

ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ МАТРИКС ДЕРМЫ В ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ НА ИМПЛАНТ FACETEM: РАНДОМИЗИРОВАННОЕ КОНТРОЛИРУЕМОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

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, Краснодар, 350063, Россия*

АННОТАЦИЯ

Введение. Одним из ведущих направлений в современной концепции регенеративной медицины является положение о возможности использования для реконструкции органов и тканей собственных ресурсов, то есть формирование «живого скаффолда». Так, при создании биологического каркаса дермы главную роль выполняют фибробласты, являющиеся продуцентами ее внеклеточного экстрацеллюлярного матрикса (ВЭЦ).

Цель исследования — выяснение механизма активации фибробластов на пути синтеза ими фибриллярного компонента ВЭЦ дермы в условиях использования препарата Facetem.

Методы. Исследование носит экспериментальный характер и проведено на крысах-самцах породы Вистар (72 особи). Животным вводили субдермально препарат Facetem (Корея) в объеме 0,05 мл. Этот филлер относится к кальцийсодержащим продуктам и имеет особенность, связанную с характером структуры микросфер, изготовленных по технологии Lattice-pore, которая обеспечивает эффект поступательной деградации. Биологический материал забирали в сроки, соответствующие 1 и 2 неделям и 1, 2, 3 и 5 месяцам. Проводка и заделка материала в парафин выполнялась стандартно, окраску срезов проводили с помощью гистохимического метода по Маллори, метода поляризационной микроскопии с пикросириусом красным и иммуногистохимическим методом с использованием антител к коллагенам I и III типов и эластину (Abcam).

Результаты. Изучение распределения коллагена в дерме и зоне введенного импланта Facetem показало, что начало коллагеногенеза регистрируется ко второй неделе пребывания филлера в дерме с последующим увеличением объема синтезируемого матрикса ко второму месяцу пребывания импланта до $4,39 \pm 0,7$ для коллагена I и $3,9 \pm 0,2$ — для коллагена III типов ($p < 0,05$).

К третьему месяцу происходит снижение синтетической активности фибробластов, но даже к концу пятого месяца продукция коллагена остается выше контрольного уровня. Синтез эластина также активируется со 2-й недели пребывания филлера в дерме и увеличивается к 3-му месяцу.

Заключение. Итак, под влиянием препарата Facetem в дерме разыгрывается воспаление по типу реакции на инородное тело. Этот многофакторный процесс начинается белковой адсорбцией, которая переходит в стадию рекрутирования клеток дермы с модуляцией фибробластов и макрофагов. Стадия активации этих типов клеток индуцирует неоколлагеногенез с увеличением объема синтезируемого внеклеточного матрикса дермы.

Ключевые слова: дерма, имплант, неоколлагеногенез в дерме, гидроксипатит кальция, филлер, Facetem

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Могильная Г.М., Фомичева Е.В. Экстрацеллюлярный матрикс дермы в ответной реакции на имплант Facetem: рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2021; 28(5): 64–78. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-5-64-78>

Поступила 19.06.2021

Принята после доработки 19.08.2021

Опубликована 28.10.2021

DERMAL EXTRACELLULAR MATRIX RESPONSE TO FACETEM IMPLANT: A RANDOMISED CONTROLLED EXPERIMENTAL STUDY

Galina M. Mogilnaya, Evgeniya V. Fomicheva*

Kuban State Medical University

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

ABSTRACT

Background. A leading concept in modern regenerative medicine is the perspective of using own body resources to remodel organs and tissues via the formation of “living scaffold”. A pivotal role in the formation of dermal scaffold is played by fibroblasts that produce extracellular matrix (ECM).

Aim. A study of the fibroblast activation mechanism mediating synthesis of the dermal ECM fibrillar component under the Facetem filler administration.

Methods. The experimental trial was conducted in Wistar male rats (72 animals). Animals had 0.05 mL Facetem (Korea) injections subdermally. The filler is a calcium-containing product featuring gradual degradation delivered through structural microspheric properties of the Lattice-pore technology. Biological material was sampled at weeks 1 and 2 of months 1, 2, 3 and 5. Tissues were paraffin-embedded in standard histological assays and stained with Mallory's trichrome, Picrosirius red in polarisation microscopy and immunohistochemistry with collagen types I, III and elastin antibodies (Abcam).

Results. Collagen distribution in dermis and the filling zone suggests that collagen production occurs by week 2 of the Facetem filler placement followed by an increase in synthesised matrix volume to 4.39 ± 0.7 for collagen type I and 3.9 ± 0.2 for collagen type III ($p < 0.05$).

The synthetic activity of fibroblasts reduces by month 3, albeit with collagen production remaining above control even by the end of month 5. Elastin synthesis also initiates by week 2 of the filler injection in dermis and grows by month 3.

Conclusion. The presence of Facetem filler triggers a foreign body inflammatory response in dermis. This multifactorial process initiates with protein adsorption proceeding to dermal cell recruitment and modulation of fibroblasts and macrophages. Activation of these cell types induces neocollagenesis entailing the extracellular matrix synthesis and expansion in dermis.

Keywords: dermis, implant, dermal neocollagenesis, calcium hydroxyapatite, filler, Facetem

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

For citation: Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V. Dermal extracellular matrix response to facetem implant: a randomised controlled experimental study. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2021; 28(5): 64–78. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-5-64-78>

Submitted 19.06.2021

Revised 19.08.2021

Published 28.10.2021

ВВЕДЕНИЕ

Использование филлеров в косметологии имеет своей целью активацию фибробластами синтеза компонентов внеклеточного матрикса дермы. Зависимость между функциональным статусом фибробластов и механическими свойствами дермы в литературе известна [1–5]. Так, по современным представлениям реализация процесса ремоделирования дермы связана с достаточным большим числом клеточных линий, однако именно фибробласты выступают в роли ведущих клеток, обеспечивающих стимуляцию образования коллагена с косметическим эффектом [6–10].

Очевидный для косметологии постулат активации фибробластами неокollaгеногенеза сталкивается с различными механизмами реализации его деятельности под влиянием филлеров, причина видится в различии химической природы филлера, его форме, в размерах, характере поверхности и других параметрах, которые в целом и определяют реакцию дермы на имплант [11–13].

Цель исследования — в эксперименте выяснить механизм активации фибробластов дермы по пути синтеза ими коллагена и эластина в условиях использования препарата Facetem.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Рандомизированное контролируемое исследование выполнено на 72 крысах-самцах породы Вистар массой 250 ± 30 г (ПМЖ Рапполово Ленинградской области).

Критерии соответствия

Критерии включения

Для проведения эксперимента были отобраны самцы крыс породы Вистар без внешних признаков заболеваний и анатомических нарушений, прошедшие карантин в виварном блоке учебно-производственного отдела федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

Критерии не включения

В эксперимент не включались особи, вес которых отличался более чем на 50 г, и не включались особи женского пола.

Критерии исключения

Если в ходе исследования на любом этапе животные травмировали зону введения импланта.

Условия проведения

Введение филлера проводилось на базе виварного блока учебно-производственного отде-

ла федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В течение всего срока животные находились под наблюдением на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде, что соответствует ГОСТу 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.). Исследование гистологического материала проведено на кафедре гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в течение 5 месяцев, биологический материал забирали в сроки, соответствующие 1 и 2 неделям и 1, 2, 3 и 5 месяцам.

Рандомизация

Рандомизация проводилась методом «конвертов». С учетом критериев включения были отобраны 72 крысы, которых разделили на 2 группы: опытная (60 животных) и контрольная (12 животных). Животным опытной группы вводили препарат Facetem (Корея), в группе интактных животных (контроль) использовали стерильный физиологический раствор.

