

# ХАРАКТЕР ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ ДЕРМЫ НА СОЧЕТАННОЕ ВВЕДЕНИЕ ДВУХ ФИЛЛЕРОВ

Г. М. Могильная, Е. В. Фомичева\*

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия*

## Аннотация

**Цель:** работа носит экспериментальный характер и посвящена сравнительной оценке влияния на дерму гиалуроновой кислоты и кристаллов гидроксиапатита кальция при их раздельном, а затем сочетанном введении.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на крысах (30 особей) с субдермальным введением препаратов в объеме 0,05 мл. 1-й группе был введен гидроксиапатит кальция (препарат Radiesse (Merz, Germany)), 2-й группе — гиалуроновая кислота (препарат Restylane (SabQ, Швеция)), а в 3-й группе введены сочетанно оба препарата в соотношении 1:1 (Mix). Оценку результатов проводили спустя 4 месяца после инъекции филлеров. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, с помощью реакции Массона. Выявление коллагенов I и III типов проводили с использованием поликлональных антител (Abscam, Англия). Статус фибробластов оценивали с помощью виментина (LabVision), для оценки макрофагов использовали маркер CD68 (LabVision). Эффект ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса изучали с помощью  $\alpha$ -SMA актина (Abscam, Англия).

**Результаты.** Установлено, что при раздельном введении гиалуроновой кислоты и препарата гидроксиапатита кальция механизм действия этих филлеров различается, совместное введение двух филлеров не приводит к выраженному увеличению объема экстрацеллюлярного матрикса дермы.

**Заключение.** Сочетанное введение этих двух филлеров может быть реализовано в аспекте пролонгирования эффекта их совместного действия в срок, превышающий 4 месяца, ибо здесь имеет место отсутствие фиброза, осложнений и побочных эффектов.

**Ключевые слова:** дерма, гиалуроновая кислота, имплант, неоколлагеногенез в дерме, гидроксиапатит кальция, филлер

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Могильная Г.М., Фомичева Е.В. Характер ответной реакции дермы на сочетанное введение двух филлеров. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(4): 72–81. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81>

Поступила 19.06.2020

Принята после доработки 10.07.2020

Опубликована 27.08.2020

# DERMAL RESPONSE TO COMBINED DOUBLE FILLER ADMINISTRATION

Galina M. Mogilnaya, Evgeniya V. Fomicheva\*

Kuban State Medical University,  
Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia

## Abstract

**Aim.** This experimental work presents a comparative assessment of the effect of hyaluronic acid and crystalline calcium hydroxyapatite on derma in separate and combined application setting.

**Materials and methods.** The study used rats (30 animals) for subdermal injection of 0.05 ml medium. Group 1 was administered calcium hydroxyapatite (Radiesse (Merz, Germany)), group 2 received hyaluronic acid (Restylane (SabQ, Sweden)) and Group 3 — both preparations combined in ratio 1:1 (Mix). Results were evaluated 4 months after the filler injection. Sections were stained with haematoxylin–eosin, van Gieson's and Masson's trichrome techniques. Collagen types I and III were detected with polyclonal antibodies (Abcam, England). Fibroblasts were positively identified with vimentin (LabVision), macrophages — with CD68 (LabVision) tagging. Effect of extracellular matrix remodelling was studied with  $\alpha$ -SMA actin (Abcam, England).

**Results.** We demonstrate that separate filling of hyaluronic acid and calcium hydroxyapatite produces different response mechanisms, while their combined administration does not lead to a marked voluming of the dermal extracellular matrix.

**Conclusion.** Combined administration of the two fillers under study may facilitate a prolonged effect of their combined action exceeding 4 months, due to the absence of fibrosis, complications and side effects.

**Keywords:** derma, hyaluronic acid, implant, dermal neocollagenesis, calcium hydroxyapatite, filler

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V. Dermal response to combined double filler administration. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2020; 27(4): 72–81. (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81>

Submitted 19.06.2020

Revised 10.07.2020

Published 27.08.2020

## Введение

Обзор литературы по результатам использования в современной эстетической медицине различных филлеров свидетельствует, что наиболее известными и широко используемыми среди них являются гиалуроновая кислота и гидроксиапатит кальция. При этом информативным показателем активности для них считается эффект стимуляции неоколлагеногенеза, меняющий статус дермы. Нельзя не согласиться с тем, что экстрацеллюлярный матрикс дермы действительно играет важную роль в поддержании структуры и функции кожи [1, 2]. При этом основным компонентом матрикса является коллаген I типа, который синтезируется фибробластами. В зоне дермы достаточно много структурных компонентов, но именно коллаген I типа обеспечивает ей силу и упругость. Поскольку существуют различные

механизмы патогенетической регуляции процесса неоколлагеногенеза под влиянием гиалуроновой кислоты и гидроксиапатита кальция, представлялось целесообразным использование их в виде смеси филлеров для обеспечения большего объема экстрацеллюлярного матрикса, чем каждого из них отдельно.

