

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

На правах рукописи

АБРАМЯН ШМАВОН МАИСОВИЧ

**МЕХАНИЗМЫ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ТКАНЕЙ
ПРИ ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ ПО КОРРЕКЦИИ КОНТУРОВ ЛИЦА**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

МОРОЗОВ СЕРГЕЙ ГЕОРГИЕВИЧ
доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

МОСКВА – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Особенности кожи лица	15
1.2. Ишемия/реперфузия	17
1.3. Клеточные энергетика и некроз тканей лица	21
1.4. Аутофагия	22
1.4.1. Роль аутофагия в клетках кожи лица	22
1.4.2. Связь аутофагии с воспалением	27
1.4.3. Аутофагия и эпидермальные кератиноциты	28
1.4.4. Аутофагия в фибробластах кожи	30
1.4.5. Старение кожи и аутофагия	30
1.4.6. Стресс и аутофагия	33
1.5. Ультрафиолетовое излучение	34
1.5.1. Действие УФ на кожу человека	34
1.5.2. УФ и клетки кожи	35
1.5.3. УФ и воспаление	36
1.5.4. Стресс и УФ	37
1.5.5. УФ и аутофагия	37
1.5.6. УФ и апоптоз	38
1.5.7. УФ и меланогенез	39
1.5.8. УФ и старение кожи	40
1.6. Келлоидные рубцы	40
1.7. Апоптоз	43
1.7.1. Определение апоптоза	43
1.7.2. Сигналы апоптоза, связанные с рецепторами	46
1.7.3. Митохондрии и апоптоз	49
1.8. Некроптоз	52
1.8.1. Некроптоз в клетках кожи и подкожно-жировой ткани	52
1.8.2. Влияние УФ на некроптоз в клетках кожи лица	58
2. ПАЦИЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	60
2.1. Пациенты	60
2.1.1. Критерии включения и исключения пациентов из исследования	61
2.1.2. Информация для пациентов с формой информированного согласия	62
2.1.3. Показания и противопоказания для проведения операции лифтинга лица	64
2.1.4. Показатели качества выполненной операции лифтинга лица	64
2.2. Техника операции лифтинга лица	65
2.2.1. Инструменты и материалы, использованные для операции	65
2.2.2. Протокол проведения операции лифтинга лица	67
2.2.3. Послеоперационное ведение больного	69
2.3. Инструментальные методы обследования пациентов	69
2.4. Биохимические методы исследования	70
2.5. Исследование клеток из операционного материала	71

2.5.1. Выделение клеток из операционного материала	71
2.5.2. Измерение спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках	72
2.5.3. Индукции некроптоза в клетках из операционного материала	72
2.6. Окраска антителами к структурам клеток	73
2.7. Проточная цитометрия	74
2.7.1. Проточная цитометрия клеток крови	74
2.7.2. Проточная цитометрия клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани	75
2.7.3. Оценка фрагментации ДНК методом проточной цитометрии	75
2.8. Измерение мембранного потенциала митохондрий □ □ □	76
2.9. Микробиологический анализ соскобов кожи	78
2.10. Анализ материала, полученного при стоматологическом исследовании	78
2.11. Статистический анализ полученных данных	79
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	80
3.1. Клиническая характеристика пациентов	80
3.2. Изучение состава клеток, выделенных из тканей при лифтинге лица	83
3.2.1. Влияние возраста на состав клеток кожи лица	85
3.2.2. Влияние загара (ультрафиолета) на состав клеток кожи лица	88
3.3. Сигнальные белки аутофагии в клетках кожи и лица	91
3.4. Влияние ультрафиолета на сигнальные белки аутофагии в клетках кожи лица	98
3.5. Апоптоз в клетках кожи и подкожно-жировой ткани при лифтинге лица	103
3.5.1. Уровень спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках лица	103
3.5.2. Экспрессия рецепторов апоптоза и каспаз в клетках лица	109
3.5.3. Экспрессия белков апоптоза, сопряжённого с митохондриями, в клетках лица	112
3.5.4. Оценка апоптоза в клетках кожи лица в зависимости от загара	119
3.6. Оценка некроптоза в клетках кожи при лифтинге лица	123
3.6.1. Процент клеток с некрозом	124
3.6.2. Экспрессия белков, сопряжённых с некроптозом, в клетках кожи при лифтинге лица, в зависимости от возраста	126
3.6.3. Влияние загара на экспрессию белков некроптоза в клетках кожи лица	128
3.7. Роль клеток иммунной системы полости рта в осложнениях после лифтинга лица	131
3.8. Изучение бактериальной и микотической флоры кожи лица пациентов перед операцией лифтинга лица	138
3.8.1. Анализ микробной контаминации кожи перед операцией лифтинга лица	138
3.8.2. Изучение грибковой контаминации кожи перед операцией лифтинга лица	140
3.9. Влияние клеточных энергетиков на состояние тканей после лифтинга лица	141
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	144
ВЫВОДЫ	147
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	148
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	151