Алгоритм и методология эксперимента

Введение филлера проводилось после выстригания волосяного покрова субдермально в объеме 0,05 мл в заднюю часть шеи (площадь 3×3 см). Объектом морфологического и гистохимического изучения стали фрагменты кожных покровов в области введения препарата.

Проводку и заливку материала выполняли в процессорах фирмы Tissue-Tek VIP5Jr, (Япония). Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5–6 микрон с использованием ротационного микротомы HM 340 E (MICROM Laborgerate GmbH, Германия). Полученные срезы окрашивали с использованием трехступенчатого процесса. Первый — это гистохимическая окраска по Маллори [14] в автоматическом мультитестейнере Tissue-Tek Prisma (Япония). Окраска использовалась в качестве общего маркера, характеризующего уровень распределения коллагена. Второй этап — выявление коллагенов I и III типа с использованием пикросириуса красного [15] с последующим изучением микропрепаратов в поляризованном свете при скрещенном анализаторе и поляризаторе микроскопа МП-8, где превалирование красного спектра в поляризо-

ванном свете интерпретировали как показатель наличия коллагена I типа, а превалирование зеленого спектра — как факт присутствия коллагена III типа, Третий этап — это избирательное выявление коллагенов с помощью антител — иммуногистохимическое окрашивание. Для избирательного выявления коллагенов и эластина использованы иммуногистохимические тесты с антителами к коллагену I и III типа (Abcam, Англия) и к эластину (Abcam, Англия).

Исходы исследования

Основной исход исследования

Основной исход исследования — биодеградирующий филлер на основе гидроксиапатита кальция Facetem, стимулируя пролиферацию фибробластов и активную реакцию фагоцитов, обеспечивает переход клеток в неоколлагеногенез, что ведет к ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса дермы по типу исходного.

Дополнительный исход исследования

Дополнительные исходы исследования не предполагались.

Методы регистрации исходов

Полученные микропрепараты подвергали визуальному исследованию в окрасках гематоксилином и эозином, по Маллори и с использованием пикросириуса красного. Для получения количественных результатов применяли компьютерную морфометрию с использованием стандартизованных микрофотографий в формате JPEG, полученных цифровой микрофотоустановкой MEIJI TECHNO серии MT 5000 при увеличении $\times 400$. При этом общая площадь каждой микрофотографии составила 5,99 пиксел². Анализ полученных изображений проводили по компьютерной программе ImageJ. Числовые значения результатов измерений площади окрашенного продукта в зоне локализации импланта, соответствующей распределению коллагена I и III, выражали в мегапикселах².

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет выборки не проводился.

Методы статистического анализа данных

Все цифровые данные подвергались статистической обработке с использованием программы Statistica 10 Trial. Проверку характера распределения вариационных рядов производили с помощью критерия Пирсона. Во всех исследованных вариационных рядах значения Az 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

Формирование выборки исследования

В исследование были включены 72 крысы-самца породы Вистар. Препарат вводили субдермально в объеме 0,05 мл в заднюю часть шеи (холку) всем экспериментальным животным ($n = 60$) одновременно. В группе интактных животных (контроль $n = 12$) использовали стерильный физиологический раствор в той же дозе, биологический материал забирали в сроки, соответствующие 1 и 2 неделям и 1, 2, 3 и 5 месяцам. Через указанные сроки после инъекционной инвазии филлера и забора гистологического материала животные выводились из эксперимента под общей анестезией Золетилом 100 (Virbac, Франция) по схеме 10 мг/кг внутримышечно.

Основные результаты исследования

Визуализация срезов в окраске по Маллори спустя одну неделю после имплантации Facetem показала наличие хорошо типизируемой зоны, в которой находятся различного размера микросферы, отдельные из них характеризуются присутствием фибриллярного компонента, окружающего эти микросферы. Местами границы микросфер очерчены монослоем плоских клеток. К концу второй недели между микросферами появляются окрашенные в темно-синий цвет коллагеновые фибриллы, они сливаются между собой, и в срезе появляются короткие пучки коллагеновых волокон (рис. 2), это фрагменты будущих зрелых коллагеновых структур.

Спустя один месяц зона импланта характеризуется появлением значительного объема коллагена, это все те же короткие пучки фибрилл и тонкие отдельные нити коллагена, но их достаточно много в зоне вокруг микросфер, что позволяет им сохранять свою оболочку. Местами удается рассмотреть, что стенка микросфер — это ряд плоских клеток, содержащих гиперхромные ядра. Через 2 месяца вокруг импланта отчетливо видна капсула, окружающая его. При этом волокна коллагена вдаются вглубь и делят имплант на отдельные фрагменты. Микросферы

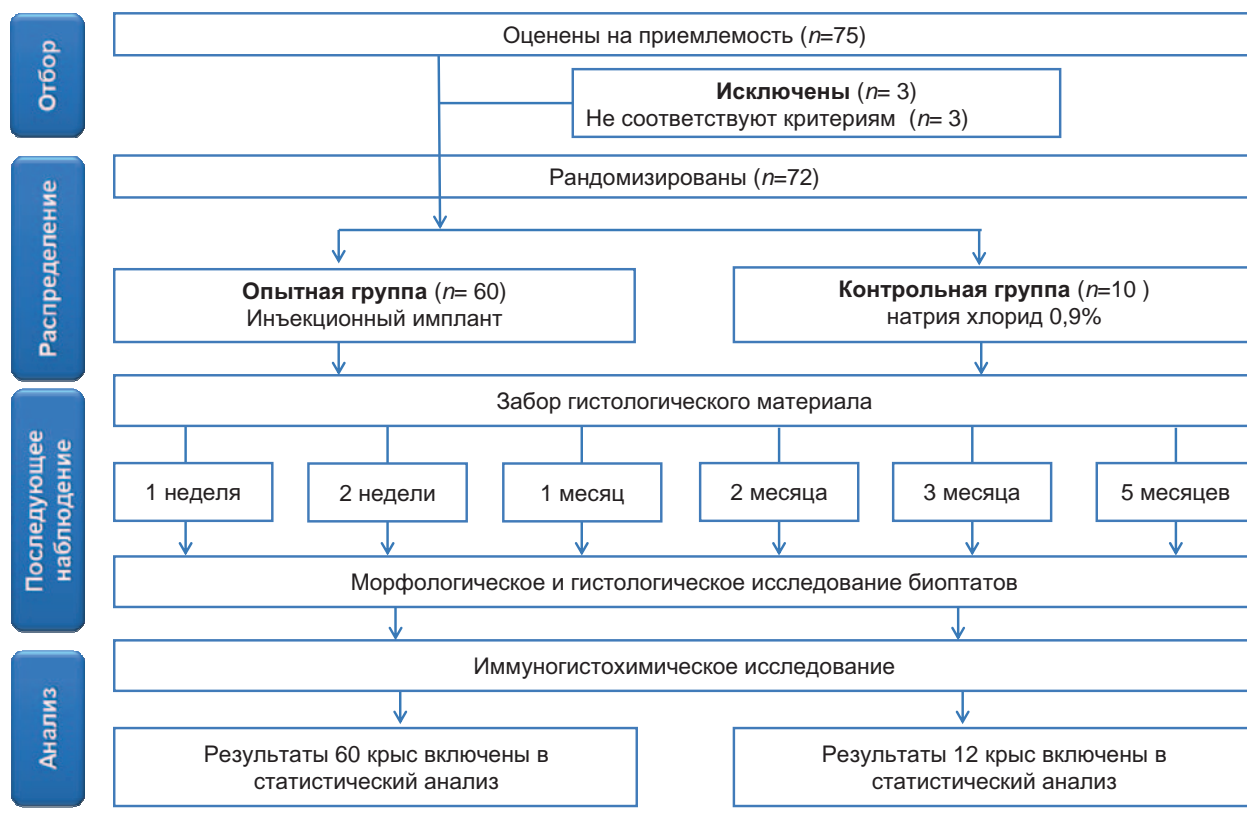


Рис. 1. Схема проведения эксперимента.