**Цель исследования.** Работа носит экспериментальный характер и посвящена сравнительной оценке влияния на дерму гиалуроновой кислоты и препарата гидроксиапатита кальция при их раздельном, а затем сочетанном введении.

## Материалы и методы

Объектом исследования послужили крысы-самцы (30 особей). Животных разделили на 3 группы по 10 особей в каждой. 1-й группе был введен гидроксиапатит кальция (препарат

Radiesse (Merz, Germany)), 2-й группе — гиалуроновая кислота (препарат Restylane (SabQ, Швеция)), а в 3-й группе введены сочетанно оба препарата в соотношении 1:1 (Mix). Введение проводилось субдермально в объеме 0,05 мл в заднюю часть шеи. Для группы контроля использовали стерильный физиологический раствор в той же дозе. Оценку результатов проводили спустя 4 месяца после инъекции. Проводка материала и заделка в парафин выполнялась по стандартным методикам. Окрашивание срезов проводили гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, а также используя реакции Маллори и Массона.

Иммуногистохимическое выявление коллагена было проведено с использованием поликлональных антител Anti-Collagen-I, Anti-Collagen-III (Abcam, Англия) и системы визуализации (Nikon Eclipse 80i, Japan). С целью определения экспрессии маркеров макрофагов CD68 использовали первичные моноклональные антитела (LabVision), для оценки статуса фибробластов использовали виментин (Lab-Vision) и системы визуализации Ultra-Vision-LP (Lab-Vision). Выявление  $\alpha$ -SMA проведено с помощью антител Anti-Actin-antibody (1:200, Abcam, Англия). Для завершения окрашивания осуществляли фоновое контрастирование срезов Hematoxylin-II (Roshe, Швейцария). Контроль окраски проводили используя эталоны позитивных и негативных образцов согласно рекомендациям производителя антител.

Для выявления ДНК была проведена гистохимическая реакция по Фельгену. Микропрепараты подвергали компьютерной морфометрии с использованием стандартизированных микрофотографий в формате TIF. Анализ изображений проводили по компьютерной программе Scion Image фирмы Scion Corporation. Результаты измерений выражали в единицах, заданных программой Scion Image (пикселах, единицах оптической плотности). Изучены такие параметры, как диаметры ядер клеток дермы и их «эллиптичность», представляющая собой отношение большего диаметра к меньшему, оптическая плотность, а также общий объем ядерной массы, характеризующий количество ядерного материала, приходящегося на единицу объема ткани (процент площади выбранного участка изображения, имеющего цветовую градацию, соответствующую ядерному материалу). Стандартную площадь рассчитывали на видеоизображениях микропрепаратов при увеличении об. 40 ок. 10. Стандартная площадь выбиралась произвольно как прямоугольный участок поверхности экрана монитора с заданными начальными и конечными

координатами (X, Y). Ядерная масса в зависимости от интенсивности окраски типировалась как гипер- или гипохромная субстанция. При работе монитора компьютера в режиме 256 цветов ядра с цветовыми градациями от 0 до 32 соответствовали гиперхромным, а с градациями от 33 до 64-гипохромным. Соотношение волокнистого и аморфного компонентов экстрацеллюлярного матрикса изучали в окрашенных по Ван-Гизону микропрепаратах с использованием стандартизированных микрофотографий в формате TIF с помощью цифровой камеры для микроскопии DCM310 и программы Scion Image. Доля аморфного и волокнистого компонентов рассчитывались как количество пикселей видеоизображения микропрепарата при увеличении об. 40 ок.10, где измеряемая площадь составляла 100×100 пикселей компьютерного монитора класса SVGA при его разрешении 600×800 пикселей, при этом 0,01 мм равнялась 240 пикселям. Статистический анализ результатов исследования выполнен с применением компьютерной программы Statistica 13 Trial. Проверку характера распределения вариационных рядов производили с помощью критерия Пирсона. Во всех исследованных вариационных рядах значения As и Ex мало отличались от нуля, поэтому можно было констатировать, что распределение показателей является нормальным. Учитывая близость распределений значений к нормальному, дополнительно проводили сравнение средних величин по Стьюденту. Влияние фактора на различие значений показателей проводили с помощью однофакторного (фактор — препараты) дисперсионного анализа (по критерию Фишера  $p < 0,001$ ). Нулевую гипотезу отвергали при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

Результаты собственных исследований и данные литературы делают обоснованным проведение сравнительного анализа по результатам введения филлеров в срок, соответствующий 4 месяцам после их инъекции. Наблюдаемые изменения в дерме при введении различных филлеров характеризуются общностью ответной реакции, которая протекает по типу реакции на инородное тело (имплант) со сменой таких фаз, как альтерация, экссудация, пролиферация, инкапсуляция, созревание грануляционной ткани и фиброз [1].

