

4 Інволютивні зміни шкіри обличчя на базі морфологічних критеріїв у практиці естетичного хірурга

Макарчук О. І., Макарчук А. О.

4.1 Загальні властивості та гетерогенітет субпопуляцій фібробластів шкіри

Дермальні фібробласти – обов'язковий компонент шкіри; вони не тільки синтезують і організовують компоненти екстрацелюлярного матриксу дерми, але й взаємодіють один з одним і з іншими типами клітин, відіграючи визначальну роль у регуляції гістофізіології шкіри (Калантаевская К. А., 1972; Кошевенко Ю. Н., 2006). Інші резидентні клітини включають епідермальні, судинні і нервові клітини (Чернух А. М. и соавт., 1982; Ansel J. C. et al., 1996; Detmar M., 1996; Werner S., Smola H., 2001). Крім того, шкіра містить різні клітини гематогенного походження.

Дермальні фібробласти містять у собі конститутивну популяцію дендритних клітин і більш динамічну популяцію лейкоцитів, до складу якої входять моноцити (макрофаги), нейтрофіли і лімфоцити (Nestle F., Nickoloff B., 1995; Gonzal. ez-Ramos A. et al., 1996; Lugovic L. et al., 2001). Дермальні фібробласти представлені гетерогенною популяцією клітин, що обумовлено їх локалізацією в дермі. Дві субпопуляції фібробластів розташовуються в різних шарах дерми: папілярному і ретикулярному (Cormack D., 1987). Культивовані фібробласти кожного з цих шарів мають різні характеристики (Harper R. et al., 1979; Azzarone B., Macieira-Coelho A., 1982; Schafer I. et al., 1985; Sorrell J. et al., 1996; 2004). Третя група фібробластів пов'язана з волосяними фолікулами; ці клітини містяться в області дермальних сосочків фолікула й уздовж його осі (Reynolds A., Jahoda C., 1991; Jahoda C., Reynolds A., 1996). Ймовірно, можуть існувати й інші субпопуляції дермальних фібробластів; проте головна увага у цій лекції – характеристика субпопуляцій фібробластів, що демонструють стійкі та чітко виражені розходження гістофізіологічних властивостей.

Товщина папілярного шару дерми коливається у межах 300-400 мкм. Ця величина не постійна і залежить від таких факторів, як вік і анатомічне місце розташування. Як правило, поверхнева частина папілярного шару утворює структури, подібні до гірського хребта, – сосочки дерми, що містять мікросудинні і нервові компоненти, що підстилають епідерміс (Cormack D., 1987). Дермальні сосочки значно збільшують площу поверхні для епітеліально-мезенхімних взаємодій і доставки розчинних молекул до епідермісу (Михайлов И. Н., 1979). Судинне сплетення, *rete subpapillare*, визначає нижню межу папілярного шару. Ретикулярний шар дерми простирається від цього поверхневого судинного сплетення до більш глибокого судинного сплетення, *rete cutaneum*, що слугує межею між дермою і гіподермою. Волосяні фолікули й асоційовані з ними клітини розташовуються в сітчастому шарі, закінчуючись у гіподермі, збагаченій адипоцитами (Мяделец О. Д., Адаскевич В.П., 2006).

Механічний поділ шкіри на папілярний і ретикулярний шари дозволяє створювати культури експлантованих клітин кожного шару. Папілярні фібробласти діляться більш швидкими темпами, ніж поруч розташовані ретикулярні фібробласти (*Harper R. et al.*, 1979; *Azzerone B., Macieira-Coelho A.*, 1982; *Schafer I. et al.*, 1985; *Sorrell J. et al.*, 2004). Ретикулярні дермальні фібробласти, що розсіяні в сіті колагену I типу, скорочують їх швидше, ніж це роблять папілярні дермальні фібробласти (*Schafer I et al.*, 1985). Папілярні клітини при розростанні в культурі з утворенням моношару досягають більш високої щільності, частково внаслідок обмеженої контактної інгібіції (*Sorrell J. et al.*, 2004).

Папілярні і ретикулярні шари дерми відрізняються за складом і за організацією екстрацелюлярного матриксу. Папілярний шар характеризується тонкими, слабо організованими пучками колагенових волокон, які складаються, насамперед, з колагенів I і III типу, що контрастує з товстими, чітко організованими пучками волокон у ретикулярній дермі (*Cormack D.*, 1987). Колагенові пучки волокон у папілярному шарі дерми містять більше колагену III типу, ніж такі в ретикулярному шарі дерми (*Meigel W. et al.*, 1977). Інші молекули матриксу також по-різному розподілені між папілярним і ретикулярним шарами дерми.

Імуногістохімічні дослідження нормальної зрілої шкіри висвітлили структурні і композиційні розходження у вмісті протеогліканів. Протеоглікан декорин інтенсивно експресується в папілярному шарі, але інакше розподілений між пучками колагенових волокон у ретикулярній стромі. На противагу йому, версикан зв'язується з мікрофібрилами папілярного шару, але більш екстенсивно виражений у складі еластичних волокон ретикулярного шару (*Zimmermann D. et al.*, 1994; *Sorrell I. et al.*, 1999). Нефібрилярний колаген XII і XVI типів, поряд з тенасцином C, характерний для папілярної дерми; у той же час колаген IV типу і тенасцин X переважно обмежені ретикулярною дермою (*Lightner V. et al.*, 1993; *Walchli C. et al.*, 1994; *Lethias C. et al.*, 1996; *Berthod F. et al.*, 1997; *Akagi A. et al.*, 1999; *Grassel S. et al.*, 1999).

У експериментальних дослідженнях був проведений аналіз питання, чи виробляють культури папілярних і ретикулярних фібробластів різні кількості і типи позаклітинних матриксних молекул, що могло б пояснювати виявлені розходження у шкірі. Зокрема, у дослідженнях з культурами моношару *E. Schonherr et al.* (1993) знайшли, що папілярні дермальні фібробласти секретують значно більшу кількість декорину, ніж відповідні ретикулярні клітини; крім того з'ясувалося, що папілярні фібробласти містять більшу кількість мРНК декорину. На противагу цьому, обидві клітинні субпопуляції продукують рівні кількості біглікану. За результатами іншого дослідження, розташовані поруч папілярні і ретикулярні фібробласти відрізняються за відносними рівнями протеогліканів декорину і версикану, що вони синтезують (*Sorrell J. et al.*, 1999).

Фібробласти, що походять з верхніх, середніх і більш глибоких третин дерми, продукують різні кількості мРНК для α -1 колагену XVI типу (*Akagi A. et al.*, 1999). Навпроти, *S. Tajima* та *S. Pinnell* (1981) визначили кількість колагену I і III типів у моношарових культурах, щоб з'ясувати, чи можна за відмінностями у синтетичній здатності пояснювати відповідні розходження, які спостерігаються *in vivo*; вони не знайшли ніяких відмінностей у синтезі колагену I і III типів цими двома популяціями культуральних клі-

тин, хоча вони відзначили підвищену кількість проколагену типу I у культуральному середовищі папілярних фібробластів. Таким чином, культури папілярних і ретикулярних фібробластів демонструють стійкі розходження у продукції деяких, але не усіх, молекул позаклітинного матриксу.

