеною на 44 % ($p < 0,001$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 76 % ($p < 0,001$) і на 80 % ($p < 0,001$), відповідно, кількість $CD4^+$ -лімфоцитів та зменшеною на 53 % ($p < 0,001$) і на 49 % ($p < 0,001$), відповідно, чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів.

Таблиця 4.8

Вміст $CD4^+$ - і $CD8^+$ -лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток 2 вікової групи (36-45 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
$CD4^+$ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	29,1	31,5	41,3	47,6	55,4	56,6
	25 %	23,3	22,2	32,0	38,3	46,1	47,3
	75 %	34,4	32,8	42,6	49,0	56,8	58,0
	n	12	15	15	15	7	7
	p_1	–	$>0,05$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
	p_2		–	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
	p_3			–	$<0,05$	$<0,001$	$<0,001$
	p_4				–	$<0,05$	$<0,05$
$CD8^+$ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,6	18,2	11,5	10,3	8,6	9,2
	25 %	22,2	16,5	9,8	8,6	6,9	7,5
	75 %	28,9	23,4	16,7	15,5	13,5	14,1
	n	12	15	15	15	7	7
	p_1	–	$<0,05$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	p ₂		–	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фіброblastів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 3 (46-55 років) вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був меншим від рівня у ГП на 13 % (p<0,05) (табл. 4.9), а вміст CD8⁺-клітин був меншим від рівня у ГП на 56 % (p<0,05). Кількість CD4⁺-лімфоцитів відносно рівня до лікування збільшувалася на 43 % (p<0,05) після введення PRP і на 70 % (p<0,05) після трансплантації аутофіброblastів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування вміст CD4⁺-лімфоцитів був збільшеним на 160 % (p<0,001) і 120 % (p<0,001) відповідно. Кількість CD8⁺-лімфоцитів суттєво змінювалася тільки

через 6 місяців і була меншою за рівень до лікування на 49 % ($p < 0,05$).

Таблиця 4.9

Вміст CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток 3 вікової групи (46-55 років) у динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фіброblastів	6 місяців	12 місяців
CD4 ⁺ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	29,1	25,3	36,1	43,0	66,1	55,2
	25 %	23,3	14,6	25,4	32,3	55,4	44,5
	75 %	34,4	26,7	37,5	44,4	67,4	56,5
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,05	<0,001	<0,001
	p ₄				–	<0,001	<0,05
	p ₅					–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксичні Т-лімфоцити)	Me	25,6	11,3	11,2	11,2	5,7	8,8
	25%	22,2	10,6	10,5	10,5	5,0	8,1
	75%	28,9	17,0	16,9	16,9	11,6	14,7
	n	12	13	13	13	9	9
	p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₂		–	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	p ₃			–	>0,05	<0,05	>0,05
	p ₄				–	<0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p_1 – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p_2 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p_3 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p_4 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p_5 – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

У групі 4 (56 років і старше) вміст $CD4^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був меншим від рівня в ГП на 39 % ($p < 0,001$) (табл. 4.10), а вміст $CD8^+$ -клітин був меншим від рівня в ГП на 27 % ($p < 0,05$).

Таблиця 4.10

Вміст $CD4^+$ - і $CD8^+$ -лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри в пацієнток 4 вікової групи (56 років і старше) в динаміці лікування

Субпопуляції	Статистичні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фібробластів	6 місяців	12 місяців
$CD4^+$ (хелперні Т-лімфоцити)	Me	29,1	17,7	35,9	44,4	42,0	44,7
	25 %	23,3	13,9	30,0	38,5	40,2	42,9
	75 %	34,4	22,3	42,7	51,2	54,1	56,8
	n	12	12	12	12	8	8
	p_1	–	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001

Суб популяції	Статистич ні показники	Вміст лімфоцитів різних субпопуляцій у пацієнток, %					
		у ГП	до лікування	у процесі лікування після введення		після лікування через	
				PRP	фібро бластів	6 місяців	12 місяців
CD4 ⁺ (хелперні Т- лімфоцити)	p ₂		–	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₃			–	<0,05	>0,05	<0,05
	p ₄				–	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05
CD8 ⁺ (цитотоксич ні Т- лімфоцити)	Me	25,6	18,8	11,5	12,5	11,5	13,9
	25 %	22,2	15,0	7,7	8,7	11,0	8,0
	75 %	28,9	23,3	16,1	17,1	12,8	15,5
	n	12	12	12	12	8	8
	p ₁	–	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	p ₂		–	<0,01	<0,05	<0,001	<0,05
	p ₃			–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₅					–	>0,05

Примітки:

1. p₁ – рівень значущості відмінностей порівняно з ГП;
2. p₂ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками до лікування;
3. p₃ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення PRP;
4. p₄ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками після введення фібробластів;
5. p₅ – рівень значущості відмінностей порівняно з показниками через 6 місяців.

Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 101 % ($p < 0,001$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшувалася на 39 % ($p < 0,01$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 151 % ($p < 0,001$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшеною на 34 % ($p < 0,05$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 138 % ($p < 0,001$) і 153 % ($p < 0,001$), відповідно, кількість $CD4^+$ -лімфоцитів та зменшеною на 39 % ($p < 0,001$) і на 26 % ($p < 0,05$), відповідно, чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів.

Отже, в результаті дослідження участі лімфоцитів у неофіброліфтингу встановлено, що клінічний ефект спостерігається при ефективному збільшенні кількості в шкірі $CD4^+$ - і зменшенні $CD8^+$ -субпопуляцій Т-лімфоцитів. Це свідчить про їхню ймовірну участь у реалізації ефекту методу та внаслідок введення PRP, і в результаті ауотрансплантації фібробластів. Важливою для оцінки перспективності процедури є встановлена довготривалість імунних змін.

Особливо треба відмітити регуляторну антиейджингову дію неофіброліфтингу, що є привілейованою по відношенню до $CD4^+$ -клітин і спрямована в протилежний бік від тієї, що притаманна старінню.

Можна припустити, що $CD4^+$ -лімфоцити важливіші для проявів регенерації шкіри, ніж $CD8^+$ -клітини. Але можна також вважати, що суттєве зниження кількості $CD8^+$ -лімфоцитів у процесі неофіброліфтингу може мати і позитивний вплив. На користь цього свідчить задовільний і довготривалий клінічний ефект.

Клінічні спостереження

Для ілюстрації результату запропонованої методики лікування інволюційно-дистрофічних змін шкіри наводимо наші клінічні спостереження:

Приклад № 1. Пацієнтка Н., 32 роки, м. Одеса, звернулась до клініки «Віртус» 03.03.2016 р. зі скаргами на вікові зміни шкіри обличчя,

незадоволеність зовнішнім виглядом, зморшки біля очей і чола, котрі не зникають при розслабленні обличчя. Наявність змін якості шкіри, як-от пігментація в зоні чола, щік і біля вуст, зниження пружності шкіри, рубець біля брів. Відвідування косметолога та використання засобів домашнього догляду бажаного ефекту не дає.

Анамнез хвороби: Відзначає появу перших зморщок у 23 роки в зоні чола й очей. Пігментація вперше з'явилася у віці 25 років, пов'язує її зі зловживанням сонячною засмагою. Рубець з'явився у віці 17 років після травми.

Анамнез життя: Росла та розвивалася відповідно до віку. Пологи – 1. Працює секретарем. Хворобу Боткіна, малярію, туберкульоз заперечує. Венеричні захворювання заперечує. Алергологічний анамнез не обтяжений.

Дані об'єктивного дослідження: поверхневі поздовжні статичні зморшки чола, уздовж латерального краю ока, не зникають при розслабленні обличчя. Зниження тургору шкіри. Вертикальний атрофічний рубець, біля внутрішнього краю брови 20 мм*5 мм. Наявність симетричної світло-коричневої пігментації в ділянці чола, щік і вуст. Індекс MASI – 18 балів – середній ступінь тяжкості мелазми. Індекс якості життя DLQI – 6 балів – вікові зміни помірно впливають на життя пацієнта.

Дані лабораторних та інструментальних методів дослідження до лікування.

Загальний аналіз крові: Гемоглобін –121 г/л; Еритроцити – 4,43 Т/л; КП – 0,95; Тромбоцити – 200 Г/л; Лейкоцити – 5 Г/л; Лімфоцити – 24%; Моноцити – 4%; ШОЕ -5 мм/год. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на гормони щитоподібної залози: ТТГ– 1,72 мЕд/л; Т3 св. – 2,49 пг/мл; Т4 св. – 0,88 нг/дл; АТПО – < 3,00 МО/мл. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на статеві гормони: ФСГ – 6,65 мМО/мл; ЛГ– 3,46 мМО/мл; Пролактин – 26,6 нг/мл; Естрадіол (Е2) – 90 пг/мл. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на гепатити та ВІЛ: Негативні.

Біохімічний аналіз крові: АЛаТ – 36,85 Е/л; АСаТ – 15,45 Е/л; Білірубін непрямий – 10,47 мкмоль/л; білірубін прямий – 1,90 мкмоль/л; Білірубін загальний – 12,37 мкмоль/л; ГГТ – 35,37 Е/л; Креатинін – 0,044 ммоль/л; сечовина – 4,06 ммоль/л; Загальний білок – 68,38 г/л; Глюкоза – 4,77 ммоль/л. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на показники системи згортання: Протромбін по Квіку – 91,2 %; Фібріноген – 3,2 г/л; Тромбіновий час – 15,4 с; АЧТВ – 31,5 с; МНО – 1,04. Аналізи в межах норми.

Загальний аналіз сечі: Кількість – 110,0; колір – жовтий; прозорість – прозора; питома вага – 1,018; рН – 5,0; лейкоцити – 1-2 в п/з. Аналізи в межах норми.

Мазок на мікрофлору з цервікального каналу: в межах норми.

Ультразвукове дослідження шкіри (УЗ прилад DUB-Digital Ultraschall Bildsystem-tpm і ПЗ DUB – SkinScan ver.3.2 (Німеччина): Товщина (мкм) епідермісу – 104; товщина (мкм) дерми – 180,1; акустична щільність шкіри – 106,1 мкм. Товщина епідермісу та дерми, акустична щільність шкіри в межах вікової норми.

Корнеометрія шкіри – 72 Од; ТЕВВ шкіри – 12,1 г/год/м²; (Діагностичний комбайн Multi Skin Test Center MC 1000 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Німеччина). Вміст вологи в епідермісі в межах норми.

ОШК чола – 80,3 мкл/с/см³; ОШК щоки – 102 мкл/с/см³ (Прилад «Мінімакс-Допплер-К», СПб, Росія). Наявне незначне пригнічення кровотоку в шкірі.

Імунологічне дослідження біоптатів шкіри методом проточної цитофлуориметрії FACSCalibur Vecton Dickinson (США): вміст CD3+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 63,0 %; вміст CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 38,0 %; вміст CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 26,0 %; вміст CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 10,0 %.

Незначне зменшення CD3+, CD4+ та CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри

та підвищення вмісту CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри.

На підставі анамнезу, скарг, даних об'єктивного й інструментальних досліджень (зменшення ОШК щоки та чола, підвищення ТЕВВ шкіри) встановлено діагноз: інволюційно-дистрофічні зміни шкіри. І С функціональний клас зморщок (за класифікацією Панової О.С., 2001), атрофічний рубець у ділянці чола, мелазма середнього ступеня тяжкості.

Рекомендовано проведення регенеративної терапії з використанням аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами, та аутофібробластів (у кількості 60 млн).

17.03.16. Надійшла в клініку для проведення першого етапу лікування. В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) було проведено ін'єкційне введення 14 мл PRP, в ділянці обличчя та шиї інтрадермально тунельним способом, у ділянці повік дрібнопапульно за допомогою голки для мезотерапії (30 G, 13 мм). Після цього зроблений забір біоптату шкіри з заушної ділянки. Біоптат шкіри переданий до біотехнологічної лабораторії SmartCell для подальшого культивування заданої кількості клітин.

31.03.16. Пацієнтка надійшла в клініку для другого етапу лікування. Перед початком лікування були проведені всі інструментальні дослідження: УЗД шкіри: товщина епідермісу (до лікування – 104 мкм, після – 104,5 мкм); товщина дерми (до лікування – 180,1 мкм, після – 191,5 мкм); акустична щільність шкіри (до лікування – 106,1 мкм, після – 104,1 мкм); корнеометрія (до лікування – 72 Од, після – 72,5 Од); ТЕВВ шкіри (до лікування – 12,1 г/год/м²; після – 11,7 г/год/м²). Суттєво змінилась ОШК в ділянці чола та щік (до лікування чола – 80,3 мкл/с/см³, після лікування чола – 92,1 мкл/с/см³; до лікування щік – 102 мкл/с/см³; після лікування щік – 103 мкл/с/см³). Покращення кровообігу є підставою для введення культивованих аутофібробластів.

В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) була проведена трансплантація 60 млн аутофібробластів у

вигляді інтрадермальних ін'єкцій – у папілярний шар дерми, в ділянці щік, шиї та чола тунельним способом, у ділянці повік дрібнопапульно за допомогою голок для мезотерапії (30 G, 13 мм).

Процедуру перенесла задовільно. Відзначається набряклість обличчя, поодинокі папули. Рекомендовано в домашніх умовах протягом трьох днів обробляти обличчя антисептиком двічі на день і використовувати сонцезахисний засіб.

Через 2 тижні проведено контрольне дослідження функціональних показників шкіри. Виявлено: УЗД шкіри: товщина епідермісу несуттєво змінилась (до лікування – 104 мкм, після – 115,5 мкм); збільшилась товщина дерми на 8,55 % (до лікування – 180,1 мкм, після – 195,5 мкм); акустична щільність шкіри збільшилась на 2,73 % (до лікування – 106,1 мкм, після – 103,2 мкм); корнеометрія збільшилась на 15,42 % (до лікування – 72 Од, після – 83,1 Од); ТЕВВ шкіри зменшилась на 9,09 % (до лікування – 12,1 г/год/м²; після – 11,0 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 31,63 % (до лікування – 80,3 мкл/сек/см³; після – 105,7 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік на 17,75 % (до лікування – 102 мкл/с/см³; після – 120,1 мкл/с/см³).

19.09.16. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля лінії росту волосся, зліва.

25.09.16 (6 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. У результаті контрольного огляду виявлено покращення зовнішнього вигляду, зменшення площі рубця, відсутні дрібні статичні зморшки, підвищення тургору шкіри, що виявляється зменшенням носогубних складок. Майже повна відсутність явищ мелази. При контрольних діагностичних дослідженнях виявлено: зменшення трансепідермальної втрати вологи шкіри на 25,6 % (до лікування – 12,1 г/год/м²; через 6 місяців – 9,0 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 43,8 % (до лікування – 80,3 мкл/с/см³; через 6 місяців – 115,5 мкл/с/см³); збільшення

ОШК щік на 22,84 % (до лікування – 102 мкл/с/см³; через 6 місяців – 125,3 мкл/с/см³).

Виявлена нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 38,0 %; через 6 місяців – 54,0 %); зменшення вмісту CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 26,0 %; через 6 місяців – 14,1 %).

Оцінка пацієнткою результатів – повна задоволеність отриманим лікуванням.

03.03.17. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля лінії росту волосся, справа.

10.03.17 (12 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. При огляді пацієнтки виявлено повне збереження естетичних результатів і незначні зміни при інструментальних методах порівняно з показниками через 6 місяців.

Інструментальні методи демонструють збереження виявлених функціональних і лабораторних тестів. УЗД шкіри: збільшення товщини епідермісу (до лікування – 104 мкм, через 12 місяців – 104,1 мкм); збільшення товщина дерми (до лікування – 180,1 мкм, через 12 місяців – 181,0 мкм); збільшення акустичної щільності шкіри на 4,05 % (до лікування – 106,1 мкм, через 12 місяців – 110,4 мкм); збільшення показників корнеометрії на 4,17 % (до лікування – 72 Од., через 12 місяців – 75 Од.); зменшення ТЕВВ шкіри на 39,7 % (до лікування – 12,1 г/год/м²; через 12 місяців – 7,9 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 58,3 % (до лікування – 80,3 мкл/сек/см³; через 12 місяців – 127,1 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік на 35,3 % (до лікування – 102 мкл/с/см³; через 12 місяців – 138 мкл/с/см³). Також збереження задоволеності пацієнткою результатами лікування.

Зберігається нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 38,0 %; через

12 місяців – 42,2 %); зменшення вмісту CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 26,0 %; через 6 місяців – 17,0 %).

Особливістю даного клінічного випадку є ознаки передчасних інволюційно-дистрофічних змін у шкірі: зморшки біля очей і чола, які не зникають при розслабленні обличчя, зниження якості шкіри за рахунок пігментації в зоні чола, щік і біля вуст, зниження пружності шкіри. Після лікування виявлено покращення зовнішнього вигляду за рахунок зменшення площі рубця, відсутності дрібних статичних зморщок, підвищення тургору шкіри, що виявляється зменшенням носогубних складок. Майже повна відсутність явищ мелазми.

Індекс якості життя DLQI – 0 балів. До лікування індекс якості життя DLQI – 6 балів.



Приклад № 2. Пацієнтка М., 39 років, м. Одеса, звернулася до клініки «Віртус» 10.03.2016 р. зі скаргами: незадоволеність зовнішнім виглядом, глибокі зморшки чола, в ділянці нижніх повік, зміна якості шкіри, зміна пружності в ділянці щік. Нефективність стандартних косметологічних доглядових та апаратних процедур.

Анамнез хвороби. Відзначає появу перших зморщок у зоні чола та носогубних складок у віці 29 років. З 27 років регулярно відвідує лікаря-косметолога, але останніми роками результатів лікування не відмічає. Перенесла операцію металоостеосинтезу.

Анамнез життя. Росла та розвивалася відповідно до віку. Пологи – 1. Не працює. Хворобу Боткіна, малярію, туберкульоз заперечує. Венеричні захворювання заперечує. Алергологічний анамнез не обтяжений.