Fig. 1. Experimental design.

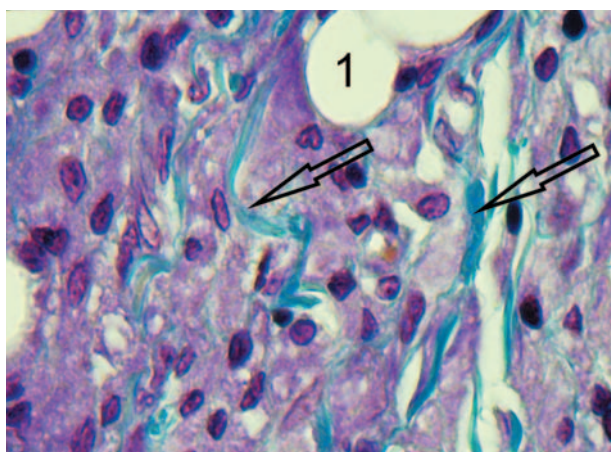


Рис. 2. Участок дермы через 1 неделю после введения филлера. Окраска по Маллори. Об. 40х; Ок. 10х. 1 — микросфера; стрелками обозначены коллагеновые волокна.

Fig. 2. Dermal zone 1 week past filler injection. Mallory's trichrome. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — microsphere, collagen fibres arrowed.

сохраняют свою фибриллярную оболочку в виде одного слоя плоских клеток. В импланте типично два типа коллагеновых волокон: одни — широкие пучки, а другие — тонкие фибриллы, переплетенные между собой и имеющие неупорядоченный характер ориентации.

В течение трех и следующих пяти месяцев наблюдения происходит уменьшение числа микросфер, а затем и их исчезновение. Имплант может типироваться в виде островков, окруженных большим числом коллагеновых волокон, сформированных в виде упорядоченно ориентированных пучков.

При окрашивании пикросириусом красным с последующей поляризационной микроскопией оказалось, что микросферы зоны импланта типично за счет стенок, ограниченных коллагеновыми фибриллами, переплетенными между собой. Характер их свечения указывает на присутствие коллагенов I и III (рис. 3).

Вокруг микросфер фибрилл мало, там, где они выявляются, это преимущественно фибриллы с красным свечением, то есть коллаген I типа. На остальных участках фибриллы обнаруживают свечение и красного, и зеленого цветов в соотношении 1:1.

Спустя месяц после введения филлера зона импланта видна отчетливо, стенки микросфер образованы короткими фибриллами, достаточно широкими и переплетенными между собой. В поляризованном свете эти фибриллы обнаруживают свечение красного и зеленого цветов в соотношении 3:2, что указывает на превали-

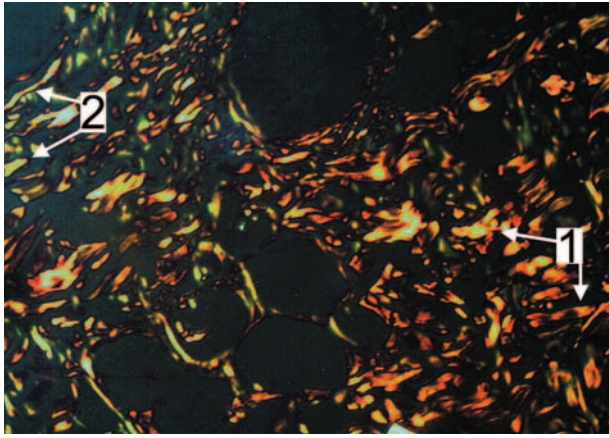


Рис. 3. Участок дермы через 1 неделю после введения филлера. Окраска пикросириусом красным. Об. 40x; Ок. 10x. 1 — коллаген I типа; 2 — коллаген III типа.

Fig. 3. Dermal zone 1 week past filler injection. Picrosirius red. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — collagen type I, 2 — collagen type III.

рование коллагена I типа. В некоторых случаях выявлялся только коллаген I типа. В зоне между микросфер (рис. 4) видны участки красно-желтого свечения, свидетельствующие о присутствии коллагена I типа. В течение двух следующих месяцев микросферы сохраняются, а фибриллы, окружающие их, обнаруживают сочетание красного и зеленого свечения в соотношении 3:2. В зоне между микросферами (рис. 3) фибриллярный комплекс красно-желтого свечения, что свидетельствует о присутствии здесь коллагена I типа, содержимое микросфер отсутствует.

В срок, соответствующий трем месяцам наблюдения, в поверхностном и в глубоком компартаментах дермы накапливается достаточно большое число коллагеновых фибрилл, их много и вокруг сохранившихся отдельных микросфер.

Иммуногистохимическое изучение распределения коллагена с использованием антител показало, что спустя неделю при избирательном выявлении коллагена I типа реакцию обнаруживают фибробласты дермы в зоне над имплантом, здесь появляются отростчатые клетки, которые ассоциируют друг с другом, формируя сеть. Цитоплазма и отростки этих фибробластов характеризуются умеренной экспрессией проколлагена (рис. 5).

В зоне импланта реакцию обнаруживают отдельные микросферы, в них окрашиваются или фибриллы, или клетки внутреннего монослоя, выстилки микросфер. Уровень экспрессии коллагена I типа низкий ($0,8 \pm 0,06$, $p < 0,05$). На участках дермы под имплантом выявляют крупные фибробласты с высоким уровнем экспрессии коллагена I типа.

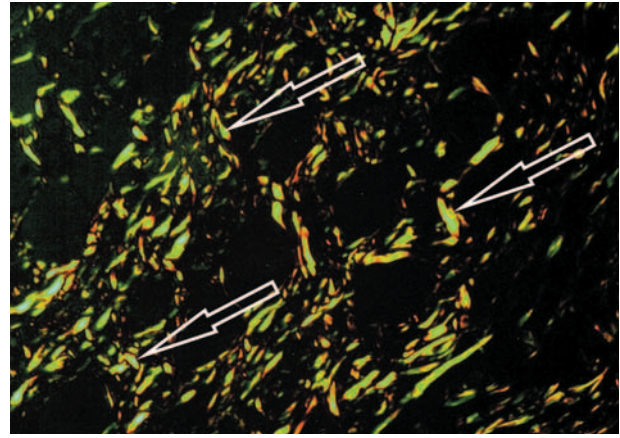


Рис. 4. Участок дермы через 3 месяца после введения филлера. Окраска пикросириусом красным. Об. 40x; Ок. 10x. Стрелками обозначен коллаген I типа.

Fig. 4. Dermal zone 3 months past filler injection. Picrosirius red. Ob. 40x, Oc. 10x. Arrows indicate collagen type I.

Коллаген III типа выявляется в зоне импланта и на участке дермы над ним. При этом уровень его экспрессии на участке импланта соответствует выявлению коллагена I типа. Микросферы обнаруживают присутствие коллагена III типа в составе фибрилл внутреннего слоя оболочки микросфер (рис. 6). Положительную реакцию дают фибробласты, расположенные между микросферами (рис. 7), здесь уровень экспрессии коллагена III типа от умеренного до интенсивного. Дерма над имплантом также содержит фибробласты, экспрессирующие коллаген III типа, слабо и диффузно окрашивается и аморфный матрикс.