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности

Проблема ишемии/реперфузии имеет полуторастолетнюю историю. Впервые этот феномен был описан в 1881 году доктором Von Volkmann R., который заметил, что после гипоксии восстановление кровообращения приводит, парадоксальным образом, к ухудшению состояния пациента; сам же термин «реперфузия» был предложен в 1935 году Tennant R. и Wiggers C. Настоящий бум публикаций начался в 70-х годах XX века, когда проводили исследования, касающиеся метаболических нарушений при ишемии/реперфузии, но были непонятны точные механизмы данного явления [Levoine N. et al., 2020].

С тех пор опубликовано множество работ, в которых было установлено, что проблема носит универсальный, полиорганный характер, затрагивает миокард [Buja M., 2024], мозг [Lochhead J. et al., 2024; Zhao K. et al., 2024], печень [Whalen C. et al., 2024], почки [Fan X. et al., 2024], кишечник [Артамонова З.А., 2016], кожу [Lee J. et al., 2022], ткани конечностей [Атрощенко В. Г., 2002; Мнацаканян Г.В., 2022], сосуды и клетки эндотелия [Geng L. et al., 2020] и т.д.

Проблема ишемии/реперфузии при операциях на лице, в первую очередь, связана с реконструктивной хирургией и с использованием кожного лоскута для трансплантации [Байтингер В.Ф., Селянинов К.В., 2021; Agarwal P. et al., 2016; Edtinger K. et al., 2014; Pinho A. et al., 2024]. Однако при восстановлении контура лица (или лифтинга) операция продолжается 3 часа и более, в это время ткани лица подвергаются ишемии, а после восстановления кровотока происходит эффект реперфузии, что обуславливает гибель клеток и сказывается на качестве операционного шва и состоянии кожи лица. При этом практически нет работ, в которых были бы исследованы механизмы гибели клеток кожи и подкожной клетчатки лица в результате ишемии/реперфузии при лифтинге, что делает нашу работу актуальной.

Что касается механизмов ишемии/реперфузии, то выявлено множество мишеней, затронутых при этом состоянии, установлены активация перекисного окисления липидов, нарушение активности антиоксидантных ферментов, окислительный стресс [Торопова Я.Г., 2013; Zhao M. et al., 2016; Dery K. et al., 2024]. Показано колебание антиоксидантной активности крови: в начале реперфузии происходит её увеличение, а затем – снижение и истощение антиоксидантного потенциала, одновременно повышаются прооксидантная активность и генерация кислород-зависимых радикалов [Атрощенко В.Г., 2002]; изменяется

активность индуцибельной NO-синтазы (iNOS) [Нарыжная Н.В., 2016]. При реперфузии уровень метаболитов NO достоверно снижается [Пшенников А.С., 2016].

Окислительный стресс сопровождается активацией альтернативного сплайсинга генов и экспрессии генов, сопряженных с состоянием ишемии/реперфузии [Dery K. et al., 2024]. В регуляции окислительного стресса принимает участие белок p53 [Beyfuss K, Hood D., 2018], при этом снижается пролиферативный потенциал мезенхимальных стволовых клеток, что оказывает влияние на процессы регенерации тканей [Bertolo A. et al., 2017].

При ишемии/реперфузии имеется системная воспалительная реакция и изменение соотношения клеток иммунной системы: возрастает абсолютное число цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), натуральных киллерных клеток (NK клеток), нейтрофилов, а также интерлейкина (IL)-1 β , С-реактивного белка и кортикостерона, снижается уровень трансформирующего фактора роста (TGF- β) [Джалилова Д.Ш., 2019]. Изменяется соотношение CD4 и CD8/CTL клеток (Т-хелперов и Т-супрессоров/цитотоксических Т-лимфоцитов), снижается число В-лимфоцитов, повышается концентрации интерлейкинов IL-6, IL-8, IL-10 [Артамонова З.А., 2016]. Цитотоксичность NK клеток осуществляется за счёт гранзим-зависимого некроза в клетках-мишенях [Zhu Y. et al., 2021].