Дані об'єктивного дослідження: При огляді обличчя виявлені статичні поперечні та поздовжні глибокі зморшки чола, зморшки нижніх повік і кутів повік, статичні поздовжні зморшки верхньої губи, виражені носогубні та ротощілинні складки, зниження тургору щік. Втрата нижніх контурів обличчя.

Індекс якості життя DLQI – 10 балів, вікові зміни шкіри обличчя помітно впливають на життя пацієнта.

Дані лабораторних та інструментальних методів дослідження до лікування.

Загальний аналіз крові: Гемоглобін – 116 г/л; Еритроцити – 4,0 Т/л; КП – 0,90; Тромбоцити – 230 Г/л; Лейкоцити – 7 Г/л; Лімфоцити – 19 %; Моноцити – 3 %; ШОЕ – 3 мм/год. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на гормони щитоподібної залози: ТТГ – 2,0 мОд/л; Т3 св. – 2,30 пг/мл; Т4 св. – 0,96 нг/дл; АТПО – <3,00 МО/мл. Аналізи в межах норми. ФСГ – 3,34 мМЕ/мл; ЛГ – 1,57 мМЕ/мл; Пролактин – 15 нг/мл; Естрадіол (Е2) – 31,3 пг/мл. Аналізи в межах вікової норми.

Аналіз крові на гепатити та ВІЛ: Негативні.

Біохімічний аналіз крові: АлаТ – 30,0 О/л ; АСаТ – 16,0 О/л; білірубін непрямий – 12,0 мкмоль/л; білірубін прямий – 3,0 мкмоль/л; білірубін загальний – 15,0 мкмоль/л; ГГТ – 35,0 Е/л; Креатинін – 0,06 ммоль/л; сечовина – 3,0 ммоль/л; загальний білок- 75,0 г/л; глюкоза – 4,0 ммоль/л. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на показники системи згортання: Протромбін по Квіку –

93,0 %; Фібриноген – 3,4 г/л; тромбіновий час – 13,4 с; АЧТВ – 31,5 с; МНО – 1,0. Аналізи в межах норми.

Загальний аналіз сечі: Кількість – 110,0; колір – жовтий; прозорість – прозора; питома вага – 1,017; рН – 5; лейкоцити – 1-2 в п/з. Аналізи в межах норми.

Мазок на мікрофлору з цервікального каналу в межах норми.

Ультразвукове дослідження шкіри (УЗ прилад DUB-Digital Ultraschall Bildsystem-tpm і ПЗ DUB – SkinScan ver.3.2 (Німеччина): Товщина (мкм) епідермісу – 90,2; товщина (мкм) дерми – 158,2; акустична щільність шкіри – 95,4 мкм; Зменшення товщини епідермісу, дерми, акустичної щільності шкіри.

Корнеометрія шкіри – 59,5 Од; ТЕВВ шкіри – 14,3 г/год/м² (Діагностичний комбайн Multi Skin Test Center MC 1000 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Німеччина). Зниження вмісту вологи в епідермісі.

ОШК чола – 78,2 мкл/сек/см³; ОШК щоки – 74,8 мкл/с/см³ (Прилад «Мінімакс-Допплер-К», СПб, Росія). Наявне пригнічення кровотоку в шкірі.

Імунологічне дослідження біоптатів шкіри методом проточної цитофлуориметрії FACSCalibur Becton Dickinson (США): Вміст CD3+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 60,0 %; вміст CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 30,0 %; вміст CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 21,1 %; вміст CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 12,0 %.

Зменшення вмісту CD3+, CD4+ і CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри, підвищення вмісту CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри, що свідчить про хронічне запалення в шкірі.

На підставі анамнезу, скарг пацієнта, даних об'єктивного й інструментальних досліджень (зменшення товщини шкіри, зменшення акустичної щільності шкіри, зменшення ОШК щоки та чола, підвищення ТЕВВ шкіри, характерні вікові зміни імунітету шкіри) встановлений діагноз: інволюційно-дистрофічні зміни шкіри II В функціональний клас зморшок (за класифікацією Панової О.С., 2001).

Рекомендовано проведення регенеративної терапії з використанням аутологічної PRP та аутофібробластів (у кількості 60 млн клітин).

24.03.16. Надійшла в клініку для проведення першого етапу лікування. В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) було проведено ін'єкційне введення 14 мл PRP в ділянці обличчя та шиї інтрадермальним тунельним способом, у ділянці повік дрібнопапульно за допомогою голки для мезотерапії (30 G, 13 мм). Після чого зроблений забір біоптату шкіри з заушної області. Біоптат шкіри переданий до біотехнологічної лабораторії SmartCell для подальшого культивування заданої кількості клітин.

07.04.16. Пацієнтка надійшла в клініку для другого етапу лікування. Перед початком лікування були проведені всі інструментальні дослідження: УЗД шкіри: товщина епідермісу (до лікування – 90,2 мкм, після – 93,0 мкм); товщина дерми (до лікування – 158,2 мкм, після – 158,0 мкм); акустична щільність шкіри (до лікування – 95,4 мкм, після – 98,1 мкм); корнеометрія (до лікування – 59,5 Од., після – 69,3 Од); ТЕВВ шкіри (до лікування – 14,3 г/год/м²; після – 14,2 г/год/м²). Суттєво змінилась ОШК в ділянці чола та щік (до лікування чола – 78,2 мкл/с/см³, після лікування чола – 81,4 мкл/с/см³; до лікування щік – 74,8 мкл/с/см³; після лікування щік – 80,1 мкл/с/см³). Покращення кровообігу є підставою для введення культивованих аутофібробластів.

В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) була проведена трансплантація 60 млн аутофібробластів у вигляді інтрадермальних ін'єкцій – у папілярний шар дерми, в ділянки щік, шиї та чола тунельним способом, у ділянці повік дрібнопапульно за допомогою голки для мезотерапії (30 G, 13 мм).

Процедуру перенесла задовільно. Відзначається набряклість обличчя, поодинокі папули. Рекомендовано в домашніх умовах протягом трьох діб обробляти обличчя антисептиком двічі на день і використовувати сонцезахисний засіб.

Через 2 тижні проведено контрольне дослідження функціональних показників шкіри. Виявлено: УЗД шкіри – товщина епідермісу збільшилась на 6,43 % (до лікування – 90,2 мкм, після – 96,0 мкм); товщина дерми змінилась несуттєво (до лікування – 158,1 мкм, після – 159,3 мкм); акустична щільність шкіри збільшилась на 4,09 % (до лікування – 95,4 мкм, після – 99,3 мкм); корнеометрія збільшилась на 24,54 % (до лікування – 59,5 Од., після – 74,1 Од); ТЕВВ шкіри зменшилась на 19,58 % (до лікування – 14,3 г/год/м²; після – 11,5 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 51,28 % (до лікування – 78,2 мкл/с/см³; після – 118,3 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік на 49,47 % (до лікування – 74,8 мкл/с/см³; після – 111,8 мкл/с/см³).

07.10.16. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля лінії росту волосся, зліва.

15.10.16 (6 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. У результаті контрольного огляду виявлено покращення зовнішнього вигляду, зменшення глибоких зморщок чола, зморщок нижніх повік, кутів повік і поздовжніх зморщок верхньої губи, зменшення носогубних складок, зникнення ротощелинних складок, повернення чіткості нижніх контурів обличчя. При контрольних діагностичних дослідженнях виявлено: збільшення товщини епідермісу на 6,9 % (до лікування – 90,2 мкм, через 6 місяців – 95,7 мкм), збільшення товщини дерми на 4,6 % (до лікування – 158,3 мкм, через 6 місяців – 165,4 мкм); збільшення акустичної щільності шкіри на 16,4 % (до лікування – 95,4 мкм, через 6 місяців – 111,0 мкм); зростання показників корнеометрії на 28 % (до лікування – 59,5 Од., через 6 місяців – 76,1 Од.); зменшення ТЕВВ шкіри на 25,2 % (до лікування – 14,3 г/год/м²; через 6 місяців – 10,7 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 72,25 % (до лікування – 78,2 мкл/с/см³; через 6 місяців – 134,7 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік на 79,4 % (до лікування – 74,8 мкл/сек/см³; через 6 місяців – 134,2 мкл/с/см³).

Виявлена нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 30,0 %; через 6 місяців – 51,0 %); зменшення вмісту CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 21,1 %; через 6 місяців – 11,3 %).

Оцінка пацієнткою результатів – повна задоволеність отриманим лікуванням.

03.03.17. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля ділії росту волосся, справа.

10.03.17 (12 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. При огляді пацієнтки виявлено повне збереження естетичних результатів.

Інструментальні методи демонструють збереження виявлених функціональних і лабораторних тестів. УЗД шкіри: збільшення товщини епідермісу на 5,32 % (до лікування – 90,2 мкм, через 12 місяців – 95,0 мкм); збільшення товщини дерми на 5,75 % (до лікування – 158,2 мкм, через 12 місяців – 167,3 мкм); збільшення акустичної щільності шкіри на 16,35 % (до лікування – 95,4 мкм, через 12 місяців – 111,0 мкм); збільшення показників корнеометрії на 27,9 % (до лікування – 59,5 Од, через 12 місяців – 76,1 Од); зменшення ТЕВВ шкіри на 36,4 % (до лікування – 14,3 г/год/м²; через 12 місяців – 9,1 г/год/м²); збільшення ОШК чола на 58,7 % (до лікування – 78,2 мкл/с/см³; через 12 місяців – 124,1 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік на 65,1 % (до лікування – 74,8 мкл/с/см³; через 12 місяців – 123,5 мкл/с/см³).

Також збереження задоволеності пацієнткою результатами лікування.

Зберігається нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 30,0 %; через 12 місяців – 50,0 %); зменшення вмісту CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 21,1 %; через 6 місяців – 10,5 %).

Особливістю даного клінічного випадку є повне зникнення після лікування поверхневих зморщок у ділянці нижніх повік, зменшення зморщок у зоні чола, зменшення носогубних і зникнення ротощілинних складок, ефект ліфтингу щік. Лікування пройшло без побічних дій. Пацієнтка повністю задоволена результатом. Максимальний результат був відмічений після 6 місяців від початку лікування, це також підтверджується інструментальними методами дослідження шкіри. Важливо, що позитивні зміни в об'єктивних даних та інструментальних дослідженнях зберігаються протягом 12 місяців.

Індекс якості життя DLQI після лікування 2 бали – вікові зміни чинять незначний вплив на життя пацієнта. До лікування індекс DLQI – 10 балів.



Приклад № 3. І., 50 років, мешканка м. Одеси, звернулася до клініки «Віртус» 05.04.2016 р. зі скаргами на незадоволеність зовнішнім виглядом, зморшки чола, зміну якості шкіри, пружності шкіри в зоні чола, щік і біля вуст. Відвідування лікаря-косметолога та використання засобів домашнього догляду бажаного ефекту не дали.

Анамнез хвороби. Відзначає появу перших зморщок у зоні чола у віці 27 років, пов'язує з важкою розумовою працею. З 27 років регулярно відвідує

лікаря-косметолога, але в останні роки результатів лікування не відмічає.

Анамнез життя. Росла та розвивалася відповідно до віку. Пологи – 1. Працює інженеркою. Хворобу Боткіна, малярію, туберкульоз заперечує. Венеричні захворювання заперечує. Алергологічний анамнез не обтяжений. У 2006 році перенесла операцію – апендектомію.

Дані об'єктивного дослідження: середнього та глибокого ступенів зморшки чола, не зникають при розслабленні обличчя. Зниження тургору шкіри щік, проявом якого є глибока носо-сльозова борозна, виражені носогубні та ротощілинні складки, зміна контурів обличчя.

Індекс якості життя DLQI – 10 балів, незадоволеність зовнішнім виглядом помірно впливає на життя пацієнта.

Дані лабораторних та інструментальних методів дослідження до лікування.

Загальний аналіз крові: Гемоглобін – 115 г/л; Еритроцити – 4,40 Т/л; КП – 0,95; Тромбоцити – 240 Г/л; Лейкоцити – 6 Г/л; Лімфоцити – 20 %; моноцити – 3 %; ШОЕ – 2 мм/год. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на гормони щитоподібної залози: ТТГ – 1,90 мОд/л; Т3 св. – 2,40 пг/мл; Т4 св. – 0.90 нг/дл; АТПО – <2,00 МО/мл. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на статеві гормони: ФСГ – 87 мМО/мл; ЛГ – 20мМО/мл; Пролактин – 18 нг/мл; Естрадіол (Е2) – 13 пг/мл. Аналізи в межах вікової норми.

Аналіз крові на гепатити та ВІЛ: Негативні.

Біохімічний аналіз крові: АЛаТ – 35,0 Е/л; АСаТ – 16,4 Е/л; Білірубін непрямий – 11,0 мкмоль/л; білірубін прямий – 2,0 мкмоль/л; Білірубін загальний – 13,0 мкмоль/л; ГГТ – 35,37 Е/л; Креатинін – 0,054 ммоль/л; сечовина – 5,0 ммоль/л; загальний білок – 70,0 г/л; глюкоза – 4,22 ммоль/л. Аналізи в межах норми.

Аналіз крові на показники системи згортання: Протромбін по Квіку – 91,2 %; Фібриноген – 3,2 г/л; тромбіновий час – 15,4 с; АЧТВ – 31,5 с; МНО –

1,04. Аналізи в межах норми.

Загальний аналіз сечі: Кількість – 110,0; колір – жовтий; прозорість – прозора; питома вага – 1,017; рН – 5,0; лейкоцити – 1-2 в п/з. Аналізи в межах норми.

Мазок на мікрофлору з цервікального каналу в межах норми.

Ультразвукове дослідження шкіри (УЗ прилад DUB-Digital Ultraschall Bildsystem-tpm і ПО DUB – SkinScan ver.3.2 (Німеччина). Товщина (мкм) епідермісу – 90,1; товщина (мкм) дерми – 149,9; акустична щільність шкіри – 90,3 мкм; Зменшення товщини епідермісу, дерми, акустичної щільності шкіри.

Корнеометрія шкіри – 44,1 Од; ТЕВВ шкіри – 17,3 г/год/м²; (Діагностичний комбайн Multi Skin Test Center MC 1000 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Німеччина). Зниження вмісту вологи в епідермісі .

ОШК чола – 30,5 мкл/с/см³; ОШК щоки – 40,6 мкл/с/см³; (Прилад «Мінімакс – Допплер – К», СПб, Росія). Наявне пригнічення кровотоку в шкірі.

Імунологічне дослідження біоптатів шкіри методом проточної цитофлуориметрії FACSCalibur Becton Dickinson (США): Вміст CD3+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 55,0 %; вміст CD4+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 33,0 %; вміст CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 21,0 %; вміст CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри – 16,0 %. Зменшення вмісту CD3+, CD4+ і CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри, підвищення вмісту CD19+ лімфоцитів у біоптаті шкіри, що свідчить про хронічне запалення в шкірі.

На підставі анамнезу, скарг пацієнтки, даних об'єктивного й інструментальних досліджень (зменшення товщини шкіри, зниження акустичної щільності шкіри, зменшення ОШК щоки та чола, підвищення ТЕВВ шкіри, характерні вікові зміни імунітету шкіри) встановлено діагноз: Інволюційно-дистрофічні зміни шкіри III А функціональний клас зморщок. (за класифікацією Панової О.С., 2001).

Рекомендовано проведення регенеративної терапії з використанням

аутологічної PRP та аутофібробластів (у кількості 60 млн).

20.04.16. Надійшла в клініку для проведення першого етапу лікування. В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) було проведено ін'єкційне введення 14 мл PRP в ділянці обличчя та шиї інтрадермальним тунельним способом, в області повік дрібнопапульно за допомогою голка для мезотерапії (30 G, 13 мм). Після чого зроблений забір біоптату шкіри з заушної ділянки. Біоптат шкіри переданий до біотехнологічної лабораторії SmartCell для подальшого культивування заданої кількості клітин.

04.05.16. Пацієнтка надійшла в клініку для другого етапу лікування. Перед початком лікування були проведені всі інструментальні дослідження: УЗД шкіри – товщина епідермісу (до лікування – 90,1 мкм, після – 92,1 мкм); товщина дерми (до лікування – 149,9 мкм, після – 151,0 мкм); акустична щільність шкіри (до лікування – 90,3 мкм, після – 97,1 мкм); корнеометрія (до лікування – 44,1 Од., після – 49,0 Од); ТЕВВ шкіри (до лікування – 17,3 г/год/м²; після – 17,0 г/год/м²). Суттєво змінилась ОШК в області чола та щік (до лікування чола – 80,3 мкл/с/см³, після лікування – 92,1 мкл/с/см³; до лікування щік – 102 мкл/с/см³; після лікування – 103 мкл/с/см³). Покращення кровообігу є підставою для введення культивованих аутофібробластів.

В асептичних умовах, під місцевою аплікаційною анестезією (5 %-й крем ЕМЛА) була проведена трансплантація 60 млн аутофібробластів у вигляді інтрадермальних ін'єкцій – у папілярний шар дерми, в області щік, шиї та чола тунельним способом, у ділянки повік дрібнопапульно за допомогою голка для мезотерапії (30 G, 13 мм).

Процедуру перенесла задовільно. Відзначається набряклість обличчя, поодинокі папули. Рекомендовано в домашніх умовах протягом трьох діб обробляти обличчя антисептиком двічі на день і використовувати сонцезахисний засіб.

Через 2 тижні проведено контрольне дослідження функціональних показників шкіри. Виявлено: УЗД шкіри – товщина епідермісу збільшилася

на 4,1 % (до лікування – 90,1 мкм, після – 93,8 мкм); товщина дерми зросла на 1,67 % (до лікування – 149,9 мкм, після – 152,4 мкм); акустична щільність шкіри змінилася несуттєво (до лікування – 90,3 мкм, після – 100,2 мкм); корнеометрія збільшилася на 32,2 % (до лікування – 44,1 Од., після – 58,3 Од); ТЕВВ шкіри зменшилася на 13,3 % (до лікування – 17,3 г/год/м²; після – 15,0 г/год/м²); збільшення ОШК чола втричі (до лікування – 30,5 мкл/с/см³; після – 98,0 мкл/с/см³); зростання ОШК щік втричі (до лікування – 40,6 мкл/с/см³; після – 119,1 мкл/с/см³).