Епідерміс шкіри щільно зрощений з підлеглою дермою за допомогою складної мультимолекулярної структури – базальної мембрани (*Burgeson E., Christiano A., 1997; Aumailley M., Rousselle P., 1999*). Організація базальної мембрани, як морфологічно сформованої структури, забезпечується спільними зусиллями кератиноцитів і фібробластів (*Fleischmajer R. et al., 1993; Marinkovich M. et al., 1993; Smola H. et al., 1998; Moulin V. et al., 2000; Чепурненко М. Н. и соавт., 2004*). *M. Marinkovich* (1993) вивчив клітинне походження різних молекул базальної мембрани, досліджуючи еквіваленти шкіри, які містять кератиноцити бика і дермальні фібробласти людини, з певним різновидом анти-тіл. Колаген IV і VII типів, а також ламінін-1, синтезовані фібробластами, виявилися в лінійній залежності від дермально-епідермальних контактів. Кератиноцити також виробляють і організують колаген IV і VII типів, багато типів ламінінів і перлекан. В інших дослідженнях було доведено, що фібробласти є основним джерелом ентактину (*Contard P. et al., 1993; Fleischmajer R. et al., 1995*).

Слід зауважити, що спільне культивування фібробластів і кератиноцитів змінює активність обох типів клітин. Кератиноцити індукують експресію трансформуючого фактора росту (*TGF-2*) дермальними фібробластами (*Smola H. et al., 1994*). Фібробласти регулюють продукцію ламінінів і колагенів VII типу кератиноцитами, можливо опосередковано через *TGF-2* (*Konig A., Bruckner-Tuderman L., 1991, 1994; Monical P., Kefalides N., 1994*). Кінетика формування базальної мембрани також була вивчена в органотипічних спільно культивованих моделях, у яких фібробласти або були включені, або відсутні. Певні компоненти базальної мембрани поступово з'являлися в дермально-епідермальних контактах, проте кінетика даного процесу змінювалась у залежності від наявності або відсутності фібробластів. Зокрема, продукція колагену IV типу, ламініну-1 і колагену VII типу кератиноцитами, культивованими без фібробластів, була значно загальмована або була відсутня. На стороні дерми встановлені рівні мРНК колагену IV типу у фібробластах були значно збільшені в присутності кератиноцитів. Отже, це дослідження свідчить про те, що елементи синтезу базальної мембрани спільно регулюються фібробластами і кератиноцитами.

Не всі дермальні фібробласти взаємодіють з кератиноцитами в однаковому ступені при формуванні базальної мембрани. Було доведено, що міофібробласти, отримані з ділянок рани, не підтримують диференціювання кератиноцитів і формування базальної мембрани, також як і нормальних дермальних фібробластів (*Moulin V. et al., 2000*). Була порівняна здатність поруч розташованих папілярних і ретикулярних дермальних фібробластів підтримувати утворення базальної мембрани (*Sorrell J. et al., 2004*). Папілярні дермальні фібробласти стимулювали утворення базальної мембрани швидше в присутності ретикулярних фібробластів. Тому автори припускають, що фібробласти, які межують з епідермісом, можуть або продукувати більшу кількість позаклітинних матричних компонентів базальної мембрани, або виробляти розчинні фактори, що впливають на

кератиноцити, для відновлення базальної мембрани.

Фібробласти беруть участь у паракринних і аутокринних взаємодіях у шкірі (*Gilchrist B. A. et al.*, 1983; *Boxman I. et al.*, 1993; *Smola H. et al.*, 1993; *Kupper T. S., Groves R. W.*, 1995; *Moulin V.*, 1995; *Schroder J.*, 1995; *Slavin J.*, 1996; *Smith R. S. et al.*, 1997; *Kondo S.*, 2000; *Werner S., Smola H.*, 2001). Була створена культуральна система, у якій охарактеризовані мезенхімні клітини, що підтримують ріст зрілих кератиноцитів людини (*Rheinwald J. G., Green, H.*, 1975). Це дозволило провести ідентифікацію мезенхімних факторів, що регулюють проліферацію кератиноцитів, включаючи фактор росту кератиноцитів (*KGF-1*). Це – представник сімейства фактора росту фібробластів, що синтезується винятково мезенхімними клітинами (*Rubin J. S. et al.*, 1995; *Werner S.*, 1998). З іншого боку, рецептор до *KGF-1* експресують, а отже і реагують на *KGF-1* лише епітеліальні клітини. Фібробласти також виробляють інші фактори, що регулюють проліферацію культуральних кератиноцитів і загоєння ран; вони включають (*Waelti E. R. et al.*, 1992; *Boxman I. et al.*, 1993; *Rubin J. S. et al.*, 1993; *Smola H. et al.*, 1993; *Sato C. et al.*, 1995; *Igarashi M. et al.*, 1996; *Blomme E. et al.*, 1999; *Breuhahn K. et al.*, 2000; *Mann A. et al.*, 2001; *Marchese C. et al.*, 2001; *Werner S., Smola H.*, 2001):

- гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (*GM-CSF*);
- фактор росту фібробластів 10 типу (також відомий як *KGF-2*);
- паратироїд-гормон зв'язуючий білок;
- фактор росту гепатоцитів або фактор, що розсіює (*HGF/SF*);
- епідермальний фактор росту (*EGF*);
- інтерлейкін 6 (*IL-6*).

Фібробласти виробляють фактори росту (цитокіни), що відіграють істотну роль у загоєнні ран, модулюючи активність кератиноцитів. Виявилось, що спільне культивування фібробластів і кератиноцитів призводить до підвищення рівнів мРНК *KGF-1*, *IL-6* та *GM-CSF* (*Smola H. et al.*, 1993). Рівень мРНК *KGF-1* і кількість білка, продукованого культивованими фібробластами в середовище культури, позитивно регулювалися обробкою цих клітин *IL-1* (*Brauchle M. et al.*, 1994; *Chedid M. et al.*, 1994; *Maac-Szabowski N., Fusenig N.*, 1996). *KGF-1*, у свою чергу, збільшував продукцію *IL-1* кератиноцитами. Таким чином, в ситуаціях, де співіснують дермальні фібробласти і кератиноцити, встановлюється своєрідна паракринна петля (*Maac-Szabowski N. et al.*, 1999).

Розчинні фактори, що синтезуються фібробластами, не мають індуктивних властивостей відносно інтерфолікулярних кератиноцитів. Проте, ці фактори можуть модулювати певні аспекти формування епідермальних структур. Надмірна експресія *KGF-1* веде до гіперпроліферації епідермісу, що може бути результатом посиленої проліферації базальних кератиноцитів і пригнічення термінального диференціювання (*Guo L. et al.*, 1993; *Hines M. D., Allen-Hoffmann, B. L.*, 1996; *Szabowski A. et al.*, 2000; *Andreadis S. T. et al.*, 2001). У великих кількостях *KGF-1* може також обумовлювати згладжування базальної поверхні епідермісу (*Andreadis S. T. et al.*, 2001). На противагу цьому, надмірна експресія *GM-CSF* призводить до підвищення рівня апоптозу культивованих кератиноцитів, а суперекспресія *KGF-2* може прискорювати диференціювання кератиноцитів (*Breuhahn K.*

et al., 2000; *Suzuki K. et al.*, 2000; *Marchese C. et al.*, 2001). Ці спостереження дозволили сформулювати гіпотезу, що епідермальна відповідь на молекули, синтезовані фібробластами, залежить від співвідношення цих факторів.

Було запропоновано, що співвідношення між *KGF-1* та *GM-CSF*, що потрапляють до епідермальних клітин, визначає статус цієї епітеліальної тканини (*Maac-Szabowski N. et al.*, 2001). Поряд розташовані папілярні і ретикулярні дермальні фібробласти значно відрізняються за продукцією *KGF-1* і *GM-CSF* у середовище культури: як правило, відношення *GM-CSF* до *KGF-1* вище у папілярних фібробластів, ніж у відповідних ретикулярних клітин (*Sorrell J. M. et al.*, 2004). Таким чином, ці дві субпопуляції клітин виявляють тонкі розходження в проліферації та диференціюванні епідермісу.