Затем было установлено обязательное участие митохондрий [Нарыжная Н.В., 2016; Pham L. et al., 2024; Morciano G., Pinton P., 2025] и митохондриального кальция при ишемии/реперфузии [Murphy E., Eisner D., 2025], формирование пор в мембране митохондрий и повышение её проницаемости с потерей мембранного потенциала митохондрий $\Delta\Psi$ и выходом цитохрома *c* в экстраклеточный матрикс (ECM), активацией апоптоза [Pham L. et al., 2024], развитием митохондриального стресса [Eckl E. et al., 2021; Morciano G., Pinton P., 2025]. Была выявлена роль митофагии (выборочной утилизации митохондрий для поддержания клеточного гомеостаза в рамках микроаутофагии), установлены её сигнальные белки (PINK1, BNIP3/NIX, FUNDC1, Bcl2-L13 и т.д.) [D'Arcy M., 2024]. Митофагия характерна для повреждения кератиноцитов кожи человека [Jang Y. et al., 2016].

Далее была показана роль стресса эндоплазматического ретикулума (ER) в развитии состоянии ишемии/реперфузии [Wang L. et al., 2024], установлены белки его сигнальных путей (GRP78, PERK, IRE1 α , XBP1, ATF6 и др.), активированные при реперфузии [Zhao K. et al., 2024], показана роль микроРНК в регуляции стресса ER [Liu W. et al., 2024]. Дисфункция митохондрий и стресс ER приводят клетки к апоптозу [Wang J. et al., 2022].

Была изучена защитная роль аутофагии в поддержании жизнедеятельности клеток кожи человека при ишемии/реперфузии [Воронков Н.С., Маслов Л.Н., 2020], что позволяет

находить новые мишени для терапевтического воздействия при этом состоянии [Li L. et al., 2016]. При развитии аутофагии клетка прекращает деление, угнетается метаболизм, клетка утилизирует часть органелл, но остается жизнеспособной в течение короткого времени до восстановления притока нутриентов и энергии. Если не восстанавливается метаболизм, то активируются сигналы апоптоза, которые в этом случае необратимы.

Активность аутофагии при окислительном стрессе может быть снижена за счёт окисления белков ATG3 и ATG7 [Burgoyne J., 2018]. В фибробластах дермы человека активность аутофагии снижается с возрастом [Kim H. et al., 2018], а также под действием ультрафиолета (УФ) [Endo K. et al., 2020]. Активация аутофагии защищает кератиноциты кожи человека от окислительного стресса и обуславливает повышение их жизнеспособности [Yoon J. et al., 2017], она зависит от сигнальных путей киназы mTOR [Chu J. et al., 2023], однако может быть активирована другими сигналами [Chen X. et al., 2016]. Супрессия воспаления повышает активность аутофагии в кератиноцитах человека за счёт активации сигнального пути Wnt/ β -катенина [Tian R. et al., 2016].

Механизмы гибели клеток при состоянии ишемии/реперфузии являются клеточно-, ткане- и органоспецифичными. Для лица человека нет однозначно трактуемых данных по типу гибели клеток, поэтому установление их механизмов имеет как фундаментальный, так и прикладной характер, оно направлено на выявления новых мишеней для терапевтической коррекции последствий реперфузии при лифтинге лица.

Для предотвращения негативного влияния ишемии/реперфузии были предложены разные подходы, в том числе, применение ингибиторов провоспалительных цитокинов [Lee J. et al., 2022], терапия стволовыми клетками, терапия препаратами экзогенных глюкокортикоидов, блокаторами кортикостероидных рецепторов [Байбурина Г.А., 2021], использование производного 3-оксипиридина – эмоксипина [Торопова Я.Г., 2013], введение антиоксиданта флавоноида дигидрохверцетина [Яковенко Д.В., 2021], введение токсина ботулизма для предотвращения гибели клеток апоптозом при ишемии/реперфузии [Shi Y. et al., 2019], preconditionирование перед ишемией [Гуревич К.Г. и др. 2021; Lee J. et al., 2022], дистантное посткондиционирование и применение агонистов μ -опиоидных рецепторов (эндоморфин-1) и δ 2-опиоидных рецепторов (дельторфина II) [Мухомедзянов А.В., 2020], норэпинефрина [Shin J. et al., 2016], применение микроРНК [Liu W. et al., 2024; Xu L. et al., 2021; Ke J. et al., 2021]. использование отрицательного давления (negative-pressure wound therapy) [Gillespie J. et al., 2018] и гипербарической оксигенации [Lindenmann J. et al., 2021] и т.д. Но проблема так и осталась нерешённой, так как до сих пор нет универсального средства, блокирующего гибель клеток и тканей при реперфузии.