19.10.16. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля лінії росту волосся, зліва.

25.10.16 (6 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. У результаті контрольного огляду виявлено покращення зовнішнього вигляду, зменшення середніх і глибоких зморщок чола. Покращання тургору шкіри щік, зменшення глибини носо-сльозової борозни, носогубних і ротощілинних складок, поліпшення контурів обличчя. При контрольних діагностичних дослідженнях виявлено: збільшення товщини епідермісу на 1,22 % (до лікування – 90,1 мкм, через 6 місяців – 91,2 мкм); зростання товщини дерми на 8,74 % (до лікування – 149,9 мкм, через 6 місяців – 163,0 мкм); збільшення акустичної щільності шкіри на 19,71 % (до лікування – 90,3 мкм, через 6 місяців – 108,1 мкм); зростання показників корнеометрії на 22,68 % (до лікування – 44,1 Од, через 6 місяців – 54,1 Од); зменшення ТЕВВ шкіри на 16,76 % (до лікування – 17,3 г/год/м²; через 6 місяців – 14,4 г/год/м²); збільшення ОШК чола втричі (до лікування – 30,5 мкл/с/см³; через 6 місяців – 105,1 мкл/с/см³); зростання ОШК щік втричі (до лікування – 40,6 мкл/с/см³; через 6 місяців – 130,1 мкл/с/см³).

Виявлена нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 33,0 %; через 6 місяців – 45,0 %); зменшення вмісту CD8+ лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування –

21,0 %; через 6 місяців – 15,0 %).

Оцінка пацієнткою результатів – повна задоволеність отриманим лікуванням.

03.04.17. Пацієнтка викликана для проведення біопсії з метою вивчення імунологічних показників шкіри. Біопсія проведена в темпоральній ділянці, біля лінії росту волосся, справа.

10.04.17 (12 місяців від початку лікування). Пацієнтка була запрошена для контрольного огляду та проведення комплексу інструментальних досліджень. При огляді пацієнтки виявлено повне збереження естетичних результатів.

Інструментальні методи демонструють збереження виявлених функціональних і лабораторних тестів. УЗД шкіри: збільшення товщини епідермісу на 1,22 % (до лікування – 90,1 мкм, через 12 місяців – 91,2 мкм); збільшення товщина дерми на 8,74 % (до лікування – 149,9 мкм, через 12 місяців – 163,0 мкм); збільшення акустичної щільності шкіри на 19,71 % (до лікування – 90,3 мкм, через 12 місяців – 108,1 мкм); збільшення показників корнеометрії на 22,68 % (до лікування – 44,1 Од, через 12 місяців – 54,1 Од); зменшення ТЕВВ шкіри на 19,08 % (до лікування – 17,3 г/год/м²; через 12 місяців – 14,0 г/год/м²); збільшення ОШК чола втричі (до лікування – 30,5 мкл/с/см³; через 12 місяців – 100,1 мкл/с/см³); збільшення ОШК щік втричі (до лікування – 40,6 мкл/с/см³; через 12 місяців – 118,1 мкл/с/см³).

Зберігається нормалізація показників імунітету шкіри: збільшення вмісту CD4+лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 33,0 %; через 12 місяців – 47,0 %); зменшення вмісту CD8+лімфоцитів у біоптаті шкіри (до лікування – 21,0 %; через 6 місяців – 15,0 %).

Особливістю даного клінічного випадку є покращення тургору й еластичності шкіри, кольору обличчя, зменшення глибини носогубних складок, поліпшення якості шкіри в зоні нижніх повік і щік після проведеного лікування. Покращення контурів обличчя. Пацієнтка повністю

задоволена результатом. Максимальний результат був відмічений після 6 місяців від початку лікування, що підтверджується інструментальними методами дослідження шкіри. Через 12 місяців ця тенденція зберігається.

Індекс якості життя DLQI — 3 бали (вікові зміни чинять незначний вплив на життя пацієнта). До лікування індекс якості життя DLQI – 10 балів.



Висновки до розділу 4

1. Визначено, що з віком у шкірі суттєво знижується відносно показників у групі порівняння кількість $CD3^+$ -Т-лімфоцитів (на 15 % у пацієток групи 3 і на 28 % у пацієток групи 4), чисельність $CD4^+$ -Т-лімфоцитів (на 12 % у пацієток групи 3 і на 25 % у пацієток групи 4) і $CD8^+$ -Т-лімфоцитів (на 23 % у пацієток групи 2, на 24 % у пацієток групи 3 і на 14 % у пацієток групи 4) і збільшується кількість $CD19^+$ -В-клітин (на 47 % у пацієток груп 3 і 4).
2. Встановлено, що в результаті проведення неофіброліфтингу відбувалося зростання кількості $CD4^+$ -клітин, а також зниження чисельності $CD8^+$ -лімфоцитів з відновленням співвідношення цих клітин до нормального рівня молодих людей. Кількість $CD4^+$ -клітин збільшувалася в пацієток групи 1 після введення PRP на 19 %, після трансплантації ДФБ на 41 %, через

6 і 12 місяців – на 84 % і 36 % відповідно; у пацієток групи 2 після введення PRP на 31 %, після трансплантації ДФБ на 51 %, через 6 і 12 місяців – на 76 % і 80 % відповідно; у пацієток групи 3 після введення PRP в 1,4 рази, після трансплантації ДФБ в 1,7 рази, через 6 і 12 місяців в 2,6 і в 2,2 рази відповідно; у пацієток групи 4 після введення PRP в 2 рази, після трансплантації ДФБ в 2,5 рази, через 6 і 12 місяців у 2,4 і 2,5 рази відповідно. Кількість CD8⁺-клітин зменшувалася в пацієток групи 1 після введення PRP на 24 %, після трансплантації ДФБ на 47 %, через 6 і 12 місяців на 60 % і 43 % відповідно; у пацієток групи 2 після введення PRP на 37 %, після трансплантації ДФБ на 44 %, через 6 і 12 місяців на 53 % і 49 % відповідно; у пацієток групи 3 через 6 місяців на 49 %; у пацієток групи 4 після введення PRP на 39 %, після трансплантації ДФБ на 34 %, через 6 і 12 місяців на 39 % і 26 % відповідно.

Основні положення даного розділу викладені у таких роботах здобувача:

1. Цепколенко ГВ. Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу. Запорозж. мед. журн. 2019;21(6):795-801.
2. Цепколенко А, Цепколенко В, Мишра А, Мелерзанов А. Коррекция инволюционных изменений кожи (новая методика неофибролифтинга). Врач. 2019;(30)7:32-8.
3. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комплексный подход к коррекции возрастных изменений. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 69.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Актуальність теми досліджень насамперед зумовлена великим практичним запитом косметології та дерматології на розробку та впровадження прогресивних і ефективних методів корекції структурно-функціональних змін, що притаманні старінню шкіри. Аргументовану основу для вирішення цих питань створюють новітні досягнення в біології та медицині, що по-новому висвітлили механізми старіння шкіри. Їхня реалізація залежить від темпів загального старіння організму, порушень імунонейроендокринних зв'язків з розвитком імунозапальних процесів і імуносенесценції. Також встановлена провідна роль у механізмах старіння шкіри стовбурових клітин (мультипотентних стромальних клітин і фібробластів, гемопоетичних стовбурових клітин та ендотеліальних клітин-попередників, а також стовбурових клітин епідермісу та волосяного фолікула). При старінні спостерігається й порушення у взаємодії фібробластів і кератиноцитів, від чого розвиваються вікові структурно-функціональні зміни в міжклітинному матриксі. Великий внесок роблять ендотеліальні дисфункції з порушенням кровообігу та мікроциркуляції в шкірі, що зі свого боку надає поштовх у формуванні патофізіологічних і біохімічних процесів старіння, коли, особливо під впливом ультрафіолетового випромінювання, створюються великі концентрації АФК, що індують синтез прозапальних цитокінів, активацію металопротеїназ, порушують структуру мембранних ліпідів, адгезивних і сигнальних рецепторів, пригнічують експресію генів колагену та гальмують проліферацію фібробластів і кератиноцитів, дендритних і ендотеліальних клітин.

З багатогранного комплексу подій виділяють як тригерні сформовану вікову кількісну та функціональну недостатність фібробластів та імунних клітин. [81,104] Між тим, більшість підходів до корекції інволюційних змін у

шкірі недостатньо беруть до уваги викладене. Проте останніми роками все ж з'являються наукові роботи з застосуванням у косметології клітинної терапії. Їхню інколи недостатню ефективність можна пояснити використанням недосконалих методик, що не зовсім відповідають сучасним знанням фізіології, патофізіології й імунології дерми.

Тому метою нашої роботи була розробка методу клітинної корекції вікових змін у шкірі на основі трансплантації аутофібробластів у кондиціоновані попереднім введенням збагаченої тромбоцитами плазми місця пересадження. При плануванні схеми лікування спиралися на дані про властивості клітин, що трансплантуються, клінічне й інструментальне вивчення структурно-функціональних особливостей дерми пацієнток.

Пацієнтки були розподілені на чотири вікові групи з урахуванням класифікації інволюційно-дистрофічних змін. [33]

У першій групі жінок (25-35 років) були ранні вікові зміни, що переважно характеризувалися наявністю мімічних і поверхневих статичних зморшок – 2А клас.

У другій групі (36-45 років) переважали глибокі статичні зморшки з початковими проявами гравітаційного птозу – 2Б клас.

У пацієнток групи 3 (46-55 років) були глибокі статичні зморшки та гравітаційний птоз 1-2-го ступенів – 3А клас.

У четвертій групі жінок (56 років і старше) відмічалися глибокі мімічні та статичні зморшки, гравітаційний птоз 3-го ступеня – 3Б, 3В класи.

У ГП обстежували практично здорових жінок віком 25-35 років, у яких не було ознак наявності інволюційно-дистрофічних змін у шкірі обличчя.

Незважаючи на доволі чіткі візуальні прояви інволюційно-дистрофічних змін, є доречним у проведенні інноваційних тонких досліджень підтримувати суто клінічні спостереження об'єктивними методами. Серед останніх загального визнання та широкого використання набули неінвазійні інструментальні методики вивчення властивостей шкіри, основні з яких використані в роботі: ультрасонографічне дермасканування з вимірюванням

товщини епідермісу та дерми, акустичної щільності шкіри, корнеометрія, вапориметрія й ультразвукове доплерівське сканування, використане для визначення ОШК в мікроциркуляторному руслі.

Проведеними нами дослідженнями встановлено, що з віком у пацієнок суттєво зменшувалася товщина епідермісу, дерми, акустична щільність, а також вологість рогового шару шкіри, підвищувалися показники ТЕВВ, що загалом узгоджується з даними літератури. [84]

Товщина епідермісу в двох молодших групах (1 і 2) суттєво не відрізнялася від показників у ГП, а у двох більш вікових групах спостерігалася суттєве по відношенню до ГП зменшення товщини епідермісу: в групі 3 – на 22 % ($p < 0,05$), в групі 4 – на 21 % ($p < 0,05$).

Товщина дерми в наймолодшій групі 1 була практично однаковою з показниками в ГП. У більш вікових групах показник суттєво знижувався, як по відношенню до ГП: в 2-й групі – на 22 % ($p < 0,05$), в 3-й групі – на 10 % ($p < 0,05$), в групі 4 – на 24 % ($p < 0,05$), так і у порівнянні з групою 1 ($p < 0,05$).

Акустична щільність шкіри в групі 1 була майже однаковою з рівнем у ГП. У групах 2 і 3 вона дещо, але не достовірно, знижувалася. Тільки в групі 4 спостерігалася зниження показника на 22 % ($p < 0,05$) по відношенню до ГП та групи 1.

У групі 1 показники корнеометрії практично не відрізнялися від рівня в ГП. А в інших групах вони були значно меншими, ніж у ГП: в групі 2 – на 19 % ($p < 0,001$), в групі 3 – на 30 % ($p < 0,001$), в групі 4 – на 40 % ($p < 0,001$), і нижчими, ніж у групі 1 ($p < 0,001$). Статистично достовірно показник зменшувався в групі 3 по відношенню до його значення в групі 2 ($p < 0,001$). Ще більше вологість епідермісу знижувалася в останній віковій групі 4, достовірно по відношенню до показника у групі 2 ($p < 0,001$) і групі 3 ($p < 0,05$).

У двох старших вікових групах, особливо в останній, показник ТЕВВ значно зростає по відношенню до рівня в ГП: в групі 3 – на 31 % ($p < 0,001$), групі 4 – на 65 % ($p < 0,001$), і по відношенню до рівня в групах 1 і 2 ($p < 0,01$). Найбільшим він був в останній віковій групі 4, в якій його значення суттєво

($p < 0,01$) перевищувало рівень ТЕВВ у групі 3.

Є дані, що з віком епідерміс стає тоншим тільки в тих ділянках тіла, де є ознаки порушення мікроциркуляції, і не змінюється в інших. [154] У людей похилого віку відбувається зменшення товщини шкіри загалом, а на основі стимуляції мікроциркуляції в судинах дерми та підсилення метаболічних процесів у шкірі збільшується надходження вологи в епідерміс і нормалізація корнеометричних показників. [59]

Нами встановлено, що ОШК в ділянці чола знижувалася відносно рівня в ГП, хоча і не достовірно, вже в групі 2. У групі 3 спостерігалось достовірне зменшення показника на 22 % ($p < 0,05$) по відношенню до ГП. У найбільшій віковій групі ОШК в області чола знижувалася по відношенню до ГП на 72 % ($p < 0,05$) і по відношенню до всіх вікових інших груп ($p < 0,001$).

При вивченні ОШК в області щоки виявилось, що вона достовірно зменшувалася на 35 % ($p < 0,01$) в групі 2 по відношенню до ГП і групи 1 ($p < 0,01$). Далі спостерігалось ще більше зниження ОШК в ділянці щоки по відношенню до ГП: групі 3 – на 53 % ($p < 0,01$), групі 4 – на 69 % ($p < 0,001$), і по відношенню до груп 1 і 2 ($p < 0,01$). Як і в області чола, найбільше достовірне зниження ОШК в ділянці щоки було у віковій групі 4 і по відношенню до всіх інших груп ($p < 0,001$).

Отже, ОШК з віком суттєво знижувалася і в ділянці чола, і в ділянці щоки. Виражене пригнічення кровообігу спостерігається в ділянці щоки вже після 35 років, і в наступних вікових групах об'ємна швидкість зазнавала ще більш значного зменшення показників, які її характеризують в обох ділянках.

Є переконливі дані, що порушення мікроциркуляції в шкірі значною мірою розвиваються на основі вікових змін загальної гемодинаміки й ендотеліальної дисфункції. [41]

Важливим фактором формування ендотеліальних дисфункцій є порушення в системі імунітету. При старінні в крові підвищується вміст аутоантитіл, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) і виявляються різнопланові порушення в Т-клітинній ланці імунітету. [8]

У літературі спостерігається консенсус стосовно значення фібробластів у розвитку інволюційних порушень у міжклітинному матриксі. Причому старіння шкіри пов'язують не тільки зі зменшенням кількості та синтетичної активності юних і зрілих фібробластів, переважно з підвищенням частки сенесцентних клітин, функціональна активність яких не тільки пригнічена, а й є надмірною по відношенню до синтезу певного спектра цитокінів, не притаманного молодому віку й індукуючого старіння тканинних структур, зокрема зниження функцій кератиноцитів. Зазначені дані про велику роль фібробластів у шкірі обґрунтовують їх використання для корекції інволюційних змін.

Є повідомлення про застосування алогенних клітин. Але з причин безпеки й імунологічної сумісності нами віддається перевага трансплантації аутофібробластів, що вирощуються *in vitro* з експлантів, які отримуються методом punch-біопсії шкіри завушної ділянки. За такої умови враховувалася часткова захищеність цієї ділянки від ультрафіолету та відомі дані щодо сайт-специфічного клітинного диференціювання та тканинного морфогенезу, що визначається експресією генів NOX.

Отримані в умовах спеціалізованої лабораторії клітинного культивування біоптати відмивали, обробляли антибіотиками, нарізали на шматочки приблизно 1 мм³; тканину культивували в ростовому середовищі при 5 % концентрації CO₂. Кожні 3-4 дні проводили заміну живильного середовища. Перший пасаж клітин здійснювали через 12-18 діб.

Виходячи зі сформованих уявлень про біологію дермальних клітин і закони трансплантології, розроблена й апробована методика комбінованого застосування ауто трансплантації фібробластів у підготовлену обробкою старіючої шкіри PRP, що, як відомо, продукують велику кількість ростових і прозапальних факторів. Водночас зрозуміло, що ефективність неофіброліфтингу часто можна оцінити *ad oculus*, але тільки на основі об'єктивних даних з відновлення шкіри можливе надання впевненої кількісної характеристики пригнічення розвитку інволюційних процесів, що

теж було одним з основних завдань.

Під впливом неофіброліфтингу відбуваються суттєві зміни показників. Товщина епідермісу в групі 1 (25-35 років) не відрізнялася від рівня в ГП та не змінювалася в процесі неофіброліфтингу. У групі 2 (36-45 років) вона не відрізнялася від показників у ГП та підвищувалася на 17 % ($p < 0,05$) відносно рівня до лікування після трансплантації фібробластів, але поверталася до вихідного рівня через 6 і 12 місяців. У пацієток 46-55 років (група 3) до лікування товщина епідермісу була меншою, ніж у ГП, на 22 % ($p < 0,05$). У цій групі зростання на 20 % ($p < 0,05$) товщини епідермісу по відношенню до показника до лікування спостерігалось уже після ведення PRP і було на тому ж рівні в результаті введення аутофібробластів одразу, через 6 і 12 місяців спостереження. У пацієток 56 років і старше (група 4) до лікування товщина епідермісу була меншою, ніж у ГП, на 21 % ($p < 0,05$). Одразу після трансплантації аутофібробластів товщина епідермісу в цій групі також підвищувалася (на 19 %; $p < 0,05$), але на досягнутому рівні залишалася тільки до 6 місяців. Введення PRP у цій групі було неефективним.