В зоне инъекции гиалуроновой кислоты спустя 4 месяца после ее введения в окраске микропрепаратов классическими гистологическими методами (гематоксилин и эозин, реакция по Маллори и Ван-Гизону) выявлен эффект увеличения объема экстрацеллюлярного матрикса дермы,

но в основном в поверхностном слое дермы, что привело к формированию здесь широких коллагеновых лент с небольшим числом клеточных элементов, расположенных между ними. Этот феномен приводит к исчезновению известного для нормы различия между сосочковым и сетчатым слоями.

Морфометрия фибриллярного и аморфного компонентов экстрацеллюлярного матрикса поверхностной и глубокой зон дермы выявила статистически достоверное общее снижение объема волокнистого компонента по отношению к контролю с  $1830 \pm 11^2$  до  $1540$  пик.<sup>2</sup> и увеличение объема аморфного компонента матрикса с  $2860 \pm 30^2$  до  $1540 \pm 80$  пик.<sup>2</sup> Оптическая плотность ядер увеличилась с  $12,6 \pm 0,1$  до  $14,10 \pm 0,07$  усл. ед. ( $p_1 < 0,001$ ), а коэффициент эллиптичности по отношению к контролю снизился с  $2,23 \pm 0,15$  до  $2,79 \pm 0,25$  ( $p_1 < 0,001$ ) (табл. 1).

В зоне инъекции препарата гидроксиапатита кальция к этому же сроку участок дермы визуализируется достаточно четко за счет сохранившегося импланта, в составе которого типично микросферы, окруженные монослоем клеток веретеновидной формы с плохо структурированными ядрами. Эти клетки формируют для каждой из микросфер капсулу. В зоне между микросферами встречаются клетки округлой формы со светлыми и четко структурированными ядра-

ми. Среди этих клеток типично фибробласты, моноциты и лимфоциты. При окрашивании по Массону экстрацеллюлярный матрикс дермы — это фибриллы, окружающие микросферы, а также заполняющие пространство между ними (рис. 1).

Результаты морфометрии показали, что в зоне введения гидроксиапатита кальция в составе экстрацеллюлярного матрикса происходит увеличение объема волокнистого компонента в 3 раза относительно контроля (с  $1180 \pm 11$  до  $3680 \pm 50$  пик.<sup>2</sup>,  $p_1 < 0,001$ ).

Объем ядерной массы в дерме животных после введения гидроксиапатита кальция не меняется, но внутри этой клеточной группы происходит снижение числа гиперхромных ядер с  $12,6 \pm 0,1$  до  $8,45 \pm 0,2$  пик.<sup>2</sup> и увеличение гипохромных с  $14,2 \pm 0,8$  до  $18,7 \pm 0,3$  пик.<sup>2</sup> ( $p_1 < 0,001$ ), индекс эллиптичности в ядре снижается с  $2,23 \pm 0,15$  до  $1,83 \pm 0,12$  ( $p_1 < 0,001$ ).

При избирательном выявлении коллагена I типа с использованием иммуногистохимического теста установлено, что на участке инъекции гиалуроновой кислоты появляются коллагеновые волокна, но они окрашиваются слабо и умеренно, между ними располагаются лишь единичные фибробласты, обнаруживающие умеренный уровень экспрессии коллагена I типа.

Таблица 1. Результаты морфометрии компонентов дермы (M + m)

Table 1. Dermal morphometry (M + m)

Филлер	Объем ядерной массы	Средняя оптическая плотность (усл. ед.)		Соотношение диаметров ядер (эллиптичность)	Объемная плотность волокнистого компонента (пиксели <sup>2</sup> )	Объемная плотность аморфного компонента (пиксели <sup>2</sup> )
		гиперхромные ядра	гипохромные ядра			
Гиалуроновая кислота (группа 1)	$32,4 \pm 0,1$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$14,1 \pm 0,07$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$18,3 \pm 0,39$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 < 0,001$	$2,79 \pm 0,25$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$1540 \pm 80$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$	$3140 \pm 60$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Гидроксиапатит кальция (группа 2)	$26,9 \pm 1,27$ $p_1 > 0,05$ $p_4 < 0,05$	$8,45 \pm 0,2$ $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$18,7 \pm 0,33$ $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,01$	$1,83 \pm 0,12$ $p_1 < 0,05$ $p_4 > 0,05$	$3680 \pm 50$ $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,05$	$2210 \pm 46$ $p_1 < 0,001$ $p_4 > 0,05$
Сочетанное введение Mix (группа 3)	$30,6 \pm 0,37$ $p_1 < 0,001$	$18,2 \pm 0,43$ $p_1 < 0,001$	$16,3 \pm 0,58$ $p_1 < 0,05$	$1,95 \pm 0,17$ $p_1 > 0,05$	$3500 \pm 44$ $p_1 < 0,001$	$2140 \pm 40$ $p_1 < 0,001$
Контроль	$26,8 \pm 0,1$	$12,6 \pm 0,1$	$14,2 \pm 0,8$	$2,23 \pm 0,15$	$1830 \pm 11$	$2860 \pm 30$