При любом оперативном вмешательстве имеет место кратковременное прекращение циркуляции крови в оперируемом участке тканей. Нарушение васкуляризации тканей является причиной частичного некроза кожи в послеоперационном периоде [Mutlu Ö. et al., 2016]. Операция по восстановлению контура лица может давать послеоперационные осложнения, включая частичный некроз мягких тканей в области шва, чем больше область операции, тем выше вероятность развития некроза [Agarwal P. et al., 2016]. Высокий процент некроза наблюдается при пластике наружного уха. Пересадка скальпа или его частей сопровождается множественными некрозами в связи с недостаточным уровнем васкуляризации [Hu W. et al., 2016]. Методом цифрового фотоанализа показано, что небольшие зоны некроза регистрируются практически во всех послеоперационных рубцах [Landa D. et al., 2016]. Наиболее выраженные зоны некроза регистрируются в келоидных рубцах [Goder M. et al., 2016]. После краниофациальной пластики частичный фациальный некроз наблюдается в 5,7% случаев, тотальный некроз – в 2,9%, причем у женщин вероятность некроза значительно выше, чем у мужчин вследствие худшего приживления кожного лоскута [Heo Y. et al., 2016].

В кожном лоскуте, используемом для пересадки, вследствие ишемии/реперфузии, часто повышена активность воспалительного процесса, имеется отёк, инфильтрация лейкоцитов, повышен процент гибели клеток за счёт некроза или апоптоза [Agarwal P. et al., 2016; Edtinger K. et al., 2014; Pinho A. et al., 2024]. На молекулярном уровне это сопровождается повышением уровня свободных радикалов кислорода, провоспалительных цитокинов – интерлейкинов IL-6, IL-1 β , фактора некроза опухолей альфа (TNF- α), активацией сигналов ядерного фактора транскрипции NF- κ B и ингибитора I κ B, а также фактора гипоксии HIF-1 α [Lee J. et al., 2022]. В кожном лоскуте вследствие ишемии/реперфузии в 10-15% случаев имеется частичный некроз, даже в хорошо васкуляризованных кожных лоскутах регистрируются те же осложнения [Berry C. et al., 2024]. Одновременно с некрозом может быть активирован апоптоз, происходит изменение экспрессии генов и сопряженных с апоптозом регуляторных белков, повышается экспрессия каспазы-3 и проапоптозных белков, проявляется стресс эндоплазматического ретикулума, окислительный стресс, гипоксия [Khalaf R. et al., 2024].

Противоположными морфологическими типами гибели клетки являются апоптоз и некроз. Если при апоптозе клетка аккуратно фрагментируется с образованием апоптозных телец, окруженных остатками плазматической мембраны, которые быстро фагоцитируются макрофагами и другими фагоцитами, то при некрозе клетка буквально разваливается и все внутриклеточные протеазы попадают в экстраклеточный матрикс. Основная функция

макрофагов в ране – это её очистка от дебриса и погибших клеток [Aitcheson S. et al., 2021]. Апоптоз регулируется примерно 3000 генов, кодирующими протеазы всех протеолитических классов, рецепторы апоптоза, белки–регуляторы, активаторы, ингибиторы и т.д. В настоящее время достаточно подробно изучены сигнальные пути апоптоза в клетках разного типа. Стресс, вызванный травмой или операцией, а также нарушение поступления питательных веществ в клетку, всё это активирует сигналы апоптоза.

Можно определить состояние сигнальных путей апоптоза в клетке по экспрессии рецепторов апоптоза, уровню активности проапоптозных и антиапоптозных митохондриальных белков, а также по активности каспаз – основных протеаз апоптоза. Поскольку церамид является вторичным мессенджером большинства сигнальных путей апоптоза, то его входение в клетку необратимо потенцирует те процессы апоптоза, которые в клетке уже были активированы. Церамид–индуцированный апоптоз даёт возможность оценить «отложенную» гибель клеток, что важно с точки зрения состоятельности послеоперационного шва и возможного развития некроза.