Товщина дерми в наймолодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнялася від рівня в ГП. Вона збільшувалася відносно рівня до лікування на 9 % ($p < 0,05$) після введення PRP, на 11 % ($p < 0,05$) після трансплантації фібробластів і на 18 % ($p < 0,05$) через 6 місяців спостереження. Через 12 місяців товщина дерми вже практично не відрізнялася від рівня до лікування. У групах 36-45 років і 46-55 років товщина дерми до лікування була меншою, ніж у ГП, на 21 % і 10 % ($p < 0,05$) відповідно. Суттєве збільшення товщини дерми відносно рівня до лікування в цих групах спостерігалось тільки через 12 місяців після введення фібробластів: у групі 3 – на 28 % ($p < 0,05$), групі 4 – на 19 % ($p < 0,05$). У групі 56 років і старше товщина дерми до лікування була меншою, ніж у ГП, на 24 % ($p < 0,05$). Реакція на лікування в цій групі була найбільш вираженою: стовщення дерми спостерігалось одразу після трансплантації аутофібробластів (на 16 %; $p < 0,05$), через 6 і 12 місяців після неї на 23 % і

27 % ($p < 0,05$) відповідно.

У групах 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) акустична щільність шкіри до лікування не відрізнялася від значень показника в ГП. У результаті неофіброліфтингу акустична щільність шкіри в цих групах підвищувалася від показників до лікування на 19 % ($p < 0,05$) у групі 1 і на 33 % ($p < 0,05$) у групі 2 через 12 місяців після трансплантації фібробластів. У групі 3 (46-55 років) акустична щільність шкіри до лікування не відрізнялася від значень показника в ГП. У групі 4 (56 років і старше) вона була меншою, ніж у ГП, на 22 % ($p < 0,05$). У двох більш старших групах підвищення акустичної щільності спостерігалось через 6 місяців після трансплантації: у групі 3 – на 17 % ($p < 0,05$), групі 4 – на 31 % ($p < 0,05$) і трималося до 12 місяців, тобто до закінчення терміну спостереження.

Показник корнеометрії в молодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнявся від рівня в ГП. Він зростав на 30 % ($p < 0,001$) від рівня до лікування одразу після введення аутофібробластів і зберігався підвищеним на 26 % ($p < 0,001$) через 6 місяців. В інших трьох групах корнеометричні показники були нижчими, ніж у ГП: в групі 2 (36-45 років) – на 19 % ($p < 0,001$), групі 3 (46-55 років) – на 30 % ($p < 0,001$), групі 4 (56 років і старше) – на 40 % ($p < 0,001$). Вони зростали відносно рівня до лікування вже в результаті введення PRP: у групі 2 – на 17 % ($p < 0,001$), групі 3 – на 29 % ($p < 0,001$), групі 4 – на 13 % ($p < 0,05$) і далі трималися на високому рівні ($p < 0,05$) до кінця обстеження.

У молодшій групі 1 (25-35 років) показник ТЕВВ до лікування не відрізнявся від рівня в ГП. У результаті проведення неофіброліфтингу показник ТЕВВ в цій групі достовірно знижувався відносно показника до лікування через 12 місяців після трансплантації аутофібробластів на 22 % ($p < 0,05$). У групі 2 (36-45 років) показник ТЕВВ до лікування також не відрізнявся від рівня в ГП. Він суттєво знижувався через 6 місяців після введення фібробластів відносно показників до лікування на 16 % ($p < 0,05$) і відносно показників після введення PRP ($p < 0,05$). Зменшення ТЕВВ відносно

показників до лікування на 25 % ($p < 0,01$) спостерігалось і через 12 місяців. Але в цей термін показник ТЕВВ становився достовірно ($p < 0,05$) меншим і по відношенню до ГП ($p < 0,05$). У групі 3 (46–55 років) ТЕВВ до лікування була більшою, ніж у ГП, на 31 % ($p < 0,001$). Вона суттєво знижувалася по відношенню до рівня показника до лікування одразу після введення фібробластів на 17 % ($p < 0,05$) і через 6 і 12 місяців після цього на 28 % ($p < 0,05$). У групі 4 (56 років і старше) ТЕВВ до лікування була більшою, ніж в ГП, на 65 % ($p < 0,001$). Спостерігалось суттєве зменшення ТЕВВ по відношенню до рівня показника до лікування одразу після введення фібробластів на 13 % ($p < 0,05$), через 6 – на 22 % ($p < 0,01$) і через 12 місяців на 19 % ($p < 0,05$) після цього. У терміни 6 і 12 місяців зменшення ТЕВВ було також достовірним ($p < 0,05$) і по відношенню до рівня після введення PRP.

Отже, за дослідженими структурно-функціональними показниками (товщина епідермісу та дерми, акустичній щільності, корнеометричним і вапориметричним показникам) проведення неофіброліфтингу суттєво покращувало тою чи іншою мірою стан шкіри практично в усіх вікових групах, частіше вже після введення фібробластів. Ефект зберігався в більшості випадків і через 6 і 12 місяців після аутоотрансплантації.

Можна було припустити, що позитивні зміни в шкірі в процесі проведення неофіброліфтингу значною мірою можуть бути зумовлені значним стимулювальним впливом лікування на ОШК. Дійсно, в динаміці неофіброліфтингу відбувалися суттєві зміни ОШК в ділянці чола. У молодшій групі ОШК в ділянці чола до лікування не відрізнялася від рівня в ГП. Вона зростала після трансплантації фібробластів відносно значень показника в ГП та до лікування на 29 % ($p < 0,05$). Високий рівень ОШК зберігався через 6 місяців (на 34 % більший; $p < 0,05$) і через 12 місяців (на 49 % більший; $p < 0,001$). Через 12 місяців ОШК була достовірно вищою ($p < 0,001$), ніж у пацієток після введення PRP.

У групі 2 (36-45 років) ОШК в ділянці чола до лікування також не відрізнялася від рівня в ГП. Вона була значно більшою відносно ГП після

введення PRP (на 24 %; $p < 0,05$), після трансплантації фібробластів (на 24 %; $p < 0,05$), через 6 і 12 місяців після трансплантації фібробластів (на 78 % і 92 % відповідно; $p < 0,001$). Через 6 і 12 місяців підвищення ОШК було достовірно вищим ($p < 0,01$) і відносно рівня показника у пацієток після введення PRP. Через 12 місяців після трансплантації аутофібробластів показник був вище, ніж через 6 місяців ($p < 0,05$).

У групі 3 (46-55 років) ОШК в ділянці чола до лікування була меншою, ніж у ГП, на 22 % ($p < 0,05$). Вона значно зростала після введення PRP на 50 % ($p < 0,001$) і залишалася на високому рівні до 12 місяців. Одразу після трансплантації аутофібробластів і через 6 місяців значення ОШК було більшим, ніж після введення PRP ($p < 0,05$). Після трансплантації аутофібробластів ОШК в ділянці чола була суттєво вищою відносно ГП ($p < 0,01$).

У жінок групи 4 (56 років і старше) ОШК в ділянці чола до лікування була меншою, ніж у ГП, на 72 % ($p < 0,001$). Вона значно зростала вже після введення PRP на 250 % ($p < 0,001$) і залишалася на високому рівні ($p < 0,001$) відносно рівня показника в пацієток до лікування в усі терміни спостереження.

ОШК в ділянці щоки в наймолодшій групі 1 (25-35 років) до лікування не відрізнялася від рівня в ГП. Вона значно зростала відносно рівня показника до лікування одразу після трансплантації аутофібробластів на 28 % ($p < 0,01$) і знаходилася на високому рівні до кінця спостереження ($p < 0,01$). На ці терміни ОШК в ділянці щоки була суттєво більшою ($p < 0,01$) відносно рівня показника після введення PRP і в ГП.

У групі 2 (36-45 років) ОШК в ділянці щоки до лікування була меншою, ніж у ГП, на 35 % ($p < 0,01$). Вона значно зростала відносно рівня показника до лікування одразу після трансплантації аутофібробластів на 80 % ($p < 0,001$) і знаходилася на високому рівні до кінця спостереження ($p < 0,001$). На ці терміни ОШК в ділянці щоки була суттєво більшою ($p < 0,001$) відносно рівня показника після введення PRP і у ГП. Через 12

місяців ОШК суттєво знижувалася порівняно з її значенням через 6 місяців ($p < 0,05$).

ОШК в ділянці щоки в групі 3 (46-55 років) до лікування була меншою, ніж у ГП, на 53 % ($p < 0,05$). Вона зростала відносно рівня до лікування вже після введення PRP на 70 % ($p < 0,001$) і введення фібробластів на 170 % ($p < 0,001$); далі показники залишалися на високому рівні ($p < 0,001$) протягом усього терміну спостереження. ОШК в ділянці щоки в цій групі була суттєво меншою відносно ГП після введення PRP ($p < 0,05$) і суттєво більшою після трансплантації аутофібробластів ($p < 0,01$), через 6 і 12 місяців ($p < 0,05$).

Майже аналогічні дані отримані по групі 4 (56 років і старше), за винятком зниження показника ОШК в ділянці щоки до рівня ГП через 12 місяців після введення аутофібробластів.

Отже, встановлено, що в результаті проведення неофіброліфтингу відбувається виражена корекція пов'язаних з віком структурно-функціональних показників шкіри: товщини епідермісу та дерми, акустичної щільності, гідратації епідермісу та ТЕВВ, а також ОШК в ділянці чола та щоки.

Грунтуючись на сучасному розумінні шкіри як важливого органа імунної системи, в оцінці ефективності регенерації повинні, мабуть, бути присутні дані про стан клітин імунної системи, які значною мірою визначають її здоров'я. Можна припустити, що одними з найбільш адекватних антиейджингових підходів виявляться ті, що будуть перешкоджати саме імуносенесценції.

З урахуванням викладених передумов ми поставили перед собою завдання розробити методику виділення лімфоцитів з біоптату шкіри, вивчити вміст різних субпопуляцій $\alpha\beta$ Т-лімфоцитів у клітинних культурах з біоптатів шкіри пацієнток різних вікових груп у процесі здійснення неофіброліфтингу й оцінити можливу роль імунної системи шкіри в досягненні задовільного клінічного результату зазначеним способом корекції інволюційних змін.

Отримані з заушної ділянки біоптати шкіри обробляли розчином диспази (1 мг/мл) протягом 60 хвилин з наступним додаванням до біоптату в чашку Петрі розчину колагенази в середовищі RPMI 1640, що містила 10 % FCS і 500 U/мл GM-CSF, на 8 годин. Життєздатність зібраних мігруючих лейкоцитів дорівнювала 80-90 %. Для вивчення фенотипу клітин використовували метод проточної цитофлуориметрії FACS Calibur і антитіла Becton Dickinson.

Проведені два дослідження. У першому вивчали вплив безпосередньої дії PRP і ДФБ через 2 тижня після введення на вміст у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-лімфоцитів, визначали найбільш характерні кількісні зміни В-лімфоцитів і субпопуляцій Т-лімфоцитів. У другому тривалому дослідженні спочатку теж вивчали безпосередній вплив введення PRP і ДФБ на зміни найбільш інформативних показників – вмісту CD4⁺- і CD8⁺-клітин, а далі спостерігали за наявністю цих змін через 6 і 12 місяців. У кожному дослідженні визначали вміст різних субпопуляцій лімфоцитів у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток кожної вікової групи.

Вміст CD3⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) суттєво не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD3⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 15 % і 28 % відповідно ($p < 0,05$); і меншим від рівня в пацієнток групи 2 (36-45 років) ($p < 0,05$ і $p < 0,01$ відповідно).

Вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD4⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 12 % і 25 % відповідно ($p < 0,05$); і нижчим від рівня в пацієнток групи 2 (36-45 років) ($p < 0,05$ і $p < 0,01$ відповідно). У групі 4 показник був достовірно меншим ($p < 0,05$), ніж у групі 1.

Вміст CD8⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток групи 1 (25-35 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 2 (36-

45 років), 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD8⁺-клітин був суттєво меншим від рівня в ГП на 23 %, 24 % і 14 % відповідно ($p < 0,05$), нижчим від рівня в пацієнток групи 1 (25-35 років) ($p < 0,05$). Але в групі 4 показник був суттєво більшим ($p < 0,05$), ніж у групі 2.

Вміст CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток груп 1 (25-35 років) і 2 (36-45 років) не відрізнявся від значень у ГП. У пацієнток груп 3 (46-55 років) і 4 (56 років і старше) вміст CD19⁺-клітин був суттєво більшим від рівня в ГП на 47 % ($p < 0,01$) і 47 % ($p < 0,001$) відповідно; і більшим від рівня в пацієнток групи 2 (36-45 років) ($p < 0,01$).

У процесі неофіброліфтингу відбувалися суттєві зміни в кількісному субпопуляційному складі лімфоцитів.

У групі 1 (25-35 років) вміст CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП. Вміст CD3⁺- і CD19⁺-клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався. Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 29 % ($p < 0,05$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 19 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофіброblastів відносно рівня до лікування була збільшеною на 29 % ($p < 0,05$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 30 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів.

У групі 2 (36-45 років) вміст CD3⁺-, CD4⁺- і CD19⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП. Вміст CD8⁺-лімфоцитів до лікування був меншим на 23 %, ніж у ГП ($p < 0,05$). У цій групі після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 9 % ($p < 0,05$) кількість CD3⁺-лімфоцитів, на 16 % ($p < 0,05$) зростала чисельність CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 15 % ($p < 0,05$) кількість CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофіброblastів відносно рівня до лікування була збільшеною на 7 % ($p < 0,05$) чисельність CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 16 % ($p < 0,05$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 25 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Вміст CD19⁺-

клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався.

У групі 3 (46-55 років) кількісний субпопуляційний склад у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був змінений: вміст CD3⁺-лімфоцитів був меншим на 15 %, ніж у ГП ($p < 0,05$); CD4⁺-лімфоцитів – на 12 % нижчим ($p < 0,05$); CD8⁺-лімфоцитів – на 24 % меншим ($p < 0,05$); CD19⁺-лімфоцитів – на 47 % більшим, ніж у ГП ($p < 0,01$). У групі 3 після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 21 % ($p < 0,05$) кількість CD3⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 31 % ($p < 0,001$) чисельність CD19⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофіброblastів відносно рівня до лікування була збільшеною на 28 % ($p < 0,05$) кількість CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 19 % ($p < 0,05$) чисельність CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 25 % ($p < 0,01$) кількість CD19⁺-лімфоцитів. Вміст CD8⁺-клітин у процесі лікування в цій групі суттєво не змінювався.

У групі 4 (56 років і старше) кількісний субпопуляційний склад у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був змінений: вміст CD3⁺-лімфоцитів був меншим на 28 %, ніж у ГП ($p < 0,05$); CD4⁺-лімфоцитів – на 25 % нижчим ($p < 0,05$); CD8⁺-лімфоцитів – на 14 % меншим ($p < 0,05$); CD19⁺-лімфоцитів – на 47 % більшим, ніж у ГП ($p < 0,01$). У цій групі після введення PRP відносно рівня до лікування зменшувалася на 14 % ($p < 0,05$) кількість CD8⁺-лімфоцитів і на 18 % ($p < 0,001$) чисельність CD19⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофіброblastів відносно рівня до лікування була збільшеною на 12 % ($p < 0,05$) кількість CD3⁺-лімфоцитів, збільшеною на 32 % ($p < 0,05$) чисельність CD4⁺-лімфоцитів, зменшеною на 13 % ($p < 0,01$) кількість CD8⁺-лімфоцитів і зменшеною на 19 % ($p < 0,01$) чисельність CD19⁺-лімфоцитів.

При аналізі результатів неофіброліфтингу в тривалому експерименті можна побачити, що вони принципово подібні до попередніх. З віком кількість CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцитів у шкірі суттєво знижувалася, що, як вище згадувалося, є ознакою старіння імунної системи.

У групі 1 (25-35 років) вміст CD4⁺- і CD8⁺-клітин у культурі лімфоцитів

з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП. Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 19 % ($p < 0,05$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшувалася на 24 % ($p < 0,01$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 41 % ($p < 0,001$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшеною на 47 % ($p < 0,001$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 84 % ($p < 0,001$) і на 36 % ($p < 0,05$) відповідно кількість $CD4^+$ -лімфоцитів, зменшеною на 60 % ($p < 0,001$) і на 43 % ($p < 0,01$) відповідно чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів.

У групі 2 (36-45 років) вміст $CD4^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування не відрізнявся від значень у ГП. Вміст $CD8^+$ -клітин був меншим від рівня в ГП на 29 % ($p < 0,01$). Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 31 % ($p < 0,01$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшувалася на 37 % ($p < 0,01$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 51 % ($p < 0,001$) кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшеною на 44 % ($p < 0,001$) чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 76 % ($p < 0,001$) і на 80 % ($p < 0,001$), відповідно, кількість $CD4^+$ -лімфоцитів і зменшеною на 53 % ($p < 0,001$) і на 49 % ($p < 0,001$), відповідно, чисельність $CD8^+$ -лімфоцитів.

У групі 3 (46-55 років) вміст $CD4^+$ -клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був меншим від рівня в ГП на 13 % ($p < 0,05$), а вміст $CD8^+$ -клітин був меншим від рівня в ГП на 56 % ($p < 0,05$). Кількість $CD4^+$ -лімфоцитів відносно рівня до лікування збільшувалася на 43 % ($p < 0,05$) після введення PRP і на 70 % ($p < 0,05$) після трансплантації аутофібробластів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування вміст $CD4^+$ -лімфоцитів був збільшеним на 160 % ($p < 0,001$) і 120 % ($p < 0,001$) відповідно. Кількість $CD8^+$ -лімфоцитів суттєво змінювалася тільки через 6 місяців і була меншою за рівень до лікування на 49 % ($p < 0,05$).