Волосяні фолікули – похідні шкіри, сформовані переважно клітинами епідермального походження, проте мезенхімні клітини дерми відіграють життєву роль в їхньому формуванні в ембріональній шкірі і не менш істотну роль – у регулюванні їхнього циклічного росту і стадій регресу у зрілій шкірі (*Kulesa H. et al.*, 2000; *Botchkarev V. A.*, 2003). В ембріональному періоді взаємні індуктивні події між відокремленими дермальними й епідермальними клітинами відбуваються за чітким просторово-часовим характером. Вважається, що спочатку гіпотетичний сигнал, що виходить від дерми, стимулює формування стовщених епідермальних плакод (*Holbrook K. I, Minami S.*, 1991; *Hardy M. H.*, 1992; *Millar S. E.*, 2002; *Botchkarev V. A. et al.*, 1999; *Botchkarev V. A. et al.*, 2002). Диференційовані епідермальні клітини забезпечують другий сигнал, що стимулює обмежені мезенхімні клітини до ущільнення і формування певної групи клітин безпосередньо під епідермальними плакодами (*Holbrook K., Minami S.*, 1991; *Hardy M. H.*, 1992). Ці клітини стимулюють проліферацію епідермальних клітин у плакодах, що веде до появи волосяних фолікулів глибоко в дермальному матриксі (*Hardy M. H.*, 1992; *Millar S. E.*, 2002; *Botchkarev V. A.*, 2003).

Водночас з цим стиснуті мезенхімні клітини синтезують протеази, що очищають шлях для їхнього вrostання усередину фолікулів (*Karelina T. V. et al.*, 1993, 1994, 2000). Як тільки подовження завершується, кератиноцити в області матриксу (в основі фолікула) огортають клітини дермальних сосочків і залишають вузький отвір, через який проходять судини і нерви (*Hardy M. H.*, 1992; *Millar S. E.*, 2002; *Botchkarev, V. A.* 2003). Конденсовані мезенхімні клітини також призводять до збільшення другої популяції дермальних клітин протягом періоду, у якому фолікули активно втручаються до дермального матриксу. Ці дермальні клітини формують тканини тонкої сполучної півхи навколо фолікула (*Jahoda C., Reynolds A.*, 2000).

Фібробласти відіграють критичну роль у регенерації шкірних ран (*Martin P.*, 1997; Чепурненко М. Н., 2006). Ці клітини притягнуті до ділянок рани локальною продукцією факторів росту (цитокінів), таких як фактор росту тромбоцитів (*Pierce G. F. et al.*, 1991). Перша хвиля фібробластів проникає в ділянку рани по ходу судин, що врастають. Ці клітини диференціюються в спеціалізований, але функціонально динамічний і тимчасовий тип клітин – так звані міофібробласти (*Sappino A. P. et al.*, 1990).

Міофібробласти у відповідь на фактори, що виробляються моноцитами (макрофага-

ми), синтезують тимчасовий матрикс рани, який збагачений на ембріональний фібронектин і гіалуронову кислоту (Clark R., 1990; Gailit J., Clark R., 1994; Juhlin L., 1997; Gailit J., Clark R., 1999). Ці клітини також відіграють провідну роль у стягуванні рани (Sappino et al., 1990). Міофібробласти зникають з ділянки рани, очевидно, за рахунок апоптозу і згодом замінюються другою хвилею фібробластів, що ініціюють формування колагенового матриксу. Проте, ця їхня здатність призводить до формування рубцевої тканини (Gailit J., Clark R., 1994; Shah M. et al., 1994; Shah M. et al., 1995; Gailit J., Clark R., 1999). Необхідно підкреслити, що ембріональна шкіра відновлюється без формування рубця (Adzick N. S., Lorenz H. P., 1994; Armstrong J. R., Ferguson M., 1995; Liechty K. W. et al., 2000). Це обумовлено, головним чином, розходженнями фенотипів ембріональних і зрілих фібробластів (Schor S. L. et al., 1985; Olsen D. R., Uitto J., 1989; Cullen B. et al., 1997; Gosiewska A. et al., 2001). Низький рівень продукції цитокінів ембріональними клітинами, особливо TGF- β 1, ймовірно, є головною причиною відсутності формування рубцевої тканини (Shah M. et al., 1994, 1995; Eckes B. et al., 2000). Аномальні за фенотипом фібробласти також, очевидно, роблять внесок у фіброзні порушення типу утворення келоїдних структур і склеродерми (Garner W. L. et al., 1993; Ghahary A. et al., 1994, 1996; Sollberg S. et al., 1994; Kirk T. Z. et al., 1995; Nakaoka H. et al., 1995; Herrick, S. E. et al., 1996; Hasan A. et al., 1997; Agren M. S. et al., 1999; Чепурненко М. Н. и соавт., 2007). На більш пізніх стадіях процесу істотну роль відіграють сигнали типу TGF- β 1 і фактор росту сполучної тканини (Grotendorst G. R., 1997).

Використання тривимірних органотипових культур для вивчення тканиноспецифічного моделювання у даний час істотно розвивається (Schmeichel K. L., Bissell M. J., 2003). Еквіваленти шкіри і дерми були серед перших взірців таких органотипових культур (Bell E. et al., 1979, 1981, 1983; Asselineau D. et al., 1986). Ці культури забезпечують засіб для базових досліджень біології шкіри, тестування агентів для місцевого застосування, а також як шкірна трансплантація. Наприклад, старіння шкіри під впливом факторів навколишнього середовища (зокрема, хронічного ультрафіолетового опромінення) обумовлює потребу в додаткових косметичних засобах, проте й викликає підвищений ризик виникнення онкологічних процесів у шкірі (Gilchrest B. A., 1996). F. Bernerd, D. Asselineau (1997) дослідили ефекти ультрафіолетової радіації на моделі штучного еквівалента шкіри і довели, що клітини «загару» утворювалися в епідермісі в результаті гострого опромінення майже в такий же спосіб, як це відбувається в натуральній шкірі. Крім того, негативна регуляція маркерів диференціювання кератиноцитів відбувалася в короткий відрізок часу після впливу ультрафіолету B-спектру. Ці ситуації були відновлені в еквівалентах шкіри, існування яких підтримувалося в культурі протягом тривалого періоду часу. В іншому дослідженні ці ж автори виявили, що опромінення A-спектром ультрафіолетової радіації викликає реакції, специфічні для дермального компартменту шкірного еквіваленту (Bernerd F., Asselineau D., 1998). Фібробласти у поверхневих відділах дермального компоненту шкірної моделі зазнавали апоптотичних змін і зникали з конструкції. Після цього відбувалася стимуляція проліферації фібробластів на дні моделі шкіри, а також їх міграція у поверхневій ділянці структури. Це супроводжувалося збільшенням синтезу матриксних металопротеїназ резидентними фібробластами, що, можливо, до-

зволило клітинам мігрувати в межах колагенового гелю.

M. Michel et al. (1993) досліджували штучні еквіваленти шкіри як потенційні інструменти для черезшкірного транспорту речовин. Вони знайшли, що поглинання хімічних агентів залежить від товщини епідермісе і особливо – його рогового шару. Цей процес, відтворений при використанні мишей, не був цілком еквівалентний тому, що спостерігається у людини, але виявився цілком достатнім для використання як ефективною моделі для біологічних, фармакологічних і біохімічних дослідів. Увага дослідників до моделей шкіри, що містять інші типи клітин (типу імунокомпетентних, судинних ендотеліальних та ін.) (*Regnier M. et al.*, 1997; *Guironnet G. et al.*, 2001; *Ponec M.*, 2002), могла б також скласти адекватне підґрунтя для розуміння загальнобіологічних, хронологічних і адаптаційно-репараційних процесів у шкірі.