Диссертационная работа посвящена изучению сигналов аутофагии, апоптоза и некроза в клетках, выделенных в зоне оперативного вмешательства при проведении пластических операций по коррекции контура лица. Оценка спонтанного и индуцированного церамидом апоптоза позволит прогнозировать развитие частичного некроза шва в послеоперационном периоде. Для предупреждения этого можно предложить проведение курса лечения цитопротекторами перед пластической операцией. Полученные результаты можно использовать для подготовки рекомендаций, с целью улучшения результатов оперативного вмешательства. Таким образом, данное комплексное исследование является новым направлением в изучении состояния ишемии/реперфузии после операций по коррекции контура лица.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ

Цель исследования – комплексное исследование механизмов гибели клеток кожи и подкожно-жировой клетчатки, выделенных из тканей в области оперативного вмешательства при проведении операций по коррекции контуров лица у женщин.

Задачи исследования:

1. Измерить уровни экспрессия маркеров аутофагии в клетках, выделенных из операционного материала при операции коррекции контуров лица.

2. Изучить активность спонтанного и индуцированного (C2-церамид) апоптоза в первичной культуре клеток, полученных из образцов тканей при операциях лифтинга лица.
3. Определить уровень экспрессии рецепторов апоптоза, активности каспаз, экспрессии митохондриальных белков, сигнальных белков некроптоза в первичной культуре клеток, выделенных из тканей при операциях по коррекции контуров лица.
4. Исследовать энергетический статус и уровень мембранного потенциала митохондрий клеток, выделенных из операционного материала при коррекции лица, а также провести оценку эффективности применения цитопротекторов перед операциями по коррекции контура лица на данные показатели и на частоту развития осложнений в послеоперационном периоде.
5. Сравнить данные по сигналам гибели клеток кожи женщин в разных возрастных группах при лифтинге лица и в зависимости от наличия загара лица (УФ) или его отсутствия.
6. Оценить роль патологии полости рта и зубов в развитии осложнений после операции по коррекции контуров лица.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ДИССЕРТАЦИИ

Впервые в данном исследовании применили собственную усовершенствованную методику получения первичной культуры жизнеспособных клеток из операционного материала, которая позволяет изучать тонкие механизмы регуляции сигналов гибели клеток и возможность восстановления их жизнеспособности после ишемии.

В данной работе впервые дана комплексная оценка механизмов аутофагии, апоптоза и некроптоза в клетках, выделенных из операционного материала при лифтинге лица у женщин разного возраста с загаром и без загара, на этапах первичной ишемии, а затем, в конце операции, на этапе реперфузии, после вызванной наложением лигатуры операционной ишемии тканей.

Впервые показано, что наличие загара, полученного непосредственно перед операцией лифтинга, амплифицирует сигнальные пути гибели клеток кожи и подкожно-жировой ткани, что может негативно сказываться на течении послеоперационного периода.

Впервые изучили эффективность применения цитопротекторов в предоперационном периоде лифтинга лица, что позволило улучшить энергетический статус клеток в

операционном поле и, соответственно, улучшило течение послеоперационного периода (длительность заживания, частоту осложнений, состояние рубца).

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

В результате проведенных исследований установлено, что операция по коррекции контуров лица сопровождается изменениями клеток, характерными для состояния ишемии/реперфузии. Показано, что в клетках кожи и подкожно-жировой ткани после восстановления кровотока (реперфузия) активируются как сигнальные пути сохранения жизнеспособности клеток (аутофагия), так и сигналы гибели клеток. Типы гибели клеток установлены как апоптоз и некроптоз, о чём свидетельствуют белки, сопряженные с соответствующими сигнальными путями. Таким образом, впервые показано, что в конце операции лифтинга лица имеются клетки с активной аутофагией, клетки, в которых необратимо активированы сигналы некроптоза, а также клетки, в которых запущены сигналы апоптоза, но которые на момент исследования не имели морфологических признаков этого процесса, но были идентифицированы по воздействию на них клеточно-проникающего C2-церамида, ускоряющего процессы активации апоптоза. Показано, что наличие загара, полученного непосредственно перед операцией лифтинга, амплифицирует сигнальные пути гибели клеток кожи и подкожно-жировой ткани, что может негативно сказываться на послеоперационном периоде. Применение препаратов, повышающих энергетический потенциал клеток, в том числе янтарной кислоты, в течение 3-х недельного периода перед операцией, достоверно улучшало состояние клеток, обуславливало снижение уровня экспрессии белков, сопряженных с апоптозом и некрозом, активировало процессы аутофагии. Это имело положительное влияние на состояние пациента после операции. Полученные данные по экспрессии белков, сопряженных с апоптозом и некроптозом при лифтинге лица, носят фундаментальный характер. Теоретические результаты диссертационной работы используются в Учебном центре Клиники пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, для обучения хирургов основам патогенеза состояния ишемии/реперфузии.