У групі 4 (56 років і старше) вміст CD4⁺-клітин у культурі лімфоцитів з біоптатів шкіри пацієнток до лікування був меншим від рівня в ГП на 39 % ($p < 0,001$), а вміст CD8⁺-клітин був меншим від рівня в ГП на 27 %. Після введення PRP відносно рівня до лікування збільшувалася на 101 % ($p < 0,001$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшувалася на 39 % ($p < 0,01$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Після трансплантації аутофібробластів відносно рівня до лікування була збільшеною на 151 % ($p < 0,001$) кількість CD4⁺-лімфоцитів і зменшеною на 34 % ($p < 0,05$) чисельність CD8⁺-лімфоцитів. Через 6 і 12 місяців відносно рівня до лікування була збільшеною на 138 % ($p < 0,001$) і 153 % ($p < 0,001$) відповідно кількість CD4⁺-лімфоцитів, зменшеною на 39 % ($p < 0,001$) і на 26 % ($p < 0,05$) відповідно чисельність CD8⁺-лімфоцитів.

Отже, в результаті дослідження участі лімфоцитів у неофіброліфтингу встановлено, що клінічний ефект спостерігається при ефективному збільшенні кількості в шкірі CD4⁺- і зменшенні CD8⁺-субпопуляцій Т-лімфоцитів. Це свідчить про їхню ймовірну участь у реалізації ефекту методу і внаслідок введення PRP, і в результаті ауто трансплантації фібробластів. Важливою для оцінки перспективності процедури є встановлена довготривалість імунних змін.

Особливо треба відмітити регуляторну антиейджингову дію неофіброліфтингу, котра є переважною по відношенню до CD4⁺-клітин і спрямована в протилежний бік від тієї, що притаманна старінню. Можна припустити, що CD4⁺-лімфоцити більш важливі для проявів регенерації шкіри, ніж CD8⁺-клітини. Але можна також вважати, що суттєве зниження кількості CD8⁺-лімфоцитів у процесі неофіброліфтингу може мати і позитивний вплив. На користь цього свідчить задовільний і довготривалий клінічний ефект.

Одним з найбільш важливих механізмів впливу неофіброліфтингу на нормалізацію субпопуляцій Т-лімфоцитів може бути здатність Т-клітин до контактної взаємодії зі стромальними клітинами. Вважається, що в шкірі адекватні умови для підтримки Т-лімфоцитів створюють фібробласти.

Внаслідок контакту з фібробластами CD56 (bright) NK-клітини диференціюються у CD56 (dim) NK-клітини. [79] Фібробласти прилипають до фібронектину. [157] Тут же до фібронектину та колагену III типу адгезують і зрілі гемопоетичні клітини, що також взаємодіють з колагеном I типу, тромбоспондином, металопротеїназами, гіалуронатом і багатьма іншими молекулами позаклітинного матриксу. [117,119,128,130,135,147] Отже, і міжклітинний матрикс впливає на одну з головних характеристик імунної системи – постійний рух лімфоцитів у тканинах і лімфоїдних утвореннях. [140]

У контексті питання важливо відмітити, що взаємодія лімфоцитів зі стромальними клітинами критична не тільки для просування клітин до місць локалізації, але також вона впливає на регуляцію чисельності лімфоцитів і навіть тривалості їхнього життя. Прийнято вважати, що в мікрооточенні фібробластами Т-хелпери живуть довше Т-кілерів.

Контактна взаємодія лімфоцитів зі стромальними клітинами, що здійснюється за участі молекул адгезії та їхніх рецепторів у міжклітинному матриксі, може слугувати як фактор активації лімфоцитів, наслідком чого може бути або проліферація, або загибель клітин залежно від вихідного стану, характеру й інтенсивності сигналів. При низькому ступені заповнення стромальних ніш лімфоцитами (дія цитотоксичних факторів, інволюційні зміни) виникають умови, що сприяють розмноженню клітин («периферична експансія лімфоцитів»), а при переповненні тканини лімфоцитами створюються обставини для генерації апоптотичних сигналів.

Взаємодія зі стромальними клітинами важлива і для видалення сенесцентних лімфоцитів. Водночас ключова роль належить лектиновому розпізнаванню поверхневих молекул клітин-мішеней макрофагами. У нормі вуглеводні групи на поверхні клітин блоковані сіловою кислотою. У старих клітин цей захист відсутній і вони фагоцитуються макрофагами.

Взаємодія з фібробластами та матриксом може по-різному впливати на певні субпопуляції лімфоцитів. Показано, що дермальні МСК пригнічують

проліферацію та шкірний гоумінг CD8⁺-лімфоцитів, локалізованих в епідермісі, і підвищують активність Treg-клітин (CD4⁺). [96,186] Також МСК індують абортівну програму активації диференційованих цитотоксичних лімфоцитів, що насамперед проявляється пригніченням експресії на клітинах CD3- і CD8-молекул. [151] Хоча при активації імунних реакцій індукція CD8⁺-цитотоксичних/супресорних клітин здійснюється одночасно з включенням CD4⁺-клітин-хелперів, CD8⁺-клітини розвиваються повільніше, до того ж, тільки при дії достатньо сильних стимуляторів. І оскільки ці клітини мають виключно високу чутливість до проапоптотичних факторів, за цих обставин сильні стимули ведуть до реалізації апоптозу. У шкірі створені всі умови для генерації сильних сигналів, оскільки вона має в достатній кількості класичні допоміжні клітини: лімфоїдні та міелоїдні дендритні клітини та макрофаги, а за умов запалення та суперекспресії різних рецепторів взаємодіяти з лімфоцитами можуть і непрофесійні клітини, виконуючи хелперну функцію (кератиноцити, опасисті клітини). Отже, розвиток і функціонування CD4⁺- і CD8⁺-лімфоцитів суттєво рознесені за часом і розвиватися вони можуть у протилежних напрямках.

Вищезазначені процеси можуть пояснити зміни в шкірі субпопуляцій Т-лімфоцитів на перших етапах процесу неофіброліфтингу, коли головним фактором змін можна вважати індуковане PRP запалення. Але підсилене накопичення CD4⁺-клітин протягом досить тривалого часу (12 місяців) потребує подальшого аналізу.

Ясно, що фактори першого етапу неофіброліфтингу можуть діяти двояко. По-перше, індуковане запалення сприяє підсиленню активності резидентних і трансплантованих фібробластів, розмноженню функціонально більш повноцінних клітин. По-друге, в умовах запалення та дії сильних стимулів реалізуються апоптоз і заміна сенесцентних фібробластів на активовані, тим самим створюються умови до вищезгаданої периферичної лімфоцитарної експансії з елементами селекції.

Є вказівки на те, що тут головну роль відіграють різні типи

фібробластів. Вважається, що існують три окремих субпопуляції дермальних фібробластів: клітини, що знаходяться в поверхневій дермі, ретикулярні фібробласти в глибоких шарах і клітини, асоційовані з волосним фолікулом. [182] Проте залежно від ступеня зрілості та напрямку диференціювання клітини розрізняються і за фенотипом, і за імуномодулювальною активністю. [125,165,175]

Відомо, що взаємодіючи з імунокомпетентними клітинами, стромальні клітини піддаються старінню та сенесценції *in vitro*. [8,187] Проте під впливом цитокінів у дермальних фібробластів можуть індукуватися диференціювання, проліферація, міграція та біосинтетична активність. TGF β і кондиційне середовище культивованих кератиноцитів викликають диференціювання дермальних фібробластів у міофібробласто-подібні клітини, що продукують α -гладком'язовий актин (α -SMA) і підвищену активність клітин у міграції до місць знаходження ран, запалення та пухлин. [139]

Є важливі відомості для розгляду впливу на фібробласти неофіброліфтингу. Це дані про наявність стимулювальної дії МСК, що здійснюється шляхом секреції екзосом, які після інтерналізації стимулюють міграцію, проліферацію, синтез колагену та підвищення експресії гена N-кадгерину, цикліну-1 і колагену I, III. [140]

Високу стимулювальну функціональну активність фібробластів, під яку підпадають і резидентні, і трансплантовані клітини, проявляють і тромбоцитарні чинники, що слушно використовуються на початку неофіброліфтингу. [61]

Стимульовані фібробласти отримують нові можливості для взаємодії з імунною системою. Насамперед треба відзначити виражену здатність МСК до індукції Т-регуляторних клітин, які належать переважно до CD4⁺-лімфоцитів. [74]

Отже, репарація інволюційних змін у шкірі при неофіброліфтингу включає кілька основних факторів. По-перше, це індукція запалення PRP і

клітинна перебудова за участі лімфоїдних клітин і фібробластів; по-друге, видалення сенесцентних клітин і їхня заміна стимульованими резидентними фібробластами, а також кількісне поповнення тканини трансплантованими клітинами; по-третє, поповнення шкіри мобілізованими з кісткового мозку ГСК, МСК і ендотеліальними попередниками, що роблять свій внесок у покращення мікрооточення в шкірі, позитивно впливають на лімфопоез.

Отримані результати можна узагальнити наступним чином.

Біоптати шкіри заушної ділянки містять CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- і CD19⁺-лімфоцити, що можуть бути отримані шляхом ферментативної обробки тканини та короткострокового культивування на пластику в присутності фетальної телячої сироватки та GM-CSF.

Кількість CD3⁺-лімфоцитів у 5-6 разів перевищує чисельність CD19⁺-клітин; кількість CD4⁺-клітин наближається до такої CD8⁺-лімфоцитів, але все ж таки на 10-20 % вища.

Чисельність CD3⁺-, CD4⁺- і CD8⁺-клітин у пацієток більш вікових груп (45-55, 56 і більше років) виявляється суттєво зниженою порівняно з показниками молодших пацієток, що свідчить про старіння Т-клітинного імунітету шкіри. На відміну від Т-лімфоцитів, кількість В-клітин у старших вікових групах суттєво збільшена, що може бути пов'язане з їхньою реакцією на перманентне та зростаюче інфекційне напруження з віком.

У результаті проведення неофіброліфтингу уже після введення PRP відбувається значне підвищення кількості CD4⁺-лімфоцитів з подальшим зростанням їхнього рівня вже в результаті аутотрансплантації фібробластів, що залишається суттєво вищим від вихідного протягом 12 місяців. Кількість CD8⁺-лімфоцитів змінюється в протилежному напрямку, але також починається з реакції на PRP і далі знижується у відповідь на аутотрансплантацію фібробластів до 12-місячного терміну спостереження. Кількість CD19⁺-клітин дещо знижується тільки в пацієток у віці 46-55 років і тенденційно у найстаршій групі, що може бути пов'язано з відносно великою вихідною кількістю цих клітин.

Отримані результати свідчать, що імунна система шкіри піддається старінню і що вона бере участь у реалізації механізмів неофіброліфтингу, коли певні показники можуть змінюватися різноспрямовано, відображаючи, мабуть, свій вплив на перебудову тканини, що індукується PRP і аутофібробластами.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені теоретичне узагальнення структурно-функціональних, імунологічних механізмів і їхнього зв'язку в розвитку інволюційних змін шкірі обличчя пацієнток різного віку та вирішення наукової проблеми підвищення ефективності лікування шляхом створення нової комплексної методики неофіброліфтингу з аутотрансплантацією дермальних фібробластів у шкіру, кондиціоновану збагаченою тромбоцитами плазмою.

1. Встановлено, що інволюційні зміни шкіри жінок різного віку характеризуються достовірним зменшенням відносно показників групи порівняння акустичної щільності (на 22 % в 4-й групі), товщини епідермісу (на 22 % в 3-й групі, 21 % – 4-й) і дерми (на 21 % у 2-й групі, 10 % – 3-й, 24 % – 4-й), об'ємної швидкості кровообігу в ділянці лоба (на 22 % в 3-й групі, 72 % – 4-й) і щоки (на 35 % у 2-й групі, 53 % – 3-й, 69 % – 4-й), гідратації шкіри (на 19 % у 2-й групі, 30 % – 3-й, 40 % – 4-й) разом з підвищенням трансепідермальної втрати води (на 31 % у 3-й групі, 65 % – 4-й).

2. Визначено, що з віком у шкірі суттєво знижуються відносно показників групи порівняння кількості CD3⁺-Т-лімфоцитів (на 15 % у 3-й групі, 28 % – 4-й), CD4⁺-Т-лімфоцитів (на 12 % у 3-й групі, 25 % – 4-й), CD8⁺-Т-лімфоцитів (на 23 % в 2-й групі, 24 % – 3-й, 14 % – 4-й) і збільшується чисельність CD19⁺-В-клітин (на 47 % у 3-й і 4-й групах).

3. Для корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри удосконалена методика неофіброліфтингу, що включає підготовчі ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми та через 2 тижні – трансплантації культивованих аутологічних дермальних фібробластів у кондиціоновані ділянки шкіри.

4. Встановлено, що в результаті неофіброліфтингу акустична щільність шкіри достовірно збільшувалася відносно показників до лікування в пацієнток 1-ї та 2-ї груп через 12 місяців на 19 % і 33 % відповідно; 3-ї та 4-

ї груп через 6 місяців на 17 % і 31 %, 12 місяців на 25 % і 34 % відповідно. Товщина епідермісу в жінок 2-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів зростала на 17 %; у пацієток 3-ї групи після введення platelet-rich plasma – 20 %, трансплантації дермальних фібробластів – 22 %, через 6 і 12 місяців – 22 % та 23 % відповідно; в осіб 4-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів – 19 %, через 6 місяців – 24 %. Товщина дерми в пацієток 1-ї групи після введення platelet-rich plasma збільшувалася на 9 %, трансплантації дермальних фібробластів – 11 %, через 6 місяців – 18 %; у жінок 2-ї та 3-ї груп через 12 місяців – 28 % і 19 % відповідно; в осіб 4-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів – 16 %, через 6 і 12 місяців – 23 % та 27 % відповідно.

5. Гідратація шкіри в пацієток 1-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів зростала на 30 %, через 6 місяців – 26 %; у жінок 2-ї групи після введення platelet-rich plasma – 17 %, трансплантації дермальних фібробластів – 30 %, через 6 і 12 місяців – 35 % і 31 % відповідно; в осіб 3-ї групи після введення platelet-rich plasma – 29 %, трансплантації дермальних фібробластів – 37 %, через 6 і 12 місяців – 28 % і 29 % відповідно; в пацієток 4-ї групи після введення platelet-rich plasma – 13 %, трансплантації дермальних фібробластів – 32 %, через 6 і 12 місяців – 29 % і 18 % відповідно. Трансепідермальна втрата вологи в жінок 1-ї групи через 12 місяців зменшувалася на 22 %; в пацієток 2-ї групи через 6 і 12 місяців – 16 % і 25 % відповідно; в осіб 3-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів – 17 %, через 6 і 12 місяців – 28 % і 28 % відповідно; в пацієток 4-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів – 13 %, через 6 і 12 місяців – 22 % та 19 % відповідно.

6. Встановлено, що в результаті неофіброліфтингу відбувалася нормалізація параметрів кровотоку. Об'ємна швидкість кровотоку в ділянці чола в жінок 1-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів збільшувалася на 29 %, через 6 і 12 місяців – 34 % та 49 % відповідно; в пацієток 2-ї групи після введення platelet-rich plasma – 24 %, трансплантації

дермальних фібробластів – 24 %, через 6 і 12 місяців – 78 % і 92 % відповідно; в осіб 3-ї групи після введення platelet-rich plasma – 50 %, трансплантації дермальних фібробластів – 79 %, через 6 і 12 місяців – 88 % і 69 % відповідно; в пацієток 4-ї групи після введення platelet-rich plasma – 3,5 рази, трансплантації дермальних фібробластів – 4 рази, через 6 і 12 місяців – 4,1 та 4 рази відповідно. Об'ємна швидкість кровотоку в ділянці шоки в жінок 1-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів зростала на 28 %, через 6 і 12 місяців – 34 % та 40 % відповідно; в пацієток 2-ї групи після трансплантації дермальних фібробластів – 1,8 рази, через 6 і 12 місяців – 2,1 і 2 рази відповідно; в осіб 3-ї групи після введення platelet-rich plasma – 1,7 рази, трансплантації дермальних фібробластів – 2,7 рази, через 6 і 12 місяців – 2,8 і 2,7 рази відповідно; в пацієток 4-ї групи після введення platelet-rich plasma – 1,9 рази, трансплантації дермальних фібробластів – 4 рази, через 6 і 12 місяців – 4,1 і 3,6 рази відповідно.

7. Встановлено, що в результаті неофіброліфтингу відбувалося збільшення кількості CD4⁺-клітин, а також зниження чисельності CD8⁺-лімфоцитів з відновленням співвідношення кількості цих клітин до нормального рівня молодих осіб. Кількість CD4⁺-клітин в пацієток 1-ї групи після введення platelet-rich plasma зростала на 19 %, після трансплантації дермальних фібробластів – 41 %, через 6 і 12 місяців – 84 % та 36 % відповідно; в жінок 2-ї групи після введення platelet-rich plasma – 31 %, трансплантації дермальних фібробластів – 51 %, через 6 і 12 місяців – 76 % і 80 % відповідно; в осіб 3-ї групи після введення platelet-rich plasma – 1,4 рази, трансплантації дермальних фібробластів – 1,7 рази, через 6 і 12 місяців – 2,6 і 2,2 рази відповідно; в пацієток 4-ї групи після введення platelet-rich plasma – 2 рази, трансплантації дермальних фібробластів – 2,5 рази, через 6 і 12 місяців – 2,4 та 2,5 рази відповідно. Чисельність CD8⁺-клітин у жінок 1-ї групи після введення platelet-rich plasma зменшувалася на 24 %, трансплантації дермальних фібробластів – 47 %, через 6 і 12 місяців – 60 % і 43 % відповідно; в пацієток 2-ї групи після введення platelet-rich plasma –

37 %, трансплантації дермальних фібробластів – 44 %, через 6 і 12 місяців – 53 % і 49 % відповідно; в осіб 3-ї групи через 6 місяців – 49 %; у пацієнток 4-ї групи після введення platelet-rich plasma – 39 %, трансплантації дермальних фібробластів – 34 %, через 6 і 12 місяців – 39 % і 26 % відповідно.