Фібробласти представлені різноманітними популяціями клітин. Фенотипові розходження виявляються в різних напрямках (*Fries K. M. et al.*, 1994; *Smith R. S. et al.*, 1997; *Doane K. J., Birk D. E.*, 1991; *Limeback H. et al.*, 1982; *Derdak S. et al.*, 1992; *Stephens P. S. et al.*, 2001):

- продукції й організації екстрацелюлярного матриксу;
- синтезі факторів росту (цитокінів);
- участі у запальних реакціях.

У межах локалізації різноманітність фібробластів визначається їх взаємовідношенням у контексті епідермальних структур: папілярні, ретикулярні й асоційовані з волосяними фолікулами фібробласти відрізняються один від одного. Інший тип різноманітності заснований на анатомічному місці розташування в межах тіла: інтерфолікулярні фібробласти скальпа, лица, тулуба, кінцівок тощо демонструють тонкі відмінності. Менше в даний час відомо про ці розходження між фібробластами в межах однієї локалізації. *H. Y. Chang et al.* (2002) показали, що дермальні фібробласти людини, отримані з різних анатомічних ділянок, експресують різні *homeobox*-фактори транскрипції. Сімейство транскрипційних факторів *AP-1* є важливим для регуляції тих молекул, які регулюють епітеліально-мезенхімні взаємодії, клітинну проліферацію і продукцію екстрацелюлярного матрикса (*Angel P., Szabowski A.*, 2002; *Shaulian E., Karin M.*, 2002). Папілярні і ретикулярні дермальні фібробласти відрізняються за цими характеристиками, тому подальші дослідження, пов'язані з цим сімейством факторів, могли б допомогти у розумінні розходжень між субпопуляціями дермальних фібробластів.

Розмаїтість фібробластів у шкірі піднімає низку питань, для відповіді на які необхідно провести додаткові серії експериментальних досліджень. Індуктивні впливи від епідермісу призводять до диференціювання фібробластів, асоційованих з волосяними фолікулами; однак фактори або події, що приводять до диференціювання папілярних і ретикулярних клітин, залишаються невідомими. Крім того, залишається вкрай обмеженим наше уявлення про фізіологічні характеристики, що відрізняють папілярні фібробласти від ретикулярних. Додаткова інформація в цьому напрямку розширить наше розуміння функції фібробластів у шкірі. Відомості про значення *homeobox*-генів сімейства *AP-1* і їхню регуляцію у визначенні гетерогенітету фібробластів у даний час обмежені. Зростаючої впевненості додають нові дослідження із застосуванням тривимірних еквівалентів

шкіри для біологічних і клінічних цілей, що дозволить враховувати характеристики того або іншого різновиду фібробластів при їх диференційованій індукції або використанні в конкретних ситуаціях. Отже, необхідно зауважити, що термін «дермальний фібробласт» є надмірним спрощенням. У дійсності, дермальні фібробласти – динамічна, різноманітна та поліфункціональна популяція клітин. Це означає, що ми повинні бути більш уважними, даючи визначення популяції дермальних фібробластів, що використовуються в експериментальних і клінічних дослідженнях. Ми лише починаємо розуміти функцію цих клітин у визначенні структури й організації шкіри та її складних міжклітинних взаємодій. У подальшому належить виконати багато експериментальної роботи для розуміння і більш повної оцінки різних субпопуляцій фібробластів у складі шкіри.

4.2 Діагностика ступеня інволютивних змін шкіри обличчя на ґрунті морфологічних критеріїв і за допомогою апарату «Light Check-up»

Доцільність використання морфологічних даних для вибору методів хірургічного лікування пацієнтів з інволютивними та патологічними змінами шкіри є встановленим і добре обґрунтованим фактом (Белоусов В. А., 1998; *Toth B. A., Daane S. P.*, 2004; *Adamson P. A., Litner J. A.*, 2005; *Sclafani A. P., Kwak E.*, 2005; *McCarty M. L., Brackup A. B.*, 2005; Харьков А. Л., 2006). У сучасній естетичній хірургії, як і в інших хірургічних галузях, саме морфологічні критерії виявляються найбільш адекватними для оцінки структурно-функціонального стану тканин (*Agarwal A. et al.*, 2005). При цьому точність такої оцінки зростає при залученні значної кількості морфологічних характеристик, особливо якщо вони квантифіковані.

Проте повсякденна практика естетичного хірурга свідчить про те, що використання морфологічних досліджень у даному напрямку має низку суттєвих обмежень:

- по-перше, це складність проведення морфометричного дослідження та інтерпретації морфологічної картини на ґрунті багатьох кількісних параметрів;
- по-друге, це неможливість використання інтраопераційного матеріалу шкіри для індивідуалізованої передопераційної підготовки пацієнтів і вибору конкретної оперативної тактики під час самого втручання;
- по-третє, залишається проблематичним проведення морфологічного дослідження в динаміці, що утруднює використання цих даних у післяопераційному періоді;
- нарешті, обмеження одноразового гістологічного дослідження інтраопераційного матеріалу не передбачає можливості для адекватного співставлення та порівняльного аналізу ефективності різних хірургічних підходів з урахуванням індивідуальної морфологічної картини.

Перспективним напрямком подолання означених обмежень стало залучення у практику естетичної хірургії спеціалізованих методів апаратної діагностики стану шкіри на основі доплерівських, ультразвукових та електрофізичних принципів. Це вирішило питання як передопераційного обстеження, так і оцінки динаміки післяопераційного періоду; однак цілеспрямоване вивчення відповідності між апаратними і морфологічними критеріями стану шкіри до цього часу не проводилося.

Автори досліджували інтраопераційний біопсійний матеріал шкіри, а також здійснювали паралельну апаратну діагностику («*Light Check-up*», *RBV*, Італія) шкіри жінок віком від 19 до 73 років при проведенні традиційних, ендоскопічних і композитних хірургічних втручань для корекції інволютивних дефектів шкіри обличчя і шиї. Розподілення матеріалу за віковими групами проводили з урахуванням рекомендацій В. В. Бунака, наведених у посібнику «Морфология человека» (1990). Були досліджені такі вікові групи:

- 1 вікова група – до 32 років;
- 2 вікова група – 33-40 років;
- 3 вікова група – 41-50 років;
- 4 вікова група – 51-57 років;
- 5 вікова група – 58 років і більше.

Усі досліджувані зразки шкіри у перших трьох вікових групах отримували у пременструальній фазі циклу.

У кожній віковій групі морфологічно опрацьовували матеріал від 20 об'єктів (всього 100 жінок), вивчаючи інтраопераційні біоптати розміром 3,3 мм з периферійних ділянок шкіри щічної області обличчя. Зразки шкірних біоптатів фіксували у рідині Буена, обробляли у висхідній концентрації етанолу та виготовляли парапластові блоки за стандартною методикою. Серійні зрізи тканини виготовляли завтовшки 7 мкм та фарбували гематоксилін-еозином, резорцин-фуксином, альціановим синім – за Ван Гізоном, за Вейгертом, за Маллорі–Слінченком; конго червоним – за Матсуура, за Пачіні.

Електронну мікроскопію інтраопераційних біоптатів проводили у 15 жінок (три пацієнтки від кожної з п'яти вікових груп). Виготовлення ультратонких зрізів проводили на ультрамікротомі УМТП-5 з блоків, залитих в епон-аралдит. Дослідження проводили на електронному мікроскопі ЕМВ-100Б при напрузі 75 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000. У цілому, електронно-мікроскопічне дослідження проводили за схемою, запропонованої В. Я. Карупу (1984). Кількісну оцінку ультраструктурних змін, включаючи визначення ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони і співвідношення конденсованого і деконденсованого хроматину дермальних фібробластів, проводили з використанням оригінальної методики (деклараційний патент України № 59109).