Примечание: значимость различия показателей в соответствии с критерием Стьюдента.  $p_1$  — значимость отличия от контрольных значений;  $p_2$  — значимость отличия между группами 1 и 2;  $p_3$  — значимость различия между группами 1 и 3;  $p_4$  — значимость различия между группами 2 и 3.

Note: student t-test comparisons.  $p_1$  — significance against control;  $p_2$  — significance for group 1 vs. 2;  $p_3$  — significance for group 1 vs. 3;  $p_4$  — significance for group 2 vs. 3.

В зоне инъекции гидроксиапатита кальция при иммуногистохимическом выявлении коллагена вокруг микросфер типично окрашены тонкие умеренно окрашенные волокна. Здесь же видны отростчатые фибробласты, заполненные гранулами проколлагена с высокой степенью его экспрессии. Гранулы встречаются и за пределами клеток в зоне экстрацеллюлярного матрикса. Не исключено, что это фаза активации внеклеточного фибриллогенеза (рис 2).

После сочетанного введения гиалуроновой кислоты и гидроксиапатита кальция (Mix) оказалось, что спустя 4 месяца микросферы также сохраняются, не исключено, что это связано с сохранением вокруг каждой из них оболочки из монослоя уплощенных клеток. Между микросферами накапливается большое количество клеток, среди них преобладают клетки веретеновидной формы с уплощенными ядрами, здесь достаточно много клеток и округлой формы, ядра последних хоро-

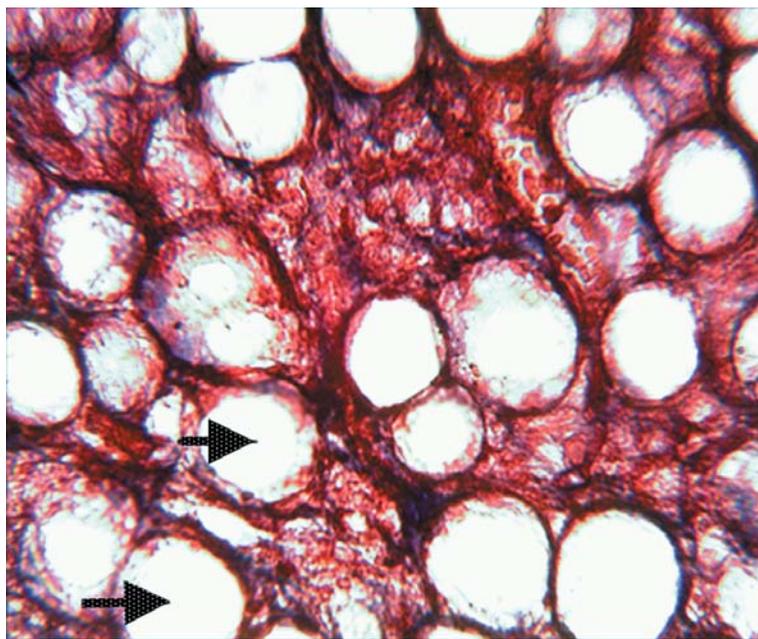


Рис. 1. Зона введения филлеров через 4 месяца. Стрелки — сохранившиеся микросферы, в которых отсутствует содержимое. Окраска по Массону (об. 40х; ок. 10х).

Fig. 1. Filling zone after 4 months. Arrows mark preserved empty microspheres. Masson trichrome, ob. 40x, oc. 10x.