8. Позитивні клінічні, структурно-функціональні й імунологічні дані, що свідчать про антиейджингову дію неофіброліфтингу, часто суттєві вже після введення збагаченої тромбоцитами плазми та внаслідок наступної трансплантації дермальних фібробластів з формуванням стабільного достовірного всебічного результату, що наявний протягом усього 12-місячного терміну спостереження. З одного боку, це свідчить про значну роль у реалізації ефекту імунозапальної дії збагаченої тромбоцитами плазми, з іншого, – підкреслює головну та довготривалу дію активованих трансплантованих дермальних фібробластів.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для впровадження в практику лікарів-дерматовенерологів рекомендується методика комплексної корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри – неофіброліфтинг, що складається з послідовних етапів:

1. Для оцінки вираженості інволюційно-дистрофічних змін шкіри рекомендується використання комплексу неінвазивних інструментальних методів: ультразвукового дермасканування, корнеометрії та вапориметрії.

2. З урахуванням важливого значення кровообігу та мікроциркуляції в шкірі рекомендується вимірювання цих параметрів за допомогою ультразвукового доплерівського сканування.

3. Для проведення неофіброліфтингу рекомендується одержання аутологічних дермальних фібробластів з біоптатів шкіри завушної ділянки.

4. Рекомендується наступна методика виконання неофіброліфтингу: спочатку в область лікування інтрадермально вводяться 14 мл збагаченої тромбоцитами (в 6-7 разів) плазми, а через 2 тижні трансплантуються аутологічні дермальні фібробласти в кількості 60 млн.

5. Для прогностичної оцінки ефективності здійсненого неофіброліфтингу та достатності проведених процедур рекомендується дослідження біоптатів шкіри на вміст CD4⁺- і CD8⁺-субпопуляцій лімфоцитів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Акмаева ИГ, Адамян РТ, Липский КБ. Комплексный подход к омоложению мягких тканей лица. *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* 2004;(4):33-7.
2. Ачкасов ЕЕ, Безуглов ЭН, Ульянов АА, Куршев ВВ, Репетюк АД, Егорова ОН. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике. *Биомедицина.* 2013;(4):46-59.
3. Бардова КО, Бардов ПВ, Коляденко ВГ. Перспективні методи та новітні технології в косметології. *Укр. журн. дерматології, венерології, косметології.* 2004;(4):56-60.
4. Бородина КМ. Исследование возрастных изменений кожи. *Регион. вестн.* 2019;(20):8-9.
5. Борсуков АВ, Венидиктова ДЮ, Ковалев АА. Возможности применения высокочастотного ультразвукового исследования в диагностике заболеваний кожи. *Мед. алфавит.* 2018;2(31):5-8.
6. Бочарова-Мараховська ГВ, Свистунов ІВ, Онищенко ОМ, Іваченкова ОВ, Петрашкевич НА. Дистморфофобії в косметологічній практиці. *Акт. питання фармацевт. і мед. науки та практики.* 2010;23(2):65-8.
7. Бутенко ГМ. Иммуниет и старение. В: Сохин АА, Чернушенко ЕФ, редакторы. *Прикладная иммунология.* Киев: Здоров'я; 1984. с. 274-90.
8. Бутенко ГМ. Иммуниет при старении. *Международ. мед. журн.* 1999;5(2):6-10.
9. Витрук ТЮ, Мирютова ТЛ, Рязанцева НВ, Пестерев ПН, Беляева АЮ. Дermalные фибробласты и старение кожи человека. *Успехи соврем. естествознания.* 2005;(10):40-1.
10. Возіанова СВ, Верещака ВВ. Патолофізіологічні механізми змін мікроциркуляторного русла при передчасній інволюції шкіри. *Укр. мед. часопис.* 2004;(3):108-12.
11. Воронцова ЗА, Никитюк ДБ, Кудаева ЭФ. Аналитический подход

морфоклинической интерпретации системы крови после инкорпорирования радионуклидов (краткий обзор литературы). Вестн. новых мед. технологий. 2017;24(1):191-202.

12. Гавашели ЛГ, Величенко РЭ. Верхняя треть лица. Диспорт-радикальность или дополнение? Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. 2004;(4):57-8.

13. Гайдаш НВ. Коррекция инволютивных изменений кожи у женщин комбинированным методом с использованием фракционного фототермолиза и биоревитализации [автореферат]. М.: ГОУ ПО «Гос. ин-т усовершенствования врачей Минобороны России»; 2011. 30 с.

14. Гржибовский АМ, Иванов СВ, Горбатова МА. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения STATISTICA и SPSS: параметрические и непараметрические критерии. Наука и здравоохранение. 2016;(4):5-37.

15. Давыдова АВ, Моррисон АВ, Утц СР, Меглинский ИВ, Лычагов ВВ. Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи лица методом лазерной доплеровской флоуметрии. Саратов. науч.-мед. журн. 2012;8(2):615-21.

16. Железная АА, Цвяшко ТИ, Кнуров ИЮ, Шаповалов АГ, Петров АГ, Лулева НН. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в акушерко-гинекологической практике. Мед.-соц. проблемы семьи. 2016;21(1):72-8.

17. Зайнуллина ОН, Хисматуллина ЗР. Возможности инструментальной диагностики при аллергодерматозах. Мед. вестн. Башкортостана. 2018;13(2):101-6.

18. Золотенкова ГВ, Ткаченко СБ, Пиголкин ЮИ. Современные неинвазивные методы оценки возрастных изменений кожи. Судеб.-мед. экспертиза. 2015;58(1):26-30.

19. Зорин В, Зорина А, Черкасов В, Копнин П, Деев Р, Исаев А, и др. Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции

- возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований. Эстет. медицина. 2012;11(2):171-82.
20. Зорина АИ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР. Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи. Эстет. медицина. 2012;11(1):15-31.
21. Зорина АИ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР, Ижевский ПВ. Клеточные технологии в эстетической медицине. Современ. проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачеб. косметологии. 2010;4(4):76-82.
22. Зорина АИ, Деев РВ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР. Старение кожи, опосредованное фибробластами. возможности терапевтической коррекции. Эксперим. и клин. дерматокосметология. 2011;(5):43-51.
23. Имаева НА, Потеев НН, Ткаченко СБ, Шугинина ЕА. Особенности нарушения микроциркуляции при различных типах старения кожи. Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. 2008;7(3):107-10.
24. Калюжна ЛД. Хвороби шкіри жінок у віковому аспекті: навч. посіб. Київ: Грамота; 2009. 127 с.
25. Калюжная ЛД. Генодерматозы. Medix Anti-Aging. 2012;(1):8-13.
26. Келлер Г, Себастиан Дж, Лакомбе Ю, Тофт К, Ласк Г, Ревазова Е. Сохранность инъецируемых аутологичных человеческих фибробластов. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2000;130(8):203-6.
27. Кольгуненко ИИ. Основы геронтокосметологии. М.: Медицина; 1974. 222 с.
28. Логина АВ, Супильников АА, Антипов ЕВ. Обзор методов воздействия на микроциркуляцию кожи. Вестн. мед. ин-та «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2015;(3):57-61.
29. Мавров ГИ, Щербакова ЮВ, Чинов ГП, Нагорный АЕ. Методы диагностики и лечения поражений кожи, вызванных вирусом папилломы человека. Дерматология та венерология. 2010;(2):49-61.
30. Мехта Р, Фицпатрик Р. Факторы роста в космецевтике: роль в регенерации кожи. Consilium Medicum. Дерматология. 2009;(2):48-52.

31. Мяделец ОД, Адаскевич ВП. Морфофункциональная дерматология: [руководство]. М.: Мед. лит.; 2006. 734 с.
32. Никольская ЕИ, Бутенко ГМ. Структурно-функциональная организация костномозговых ниш гемопоэтических стволовых клеток. Клітин. та орган. трансплантологія. 2016;4(1):82-100.
33. Панова ОС. Теоретические и прикладные аспекты современной дерматокосметологии [автореферат]. М.: Центр косметол. коррекции, Центр. клин. больница Рос. АН; 2001. 44 с.
34. Панченко ДС, Малова ИО, Михалевич ИМ. Динамика морфофункциональных параметров в процессе коррекции сухой кожи лица у женщин. Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2016;140(1):52-6.
35. Панченко ДС, Киргизова ОЮ. Результаты морфофункциональных исследований сухой кожи лица у женщин в разных возрастных группах. Acta Biomedica Scientifica. 2017;2(4):32-8.
36. Пиголкин ЮИ, Ткаченко СБ, Золотенкова ГВ, Веленко ПС, Золотенков ДД, Сафронеева ЮЛ. Комплексная оценка возрастных изменений кожи. Судеб.-мед. экспертиза. 2018;61(3):15-8.
37. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа сфера; 2002. 305 с.
38. Рыжак ГА, Королькова ТН, Войтон ЕВ. Геронтокосметология: профилактика и коррекция возрастных изменений кожи. СПб.: Фирма КОСТА; 2006. 158, [1] с.
39. Свистунов ІВ. Прогностичні варіанти клінічного перебігу псоріазу. Журн. дерматовенерології та косметології ім. М.О.Торсуєва. 2011;(1-2):79-85.
40. Сонис АГ, Сефединова МЮ, Безрукова МА, Марченко АА, Ладонин СВ. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в лечении пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, костей и суставов. Аспирант. вестн. Поволжья. 2016;(5-6):162-67.
41. Ходжаева МХ, Исаева МС, Саидмурадова РА. Эндотелий сосудов и

- механизмы его дисфункции. *Здравоохранение Таджикистана*. 2014;(2):77-86.
42. Цепколенко А, Цепколенко В, Мишра А, Мелерзанов А. Коррекция инволюционных изменений кожи (новая методика неофибролифтинга). *Врач*. 2019;(30)7:32-8.
43. Цепколенко АВ. Аутофибробласты в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104.
44. Цепколенко АВ. Иммунная система и регенеративный потенциал кожи. *Дерматологія та венерологія*. 2017;(3):27-37.
45. Цепколенко АВ. Лазерные, инъекционные и хирургические методы коррекции постакне. В: Материалы междунар. конф. Medical aesthetic synergy congress; 2018 Июнь 1-2; Киев. Киев; 2018. с. 59.
46. Цепколенко АВ. Механизмы старения кожи (обзор литературы). *Дерматовенерология. Косметология*. 2018;4(3):309-23.
47. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комбинация лазерных и клеточных технологий в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104-5.
48. Цепколенко ВА, Насибуллин БА, Паляничка ОВ. Комплексная фармако-физиотерапевтическая коррекция инволюционных изменений кожи. *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология*. 2002;(1-2):123-5.
49. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комплексный подход к коррекции возрастных изменений. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 69.
50. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Лазеры в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. Профилактика осложнений. В: Лазерная хирургия. Материалы науч.-практ. конф. Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине. Черкассы: Вертикаль; 2016. с. 87.

51. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Современные методы интенсивной регенерации кожи. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 51-2.
52. Цепколенко ВА, Суровяк П. PRP-стимуляция синтеза коллагена I типа в коже человека: плацебо-контролируемое исследование *in vivo*. Вестн. эстет. медицины. 2012;11(3):17-24.
53. Цепколенко ВО, Цепколенко ГВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб епігенетичного культивування аутологічних дермальних фібробластів людини. Патент України № 110281. 2016 Жовт 10.
54. Цепколенко ВО, Цепколенко АВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри. Патент України № 95130. 2014 Груд 10.
55. Цепколенко ГВ, Літус ОІ. Автофібробласти в корекції інволюційних змін у шкірі: огляд літератури. Дерматологія та венерологія. 2018;(2):13-8.
56. Цепколенко ГВ. Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу. Запорозж. мед. журн. 2019;21(6):795-801.
57. Цепколенко ГВ. Неінвазивні інструментальні методи в оцінці структурно-функціональної основи старіння шкіри. Дерматологія та венерологія. 2019;(2):27-30.
58. Ярыгин КН, Бурунова ВВ, Ступин ВА, Смирнова ГО, Мантурова НЕ, Ставицкая ГВ. Клеточные технологии в ревитализации кожи лица. РМЖ. Рос. мед. журн. 2009;17(1):1058-61.
59. Agache P, Humbert P, editors. Measuring the skin. Berlin; London: Springer; 2004. xxiii, 784 p.
60. Agarwal S, Krishnamurthy K. Histology, skin [Internet]. [cited 2020 Apr 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537325/>
61. Anitua E, Pino A, Orive G. Plasma rich in growth factors promotes dermal fibroblast proliferation, migration and biosynthetic activity. J Wound Care. 2016

Nov 2;25(11):680-7. doi: 10.12968/jowc.2016.25.11.680.

62. Badran KW, Nabili V. Lasers, microneedling, and platelet-rich plasma for skin rejuvenation and repair. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2018 Nov;26(4):455-68. doi: 10.1016/j.fsc.2018.06.007.

63. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008 Sep-Oct;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.

64. Baumann L. How to use oral and topical cosmeceuticals to prevent and treat skin aging. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2018 Nov;26(4):407-13. doi: 10.1016/j.fsc.2018.06.002.

65. Bayer A, Lammel J, Lippross S, Kluter T, Behrendt P, Tohidnezhad M, et al. Platelet-released growth factors induce psoriasin in keratinocytes: Implications for the cutaneous barrier. *Ann Anat.* 2017 Sep;213:25-32. doi: 10.1016/j.aanat.2017.04.002.

66. Bielenberg DR, Bucana CD, Sanchez R, Donawho CK, Kripke ML, Fidler IJ. Molecular regulation of UVB-induced cutaneous angiogenesis. *J Invest Dermatol.* 1998 Nov;111(5):864-72. doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00378.x.

67. Bielfeldt S, Blaak J, Laing S, Schleißinger M, Theiss C, Wilhelm KP, et al. Deposition of plant lipids after single application of a lip care product determined by confocal raman spectroscopy, corneometry and transepidermal water-loss. *Int J Cosmet Sci.* 2019 Jun;41(3):281-91. doi: 10.1111/ics.12533.

68. Blomme EA, Sugimoto Y, Lin YC, Capen CC, Rosol TJ. Parathyroid hormone-related protein is a positive regulator of keratinocyte growth factor expression by normal dermal fibroblasts. *Mol Cell Endocrinol.* 1999 Jun 25;152(1-2):189-97. doi: 10.1016/s0303-7207(98)00252-4.

69. Blumenberg M. Skinomics, transcriptional profiling approaches to molecular and structural biology of epidermis. *Semin Cutan Med Surg.* 2019 Mar 1;38(1):E12-8. doi: 10.12788/j.sder.2019.004.

70. Bonifant H, Holloway S. A review of the effects of ageing on skin integrity and wound healing. *Br J Community Nurs.* 2019 Mar 1;24(Sup 3):S28-S33. doi:

10.12968/bjcn.2019.24.Sup3.S28.

71. Bonte F, Girard D, Archambault JC, Desmouliere A. Skin changes during ageing. *Subcell Biochem.* 2019;91:249-80. doi: 10.1007/978-981-13-3681-2_10.
72. Brown TM, Krishnamurthy K. Histology, dermis [Internet]. [cited 2020 Apr 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/>
73. Bruna F, Contador D, Conget P, Erranz B, Sossa CL, Arango-Rodríguez ML. Regenerative potential of mesenchymal stromal cells: age-related changes. *Stem Cells Int.* 2016;2016:1461648. doi: 10.1155/2016/1461648.
74. Burr SP, Dazzi F, Garden OA. Mesenchymal stromal cells and regulatory T cells: the Yin and Yang of peripheral tolerance? *Immunol Cell Biol.* 2013 Jan;91(1):12-8. doi: 10.1038/icb.2012.60.
75. Caberlotto E, Cornillon C, Njikeu S, Monot M, Vicic M, Flament F. Synchronized in vivo measurements of skin hydration and trans-epidermal water loss. Exploring their mutual influences. *Int J Cosmet Sci.* 2019 Oct;41(5):437-42. doi: 10.1111/ics.12556.
76. Cario M. DDR1 and DDR2 in skin. *Cell Adh Migr.* 2018;12(4):386-93. doi: 10.1080/19336918.2018.1485618.
77. Castro MCR, Ramos-E-Silva M. Cutaneous infections in the mature patient. *Clin Dermatol.* 2018 Mar-Apr;36(2):188-96. doi: 10.1016/j.clindermatol.2017.10.010.
78. Chambers ES, Vukmanovic-Stejic M. Skin barrier immunity and ageing. *Immunology.* 2020 Jun;160(2):116-25. doi: 10.1111/imm.13152.
79. Chan A, Hong DL, Atzberger A, Kollnberger S, Filer AD, Buckley CD, et al. CD56bright human NK cells differentiate into CD56dim cells: role of contact with peripheral fibroblasts. *J Immunol.* 2007 Jul 1;179(1):89-94. doi: 10.4049/jimmunol.179.1.89.
80. Chandrasekaran AR, Venugopal J, Sundarrajan S, Ramakrishna S. Fabrication of a nanofibrous scaffold with improved bioactivity for culture of human dermal fibroblasts for skin regeneration. *Biomed Mater.* 2011 Feb;6(1):015001. doi: 10.1088/1748-6041/6/1/015001.