У кількісному гістологічному дослідженні вивчали:

- відносний об'єм мікросудин гемомікроциркуляторного русла у сосочковому та сітчастому шарах дерми окремо методом крапкового рахунку (Автандилов Г. Г., 1990);
- середній діаметр артеріол підсосочкової сітки, венул поверхневого та глибокого підсосочкових сплетень, внутрішньососочкових капілярів та основи внутрішньососочкових капілярних петель за допомогою окуляр-мікромметра МОВ 1-14.

Морфометрично вивчали:

- товщину базального, остистого та зернистого шарів епідермісу;
- чисельну щільність ядер кератиноцитів і їх мітотичний індекс;
- чисельну щільність фібробластів дерми;
- відносний об'єм колагенових і еластичних волокон.

За допомогою апарату «*Light Check-up*» (*RBV*, Італія) у 228 пацієнток вивчали:

- рівень гідратації епідермісу;
- *pH* епідермісу;
- стан кислотної гідроліпідної плівки;
- рівень загальної, внутрішньоклітинної та міжклітинної гідратації шкіри;
- рівень стресової напруги і біологічний вік шкіри;
- відносний вміст колагену та еластину.

Квантифіковані результати піддавали статистичній обробці, що включала:

- аналіз статистичного розподілення величин за допомогою критерію *J* Ястремського;
- визначення достовірності відмінностей між першою (до 32 років) та наступними віковими групами з урахуванням критерію *t* Стьюдента (нормальне розподілення) або *X*-критерію Ван-дер Вардена (відхилення від нормального розподілення).

Парний кореляційний аналіз проводили для кількісної оцінки ступеня взаємозв'язку між вивченими структурно-функціональними характеристиками шкіри на основі обчислення коефіцієнта лінійної кореляції (Лакин Г.Ф., 1990).

Дисперсійний аналіз ортогональних комплексів проводили для кількісної характеристики сили впливу хронологічного фактора на кількісні морфологічні і апаратні показники на основі обчислення *F*-критерію Фішера з подальшою оцінкою сили впливу чинника за методом Снедекора (1961). Розрахунки інтегральних параметрів стану шкіри кожної пацієнтки за блоками морфологічних і апаратних критеріїв ґрунтували на принципах політетичного кластерного аналізу (Bailey K., 1985), використовуючи формулу:

$$d = \sqrt{\left[\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_M - x_N}{\sigma_i} \right)^2 a_i^2 \right]},$$

де *n* – число кількісних показників, що складають блок морфологічних або апаратних критеріїв; *x_i* – позначення *i*-го показника; *a_i* – коефіцієнт діагностичної вагомості (значущості) *i*-го показника серед інших показників; *σ_i* – середнє квадратичне відхилення *i*-го показника.

Кількісна оцінка вікової динаміки товщини функціонально активного компоненту епідермісу (базального, остистого та зернистого шарів) виявила істотну редукцію параметра. У щічній області обличчя достовірне стоншення епідермісу виявлялося починаючи з третьої вікової групи, проте у даній групі чисельна щільність ядер кератиноцитів і їх мітотичний індекс суттєво не змінювались. Достовірне зростання щільності епітеліальних ядер, тобто зменшення розмірів клітин відзначалося лише у пацієнток 5-ї групи.

Мітотична активність залишилась стабільною до 50 років, але в подальшому значно зменшувалась – на 26,3 % (4 група) і 52,2 % (5 група) у порівнянні з показниками 1-ї вікової групи. Найбільш виразні зміни реєструвались при проведенні ультраструктурного дослідження. Зокрема, вже у 2-й віковій групі у складі базальних кератиноцитів спостерігалися прояви деструкції мітохондріальних крист, причому ступінь кристалізу значно зростав з віком. У пацієнток після 40 років часто виявлялися ознаки порушення міжклітинних контактних структур остистого і зернистого шарів епідермісу. Морфометрич-

но відзначалося різке зростання рівня вакуолізації клітин гермінативної зони. У старших вікових групах, поряд з ушкодженням мітохондрій спостерігалися численні порушення тонофібрил та інших органел.

Гістологічно у щічній області обличчя стоншення епідермісу було нерівномірним і супроводжувалось формуванням груп клітин з порушеними тинкторіальними властивостями.

Вікова динаміка змін відносного об'єму мікросудин у складі різних шарів дерми мала протилежну спрямованість. У сосочковому шарі дерми спостерігалось істотне зниження щільності мікросудин; відносний об'єм ГМЦР щічної області був нижче, ніж відповідний показник у 1-й віковій групі:

- у 2 віковій групі – на 15,1 %;
- у 3 віковій групі – на 28,2 %;
- у 4 віковій групі – на 23,6 %;
- у 5 віковій групі – на 34,2 %.

Усі зазначені зміни були статистично вагомими. На відміну від цього, у сітчастому шарі дерми відзначалося зростання щільності судин ГМЦР. Зокрема, у жінок 4-ї і 5-ї вікових груп відносний об'єм мікросудин у 1,5 разу перевищував показники 1 групи, причому найбільш стрімке зростання параметра відбувалося у період після 50 років. Враховуючи, що найбільш об'ємним судинним компонентом сітчастого шару дерми є артеріоли, можна пояснити зростання відносного об'єму ГМЦР зі зменшенням вазоспастичного впливу естрогенів у жінок старших вікових груп.

Отже, у сосочковому шарі дерми, де переважають капілярні і венозні мікросудини, вікові зміни ГМЦР супроводжуються поступовою редукцією відносного об'єму мікросудинного русла. У сітчастому шарі дерми, де переважають артеріюлярні мікросудини, відбувається зростання відносного об'єму ГМЦР у жінок старших вікових груп. Морфометричне вивчення діаметра артеріол підсосочкової судинної сітки підтвердило припущення про роль вазоспастичного впливу естрогенів на стан гладком'язового компоненту у складі мікросудинної стінки. У 2-й віковій групі виявлялася статистична тенденція до зменшення зовнішнього діаметра артеріол; у 3-й групі – така ж тенденція до збільшення; після 50 років відзначалося стійке зростання і стабілізація параметра на рівні, що на 24-29 % ($p < 0,05$) перевищував значення, установлені для 1-ї вікової групи.

Зміни зовнішнього діаметра венул у складі глибокого і поверхневого підсосочкових сплетень мали різну спрямованість. Зокрема, у жінок 2-ї вікової групи спостерігалася тенденція до певного збільшення параметра; після 41 року спостерігалось звуження мікросудин дренажної ланки, яке поступово прогресувало до закінчення періоду спостережень. У жінок 5-ї вікової групи діаметр венул підсосочкових сплетень значно поступався відповідним величинам 1 вікової групи – на 30,6 % ($p < 0,05$), що є наслідком двох загальнотканинних інволютивних змін шкіри – стоншення обох шарів дерми і зовнішнього стискання безм'язових мікросудин ущільненим фібрилярним каркасом сполучнотканинного мікрооточення.

Морфометричне дослідження гемакапілярів сосочкових петель, які безпосередньо відповідають за адекватність трофічного забезпечення гермінативної зони епідермісу, не виявило суттєвих змін у шкірі жінок віком до 40 років. У старших вікових групах спосте-

рігалося збільшення зовнішнього діаметра внутрішньососочкових гемокапілярів на фоні їх звуження в основі капілярних петель. Розширення внутрішньососочкової капілярної петлі, у порівнянні з 1 групою, становило ($p < 0,05$):

- у 3 віковій групі – 41,0 %;
- у 4 віковій групі – 49,4 %;
- у 5 віковій групі – 67,5 %.