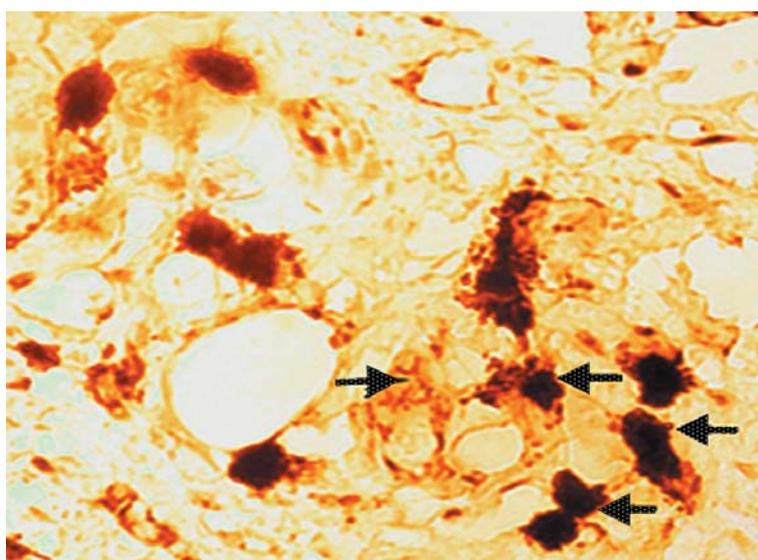


Рис. 2. Зона введения препарата гидроксиапатита кальция через 4 месяца. Стрелки — иммунопозитивные фибробласты. Иммуногистохимическая реакция на коллаген I типа (об. 20х; ок. 10х).

Fig. 2. Calcium hydroxyapatite filling zone following 4 months. Arrows mark immunopositive fibroblasts. Immunohistochemistry of collagen type I, ob. 20x, oc. 10x.

шо структурированы. Кнаружи от зоны инъекции появляются скопления коллагеновых фибрилл, формирующих вокруг импланта капсулу.

Расчет объема аморфного и волокнистого компонентов экстрацеллюлярного матрикса дермы в случае введения смеси филлеров показал, что здесь сохраняется эффект увеличения объема фибриллярного компонента матрикса с  $1830 \pm 11$  до  $3500 \pm 44$  пик.<sup>2</sup> ( $p_1 < 0,001$ ), соответствующий препарату гидроксиапатита кальция, однако увеличения объема аморфного матрикса не происходит, напротив, наблюдается достоверное его снижение с  $2860 \pm 30$  до  $2140 \pm 40$  пик.<sup>2</sup> Сохраняется эффект повышения объема ядерной массы с  $26,8 \pm 0,1$  до  $30,6 \pm 0,37$  усл. ед, но с увеличением в 1,5 раза ( $p_1 < 0,001$ ) доли гиперхромных ядер, что может указывать на снижение функциональной активности клеток дермы.

При изучении иммуногистохимической метки для двух одновременно вводимых филлеров оказалось, что CD-68 положительные клетки к сроку, соответствующему 4 месяцам, встречаются в зоне дермы в небольшом числе и преимущественно в соединительной ткани, окружающей кровеносные сосуды.

$\alpha$ -SMA актин экспрессируют единичные клетки, расположенные в глубоком слое дермы, отдельные из этих клеток напоминают миофибробласты, которые ассоциировались между собой с образованием линейных структур, напоминающих «волокна стресса» (рис. 3).

С учетом известного участия этих клеток в фазе ремоделирования дермы можно полагать, что эффект фиброза здесь отсутствует.

При иммуногистохимическом выявлении виментина дерма в зоне сосочкового слоя рас-

полагает большим числом отростчатых клеток с высоким уровнем его экспрессии. Клетки такого типа, но в меньшем количестве, встречаются и в более глубоком слое дермы. С учетом того что этот тест может служить меткой фибробласта, следует считать, что здесь налицо эффект пролиферации фибробластов (рис. 4).

Показателем же степени их активности в аспекте коллагеногенеза могут служить данные иммуногистохимического выявления коллагенов I и III типов. Оказалось, что коллаген I типа экспрессирует экстрацеллюлярный матрикс дермы, который окрашивается от слабой до умеренной реакции, а также отдельные фибробласты, разбросанные по всей дерме и в поверхностных и глубоких слоях. При этом клетки окрашиваются диффузно и интенсивно.

Интересно, что к этому сроку синтез коллагена III типа завершен, в срезах типичны лишь единичные фибробласты, обнаруживающие экспрессию коллагена III типа. Следует отметить тот факт, что фибробласты в условиях избирательного выявления коллагена III типа имеют большое число отростков, заполненных гранулами, что указывает на вступление этих клеток в фазу экзоцитоза.