81. Cole MA, Quan T, Voorhees JJ, Fisher GJ. Extracellular matrix regulation of fibroblast function: redefining our perspective on skin aging. *J Cell Commun Signal*. 2018 Mar;12(1):35-43. doi: 10.1007/s12079-018-0459-1.
82. Crisan D, Roman I, Crisan M, Scharffetter-Kochanek K, Badea R. The role of vitamin C in pushing back the boundaries of skin aging: an ultrasonographic approach. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015 Sep 2;8:463-70. doi: 10.2147/CCID.S84903.
83. Cristofalo VJ, Allen RG, Pignolo RJ, Martin BG, Beck JC. Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in culture: a reevaluation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998 Sep 1;95(18):10614-9. doi: 10.1073/pnas.95.18.10614.
84. Dabrowska AK, Spano F, Derler S, Adlhart C, Spencer ND, Rossi RM. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors. *Skin Res Technol*. 2018 May;24(2):165-74. doi: 10.1111/srt.12424.
85. De Luca C, Mikhal'chik EV, Suprun MV, Papacharalambous M, Truhanov AI, Korkina LG. Skin antiageing and systemic redox effects of supplementation with marine collagen peptides and plant-derived antioxidants: a single-blind case-control clinical study. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:4389410. doi: 10.1155/2016/4389410.
86. Devereaux J, Nurgali K, Kiatos D, Sakkal S, Apostolopoulos V. Effects of platelet-rich plasma and platelet-poor plasma on human dermal fibroblasts. *Maturitas*. 2018 Nov;117:34-44. doi: 10.1016/j.maturitas.2018.09.001.
87. Duffy MM, Ritter T, Ceredig R, Griffin MD. Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways. *Stem Cell Res Ther*. 2011 Aug 11;2(4):34. doi: 10.1186/srct75.
88. Eca LP, Pinto DG, de Pinho AM, Mazzetti MP, Odo ME. Autologous fibroblast culture in the repair of aging skin. *Dermatol Surg*. 2012 Feb;38(2):180-4. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02192.x.
89. Elias HK, Bryder D, Park CY. Molecular mechanisms underlying lineage bias in aging hematopoiesis. *Semin Hematol*. 2017 Jan;54(1):4-11. doi:

10.1053/j.seminhematol.2016.11.002.

90. Everts PA, Pinto PC, Girao L. Autologous pure platelet-rich plasma injections for facial skin rejuvenation: Biometric instrumental evaluations and patient-reported outcomes to support antiaging effects. *J Cosmet Dermatol*. 2019 Aug;18(4):985-95. doi: 10.1111/jocd.12802.
91. Fabian C, Naaldijk Y, Leovsky C, Johnson AA, Rudolph L, Jaeger C, et al. Distribution pattern following systemic mesenchymal stem cell injection depends on the age of the recipient and neuronal health. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Apr 18;8(1):85. doi: 10.1186/s13287-017-0533-2.
92. Feisst V, Brooks AE, Chen CJ, Dunbar PR. Characterization of mesenchymal progenitor cell populations directly derived from human dermis. *Stem Cells Dev*. 2014 Mar 15;23(6):631-42. doi: 10.1089/scd.2013.0207.
93. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*. 2002 Nov;138(11):1462-70. doi: 10.1001/archderm.138.11.1462.
94. Fougere B, Boulanger E, Nourhashemi F, Guyonnet S, Cesari M. Chronic inflammation: accelerator of biological aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2017 Sep 1;72(9):1218-25. doi: 10.1093/gerona/glw240.
95. Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol*. 2003 Jul;200(4):500-3. doi: 10.1002/path.1427.
96. Gao L, Liu F, Tan L, Liu T, Chen Z, Shi C. The immunosuppressive properties of non-cultured dermal-derived mesenchymal stromal cells and the control of graft-versus-host disease. *Biomaterials*. 2014 Apr;35(11):3582-8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.008.
97. Gao Z, Wilson TE, Drew RC, Ettinger J, Monahan KD. Altered coronary vascular control during cold stress in healthy older adults. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012 Jan 1;302(1):H312-8. doi: 10.1152/ajpheart.00297.2011.
98. Gaur M, Dobke M, Lunyak VV. Mesenchymal stem cells from adipose tissue in clinical applications for dermatological indications and skin aging. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 20;18(1):208. doi: 10.3390/ijms18010208.

99. Gibbs S, van den Hoogenband HM, Kirtschig G, Richters CD, Spiekstra SW, Breetveld M, et al. Autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds. *Br J Dermatol*. 2006 Aug;155(2):267-74. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07266.x.
100. Glogau RG. Physiologic and structural changes associated with aging skin. *Dermatol Clin*. 1997 Oct;15(4):555-9. doi: 10.1016/s0733-8635(05)70465-4.
101. Goodman GJ. Facial resurfacing using a high-energy, short-pulse carbon dioxide laser. *Australas J Dermatol*. 1996 Aug;37(3):125-31. doi: 10.1111/j.1440-0960.1996.tb01029.x.
102. Haniffa MA, Collin MP, Buckley CD, Dazzi F. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes? *Haematologica*. 2009 Feb;94(2):258-63. doi: 10.3324/haematol.13699.
103. Hartwig M, Janiszewska H, Bak A, Pilarska M, Heise M, Junkiert-Czarnecka A, et al. Prevalence of the BRCA1 c.68_69delAG (BIC: 185delAG) mutation in women with breast cancer from north-central Poland and a review of the literature on other regions of the country. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2013;17(1):34-7. doi: 10.5114/wo.2013.33767.
104. Haydont V, Bernard BA, Fortunel NO. Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mech Ageing Dev*. 2019 Jan;177:150-6. doi: 10.1016/j.mad.2018.03.006.
105. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961 Dec;25:585-621. doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
106. Heldin CH, Lennartsson J, Westermark B. Involvement of platelet-derived growth factor ligands and receptors in tumorigenesis. *J Intern Med*. 2018 Jan;283(1):16-44. doi: 10.1111/joim.12690.
107. Hu L, Wang J, Zhou X, Xiong Z, Zhao J, Yu R, et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells accelerates cutaneous wound healing via optimizing the characteristics of fibroblasts. *Sci Rep*. 2016 Sep 12;6:32993. doi: 10.1038/srep32993.
108. Huang YJ, Haist V, Baumgartner W, Fohse L, Prinz I, Suerbaum S, et al.

- Induced and thymus-derived Foxp3⁺ regulatory T cells share a common niche. *Eur J Immunol*. 2014 Feb;44(2):460-8. doi: 10.1002/eji.201343463.
109. Itaya T, Hirai T, Hirai T, Numoto H, Takeda H, Ueda M. The use of fibroblasts for ameliorating structural changes associated with skin aging. *Rejuvenation Res*. 2017 Oct;20(5):383-8. doi: 10.1089/rej.2016.1902.
110. Iwata Y, Hasebe Y, Hasegawa S, Nakata S, Yagami A, Matsunaga K, et al. Dermal CD271⁺ cells are closely associated with regeneration of the dermis in the wound healing process. *Acta Derm Venereol*. 2017 May 8;97(5):593-600. doi: 10.2340/00015555-2624.
111. Janson D, Rietveld M, Mahe C, Saintigny G, El Ghalbzouri A. Differential effect of extracellular matrix derived from papillary and reticular fibroblasts on epidermal development in vitro. *Eur J Dermatol*. 2017 Jun 1;27(3):237-46. doi: 10.1684/ejd.2017.2984.
112. Jung H, Kim HH, Lee DH, Hwang YS, Yang HC, Park JC. Transforming growth factor-beta 1 in adipose derived stem cells conditioned medium is a dominant paracrine mediator determines hyaluronic acid and collagen expression profile. *Cytotechnology*. 2011 Jan;63(1):57-66. doi: 10.1007/s10616-010-9327-4.
113. Kabashima K, Honda T, Ginhoux F, Egawa G. The immunological anatomy of the skin. *Nat Rev Immunol*. 2019 Jan;19(1):19-30. doi: 10.1038/s41577-018-0084-5.
114. Kaur P. Hair-follicle dermal papilla and sheath fibroblasts provide a supportive microenvironment for human skin regeneration. *Br J Dermatol*. 2017 May;176(5):1123-4. doi: 10.1111/bjd.15474.
115. Khavkin J, Ellis DA. Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2011 May;19(2):229-34. doi: 10.1016/j.fsc.2011.04.003.
116. Kikuchi K, Nozawa K, Yamazaki N, Nakai Y, Higashiyama A, Asano M, et al. Instrumental evaluation sensitively detects subclinical skin changes by the epidermal growth factor receptor inhibitors and risk factors for severe acneiform eruption. *J Dermatol*. 2019 Jan;46(1):18-25. doi: 10.1111/1346-8138.14691.

117. Klein G, Beck S, Muller CA. Tenascin is a cytoadhesive extracellular matrix component of the human hematopoietic microenvironment. *J Cell Biol.* 1993 Nov;123(4):1027-35. doi: 10.1083/jcb.123.4.1027.
118. Kligman AM, Takase Y, editors. *Cutaneous aging.* [Tokyo]: University of Tokyo Press; 1988. xi, 653 p.
119. Koenigsman M, Griffin JD, DiCarlo J, Cannistra SA. Myeloid and erythroid progenitor cells from normal bone marrow adhere to collagen type I. *Blood.* 1992 Feb 1;79(3):657-65.
120. Koupenova M, Vitseva O, MacKay CR, Beaulieu LM, Benjamin EJ, Mick E, et al. Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis. *Blood.* 2014 Jul 31;124(5):791-802. doi: 10.1182/blood-2013-11-536003.
121. Kovtonyuk LV, Fritsch K, Feng X, Manz MG, Takizawa H. Inflamm-aging of hematopoiesis, hematopoietic stem cells, and the bone marrow microenvironment. *Front Immunol.* 2016 Nov 14;7:502. doi: 10.3389/fimmu.2016.00502.
122. Kroeze KL, Jurgens WJ, Doulabi BZ, van Milligen FJ, Scheper RJ, Gibbs S. Chemokine-mediated migration of skin-derived stem cells: predominant role for CCL5/RANTES. *J Invest Dermatol.* 2009 Jun;129(6):1569-81. doi: 10.1038/jid.2008.405.
123. Kuo KC, Lin RZ, Tien HW, Wu PY, Li YC, Melero-Martin JM, et al. Bioengineering vascularized tissue constructs using an injectable cell-laden enzymatically crosslinked collagen hydrogel derived from dermal extracellular matrix. *Acta Biomater.* 2015 Nov;27:151-66. doi: 10.1016/j.actbio.2015.09.002.
124. Le Blanc K, Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nat Rev Immunol.* 2012 Apr 25;12(5):383-96. doi: 10.1038/nri3209.
125. Lee SB, Shim S, Kim MJ, Shin HY, Jang WS, Lee SJ, et al. Identification of a distinct subpopulation of fibroblasts from murine dermis: CD73(-) CD105(+) as potential marker of dermal fibroblasts subset with multipotency. *Cell Biol Int.*

2016 Sep;40(9):1008-16. doi: 10.1002/cbin.10623.

126. Li P, Guo X. A review: therapeutic potential of adipose-derived stem cells in cutaneous wound healing and regeneration. *Stem Cell Res Ther.* 2018 Nov 8;9(1):302. doi: 10.1186/s13287-018-1044-5.

127. Lin J, Sclafani AP. Platelet-rich plasma for skin rejuvenation and tissue fill. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2018 Nov;26(4):439-46. doi: 10.1016/j.fsc.2018.06.005.

128. Lisignoli G, Cristino S, Piacentini A, Cavallo C, Caplan AI, Facchini A. Hyaluronan-based polymer scaffold modulates the expression of inflammatory and degradative factors in mesenchymal stem cells: Involvement of Cd44 and Cd54. *J Cell Physiol.* 2006 May;207(2):364-73. doi: 10.1002/jcp.20572.

129. Locatelli F, Maccario R, Frassoni F. Mesenchymal stromal cells, from indifferent spectators to principal actors. Are we going to witness a revolution in the scenario of allograft and immune-mediated disorders? *Haematologica.* 2007 Jul;92(7):872-7. doi: 10.3324/haematol.11479.

130. Long MW, Dixit VM. Thrombospondin functions as a cytoadhesion molecule for human hematopoietic progenitor cells. *Blood.* 1990 Jun 15;75(12):2311-8.

131. Low DA, Jones H, Cable NT, Alexander LM, Kenney WL. Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow. *Eur J Appl Physiol.* 2020 Jan;120(1):1-16. doi: 10.1007/s00421-019-04246-y.

132. Mac-Mary S, Zornoza Solinis I, Predine O, Sainthillier JM, Sladen C, Bell M, et al. Identification of three key factors contributing to the aetiology of dark circles by clinical and instrumental assessments of the infraorbital region. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019 Dec 18;12:919-29. doi: 10.2147/CCID.S217956.

133. Mahbub MH, Hiroshige K, Yamaguchi N, Hase R, Harada N, Tanabe T. A systematic review of studies investigating the effects of controlled whole-body vibration intervention on peripheral circulation. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2019

Nov;39(6):363-77. doi: 10.1111/cpf.12589.

134. Mann ER, Smith KM, Bernardo D, Al-Hassi HO, Knight SC, Hart AL. Review: skin and the immune system. *J Clin Exp Dermatol Res*. 2012;S2:003. doi:10.4172/2155-9554.S2-00.

135. Mannello F. Multipotent mesenchymal stromal cell recruitment, migration, and differentiation: what have matrix metalloproteinases got to do with it? *Stem Cells*. 2006 Aug;24(8):1904-7. doi: 10.1634/stemcells.2005-0608.

136. Marques LF, Stessuk T, Camargo IC, Sabeh Junior N, dos Santos L, Ribeiro-Paes JT. Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. *Platelets*. 2015;26(2):101-13. doi: 10.3109/09537104.2014.881991.

137. Martin I, Baldomero H, Bocelli-Tyndall C, Slaper-Cortenbach I, Passweg J, Tyndall A. The survey on cellular and engineered tissue therapies in Europe in 2009. *Tissue Eng Part A*. 2011 Sep;17(17-18):2221-30. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0131.

138. Midttun M. Blood flow rate in arteriovenous anastomoses: from the cradle to the grave. *Clin Physiol*. 2000 Sep;20(5):360-5. doi: 10.1046/j.1365-2281.2000.00270.x.

139. Mishra PJ, Banerjee D. Activation and differentiation of mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol*. 2017;1554:201-9. doi: 10.1007/978-1-4939-6759-9_13.

140. Mueller SN, Germain RN. Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2009 Sep;9(9):618-29. doi: 10.1038/nri2588.

141. Mustoe TA, Hong SJ. The expression of proinflammatory genes in epidermal keratinocytes is regulated by hydration status. *J Invest Dermatol*. 2014 Apr;134(4):1044-55. doi: 10.1038/jid.2013.425.

142. Nguyen AV, Soulika AM. The dynamics of the skin's immune system. *Int J Mol Sci*. 2019 Apr 12;20(8):1811. doi: 10.3390/ijms20081811.

143. Nguyen J, Duong H. Anatomy, shoulder and upper limb, veins [Internet]. [cited 2020 Apr 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546676/>

144. Okazaki M, Yoshimura K, Suzuki Y, Harii K. Effects of subepithelial fibroblasts on epithelial differentiation in human skin and oral mucosa: heterotypically recombined organotypic culture model. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Sep;112(3):784-92. doi: 10.1097/01.PRS.0000069710.48139.4E.
145. Park DH, Hwang JW, Jang KS, Han DG, Ahn KY. Mapping of the human body skin with laser Doppler flowmetry. *Ann Plast Surg*. 1997 Dec;39(6):597-602. doi: 10.1097/00000637-199712000-00007.
146. Peng GL. Platelet-rich plasma for skin rejuvenation: facts, fiction, and pearls for practice. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2019 Aug;27(3):405-11. doi: 10.1016/j.fsc.2019.04.006.
147. Philp D, Chen SS, Fitzgerald W, Orenstein J, Margolis L, Kleinman HK. Complex extracellular matrices promote tissue-specific stem cell differentiation. *Stem Cells*. 2005 Feb;23(2):288-96. doi: 10.1634/stemcells.2002-0109.
148. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016 Jun 2;17(6):868. doi: 10.3390/ijms17060868.
149. Qin Z, Balimunkwe RM, Quan T. Age-related reduction of dermal fibroblast size upregulates multiple matrix metalloproteinases as observed in aged human skin in vivo. *Br J Dermatol*. 2017 Nov;177(5):1337-48. doi: 10.1111/bjd.15379.
150. Ranjbarvan P, Soleimani M, Samadi Kuchaksaraei A, Ai J, Faridi Majidi R, Verdi J. Skin regeneration stimulation: the role of PCL-platelet gel nanofibrous scaffold. *Microsc Res Tech*. 2017 May;80(5):495-503. doi: 10.1002/jemt.22821.
151. Rasmusson I, Uhlin M, Le Blanc K, Levitsky V. Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes. *J Leukoc Biol*. 2007 Oct;82(4):887-93. doi: 10.1189/jlb.0307140.
152. Rittie L, Fisher GJ. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Jan 5;5(1):a015370. doi: 10.1101/cshperspect.a015370.
153. Robinson MK, Binder RL, Griffiths CE. Genomic-driven insights into changes in aging skin. *J Drugs Dermatol*. 2009 Jul;8(7 Suppl):s8-11.

154. Sandby-Moller J, Poulsen T, Wulf HC. Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits. *Acta Derm Venereol.* 2003;83(6):410-3. doi: 10.1080/00015550310015419.
155. Sarbacher CA, Halper JT. Connective tissue and age-related diseases. *Subcell Biochem.* 2019;91:281-310. doi: 10.1007/978-981-13-3681-2_11.
156. Sasaki N, Itakura Y, Toyoda M. Sialylation regulates myofibroblast differentiation of human skin fibroblasts. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Apr 18;8(1):81. doi: 10.1186/s13287-017-0534-1.
157. Schlaepfer DD, Hanks SK, Hunter T, van der Geer P. Integrin-mediated signal transduction linked to Ras pathway by GRB2 binding to focal adhesion kinase. *Nature.* 1994 Dec 22-29;372(6508):786-91. doi: 10.1038/372786a0.
158. Schmidt C. FDA approves first cell therapy for wrinkle-free visage. *Nat Biotechnol.* 2011 Aug 5;29(8):674-5. doi: 10.1038/nbt0811-674.
159. Schmuth M, Feingold KR, Elias PM. Stress test of the skin: The cutaneous permeability barrier treadmill. *Exp Dermatol.* 2020 Jan;29(1):112-3. doi: 10.1111/exd.14055.
160. Schwartz E, Cruickshank FA, Christensen CC, Perlish JS, Lebwohl M. Collagen alterations in chronically sun-damaged human skin. *Photochem Photobiol.* 1993 Dec;58(6):841-4. doi: 10.1111/j.1751-1097.1993.tb04981.x.
161. Seo GY, Lim Y, Koh D, Huh JS, Hyun C, Kim YM, et al. TMF and glycerin act synergistically on keratinocytes and fibroblasts to promote wound healing and anti-scarring activity. *Exp Mol Med.* 2017 Mar 17;49(3):e302. doi: 10.1038/emm.2016.167.
162. Shah AR, Kennedy PM. The aging face. *Med Clin North Am.* 2018 Nov;102(6):1041-54. doi: 10.1016/j.mcna.2018.06.006.
163. Shao MJ, Zhu YJ, Qiu YE, Hu M, He YQ. Changes in the level of immunoglobulins and CD4/CD8 ratio in young and aged mice with estradiol deficiency. *Immunol Invest.* 2017 Apr;46(3):305-13. doi: 10.1080/08820139.2016.1267203.