В основі капілярних петель у 3-5 вікових групах спостерігалось поступове зменшення зовнішнього діаметра мікросудин. Зміни у старших вікових групах, що обумовлені ущільненням колагенового матриксу навколо основи капілярних петель, супроводжувались перикапілярним набряком, ознаками стазу і сладжування еритроцитів, а також помірною навколосудинною лімфоцитарною інфільтрацією. Отже, вікові перебудови внутрішньососочкової капілярної петлі включають утворення локальних розширень гемокапілярів у внутрішньососочковому просторі, звуження початкових і кінцевих сегментів петлі у підсосочковій ділянці, що супроводжується порушеннями циркуляції і обмеженням транскапілярного обміну.

Чисельна щільність фібробластів у складі дерми у віковому аспекті змінювалась характерним чином і мала фазовий характер: до 50 років спостерігалась тенденція до зростання параметра, потім – до його зменшення, але статистично вагомою зміна щільності фібробластів виявилась лише у жінок 5 вікової групи. При гістологічному і ультраструктурному дослідженні у жінок 3-5 вікових груп дерма щічної області обличчя містила переважно фібробласти з обмеженою функціональною активністю. Співвідношення між гетерохроматином і еухроматином, яке є одним з критеріїв транскрипційної діяльності клітин, виявляло тенденцію до зростання, яка у 5 віковій групі набувала достовірності. Заслуговує на увагу той факт, що відносний об'єм колагенових волокон залишався без істотних змін до 57 років. Враховуючи дані щодо зменшення щільності фібробластів та обмеження їх синтетичної активності у жінок 4 вікової групи, можна заключити, що у період від 41 до 57 років відбувається накопичення стабільного, але інертного колагену на фоні значного пригнічення його оновлення. Наслідком подальших дистрофічних і атрофічних процесів у дермі було зниження відносного об'єму колагенових волокон у 5 віковій групі на 20,3 % ($p < 0,05$). Вікова динаміка відносного об'єму еластичних волокон виявлялася в закономірному зниженні показника починаючи з 3 групи дослідження (на 29,2 %; $p < 0,05$). Більш ранні інволютивні зміни еластичного компоненту дерми пов'язані з метаболічними особливостями еластину, який є більш лабільним білком, не здатним до утворення стабільних форм. У 4 і 5 вікових групах відзначалося різке зниження відносного вмісту колагенових волокон (на 43,8 % і 56,3 % відповідно). Наведені дані свідчать про те, що з віком дермальні фібробласти не лише зменшують свою функціональну активність, а й змінюють синтетичний профіль фібрилярних білків від еластинів до колагенів.

Отже, морфологічне дослідження, включаючи дані електронної мікроскопії, дозволило виявити різноманітні ознаки інволютивних змін шкіри щічної області обличчя, причому динаміка вивчених параметрів мала різну спрямованість і інтенсивність, а середні значення цих параметрів по різному варіювали по вікових групах.

За даними дисперсійного аналізу, віковий фактор найбільшою мірою визначав варіювання:

- товщини епідермісу;
 - відносного об'єму еластичних волокон дерми,
- а також усього комплексу морфометричних параметрів ГМЦР шкіри:
- відносного об'єму мікросудин обох шарів дерми;
 - планіметричних показників артеріол, венул і гемокапілярів.

Меншою мірою від впливу вікового фактора залежало варіювання ультраструктурних параметрів:

- ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони;
- співвідношення конденсованого і деконденсованого хроматину фіброblastів.

Не мали суттєвої залежності від віку:

- значення чисельної щільності епітеліальних ядер;
- мітотичний індекс кератиноцитів;
- чисельна щільність фіброblastів;
- відносний об'єм колагенових волокон, –
що пов'язано, на наш погляд, з їх значною індивідуальною мінливістю.

Дослідження шкіри щічної області обличчя у жінок різних вікових груп за допомогою апарату «*Light Check-up*» показало, що показники епідермальної гідrataції надзвичайно широко варіюють у всіх досліджених вікових групах.

Незважаючи на чітку тенденцію до поступового зниження гідrataції епідермісу з віком, лише у 4 і 5 групах зміни набували статистичної вагомості при рівні $p < 0,05$. Навпроти, варіювання рівня *pH* було дуже незначним, проте і зміни даного досить стабільного параметра були не істотними. Показники стану кислотної гідроліпідної плівки у 2 віковій групі достовірно поступалися значенням 1 групи на 20,9 % і в подальшому майже не змінювалися. Рівень загальної гідrataції шкіри тривалий час залишався без істотних змін: лише після 58 років параметр статистично вагомо поступався значенням, встановленим у 1 віковій групі. Проте необхідно зазначити, що баланс між внутрішньоклітинною та міжклітинною гідrataцією був більш чутливим до вікових морфологічних перебудов шкіри. Зокрема, достовірно зростання рівня міжклітинної рідини шкіри щічної області обличчя відзначалося вже у 2 віковій групі (на 24,5 % у порівнянні з 1 групою). Протилежна динаміка, тобто чітка тенденція до зниження, спостерігалася відносно внутрішньоклітинної гідrataції. Отже, загальна вікова динаміка у дисбалансі гідrataції шкіри полягала у зростанні міжклітинної рідини і зменшенні внутрішньоклітинної рідини.

Апаратні дані щодо оцінки вмісту дермального колагену й еластину, у цілому, виявили зменшення значень з віком. Слід зауважити, що показники відносного вмісту колагену, варіюючи в широких межах у всіх вікових групах, достовірно поступалися значенням 1 групи лише у пацієток 5 групи (старше 58 років). Навпроти, відносний рівень еластину залишався незмінним лише до 40 років, а в подальшому достовірно і різко знижувався у порівнянні з показником 1 групи:

- у 3 віковій групі – на 34,3 %;

- у 4 віковій групі – на 43,8 %;
- у 5 віковій групі – на 55,2 %.

Отже, дані апаратної діагностики виявили певні тенденції вікових змін стану шкіри щічної області обличчя, проте є очевидною їх неоднакова діагностична цінність для загальної оцінки інволютивного статусу шкіри. Дисперсійний аналіз впливу вікового фактора на варіювання досліджуваних апаратних параметрів встановив, що найбільшою мірою фактор хронологічного віку визначав варіювання ($p = 0,01$):

- рівнів стресової напруги шкіри (на 81,0 %);
- міжклітинної гідратації шкіри (на 75,2 %).

Меншою мірою від впливу вікового фактора залежало варіювання:

- апаратних показників епідермальної гідратації;
- внутрішньоклітинної гідратації шкіри;
- біологічного віку шкіри;
- відносного вмісту еластину.

Не мали достовірної залежності від вікового фактора значення показників:

- pH епідермісу;
- стану гідроліпідної плівки;
- загальної гідратації шкіри;
- відносного вмісту колагену;

ці показники визначались у більшому ступені індивідуальним сполученням різноманітних ендогенних і екзогенних факторів.

Для аналізу можливості використання й інтерпретації апаратних даних щодо інволютивних змін шкіри необхідно оцінити відповідність між апаратними і морфологічними критеріями. Як видно, спектри параметрів морфологічної і апаратної діагностики не співпадають за переліком характеристик, що унеможливує пряме зіставлення їх між собою. Для подолання цього утруднення в дослідженні, проведений розрахунок загального, інтегрального параметру інволютивного статусу шкіри на ґрунті обчислювання всіх досліджених морфологічних параметрів кожної з 100 досліджених пацієнток. Виключення склали ультраструктурометричні показники, які визначалися за допомогою електронної мікроскопії лише у 15 об'єктів. У відповідності з принципами політетичного кластерного аналізу, всі морфологічні параметри по вікових групах були представлені через нормовані і центровані величини без розмірностей одиниць вимірювання, а коефіцієнт діагностичної вагомості кожного параметра визначався, як величина критерію Снедекора, що отримана при проведенні дисперсійного аналізу. За аналогічним алгоритмом розраховувався інтегральний параметр стану шкіри на основі даних апаратної діагностики.