### Обсуждение

Таким образом, результаты отдельного введения гиалуроновой кислоты и препарата гидроксиапатита кальция показали, что механизм действия этих филлеров разнится, что согласуется и с данными литературы [4, 5]. Так, в случае использования гидроксиапатита кальция имеет место увеличение объема синтеза фибриллярного компонента. При этом синтетическая активность

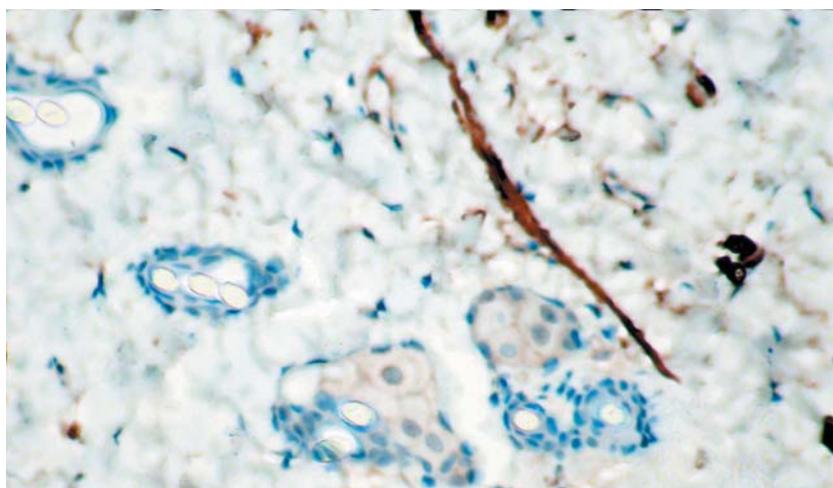


Рис. 3. Зона введения филлеров через 4 месяца. Иммуногистохимическая реакция на  $\alpha$ -SMA актин (об. 20x; ок. 10x).

fig. 3. Filling zone after 4 months. Immunohistochemistry of  $\alpha$ -SMA actin, ob. 20x, oc. 10x.

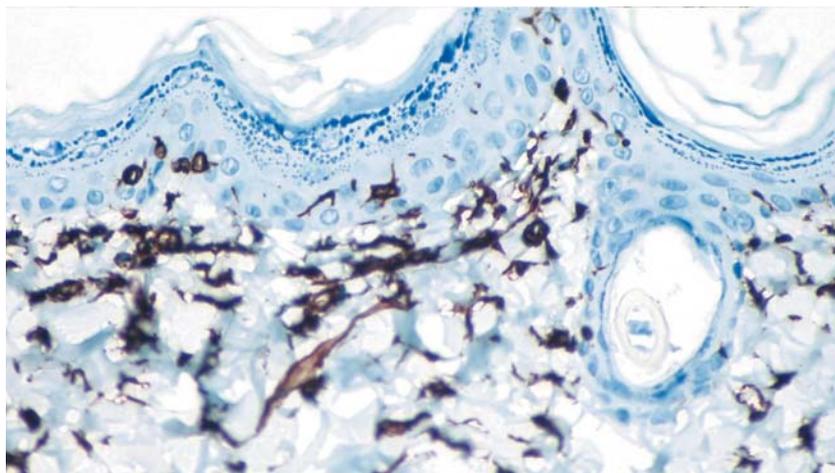


Рис. 4. Зона введения филлеров через 4 месяца. Иммуногистохимическая реакция на виментин (об. 20х; ок. 10х).

Fig. 4. Filling zone after 4 months. Immunohistochemistry of vimentin, ob. 20x, oc. 10x.

фибробластов сопровождается изменением функционального статуса и их ядер. В случае использования гиалуроновой кислоты индуцируется эффект увеличения объема аморфного компонента дермы. Это связано с ее ролью в составе дермы как фактора, обладающего гидродинамическим эффектом [6]. Однако гиалуроновая кислота обладает способностью изменять механический статус дермы не прямым путем, а через изменение структуры и функции экстрацеллюлярного матрикса. И этот эффект передается фибробласту, который трансформирует этот сигнал через систему цитоскелета в процесс неоколлагеногенеза [7]. К этому мнению присоединяются и другие авторы, которые считают, что инъекция гиалуроновой кислоты первоначально индуцирует механическое растяжение дермы, которое затем трансформируется в эффект активации дермальных фибробластов [8].

Механизм воздействия препарата гидроксиапатита кальция на компоненты дермы в литературе дискутируется [9–11]. По аналогии с гиалуроновой кислотой его действие первоначально интерпретировали как эффект увеличения объема экстрацеллюлярного матрикса. Однако все больше авторов пишут, что характерное для этого филлера увеличение объема волокнистого компонента дермы связано прежде всего с активацией неоколлагеногенеза [12]. Проведенные нами ранее исследования показали, что введение препарата гидроксиапатита кальция приводит к увеличению объема волокнистого компонента дермы, и этот эффект удерживается до 4-х месяцев наблюдения. Авторы считают, что дермальные фибробласты под влиянием увеличения объема экстрацеллюлярного матрикса меняют свою форму и прикрепляются к коллаге-

новым волокнам с помощью трансмембранного белка интегрина. Эта связь выступает в качестве триггера, образующего локальный адгезивный комплекс, который прежде всего меняет форму фибробласта. То есть инъекция филлера индуцирует «расправление» фибробласта, а это стимулирует продукцию ими коллагена [13].