Спустя две недели отмечается активация неоколлагеногенеза с увеличением объема синте-

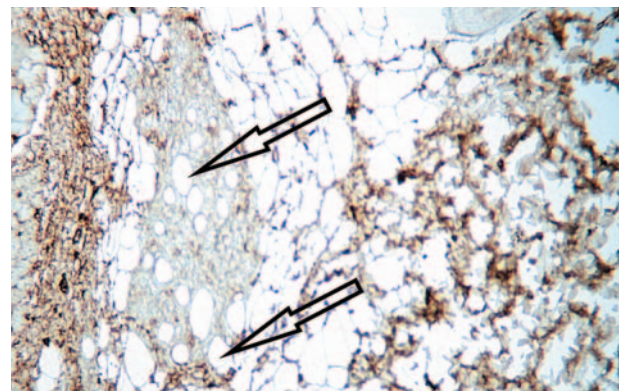


Рис. 5. Участок дермы через 1 неделю после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген I типа. Об. 10x; Ок. 10x. Стрелками обозначены микросферы.

Fig. 5. Dermal zone 1 week past filler injection. Collagen type I immunohistochemistry. Ob. 10x, Oc. 10x. Arrows indicate microspheres.

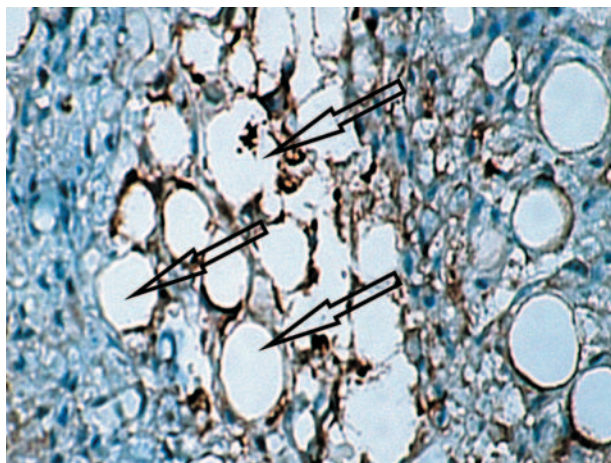


Рис. 6. Участок дермы через неделю после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген III типа. Об. 40х; Ок. 10х. Стрелками обозначены микросферы.
Fig. 6. Dermal zone 1 week past filler injection. Collagen type III immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. Arrows indicate microspheres.

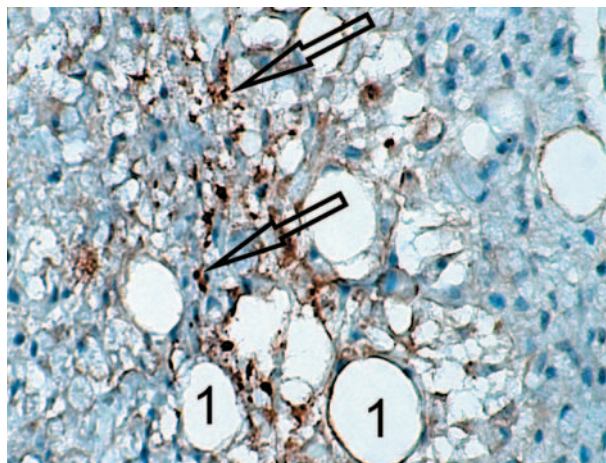


Рис. 7. Участок дермы над имплантом через неделю после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген III типа. Об. 40х; Ок. 10х. 1 — зона импланта (микросферы); стрелками обозначены фибробласты.
Fig. 7. Dermal zone above implant 1 week past filler injection. Collagen type III immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — implant area (microspheres), arrows indicate fibroblasts.

Таблица 1. Результаты иммуногистохимического исследования распределения коллагена в зоне импланта (мегапиксели²)

Table 1. Collagen distribution immunohistochemistry values in implant area, megapixels².

Объект исследования	Сроки исследования					
	1 неделя	2 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	5 месяцев
Коллаген I	0,8 ± 0,06	1,36 ± 0,1	1,7 ± 0,3	4,39 ± 0,7	2,2 ± 0,2	1,36 ± 0,2
		<i>P</i> < 0,001	<i>P</i> > 0,05	<i>P</i> < 0,01	<i>P</i> < 0,01	<i>P</i> < 0,01
Коллаген III	0,7 ± 0,08	1,3 ± 0,04	1,23 ± 0,09	3,9 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1 ± 0,3
		<i>P</i> < 0,001	<i>P</i> > 0,05	<i>P</i> < 0,001	<i>P</i> < 0,001	<i>P</i> < 0,01

Примечание: *P* — отличие от предыдущего срока исследования.

Note: *P* — difference vs. prior study term.

зируемого экстрацеллюлярного матрикса в зоне дермы над имплантом. Тот же эффект прослеживается и в зоне самого импланта. Так, для коллагена I типа этот прирост составил $1,36 \pm 0,1$, а для коллагена III типа $1,3 \pm 0,04$ ($P < 0,01$, табл. 1).

Спустя один месяц коллаген I типа выявляется в уплощенных клетках, расположенных вокруг микросфер (рис. 9), местами эта выстилка выглядит как тонкие фибриллы с низким уровнем экспрессии коллагена.

В зоне под имплантом и над ним появляется достаточно много отростчатых фибробластов с умеренным содержанием проколлагена. Лишь единичные клетки обнаруживают высокий уровень экспрессии коллагена, клетки такого типа чаще не имеют отростков и заполнены интенсивно окрашенным проколлагеном.

При выявлении коллагена III типа видно, что зона импланта несколько снижает уровень

его экспрессии, а дерма вокруг импланта увеличивает, последнее связано с появлением большого числа фибробластов вокруг импланта и в зоне под ним. Типичные при этом фибробласты многоотростчатые (эффект активации), зона цитоплазмы и отростков заполнена коллагеном III типа, обнаруживающим высокий уровень его экспрессии. Вокруг фибробластов (рис. 10) слабо и диффузно окрашивается аморфный экстрацеллюлярный матрикс. Соотношение коллагена I и III типов или 1:1, или местами 1:2.

Спустя 2 месяца коллагена I типа в зоне дермы достаточно много. Доказательством служит большое число фибробластов, обнаруживающих высокую экспрессию проколлагена. Клетки имеют многочисленные отростки, они ассоциируются между собой, формируя сеть.

Вокруг клеток слабую или умеренную реакцию дает матрикс, который окружает эти клетки. Уровень распределения коллагена в зоне импланта

к этому сроку у различных экспериментальных животных различия. Так, у 30% из них зона имплантата плохо типифируется и содержит единичные, диффузно и интенсивно окрашенные округлые клетки, содержащие проколлаген. Микросфер уже мало, они небольшого размера. Отдельные содержат фибриллы, экспрессирующие коллаген. Такие фибриллы видны в зоне стенок поперечно срезаемых микросфер. У других животных (70%) реакция с антителами свидетельствует о высоком темпе синтеза коллагена I типа в зоне имплантата ($4,39 \pm 0,7$, $p < 0,05$) с обнаружением его вокруг микросфер и между ними. Характерным для них

оказался и темп повышения синтеза и коллагена III типа ($3,9 \pm 0,2$, $p < 0,05$). Во всяком случае, этот срок может интерпретироваться как достаточно активный в отношении синтеза коллагена.