Значення інтегрального параметра морфологічних змін шкіри щічної області обличчя склали:

- у 1 віковій групі – $0,117 \pm 0,021$;
- у 2 групі $0,210 \pm 0,037$;
- у 3 групі – $0,408 \pm 0,074$;

- у 4 групі – $0,561 \pm 0,105$;

- у 5 групі – $0,751 \pm 0,094$.

Інтегральний параметр апаратних критеріїв стану шкіри становив:

у 1 віковій групі – $0,182 \pm 0,019$;

у 2 групі – $0,228 \pm 0,031$;

у 3 групі – $0,453 \pm 0,092$;

у 4 групі – $0,595 \pm 0,120$;

у 5 групі – $0,812 \pm 0,078$.

Кількісна форма представлення інволютивних змін шкіри за даними гістологічного дослідження у кожної пацієнтки дозволила провести кореляційний аналіз у таких парах:

- інтегральний параметр (морфологічні критерії) – рівень стресової напруги шкіри (апаратний показник);

- інтегральний параметр (морфологічні критерії) – біологічний вік шкіри (апаратний показник);

- інтегральний параметр (морфологічні критерії) – інтегральний параметр (апаратні критерії).

За результатами проведеного кореляційного аналізу, значення коефіцієнтів лінійної кореляції в означених парах склали $+0,83$ ($p < 0,01$), $+0,69$ ($p < 0,05$) та $+0,92$ ($p < 0,01$) відповідно. Отже, ступінь кореляційних зв'язків між інтегральним морфологічним параметром і показником біологічного віку шкіри вказує на відносну обґрунтованість взаємної екстраполяції гістологічних і апаратних даних. Значно більша надійність такої екстраполяції стосується апаратного показника «рівень стресової напруги шкіри», проте найбільш висока відповідність спостерігається при співставленні інтегральних параметрів морфологічного блоку даних з блоком апаратних критеріїв інволютивного статусу шкіри. Це дає підстави для використання сукупності критеріїв, отриманих за допомогою апарату «*Light Check-up*», у надійній діагностиці стану шкіри на етапах передопераційної підготовки і післяопераційної реабілітації пацієнтів в естетичній хірургії обличчя.

Заслуговує на увагу та обставина, що статистична обробка інтегральних параметрів виявила неоднакове варіювання їх величин у різних вікових групах: зокрема, у 1, 2 і 5 вікових групах стандартна похибка не перевищувала 14 % від відповідних середніх величин, у той час як у 3 і 4 групах дослідження вона склала більше 20 %. Це вказує на те, що у віковому діапазоні від 41 до 57 років спостерігалось найбільше варіювання ознак інволютивного статусу шкіри. Для використання абстрактної величини інтегрального параметра стану шкіри у практичній роботі весь спектр отриманих значень (від 0 до 1) був розділений на 3 діапазони з відповідним призначенням ступеня інволютивних змін:

- від 0 до 0,33 – зміни 1 ступеня;

- від 0,34 до 0,66 – зміни 2 ступеня;

- від 0,67 до 1,00 – зміни 3 ступеня.

Апаратна діагностика, що здійснювалася у 228 жінок перед проведенням традицій-

них, ендоскопічних і композитних хірургічних втручань, виявила суттєву неоднорідність контингенту пацієнок за ступенем інволютивних змін в досліджуваних вікових групах:

- 1 і 2 вікові групи складала пацієнтки переважно з 1 ступенем інволютивних змін;
- у 3 віковій групі шкіра більш ніж половини жінок відповідала змінам 2 ступеня, залишалася значна частка з 1 ступенем, проте 9,2 % пацієнок мали шкіру обличчя з інволютивними змінами 3 ступеня;
- у 4 віковій групі більш ніж половину контингенту складала жінки з 2 ступенем інволютивних змін, проте суттєві вікові зміни шкіри спостерігалися більш ніж у третини від загальної кількості цих пацієнок;
- у 5 віковій групі апаратна діагностика виявила суттєве переважання інволютивних змін 3 ступеня.

Отже, в жодній віковій групі ми не виявили абсолютної відповідності між хронологічним віком пацієнтів і ступенем інволютивних змін шкіри щічної області обличчя. Слід зауважити, що найбільш широкий спектр інволютивних змін шкіри спостерігався у пацієнок віком від 41 до 57 років, тобто саме в найбільш численному контингенті жінок, які зверталися до клініки естетичної хірургії. Таким чином, адекватний вибір індивідуальної хірургічної тактики при корекції вікових змін обличчя є неможливим без визначення ступеня інволютивних змін шкіри. Запропонований алгоритм визначення ступеня інволютивних змін, базуючись на даних кількісного морфологічного аналізу, дозволяє використовувати неінвазивну апаратну діагностику шкіри обличчя як в експрес-режимі, так і в динаміці передопераційного і післяопераційного періодів.

1. Інволютивний статус шкіри щічної області обличчя кількісно оцінюється, як інтегральна характеристика, розрахована на основі морфометричних критеріїв стану кератиноцитів, елементів мікроциркуляторного русла дерми, дермальних фібробластів, волоконного складу дерми з урахуванням діагностичної вагомості кожного критерію.

2. Інтегральний параметр, отриманий за морфологічними критеріями, суттєво корелює з показником біологічного віку шкіри ($r = + 0,69$) і рівнем стресової напруги шкіри ($r = + 0,83$), які визначаються за допомогою апарату «*Light Check-up*». Найбільш сильний кореляційний зв'язок ($r = + 0,92$) встановлено між двома інтегральними параметрами – морфологічним і апаратним, що дозволяє проводити надійну взаємну екстраполяцію гістологічних і апаратних даних.

3. Найбільш суттєві індивідуальні коливання ступеня інволютивних змін шкіри щічної області обличчя встановлено у жінок віком від 41 до 57 років, які складають 70,2 % контингенту пацієнтів естетичної хірургії обличчя. Зокрема, у віковій групі 41-50 років інволютивні зміни 1 ступеня спостерігаються у 34,2 %, інволютивні зміни 2 ступеня – у 56,6 %, інволютивні зміни 3 ступеня – у 9,2 % пацієнок. У віковій групі 51-57 років інволютивні зміни 1 ступеня відзначаються у 10,8 %, інволютивні зміни 2 ступеня – у 54,7 %, інволютивні зміни 3 ступеня – у 34,5 % пацієнок. Це обумовлює необхідність апаратної діагностики стану шкіри для обґрунтування індивідуалізованої хірургічної тактики.

4.3 Просторова реконструкція гемокапілярів шкіри обличчя

Автори досліджували інтраопераційний біопсійний матеріал шкіри 100 жінок без супутньої патології віком від 19 до 73 років, а також у 105 пацієнток віком від 20 до 75 років з діагностованою внутрішньою патологією при проведенні фейсліфтингу за відкритою та ендоскопічною технологіями. Розподілення матеріалу за віковими групами проводили з урахуванням рекомендацій В. В. Бунака, наведених у посібнику «Морфология человека» (1990). Були досліджені такі вікові групи:

- 1 вікова група – до 32 років;
- 2 вікова група – 33-40 років;
- 3 вікова група – 41-50 років;
- 4 вікова група – 51-57 років;
- 5 вікова група – 58 років і більше.