Обоснованные выводы из диссертационной работы, касающиеся предоперационного обследования пациентов для установления риска развития послеоперационных осложнений, используются в практической деятельности Клиники пластической и эстетической хирургии ооо «Фрау Клиник», г. Москва. На основании полученных в ходе исследования результатов, касающихся применения клеточно-энергетических препаратов, разработанные

схемы используются в настоящее время в Клинике в качестве дополнительного терапевтического воздействия в предоперационном периоде с целью улучшения показателей и профилактики осложнений операции по коррекции контуров лица у пациентов. Полученные в ходе работы данные по влиянию ультрафиолета на показатели экспрессии белков апоптоза позволили рекомендовать воздерживаться от операции лицам, имеющим свежий загар, и переносить операцию на несколько недель.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все исследования проводились в соответствии с Указом Президента РФ от 24.12.93 № 2288 «Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан» на основе принципов добровольности и конфиденциальности. Все пациенты и доноры добровольно подписывали информированное согласие (*см. Материалы и Методы*).

В работе представлен анализ состояния клеток крови, кожи и подкожно-жировой ткани, полученных в результате хирургического лечения 320 пациенток (все женщины), в возрасте 21–64 лет, которым в Клинике пластической и эстетической хирургии профессора Блохина и доктора Вульфа, г. Москва (ООО «Фрау Клиник») проведена операция коррекции контуров лица. Группами сравнения являлись пациенты разного возраста, а также пациенты с загаром и без него.

Методы обследования пациентов: клиническое обследование (сбор анамнеза, осмотр, перкуссия, пальпация, аускультация), инструментальные исследования (УЗИ щитовидной железы, ЭКГ, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, фиброгастроскопия, исследование функции внешнего дыхания), лабораторные данные (биохимические показатели крови, гематологические показатели).

В данной работе проведены следующие экспериментальные исследования:

- выделение клеток из тканей, полученных при операциях по коррекции лица,
 - получение популяций клеток на градиенте плотности Перколла,
 - работа с первичными культурами клеток подкожно-жировой клетчатки,
 - окраска клеток на поверхностные и внутриклеточные маркеры апоптоза,
 - анализ окрашенных клеток методом проточной цитометрии,
 - определение энергетического статуса и мембранного потенциала митохондрий по окраске специфическими красителями (JC-1 и т.д.),
 - микробиологический анализ кожи и ПЦР-исследование образцов кожи,
- определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам,

- выделение клеток из дёсенной борозды зубов при исследовании, выполненном совместно с Сеченовским университетом, для анализа влияния патологии зубов на осложнения после лифтинга лица,

- статистический анализ полученных данных (программа «Биостат»).

Все лабораторные исследования проведены согласно ГОСТам на базе лаборатории Клиники пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник», г. Москва. Все экспериментальные исследования проведены на базе лаборатории регуляции репаративных процессов ФГБНУ «НИИОПП», г. Москва.

Протокол данного исследования был одобрен Этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» (протоколы №4Б от 24.11.2020 и №2 от 04.04.2023) и Дирекций ООО «Фрау Клиник». Проведенные оперативные вмешательства выполнялись в плановом порядке по утверждённому протоколу.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. В завершении операции по коррекции контуров лица после ишемии развивается состояние реперфузии, которое сопровождается нарушением жизнедеятельности клеток.

2. Во время состояния реперфузии в клетках активируются сигнальные пути гибели.

3. В клетках кожи и подкожно-жировой ткани лица в результате операции лифтинга одновременно имеются клетки с разными сигналами гибели, в том числе, апоптоза и некроптоза.