### Заключение

Проведенное исследование показало, что совместное введение двух филлеров одновременно не приводит к выраженному увеличению объема экстрацеллюлярного матрикса дермы. Во-первых, нивелируется эффект гиалуроновой кислоты как регулятора увеличения объема аморфного компонента матрикса. Во-вторых, действие гидроксиапатита кальция сохраняется в виде стимулятора локальной пролиферации фибробластов. В-третьих, неоколлагеногенез протекает менее активно, чем в случае использования одного препарата гидроксиапатита кальция. Однако нельзя не согласиться с тем, что наличие гиалуроновой кислоты меняет характер микроокружения, а это приводит к частичному ингибированию неоколлагеногенеза фибробластами дермы. Не исключено, что сочетанное введение этих двух филлеров может быть реализовано в аспекте пролонгирования эффекта их совместного действия в срок, превышающий 4 месяца, ибо здесь налицо отсутствие фиброза и формирование многоядерных клеток инородного тела, то есть осложнений и побочных эффектов.

### Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki), одобрено независимым Этическим комитетом федерального государственного бюд-

жетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, Россия), протокол № 54 от 11.10.2017 г.

### Compliance with ethical principles

Study complies with the standards of the Declaration of Helsinki and was approved by the Independent Committee for Ethics of Kuban State

Medical University (Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, Russia), Protocol No. 54 of 11 October, 2017.

### Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

### Funding

The authors declare that no financial support was received for the research.

## Список литературы

1. Fisher G.J., Shao Y., He T., Qin Z., Perry D., Voorhees J.J., Quan T. Reduction of fibroblast size/mechanical force down-regulates TGF- $\beta$  type II receptor: implications for human skin aging. *Aging. Cell.* 2016; 15(1): 67–76. DOI: 10.1111/accel.12410
2. Quan T., Fisher G.J. Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. *Gerontology.* 2015; 61(5): 427–434. DOI: 10.1159/000371708
3. Turlier V., Delalleau A., Casas C., Rouquier A., Bianchi P., Alvarez S., et al. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study. *J. Dermatol. Sci.* 2013; 69(3): 187–194. DOI: 10.1016/j.jderm.2012.12.006
4. Wang F., Garza L.A., Kang S., Varani J., Orringer J.S., Fisher G.J., Voorhees J.J. In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch. Dermatol.* 2007; 143(2): 155–163. DOI: 10.1001/archderm.143.2.155
5. Dupont S., Morsut L., Aragona M., Enzo E., Giulitti S., Cordenonsi M., et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature.* 2011; 474(7350): 179–183. DOI: 10.1038/nature10137
6. Quan T., Wang F., Shao Y., Rittié L., Xia W., Orringer J.S., et al. Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endothelial cells, and keratinocytes in aged human skin in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133(3): 658–667. DOI: 10.1038/jid.2012.364
7. Carruthers J.D., Carruthers J.A., Humphrey S. Fillers and neocollagenesis. *Dermatol. Surg.* 2014; 40 Suppl 12: S134–136. DOI: 10.1097/DSS.0000000000000227
8. Turlier V., Delalleau A., Casas C., Rouquier A., Bianchi P., Alvarez S., et al. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study. *J. Dermatol. Sci.* 2013; 69(3): 187–194. DOI: 10.1016/j.jderm.2012.12.006
9. Cheng F., Shen Y., Mohanasundaram P., Lindström M., Ivaska J., Ny T., Eriksson J.E. Vimentin coordinates fibroblast proliferation and keratinocyte differentiation in wound healing via TGF- $\beta$ -Slug signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016; 113(30): E4320–4327. DOI: 10.1073/pnas.1519197113
10. Lemperle G., Gauthier-Hazan N. Foreign body granulomas after all injectable dermal fillers: part 2. Treatment options. *Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 123(6): 1864–1873. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181858f4f
11. Breithaupt A., Fitzgerald R. Collagen Stimulators: Poly-L-Lactic Acid and Calcium Hydroxyl Apatite. *Facial. Plast. Surg. Clin. North. Am.* 2015; 23(4): 459–469. DOI: 10.1016/j.fsc.2015.07.007
12. Zerbinati N., D'Este E., Parodi P.C., Calligaro A. Microscopic and ultrastructural evidences in human skin following calcium hydroxylapatite filler treatment. *Arch. Dermatol. Res.* 2017; 309(5): 389–396. DOI: 10.1007/s00403-017-1734-3
13. Могильная Г.М., Фомичева Е.В., Блатт Ю.Е. Статус эпидермиса при введении препаратов «радиесс» и «люминера». *Кубанский научный медицинский вестник.* 2015; 4: 93–96. DOI: 10.25207/1608-6228-2015-4-93-96