При реакции на коллаген III типа отчетливо видна менее интенсивная окраска по сравнению с коллагеном I типа. Это связано, во-первых, со снижением числа фибробластов, а во-вторых, с уровнем экспрессии этими клетками коллагена. Так, в поверхностной зоне дермы характер экспрессии расценивается от слабого до умеренного, тогда как в нижней части дермы

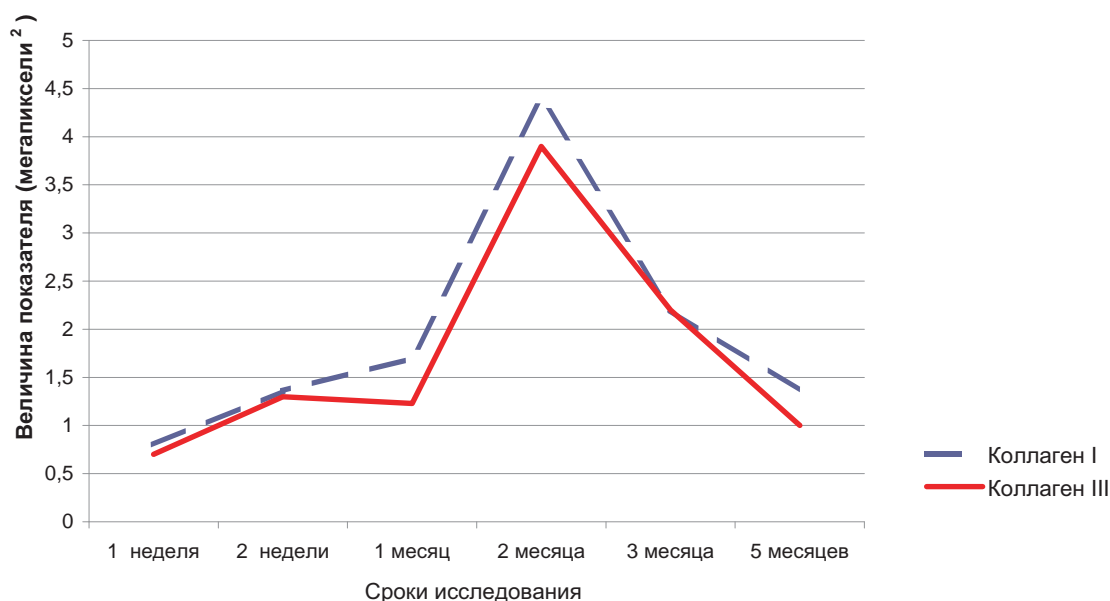


Рис. 8. Распределение коллагена I и III типов в зоне имплантата.
 Fig. 8. Collagen types I and III distribution in implant area.

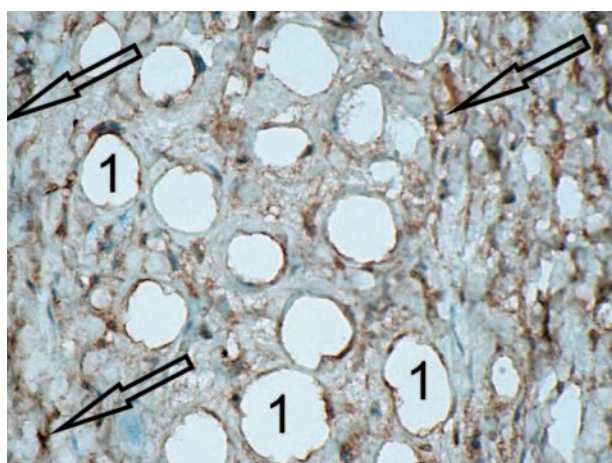


Рис. 9. Участок дермы через 1 месяц после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген I типа. Об. 40x; Ок. 10x. 1 — микросферы; стрелками обозначены фибробласты.
 Fig. 9. Dermal zone 1 month past filler injection. Collagen type I immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — microspheres, fibroblasts arrowed.

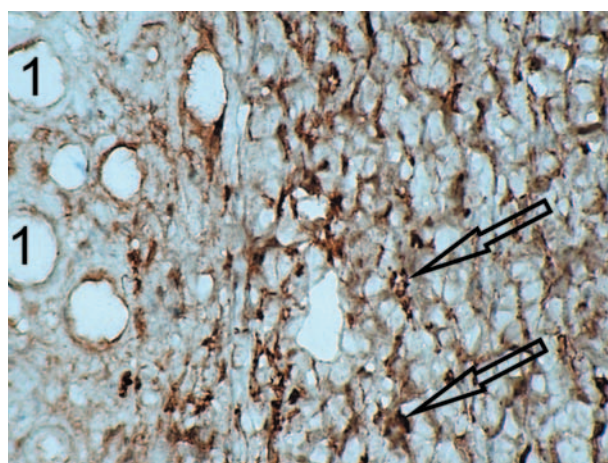


Рис. 10. Участок дермы через 1 месяц после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген III типа. Об. 40x; Ок. 10x. 1 — микросферы; стрелками обозначены фибробласты.
 Fig. 10. Dermal zone 1 month past filler injection. Collagen type III immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — microspheres, fibroblasts arrowed.

он умеренный. В срок, соответствующий 3 месяцам пребывания импланта в дерме, синтез коллагена имеет место и в зоне дермы над имплантом, и в самом импланте. В первом случае дерма содержит достаточно большое число мелких фибробластов с высокой степенью экспрессии коллагена I типа, расположенных в сосочковом слое дермы. Клетки крупного размера, локализируются в более глубоких слоях дермы. При выявлении коллагена III типа его можно обнаружить на участке сохранившегося импланта, здесь большое число фибробластов с высокой экспрессией коллагена III типа в виде крупных гранул. К пяти месяцам пребывания импланта происходит снижение темпа синтеза коллагена, регистрируемое и для импланта, и для окружающей дермы. Однако в общей оценке объема коллагена I и III типы представлены почти одинаково, и этот уровень остается выше исходного.

Изучение распределения компонентов экстрацеллюлярного матрикса дермы под влиянием Facetem было продолжено в микропрепаратах, окрашенных на эластин. Первая неделя — это, по сути, увеличение числа фибробластов, обнаруживающих экспрессию тропоэластина, клетки этого типа локализируются преимущественно в зоне поверхностного компартмента дермы. Здесь появляются и участки экстрацеллюлярного матрикса с низким уровнем экспрессии эластина.

Окраска структур импланта на эластин проявляется ко второй неделе пребывания его в дерме. При этом четко визуализируются микросферы за счет фибриллярной структуры с умеренным уровнем экспрессии эластина. В зоне между ми-

кросфер видны тонкие филаменты (рис. 11), расположенные на фоне диффузно окрашенного матрикса. В поверхностном компартменте дермы сохраняется значительное число фибробластов с высоким уровнем экспрессии тропоэластина.

С пролонгированием срока локализации импланта имеет место увеличение числа фибробластов, экспрессирующих тропоэластин, и этот эффект прослеживается как в дерме, так и в зоне импланта. К концу второго месяца среди фибробластов выделяется два типа клеток: одни — крупные клетки, содержащие большое число гранул тропоэластина, а другие — мелкие клетки, окруженные гранулами, являющимися продуктом экзоцитоза. Во всяком случае, к сроку, соответствующему второму месяцу, уровень синтеза тропоэластина нарастает (рис. 12).

Спустя 3 месяца реакцию на тропоэластин обнаруживают крупные фибробласты, в большом числе инфильтрирующие зону дермы, причем на участке не только поверхностного, но и глубокого компартментов. Это очень крупные клетки, нагруженные гранулами с высоким уровнем экспрессии тропоэластина, их много встречается и в зоне капсулы, сформированной вокруг импланта, а также в самом импланте, между сохранившимися микросферами. В целом можно констатировать увеличение числа фибробластов, обнаруживающих присутствие тропоэластина за счет увеличения его синтеза (рис. 11).

Дополнительные результаты исследования не получены.

Нежелательные явления отсутствуют.