4. Развитие аутофагии при состоянии реперфузии является одним из механизмов выживания клеток.

5. Состояние мягких тканей лица перед операцией лифтинга определяет возможное развитие послеоперационных осложнений.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ

Достоверность полученных результатов подтверждается поставленными задачами, применением современных методик и подходов для решения поставленных задач в работе, современных подходов и методов исследования, наличием обширного экспериментального материала, интерпретацией полученных данных при помощи адекватных методов статистики. Научные выводы и положения обоснованы. Выводы диссертационной работы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований. Результаты

исследования представлены и апробированы на международных и всероссийских научных конференциях и опубликованы в научных журналах, в том числе рекомендованных ВАК.

АПРОБАЦИЯ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на следующих научных мероприятиях:

- 1) III конференция памяти Н.О. Миланова «Пластическая хирургия в России. Актуальные вопросы микрохирургии», 2017 г., Москва.
- 2) Национальный хирургический конгресс совместно с XX юбилейным съездом РОЭХ, 2017 г., Москва.
- 3) Сеченовский Международный Биомедицинский Саммит 2017 (СМБС-2017), 2017 г., Москва.
- 4) Всероссийская юбилейная научно - практическая конференция «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии», 2017 г., Санкт-Петербург.
- 5) Научно-практическая конференция «Санкт-Петербургский лимфологический форум», 2017 г., Санкт-Петербург.
- 6) Международная научно-практическая конференция, посвященная 140-летию со дня рождения профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого «Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых», 2017 г., Симферополь.
- 7) XX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», 2017 г., Санкт-Петербург.
- 8) Всероссийская научно-практическая конференция «Боткинские чтения», 2017 г., Санкт-Петербург.
- 9) Всеармейская научно-практическая конференция, посвященная 95-летию со дня рождения член-корр. РАМН, профессора Г.И. Алексеева «Актуальные вопросы военно-полевой терапии», 2017 г., Санкт-Петербург.
- 10) 4-й съезд микологов России, 2017 г., Москва.
- 11) Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы экспериментальной микробиологии: теория, методология, практика, инноватика», 2022 г., Курск.
- 12) 16 Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов, 2023 г., Москва.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Основные положения данной диссертационной работы опубликованы в 17 печатных работах, 5 из которых – в журналах, рекомендованных ВАК.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ

Результаты данного исследования внедрены в практику предоперационной подготовки пациентов в Клинике пластической хирургии и косметологии профессора Блохина и доктора Вульфа ООО «Фрау Клиник», г. Москва, а также в план преподавания в Учебном Центре профессора Блохина и доктора Вульфа, Москва. Разработанные модификации лабораторных методов исследования используются в ряде лабораторий ФГБНУ «НИИОПП» для научно-исследовательской работы.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА

После согласования с научным руководителем плана исследования автор лично проводил все операции по восстановлению контуров лица, осуществлял забор тканей для последующего выделения клеток. Все перечисленные экспериментальные методики были освоены автором в начале работы над диссертацией, и далее автор проводил исследования как самостоятельно, так и, при необходимости, под наблюдением сотрудников лаборатории. Выделение клеток из образцов ткани автор диссертации проводил самостоятельно. Анализ клеток на проточном цитометре осуществлялся сотрудником – специалистом по цитометрии, затем автор получал файлы и уже самостоятельно анализировал их на рабочем компьютере по программе WinMD28. Полученные результаты были статистически обработаны автором самостоятельно. Обсуждение полученных данных с научным руководителем завершалось подготовкой автором научной публикации, также автор участвовал в написании и оформлении научных статей по теме диссертационной работы, подготавливал и презентовал стендовые сообщения на конференциях. Написание текста диссертационной работы выполнено автором самостоятельно.

СТРУКТУРА И ОБЪЁМ РАБОТЫ

Диссертационная работа включает разделы: введение, обзор литературы, пациенты, материалы и методы, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы, содержащий 375 источников (46 на русском и 329 на иностранных языках). Работа изложена на 183 страницах и сопровождается 17 рисунками и 54 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ОСОБЕННОСТИ КОЖИ ЛИЦА

С точки зрения анатомии лицо – это сложная часть тела человека, включающая костную систему, мышцы, связки, несколько видов тканей, в том числе подкожно-жировую и соединительную ткани, а также сложно устроенные органы зрения, обоняния, слуха, имеющие особенности иннервации. Все структуры лица в течение жизни претерпевают значительные изменения. У лиц молодого возраста лицо видоизменяется под действием гормональных факторов, особенно у женщин с периодическими колебаниями уровня гормонов, когда лицо становится отёчным, изменяется уровень кровоснабжения тканей и т.д. [Falcone D. et al., 2017; Fede C. et al., 2016].