## References

1. Fisher G.J., Shao Y., He T., Qin Z., Perry D., Voorhees J.J., Quan T. Reduction of fibroblast size/mechanical force down-regulates TGF- $\beta$  type II receptor: implications for human skin aging. *Aging. Cell.* 2016; 15(1): 67–76. DOI: 10.1111/accel.12410
2. Quan T., Fisher G.J. Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. *Gerontology.* 2015; 61(5): 427–434. DOI: 10.1159/000371708

3. Turlier V., Delalleau A., Casas C., Rouquier A., Bianchi P., Alvarez S., et al. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study. *J. Dermatol. Sci.* 2013; 69(3): 187–194. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2012.12.006
4. Wang F., Garza L.A., Kang S., Varani J., Orringer J.S., Fisher G.J., Voorhees J.J. In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch. Dermatol.* 2007; 143(2): 155–163. DOI: 10.1001/archderm.143.2.155
5. Dupont S., Morsut L., Aragona M., Enzo E., Giulitti S., Cordenonsi M., et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature.* 2011; 474(7350): 179–183. DOI: 10.1038/nature10137
6. Quan T., Wang F., Shao Y., Rittié L., Xia W., Orringer J.S., et al. Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endothelial cells, and keratinocytes in aged human skin in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133(3): 658–667. DOI: 10.1038/jid.2012.364
7. Carruthers J.D., Carruthers J.A., Humphrey S. Fillers and neocollagenesis. *Dermatol. Surg.* 2014; 40 Suppl 12: S134–136. DOI: 10.1097/DSS.0000000000000227
8. Turlier V., Delalleau A., Casas C., Rouquier A., Bianchi P., Alvarez S., et al. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study. *J. Dermatol. Sci.* 2013; 69(3): 187–194. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2012.12.006
9. Cheng F., Shen Y., Mohanasundaram P., Lindström M., Ivaska J., Ny T., Eriksson J.E. Vimentin coordinates fibroblast proliferation and keratinocyte differentiation in wound healing via TGF- $\beta$ -Slug signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016; 113(30): E4320–4327. DOI: 10.1073/pnas.1519197113
10. Lemperle G., Gauthier-Hazan N. Foreign body granulomas after all injectable dermal fillers: part 2. Treatment options. *Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 123(6): 1864–1873. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181858f4f
11. Breithaupt A., Fitzgerald R. Collagen Stimulators: Poly-L-Lactic Acid and Calcium Hydroxyl Apatite. *Facial. Plast. Surg. Clin. North. Am.* 2015; 23(4): 459–469. DOI: 10.1016/j.fsc.2015.07.007
12. Zerbinati N., D'Este E., Parodi P.C., Calligaro A. Microscopic and ultrastructural evidences in human skin following calcium hydroxylapatite filler treatment. *Arch. Dermatol. Res.* 2017; 309(5): 389–396. DOI: 10.1007/s00403-017-1734-3
13. Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V., Blatt Y.E. Status epidermis in introduction of the drug «radiess» and «luminaire». *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik.* 2015; 4: 93–96 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2015-4-93-96

## Вклад авторов

### Могильная Г.М.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта — участие в научном дизайне; принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, измерительных приборов для проведения анализа.

### Фомичева Е.В.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — планирование и проведение эксперимента; анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта — участие в научном дизайне; принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление лабораторных образцов.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических вычислительных методов для анализа и синтеза данных исследования.

## Author contributions

### Mogilnaya G.M.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — contribution to the scientific layout; acceptance of responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of research — provision of reagents, measuring equipment for analyses.

### Fomicheva E.V.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — designing and conducting experiment; data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — contribution to the scientific layout; acceptance of responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of research — provision of laboratory samples.

Statistical analysis — application of statistical, mathematical, computing methods for data analysis and synthesis.

## Сведения об авторах / Information about the authors

**Могильная Галина Михайловна** — доктор медицинских наук, профессор; заведующая кафедрой гистологии с эмбриологией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-4354-2702>

**Фомичева Евгения Васильевна\*** — кандидат биологических наук; доцент кафедры гистологии с эмбриологией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-2050-2417>

Контактная информация: e-mail: [fomevg@mail.ru](mailto:fomevg@mail.ru); тел. +7-918-151-44-48;

ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия.

**Galina M. Mogilnaya** — Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Chair of Histology and Embryology, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-4354-2702>

**Evgeniya V. Fomicheva\*** — Cand. Sci. (Biol.); Assoc. Prof., Chair of Histology and Embryology, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-2050-2417>

Contact information: e-mail: [fomevg@mail.ru](mailto:fomevg@mail.ru); tel: +7-918-151-44-48;

Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author