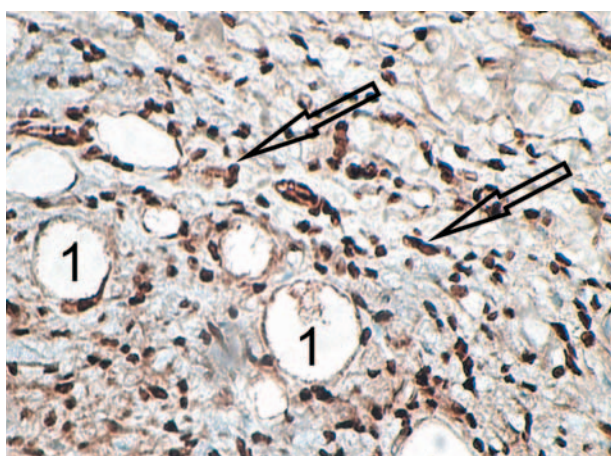


Рис. 11. Участок дермы через 2 недели после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на эластин. Об. 40х; Ок. 10х. 1 — микросферы; стрелками обозначены фибробласты.

Fig. 11. Dermal zone 2 weeks past filler injection. Elastin immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — microspheres, fibroblasts arrowed.

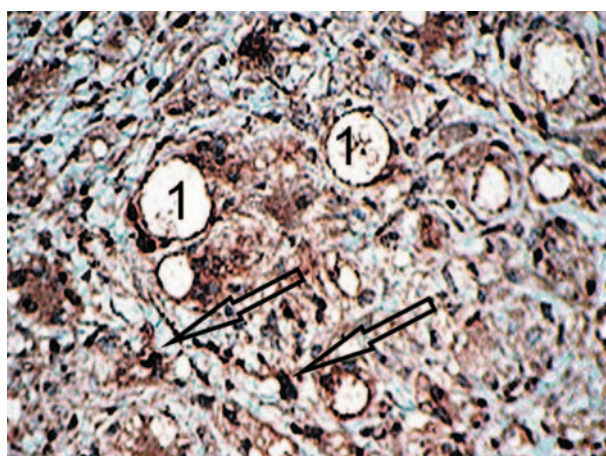


Рис. 12. Участок дермы через 2 месяца после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на эластин. Об. 40х; Ок. 10х. 1 — микросферы; стрелками обозначены фибробласты.

Fig. 12. Dermal zone 2 months past filler injection. Elastin immunohistochemistry. Ob. 40x, Oc. 10x. 1 — microspheres, fibroblasts arrowed.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Таким образом, изучение характера распределения и уровня экспрессии коллагена и эластина показало, что синтез этих веществ при введении Facetem с удлинением срока его пребывания в дерме нарастает.

Обсуждение основного результата исследования

В первые недели после введения импланта синтез коллагена фибробластами приводит к восстановлению объема дермы после альтерации.

Пролонгирование срока пребывания филлера до двух месяцев чаще всего (70% животных) приводит к эффекту гиперпродукции коллагена с увеличением объема этого компонента экстрацеллюлярного матрикса дермы почти в 2 раза. Интересно отметить выявленное в эти сроки нарастание синтеза тропоэластина, что регистрируется за счет увеличения числа фибробластов, содержащих его. Механизм действия филлера на дерму видится в локальном фибробластическом ответе, который приводит к инкапсуляции

микросфер. Однако этот механизм действия филлера опосредован, скорее всего, через индукцию воспалительной реакции на инородное тело. Вопрос о механизмах активации коллагеногенеза фибробластами в литературе дискутируется. При этом определяющим является характер вводимого филлера. Обзор литературы достаточно обширный, но единого мнения на этот счет не существует [16–18]. Типичной реакцией дермы на филлеры, в состав которых входят кристаллы гидроксиапатита, являются типизируемые в условиях микроскопии структуры, получившие название «микросферы». По данным литературы, эти микросферы окружены капсулой, которая формируется макрофагами и лимфоцитами. В литературе этот механизм дискутируется [19–23].

Изменения, происходящие в дерме под влиянием Facetem, могут быть связаны с развитием в зоне введения филлера воспалительной реакции или с развитием эффекта Rooman [24, 25], включающего сложный каскад факторов и клеток (рис. 13). Так, выход плазмы и форменных элементов из сосудов после альтерации участка дермы филлером приводит к адсорбции белков плазмы на поверхности импланта и стимулирует

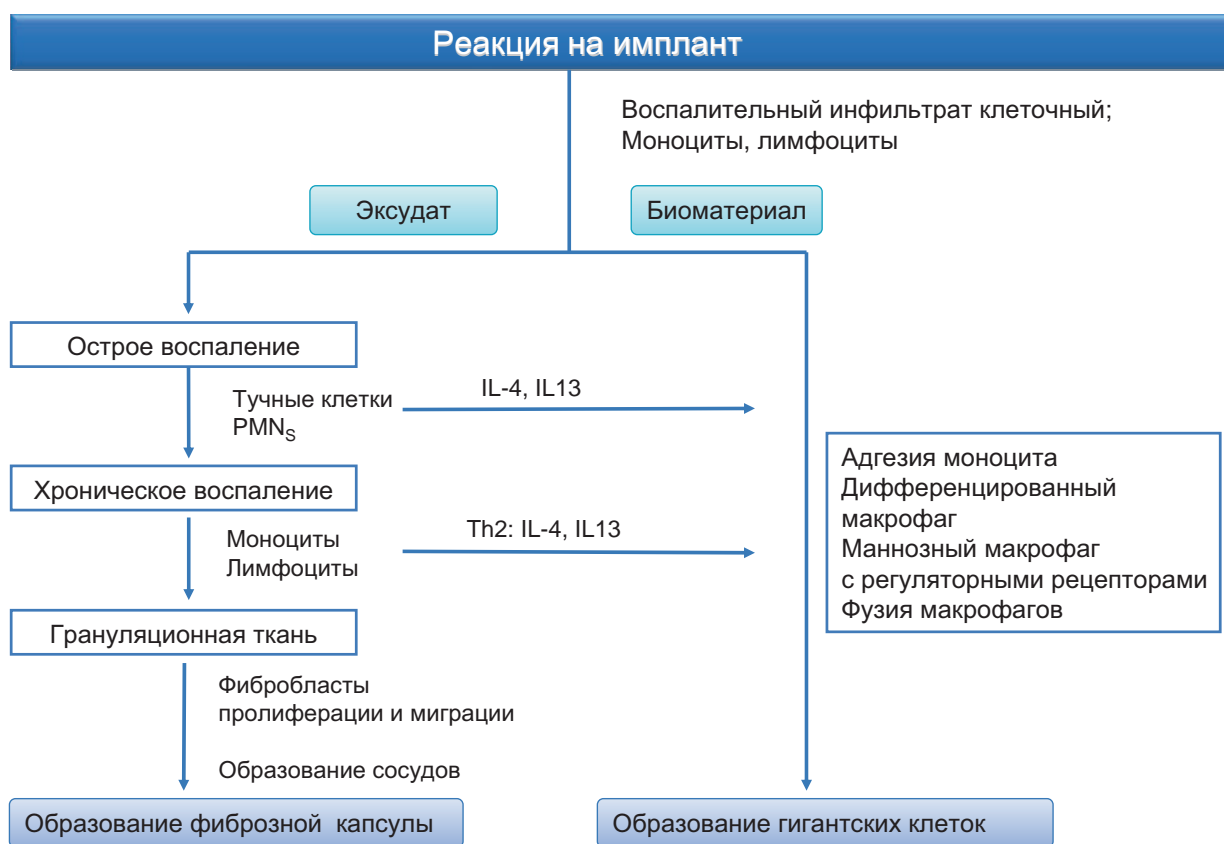


Рис. 13. Реакция дермы на введение импланта.
Fig. 13. Dermal response to implant placement.