Усі досліджувані зразки шкіри у перших трьох вікових групах отримували у пременструальній фазі циклу.

Зразки шкірних біоптатів фіксували у рідині Буена, обробляли у висхідній концентрації етанолу та виготовляли парапластові блоки за стандартною методикою. Серійні зрізи тканини виготовляли завтовшки 7 мкм та фарбували гематоксилін-еозином, резорцин-фуксином, альціановим синім – за Ван Гізоном, за Вейгертом, за Маллорі-Слінченком; конго червоним – за Матсуура, за Пачіні.

Морфометрично вивчали середній діаметр внутрішньососочкових капілярів та основи внутрішньососочкових капілярних петель за допомогою окуляр-мікрометра МОВ 1-14 (Автандилов Г. Г., 1990). Квантифіковані результати піддавали статистичній обробці, що включала:

- аналіз статистичного розподілення величин за допомогою критерію *J* Ястремського;
- визначення достовірності відмінностей між першою та наступними віковими групами з урахуванням критерію *t* Стьюдента (нормальне розподілення) або *X*-критерію Ван-дер-Вардена (відхилення від нормального розподілення) (Лакин Г. Ф., 1990).

Для створення комп'ютерних моделей використовували програмне забезпечення:

- *Photoshop CS3* (підготовка фотографій);
- *Amira for microscopy 5.0* (створення й вирівнювання контурів);
- *3ds max 8.0* (остаточна обробка й візуалізація).

Реконструкцію проводили згідно з рекомендаціями І. В. Твердохліба (2007).

Морфометричне дослідження гемокапілярів сосочкових петель, які безпосередньо відповідають за адекватність трофічного забезпечення гермінативної зони епідермісу, не виявило суттєвих змін у шкірі жінок віком до 40 років. У старших вікових групах спостерігалось збільшення зовнішнього діаметра внутрішньососочкових гемокапілярів на фоні їх звуження в основі капілярних петель, тобто у місцях відгалуження від артеріолярної сітки і впадіння у веноулярне сплетення:

- у 3 віковій групі відзначалися найбільш ранні ознаки розширення внутрішньососоч-

кової капілярної петлі в дермі щічної області обличчя – на 41,0 % ($p < 0,05$) у порівнянні з 1 групою;

- у 4 віковій групі в даній локалізації збільшення параметра сягало 49,4 % ($p < 0,05$), але і в інших вивчених областях зростання також ставало статистично вагомим;

- у 5 віковій групі зростання діаметра внутрішньососочкових гемокапілярів становило ($p < 0,05$):

1) у щічній області обличчя – на 67,5 %;

2) у висковій області голови – на 39,3 %;

3) у передній області шиї – на 61,9 %, –

у порівнянні з величиною для 1 вікової групи.

В основі капілярних петель у 3-5 вікових групах спостерігалось поступове зменшення зовнішнього діаметра мікросудин. У 5 групі звуження початкових і кінцевих сегментів гемокапілярів досягало 20,0 % ($p < 0,05$); у щічній області обличчя – 17,9 % ($p < 0,05$); у висковій області голови і у передній області шиї – 14,9 % ($p < 0,05$) відносно значень, що встановлені у 1 віковій групі. Наведені зміни у старших вікових групах, що обумовлені розростанням колагенового матриксу навколо основи капілярних петель, супроводжувались перикапілярним набряком, ознаками стазу і сладжування еритроцитів, а також помірною навколосудинною лімфоцитарною інфільтрацією.

Тривимірна реконструкція внутрішньососочкових гемокапілярів на ґрунті комп'ютерного аналізу серійних зрізів показала, що їх інволютивні зміни пов'язані з порушенням початкових і кінцевих сегментів, а також з істотним коливанням діаметра на протязі капіляра.

Отже, вікові перебудови внутрішньососочкової капілярної петлі включають утворення локальних розширень гемокапілярів у внутрішньососочковому просторі, звуження початкових і кінцевих сегментів петлі у підсосочковій ділянці, що, на наш погляд, супроводжується порушеннями гемоциркуляції і обмеженням трансапілярного обміну.

У пацієток 1 вікової групи з цукровим діабетом відзначалося розширення внутрішньо-сосочкових гемокапілярів (на 51,8 %; $p < 0,05$) і звуження гемокапілярів в основі капілярних петель (на 21,3 %; $p < 0,05$). У решти пацієток (з алкогольною залежністю, психічними розладами, іншою супутньою внутрішньою патологією) коливання досліджуваних морфологічних параметрів, що характеризують стан мікросудин шкіри, на мали статистично вагомих відмінностей від відповідних значень у групі пацієток без діагностованої супутньої патології.

У пацієток 2 вікової групи з цукровим діабетом внутрішньососочкові гемокапіляри були розширеними на 52,4 % ($p < 0,05$), у той час як значення зовнішнього діаметру гемокапілярів в основі петель, навпаки, було меншим (на 22,3 %; $p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою. Також у пацієток цієї вікової групи, що мали нікотинову залежність, відзначалося звуження гемокапілярів в основі капілярних петель відносно пацієток без супутньої патології, а також нерівномірний просвіт на протязі капілярної петлі.

У пацієнок 3 вікової групи з цукровим діабетом суттєве розширення внутрішньососочкових гемокапілярів (на 61,1 %; $p < 0,05$) контрастувало з достовірним звуженням гемокапілярів в основі капілярних петель (на 26,1 %). Також у пацієнок цієї вікової групи, що мали ніотинову залежність та/або гіпертонічну хворобу, зовнішній діаметр гемокапілярів в основі капілярних петель значно поступався контрольним значенням – відповідно на 22,6 % та 33,9 % ($p < 0,05$). Також у пацієнок цієї вікової групи, хворих на гіпертонічну хворобу, капілярна петля розташовувалась не в одній площині, як це характерно, а значно відхилялася від неї.

У пацієнок 4 вікової групи з цукровим діабетом відзначалося збільшення діаметру внутрішньососочкових гемокапілярів – на 60,6 % ($p < 0,05$) у порівнянні з пацієнтками без діагностованої супутньої патології. В основі капілярних петель діаметр гемокапілярів був достовірно зменшеним серед груп пацієнок, що мали ніотинову залежність, хворих на гіпертонічну хворобу та цукровий діабет у порівнянні з контрольними величинами.

У пацієнок 5 вікової групи з цукровим діабетом внутрішньососочкові гемокапіляри були розширеними – на 39,2 % ($p < 0,05$), у той час як в основі петель значення зовнішнього діаметра гемокапілярів, навпаки, було достовірно зниженим (на 25,0 %) у порівнянні з контрольною групою. Також у пацієнок цієї вікової групи з ніотиною залежністю та/або гіпертонічною хворобою відзначалося звуження гемокапілярів в основі капілярних петель відносно пацієнок без супутньої патології.

Вікові зміни мікроциркуляції шкіри обличчя і шиї включають порушення структури внутрішньососочкових капілярних петель за рахунок локальних розширень гемокапілярів у внутрішньососочковому просторі та звуження початкових і кінцевих сегментів петель. Суттєві структурно-функціональні зміни виявляються у складі шкіри щічної області обличчя у жінок 33-40 років та передньої області шиї і вискової області голови – у жінок 41-50 років. Для пацієнок, що мають ніотинову залежність, ішемічну хворобу серця, гіпертонічну хворобу, цукровий діабет, а також ожиріння різного ступеня, є характерним істотне порушення структури мікроциркуляторного русла шкіри, що дає підставу для виділення даного контингенту пацієнтів, як групу високого інтраопераційного та післяопераційного ризику при проведенні оперативних втручань для корекції інволютивних змін шкіри обличчя.