164. Shin JW, Kwon SH, Choi JY, Na JI, Huh CH, Choi HR, et al. Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci.* 2019 Apr 29;20(9):2126. doi: 10.3390/ijms20092126.
165. Sindberg GM, Lindborg BA, Wang Q, Clarkson C, Graham M, Donahue R, et al. Comparisons of phenotype and immunomodulatory capacity among rhesus bone-marrow-derived mesenchymal stem/stromal cells, multipotent adult progenitor cells, and dermal fibroblasts. *J Med Primatol.* 2014 Aug;43(4):231-41. doi: 10.1111/jmp.12122.
166. Sorrell JM, Caplan AI. Fibroblasts-a diverse population at the center of it all. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2009;276:161-214. doi: 10.1016/S1937-6448(09)76004-6.
167. Takamura S. Niches for the long-term maintenance of tissue-resident memory T cells. *Front Immunol.* 2018 May 31;9:1214. doi: 10.3389/fimmu.2018.01214.
168. ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling. *Trends Biochem Sci.* 2004 May;29(5):265-73. doi: 10.1016/j.tibs.2004.03.008.
169. Trompezinski S, Berthier-Vergnes O, Denis A, Schmitt D, Viac J. Comparative expression of vascular endothelial growth factor family members, VEGF-B, -C and -D, by normal human keratinocytes and fibroblasts. *Exp Dermatol.* 2004 Feb;13(2):98-105. doi: 10.1111/j.0906-6705.2004.00137.x.
170. Tsepkolenko A, Litus A, Tsepkolenko V. Results of practical application of fibroblasts in treating age-related skin changes. An open, prospective, non-randomized study. *Aesthet Med.* 2018 Jul/Sep;4(3):19-24.
171. Tsepkolenko A, Tsepkolenko V, Dash S, Mishra A, Bader A, Melerzanov A, Giri S. The regenerative potential of skin and the immune system. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019 Jul 15;12:519-32.
172. Tsepkolenko AV. Correction of cicatricial skin deformities by means of laser and cell technologies. In: *Materials of 11th European congress of aesthetic medicine*; 2016 May 13-15; Rome. Rome; 2016. p. 112.
173. Tu W, Rao S. Mechanisms underlying T cell immunosenescence: aging and cytomegalovirus infection. *Front Microbiol.* 2016 Dec 27;7:2111. doi:

10.3389/fmicb.2016.02111.

174. van Rensburg SJ, Franken A, Du Plessis JL. Measurement of transepidermal water loss, stratum corneum hydration and skin surface pH in occupational settings: A review. *Skin Res Technol.* 2019 Sep;25(5):595-605. doi: 10.1111/srt.12711.

175. Vapniarsky N, Arzi B, Hu JC, Nolta JA, Athanasiou KA. Concise review: human dermis as an autologous source of stem cells for tissue engineering and regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med.* 2015 Oct;4(10):1187-98. doi: 10.5966/sctm.2015-0084.

176. Varani J, Dame MK, Rittie L, Fligiel SE, Kang S, Fisher GJ, et al. Decreased collagen production in chronologically aged skin: roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *Am J Pathol.* 2006 Jun;168(6):1861-8. doi: 10.2353/ajpath.2006.051302.

177. Velarde MC. Epidermal barrier protects against age-associated systemic inflammation. *J Invest Dermatol.* 2017 Jun;137(6):1206-8. doi: 10.1016/j.jid.2017.02.964.

178. Voegeli R, Gierschendorf J, Summers B, Rawlings AV. Facial skin mapping: from single point bio-instrumental evaluation to continuous visualization of skin hydration, barrier function, skin surface pH, and sebum in different ethnic skin types. *Int J Cosmet Sci.* 2019 Oct;41(5):411-24. doi: 10.1111/ics.12562.

179. Wagner DD, Frenette PS. The vessel wall and its interactions. *Blood.* 2008 Jun 1;111(11):5271-81. doi: 10.1182/blood-2008-01-078204.

180. Weiss M, Milman B, Rosen B, Eisenstein Z, Zimlichman R. Analysis of the diminished skin perfusion in elderly people by laser Doppler flowmetry. *Age Ageing.* 1992 Jul;21(4):237-41. doi: 10.1093/ageing/21.4.237.

181. Weiss RA, Weiss MA, Beasley KL, Munavalli G. Autologous cultured fibroblast injection for facial contour deformities: a prospective, placebo-controlled, Phase III clinical trial. *Dermatol Surg.* 2007 Mar;33(3):263-8. doi: 10.1111/j.1524-4725.2007.33060.x.

182. Woodley DT. Distinct fibroblasts in the papillary and reticular dermis:

- implications for wound healing. *Dermatol Clin.* 2017 Jan;35(1):95-100. doi: 10.1016/j.det.2016.07.004.
183. Xie J, Zhang J, Wu H, Tang X, Liu J, Cheng G, et al. The influences of age on T lymphocyte subsets in C57BL/6 mice. *Saudi J Biol Sci.* 2017 Jan;24(1):108-13. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.09.002.
184. Zhang M, Park G, Zhou B, Luo D. Applications and efficacy of platelet-rich plasma in dermatology: A clinical review. *J Cosmet Dermatol.* 2018 Oct;17(5):660-5. doi: 10.1111/jocd.12673.
185. Zhang S, Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplant.* 2018 May;27(5):729-38. doi: 10.1177/0963689717725755.
186. Zhou MN, Zhang ZQ, Wu JL, Lin FQ, Fu LF, Wang SQ, et al. Dermal mesenchymal stem cells (DMSCs) inhibit skin-homing CD8⁺ T cell activity, a determining factor of vitiligo patients' autologous melanocytes transplantation efficiency. *PLoS One.* 2013;8(4):e60254. doi: 10.1371/journal.pone.0060254.
187. Zorin V, Zorina A, Smetanina N, Kopnin P, Ozerov IV, Leonov S, et al. Diffuse colonies of human skin fibroblasts in relation to cellular senescence and proliferation. *Aging (Albany NY).* 2017 May 16;9(5):1404-13. doi: 10.18632/aging.101240.
188. Zufferey A, Schwartz D, Nolli S, Reny JL, Sanchez JC, Fontana P. Characterization of the platelet granule proteome: evidence of the presence of MHC1 in alpha-granules. *J Proteomics.* 2014 Apr 14;101:130-40. doi: 10.1016/j.jprot.2014.02.008.

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Цепколенко АВ. Иммуная система и регенеративный потенциал кожи. Дерматология та венерология. 2017;(3):27-37.
2. Цепколенко ГВ, Літус ОІ. Автофібробласти в корекції інволюційних змін у шкірі: огляд літератури. Дерматология та венерология. 2018;(2):13-8.
3. Цепколенко АВ. Механизмы старения кожи (обзор литературы). Дерматовенерология. Косметология. 2018;4(3):309-23.
4. Цепколенко ГВ. Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу. Запорозж. мед. журн. 2019;21(6):795-801.
5. Цепколенко ГВ. Неінвазивні інструментальні методи в оцінці структурно-функціональної основи старіння шкіри. Дерматология та венерология. 2019;(2):27-30.
6. Tsepkoenko A, Litus A, Tsepkoenko V. Results of practical application of fibroblasts in treating age-related skin changes. An open, prospective, non-randomized study. Aesthet Med. 2018 Jul/Sep;4(3):19-24.
7. Цепколенко А, Цепколенко В, Мишра А, Мелерзанов А. Коррекция инволюционных изменений кожи (новая методика неофибролифтинга). Врач. 2019;(30)7:32-8.
8. Tsepkoenko A, Tsepkoenko V, Dash S, Mishra A, Bader A, Melerzanov A, Giri S. The regenerative potential of skin and the immune system. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2019 Jul 15;12:519-32.
9. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Современные методы интенсивной регенерации кожи. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса;

2015. с. 51-2.

10. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комплексный подход к коррекции возрастных изменений. В: Сб. тез. Междунар. конф. Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии; 2015 Май 28-29; Одесса. Одесса; 2015. с. 69.

11. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Лазеры в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. Профилактика осложнений. В: Лазерная хирургия. Материалы науч.-практ. конф. Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине. Черкассы: Вертикаль; 2016. с. 87.

12. Tsepkoenko AV. Correction of cicatricial skin deformities by means of laser and cell technologies. In: Materials of 11th European congress of aesthetic medicine; 2016 May 13-15; Rome. Rome; 2016. p. 112.

13. Цепколенко АВ. Аутофибробласты в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104.

14. Цепколенко ВА, Цепколенко АВ. Комбинация лазерных и клеточных технологий в коррекции инволюционно-дистрофических изменений кожи. В: Тези міжнар. конф. Регенеративні технології в сучасній медицині; 2017 Трав 25-26; Одеса. Клітин. та орган. трансплантологія. 2017;5(1):104-5.

15. Цепколенко АВ. Лазерные, инъекционные и хирургические методы коррекции постакне. В: Материалы междунар. конф. Medical aesthetic synergy congress; 2018 Июнь 1-2; Киев. Киев; 2018. с. 59.

16. Цепколенко ВО, Цепколенко АВ, Пихтеев ДМ, винахідники. Спосіб корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри. Патент України № 95130. 2014 Груд 10.

17. Цепколенко ВО, Цепколенко ГВ, Пихтеев ДМ, винахідники.

Спосіб епігенетичного культивування аутологічних дермальних фібробластів людини. Патент України № 110281. 2016 Жовт 10.


Додаток Б

Апробація результатів дисертації

Матеріали дисертаційної роботи оприлюднені на: міжнародній конференції «Актуальные вопросы современной пластической хирургии, эстетической медицины и дерматологии» (м. Одеса, 28-29 травня 2015 р.), науково-практичній конференції «Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине» (м. Черкаси, 8-9 квітня 2016 р.), міжнародній науково-практичній конференції «Sakura Esty Derm. Симбіоз дерматології та естетики» (м. Ужгород, 26-27 квітня 2016 р.), конференції Української академії дерматовенерології «11-ті Київські дерматологічні дні» (м. Київ, 12-14 жовтня 2016 р.), міжнародній конференції «Регенеративные технологии в современной медицине» (м. Одеса, 25-26 травня 2017 р.), конференції «12-ті Київські дерматологічні дні: Весняний симпозиум» (м. Київ, 7-8 квітня 2017 р.), Medical Aesthetic Synergy Congress (м. Київ, 1-2 червня 2018 р.), Medical Aesthetic Synergy Congress (м. Київ, 31 травня – 1 червня 2019 р.).

Додаток В
Акти впровадження

ЗАТВЕРДЖУЮ
Головний лікар
Комунальної установи
«Одеський обласний клінічний
медичний центр»
Д.мед.н., проф., заслужений лікар України
В.В. Шухтін
2019р.

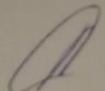


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
Результатів наукових досліджень в практичну охорону здоров'я

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Алгоритм використання аутофіброblastів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри».
2. **Установа-розробник, виконавці:** Цепколенко Ганна Володимирівна, заочний аспірант кафедри дерматовенерології, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
3. **Джерело інформації:** Інноваційний алгоритм використання аутофіброblastів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри : Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 5-У-2016 / В.О. Цепколенко, Г.В. Цепколенко, Д.М. Пихтеев, О.М. Горбань; Інститут пластичної хірургії Віртус, НМАПО ім. П.Л. Шупика, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2016
4. **Ким впроваджено:** КУ «Одеський обласний клінічний медичний центр».
5. **Термін впровадження:** січень 2017 – січень 2019
6. **Форма впровадження:** впроваджено алгоритм використання аутофіброblastів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
7. **Кількість клінічних спостережень:** 37
8. **Ефективність впровадження:** підвищення ефективності корекції вікових змін шкіри різного ступеня виразності за допомогою запропонованого методу.
9. **Зауваження, пропозиції:** відсутні

« ____ » _____ 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Заступник головного лікаря
з медичної частини


А.В. Свєрчкова

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор
Медичного центру
«Віртус»

І.В. Набойченко

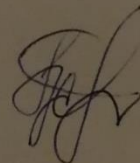
2019р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень в практичну охорону здоров'я

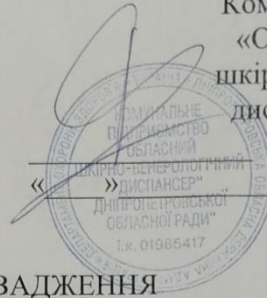
2. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри».
2. **Установа-розробник, виконавці:** Цепколенко Ганна Володимирівна, заочний аспірант кафедри дерматовенерології, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
3. Джерело інформації: Інноваційний алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри : Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 5-У-2016 / В.О. Цепколенко, Г.В. Цепколенко, Д.М. Пихтєєв, О.М. Горбань; Інститут пластичної хірургії Віртус, НМАПО ім. П.Л. Шупика, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2016
4. Ким впроваджено: КУ «Одеський обласний клінічний медичний центр».
5. Термін впровадження: березень 2018 – березень 2019
6. Форма впровадження: впроваджено алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
7. Кількість клінічних спостережень: 28
8. Ефективність впровадження: 97,7%.
9. Зауваження, пропозиції: відсутні

« _____ » 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Лікар дерматолог вищої категорії


О.А. Бзіта

ЗАТВЕРДЖУЮ
 В.о. головного лікаря
 Комунальної установи
 «Обласний клінічний
 шкірно-венерологічний
 диспансер» м. Дніпро
 А.А. Франкенберг
 2019р.



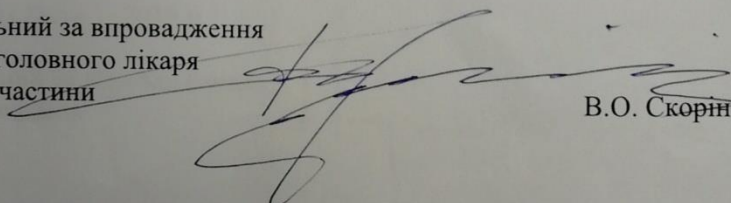
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень в практичну охорону здоров'я

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри».
2. **Установа-розробник, виконавці:** Цепколенко Ганна Володимирівна, заочний аспірант кафедри дерматовенерології, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
3. Джерело інформації: Інноваційний алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри : Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 5-У-2016 / В.О. Цепколенко, Г.В. Цепколенко, Д.М. Пихтєєв, О.М. Горбань; Інститут пластичної хірургії Віртус, НМАПО ім. П.Л. Шупика, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2016
4. Ким впроваджено: КУ «Обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер» м. Дніпро.
5. Термін впровадження: січень 2018 – січень 2019
6. Форма впровадження: впроваджено алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
7. Кількість клінічних спостережень: 18
8. Ефективність впровадження: підвищення ефективності корекції вікових змін шкіри різного ступеня виразності за допомогою запропонованого методу.
9. Зауваження, пропозиції: відсутні

« ____ » _____ 2019 р.

Відповідальний за впровадження
 Заступник головного лікаря
 з медичної частини


 В.О. Скоріна



ЗАТВЕРДЖУЮ
Головний лікар
Медичний центр
«Асклепій» м. Ужгород
Р.Р. Яремкевич
2019р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень в практичну охорону здоров'я

2. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри».
2. **Установа-розробник, виконавці:** Цепколенко Ганна Володимирівна, заочний аспірант кафедри дерматовенерології, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
3. Джерело інформації: Інноваційний алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри : Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 5-У-2016 / В.О. Цепколенко, Г.В. Цепколенко, Д.М. Пихтєєв, О.М. Горбань; Інститут пластичної хірургії Віртус, НМАПО ім. П.Л. Шупика, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2016
4. Ким впроваджено: Медичний центр «Асклепій» м. Ужгород.
5. Термін впровадження: березень 2017 – березень 2019
6. Форма впровадження: впроваджено алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
7. Кількість клінічних спостережень: 17
8. Ефективність впровадження: запропонований алгоритм має теоретичне та практичне значення у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
9. Зауваження, пропозиції: відсутні

«15» квітня 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Д.мед.н., професор

Ю.В. Андрашко

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Головний лікар
 Обласного клінічного
 шкірно-венерологічного
 диспансеру м. Ужгород
 к.мед.н., доцент
 С.В. Пушкаренко
 2019р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів наукових досліджень в практичну охорону здоров'я

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри».
2. **Установа-розробник, виконавці:** Цепколенко Ганна Володимирівна, заочний аспірант кафедри дерматовенерології, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
3. Джерело інформації: Інноваційний алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри : Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 5-У-2016 / В.О. Цепколенко, Г.В. Цепколенко, Д.М. Пихтеев, О.М. Горбань; Інститут пластичної хірургії Віртус, НМАПО ім. П.Л. Шупика, УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2016
4. Ким впроваджено: «Обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер» м. Ужгород.
5. Термін впровадження: січень 2018 – січень 2019
6. Форма впровадження: впроваджено алгоритм використання аутофібробластів у корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри.
7. Кількість клінічних спостережень: 24
8. Ефективність впровадження: підвищення ефективності корекції вікових змін шкіри різного ступеня виразності за допомогою запропонованого методу.
9. Зауваження, пропозиції: відсутні

«15» квітня 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
 Д.мед.н., професор

Ю.В. Андрашко