ет клеточную адгезию и эффект рекрутирования клеток дермы. Моноциты созревают в макрофаги и выделяют вещества, обеспечивающие трансформацию их в макрофаги. Активированные макрофаги влияют на фибробласты и обеспечивают для них пролиферацию и неоколлагеногенез, заканчивающийся образованием нового объема экстрацеллюлярного матрикса дермы. Не исключено, что образующийся матрикс, состоящий из коллагенов I и III типа, строит свой скаффолд, в котором активные фибробласты связываются с коллагеном за счет интегриновых рецепторов.

Ограничения исследования не выявлены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение распределения коллагенов I и III типов в условиях введения препарата Facetem при пролонгировании его пребывания в дерме с 1 недели до 5 месяцев позволило выявить определенную фазность для этого процесса. При этом начало неоколлагеногенеза приурочено ко 2-й неделе, максимум синтеза объема внеклеточного матрикса — к 2 месяцам. Снижение темпа синтеза — это 3–5-й месяцы. В каждом из выделенных сроков имеет место индуцируемая этапность процесса неоколлагеногенеза. Первые недели — это адсорбция белков плазмы с развитием эффекта Вромана. Вторая фаза — формирование скаффолда (временная матрица) с переходом клеток дермы в активный неоколлагеногенез. Третья фаза — ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса, сформированного по типу исходного с сохранением ангиогенеза и митотической активности тканеспецифических клеток.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Содержание и дизайн исследований согласованы с независимым Этическим комитетом федерального государственного бюджетного 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.

Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The study and its design have been agreed with the Independent Committee for Ethics of Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, Russia), Minutes No. 54 of 11.10.2017.

Animal housing and handling conditions complied with the principles of the Declaration of Helsinki on humane animal use, Directive 2010/63/EC of the European Parliament and of the Council of 22 September, 2010, on the protection of animals used for scientific purposes, GOST 33044–2014 “Principles of Good Laboratory Practice” approved by Order 1700-st of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology of 20 November, 2014.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

FINANCING SOURCE

The authors declare that no funding was received for this study.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Roy B., Yuan L., Lee Y., Bharti A., Mitra A., Shivashankar G.V. Fibroblast rejuvenation by mechanical reprogramming and redifferentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020; 117(19): 10131–10141. DOI: 10.1073/pnas.1911497117
- Putlyaev V.I., Yevdokimov P.V., Klimashina E.S., Rodin I.A., Safronova T.V., Garshev A.V., Mamonov S.A., Zorin V.N. Stereolithographic 3D printing of bioceramic scaffolds of a given shape and architecture for bone tissue regeneration. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2019; 10(5): 1101–1108. DOI: 10.1134/S2075113319050277
- Shinde A.V., Frangogiannis N.G. Mechanisms of Fibroblast Activation in the Remodeling Myocardium. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2017; 5(2): 145–152. DOI: 10.1007/s40139-017-0132-z
- Wahlsten A., Rüttsche D., Nanni M., Giampietro C., Biedermann T., Reichmann E., Mazza E. Mechanical stimulation induces rapid fibroblast proliferation and accelerates the early maturation of human skin substitutes. *Biomaterials*. 2021; 273. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120779
- Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Votelyak E.A., Vasiliev A.V., Zagaynova E.V. Skin Tissue-Engineering Constructs and Stem Cells Application for the Skin Equivalents Creation (Review). *Sovremennye Tehnologii v Meditsine*. 2017; 9(1): 198–218. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24

6. 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
7. Lorenc Z.P., Bass L.M., Fitzgerald R., Goldberg D.J., Graivier M.H. Physicochemical Characteristics of Calcium Hydroxylapatite (CaHA). *Aesthet. Surg. J.* 2018; 38(1): 8–12. DOI: 10.1093/asj/sjy011
8. Kim S.A., Kim H.S., Jung J.W., Suh S.I., Ryou Y.W. Poly-L-Lactic Acid Increases Collagen Gene Expression and Synthesis in Cultured Dermal Fibroblast (Hs68) Through the p38 MAPK Pathway. *Ann. Dermatol.* 2019; 31(1): 97–100. DOI: 10.5021/ad.2019.31.1.97
9. Carruthers J.D.A., Fagien S., Rohrich R.J., Weinkle S., Carruthers A. Blindness caused by cosmetic filler injection: a review of cause and therapy. *Plast. Reconstr. Surg.* 2014; 134(6): 1197–1201. DOI: 10.1097/PRS.0000000000000754
10. Grether-Beck S., Marini A., Jaenicke T., Goessens-Rück P., McElwee K.J., Hoffmann R., Krutmann J. Autologous Cell Therapy for Aged Human Skin: A Randomized, Placebo-Controlled, Phase-I Study. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2020; 33(1): 9–16. DOI: 10.1159/000502240
11. Xavier, M.V., Macedo, M.F., Benatti, A.C.B., Jardim, A.L., Rodrigues A.A., Lopes M.S., Lambert C.S., Filho, R.M., Kharmandayan, P. PLLA Synthesis and Nanofibers Production: Viability by Human Mesenchymal Stem Cell from Adipose Tissue. *Procedia CIRP.* 2016; 49: 213–221. DOI: 10.1016/j.procir.2015.11.019
12. Cheng L-Y., Sun X-M., Tang M-Y., Jin R., Cui W-G., Zhang Y-G. An update review on recent skin fillers. *Plastic and Aesthetic Research.* 2016 Mar 23; 3(3): 92. DOI: 10.20517/2347-9264.2015.124
13. Могильная Г.М., Фомичева Е.В. Характер ответной реакции дермы на сочетанное введение двух филлеров. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2020; 27(4): 72–81. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81
14. Malatesta M. Histological and Histochemical Methods — Theory and practice. *European Journal of Histochemistry.* 2016; 60(1). 2639. DOI: 10.4081/ejh.2016.2639
15. Rittié L. Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections. *Methods Mol. Biol.* 2017; 1627: 395–407. DOI: 10.1007/978-1-4939-7113-8_26
16. Lemperle G., Morhenn V., Charrier U. Human Histology and Persistence of Various Injectable Filler Substances for Soft Tissue Augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* 2020; 44(4): 1348–1360. DOI: 10.1007/s00266-020-01827-7
17. Courderot-Masuyer C., Robin S., Tauzin H., Humbert P. Evaluation of lifting and antiwrinkle effects of calcium hydroxylapatite filler. In vitro quantification of contractile forces of human wrinkle and normal aged fibroblasts treated with calcium hydroxylapatite. *J. Cosmet. Dermatol.* 2016; 15(3): 260–268. DOI: 10.1111/jocd.12215
18. Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A., Sukhanov R.B., Atala A., Burdukovskii V., Zhang Y., Timashev P. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res. Ther.* 2019; 10(1): 94. DOI: 10.1186/s13287-019-1203-3
19. Urciuolo F., Casale C., Imperato G., Netti P.A. Bioengineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med.* 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
20. Zhang Y., Liang H., Luo Q., Chen J., Zhao N., Gao W., Pu Y., He B., Xie J. In vivo inducing collagen regeneration of biodegradable polymer microspheres. *Regen. Biomater.* 2021; 8(5): rbab042. DOI: 10.1093/rb/rbab042
21. Akinbiyi T., Othman S., Familusi O., Calvert C., Card E.B., Percec I. Better Results in Facial Rejuvenation with Fillers. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2020; 8(10): e2763. DOI: 10.1097/GOX.0000000000002763
22. 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
23. Zerbinati N., Calligaro A. Calcium hydroxylapatite treatment of human skin: evidence of collagen turnover through picrosirius red staining and circularly polarized microscopy. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2018; 11: 29–35. DOI: 10.2147/CCID.S143015
24. Rooman I., De Medts N., Baeyens L., Lardon J., De Breuck S., Heimberg H., Bouwens L. Expression of the Notch signaling pathway and effect on exocrine cell proliferation in adult rat pancreas. *Am. J. Pathol.* 2006; 169(4): 1206–1214. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050926
25. Nayfeh T., Shah S., Malandris K., Amin M., Abd-Rabu R., Seisa M.O., Saadi S., Rajjoub R., Firwana M., Prokop L.J., Murad M.H. A Systematic Review Supporting the American Society for Dermatologic Surgery Guidelines on the Prevention and Treatment of Adverse Events of Injectable Fillers. *Dermatol. Surg.* 2021; 47(2): 227–234. DOI: 10.1097/DSS.0000000000002911

REFERENCES

- Roy B., Yuan L., Lee Y., Bharti A., Mitra A., Shivashankar G.V. Fibroblast rejuvenation by mechanical reprogramming and redifferentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020; 117(19): 10131–10141. DOI: 10.1073/pnas.1911497117
- Putlyaev V.I., Yevdokimov P.V., Klimashina E.S., Rodin I.A., Safronova T.V., Garshev A.V., Mamonov S.A., Zorin V.N. Stereolithographic 3D printing of bio-ceramic scaffolds of a given shape and architecture for bone tissue regeneration. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2019; 10(5): 1101–1108. DOI: 10.1134/S2075113319050277
- Shinde A.V., Frangogiannis N.G. Mechanisms of Fibroblast Activation in the Remodeling Myocardium. *Curr. Pathobiol. Rep*. 2017; 5(2): 145–152. DOI: 10.1007/s40139-017-0132-z
- Wahlsten A., Rüttsche D., Nanni M., Giampietro C., Biedermann T., Reichmann E., Mazza E. Mechanical stimulation induces rapid fibroblast proliferation and accelerates the early maturation of human skin substitutes. *Biomaterials*. 2021; 273. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120779
- Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V., Zagaynova E.V. Skin Tissue-Engineering Constructs and Stem Cells Application for the Skin Equivalents Creation (Review). *Sovremennyye Tehnologii v Medicine*. 2017; 9(1): 198–218. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24
- 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
- Lorenc Z.P., Bass L.M., Fitzgerald R., Goldberg D.J., Graivier M.H. Physicochemical Characteristics of Calcium Hydroxylapatite (CaHA). *Aesthet. Surg. J*. 2018; 38(1): 8–12. DOI: 10.1093/asj/sjy011
- Kim S.A., Kim H.S., Jung J.W., Suh S.I., Ryoo Y.W. Poly-L-Lactic Acid Increases Collagen Gene Expression and Synthesis in Cultured Dermal Fibroblast (Hs68) Through the p38 MAPK Pathway. *Ann. Dermatol*. 2019; 31(1): 97–100. DOI: 10.5021/ad.2019.31.1.97
- Carruthers J.D.A., Fagien S., Rohrich R.J., Winkel S., Carruthers A. Blindness caused by cosmetic filler injection: a review of cause and therapy. *Plast. Reconstr. Surg*. 2014; 134(6): 1197–1201. DOI: 10.1097/PRS.0000000000000754
- Grether-Beck S., Marini A., Jaenicke T., Gossens-Rück P., McElwee K.J., Hoffmann R., Krutmann J. Autologous Cell Therapy for Aged Human Skin: A Randomized, Placebo-Controlled, Phase-I Study. *Skin Pharmacol. Physiol*. 2020; 33(1): 9–16. DOI: 10.1159/000502240
- Xavier, M.V., Macedo, M.F., Benatti, A.C.B., Jardini, A.L., Rodrigues A.A., Lopes M.S., Lambert C.S., Filho, R.M., Kharmandayan, P. PLLA Synthesis and Nanofibers Production: Viability by Human Mesenchymal Stem Cell from Adipose Tissue. *Procedia CIRP*. 2016; 49: 213–221. DOI: 10.1016/j.procir.2015.11.019
- Cheng L-Y., Sun X-M., Tang M-Y., Jin R., Cui W-G., Zhang Y-G. An update review on recent skin fillers. *Plastic and Aesthetic Research*. 2016 Mar 23; 3(3): 92. DOI: 10.20517/2347-9264.2015.124
- Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V. Dermal response to combined double filler administration. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2020; 27(4): 72–81 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81
- Malatesta M. Histological and Histochemical Methods — Theory and practice. *European Journal of Histochemistry*. 2016; 60(1). DOI: 10.4081/ejh.2016.2639
- Rittié L. Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections. *Methods Mol. Biol*. 2017; 1627: 395–407. DOI: 10.1007/978-1-4939-7113-8_26
- Lemperle G., Morhenn V., Charrier U. Human Histology and Persistence of Various Injectable Filler Substances for Soft Tissue Augmentation. *Aesthetic Plast. Surg*. 2020; 44(4): 1348–1360. DOI: 10.1007/s00266-020-01827-7
- Courderot-Masuyer C., Robin S., Tauzin H., Humbert P. Evaluation of lifting and antiwrinkle effects of calcium hydroxylapatite filler. In vitro quantification of contractile forces of human wrinkle and normal aged fibroblasts treated with calcium hydroxylapatite. *J. Cosmet. Dermatol*. 2016; 15(3): 260–268. DOI: 10.1111/jocd.12215
- Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A., Sukhanov R.B., Atala A., Burdukovskii V., Zhang Y., Timashev P. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res. Ther*. 2019; 10(1): 94. DOI: 10.1186/s13287-019-1203-3
- Urciuolo F., Casale C., Imperato G., Netti P.A. Bio-engineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med*. 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
- Zhang Y., Liang H., Luo Q., Chen J., Zhao N., Gao W., Pu Y., He B., Xie J. In vivo inducing collagen regeneration of biodegradable polymer microspheres. *Regen. Biomater*. 2021; 8(5): rbab042. DOI: 10.1093/rb/rbab042
- Akinbiyi T., Othman S., Familusi O., Calvert C., Card E.B., Percec I. Better Results in Facial Rejuvenation with Fillers. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open*. 2020; 8(10): e2763. DOI: 10.1097/GOX.0000000000002763
- 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
- Zerbinati N., Calligaro A. Calcium hydroxylapatite treatment of human skin: evidence of collagen turnover through picrosirius red staining and circularly po-

- larized microscopy. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2018; 11: 29–35. DOI: 10.2147/CCID.S143015
24. Rooman I., De Medts N., Baeyens L., Lardon J., De Breuck S., Heimberg H., Bouwens L. Expression of the Notch signaling pathway and effect on exocrine cell proliferation in adult rat pancreas. *Am. J. Pathol.* 2006; 169(4): 1206–1214. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050926
25. Nayfeh T., Shah S., Malandris K., Amin M., Abd-Rabu R., Seisa M.O., Saadi S., Rajjoub R., Firwana M., Prokop L.J., Murad M.H. A Systematic Review Supporting the American Society for Dermatologic Surgery Guidelines on the Prevention and Treatment of Adverse Events of Injectable Fillers. *Dermatol. Surg.* 2021; 47(2): 227–234. DOI: 10.1097/DSS.0000000000002911

ВКЛАД АВТОРОВ

Могильная Г.М.

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

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

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

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

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление образцов, предоставление реактивов и оборудования для проведения анализа.

Фомичева Е.В.

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

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

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

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

Визуализация — подготовка визуализации данных.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических, вычислительных или других формальных 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 — conducting research, data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment; contribution to the scientific layout.

Approval of the final manuscript — 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 samples, reagents and equipment for analyses.

Fomicheva E.V.

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

Conducting research — conducting research, data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment; contribution to the scientific layout.

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

Visualisation — preparing data for visualisation.

Statistical analysis — application of statistical, mathematical, computing or other formal 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>

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>

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; тел.: +7 (918) 151-44-48;

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

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; tel.: +7 (918) 151-44-48;

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author