Изменения лица наиболее выражены при начале старения, они являются результатом действия гравитации на ткани лица [Дикарев А.С. и др., 2021] и сопровождаются обвисанием овала лица за счёт птоза мышц, дряблостью кожи, появлением морщин [Борисенко А.С. и др., 2023].

Изменения в мягких тканях лица у людей старшего возраста заставляют их искать пути омоложения. Для того используют различные филлеры, нейромодуляторы, лазеры и т.д., но основным способом коррекции является пластическая операция по изменению контуров лица, которая также называется лифтингом. После пластической хирургии по изменению контуров лица важно поддержание долговременного эффекта, потому надо понимать, какие именно факторы определяют её успех. Помимо постоянного совершенствования техники проведения пластических операций, на долговременный эффект влияют особенности кожи пациента [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. / Всеросс. Конф. «Боткинские чтения». – 2017].

Кожа выполняет ряд функций, в том числе, барьерную, терморегуляторную, выделительную, дыхательную, структурную, пластическую, рецепторную. На кожу влияют как внешние, так и внутренние факторы, которые можно разделить на биологические и физико-химические. К биологическим факторам относятся: анатомическое строение лица, возраст, цвет и гладкость кожи. Этнические особенности лица, касающиеся его костных и хрящевых структур, мышечного каркаса, расположения коллагеновых фибрилл в соединительной ткани дермы, степени ригидности кожи и морщин, определяют скорость старения кожи. Известно, что у женщин с черной кожей морщин меньше, у них более упругая кожа лица по сравнению с белокожими того же возраста и физиологических

параметров [Mercurio D. et al., 2016]. У азиаток кожа более гладкая, так как их генетические особенности определяют наличие менее выраженных пор лица.

Важная роль в поддержании молодого фенотипа кожи принадлежит дерме кожи, от её строения, толщины подкожно-жирового слоя, эффективности кровоснабжения, нормального оттока лимфы, особенностей соединительной ткани и т.д. зависит тургор кожи и его сохранность с возрастом [Hong G. et al., 2025].

Старение кожи связано с системными воздействиями, то есть, с особенностями рациона питания, гормональным статусом, приёмом лекарств, особенно антибиотиков, курением, перепадами температуры воздуха, ультрафиолетовым облучением, загрязнением окружающей среды продуктами производства (пылью, газами) [Rodríguez-Espinosa T. et al., 2021].

Процессы старения ускоряются при контакте кожи с бактериями и микроскопическими грибами, что может вызывать воспалительные заболевания кожи лица, при которых в дерме происходит воспаление, отёк, инфильтрация клетками иммунной системы, после чего остаются гидрофильная дегенерация и фокальная гиперпигментация меланина в эпидермисе [Xia Y, et al., 2024; Vind A. et al., 2024; Zhang J. et al., 2024]. Воздействие топических препаратов на кожу лица при лечении также изменяет структуру дермы.

Особое влияние на старение кожи оказывает изменение состава липидов дермы, вернее, сфинголипидов, которые обеспечивают эластичность и упругость кожи, скорость восстановления кожи после растяжения, ответ на механические усилия и биомеханический стресс, pH кожи, электропроводимость. Потеря интеграции клеток вследствие удаления холестерина из мембран клеток, который вместе со сфингомиелином создаёт структурную организацию плазматической мембраны клетки, также вызывает преждевременное старение кожи [Yong T. et al., 2025; Kim S. et al., 2024].

Воздействие всех факторов на кожу лица женщин отличается по эффекту от воздействия на кожу лица мужчин в силу анатомических и гормональных особенностей. По сравнению с женщинами, мужчины имеют бóльшую площадь лица, более толстый эпидермис и дерму, но менее выраженный объем мягких тканей на щеках и специфический рост волос на лице. У мужчин более активный метаболизм клеток кожи, но снижена антиоксидантная способность кожи, а также имеется определенный уровень супрессии локального иммунного ответа, вызванный УФ, так как мужчины практически не используют средства защиты от него. У мужчин более выражены морщины в определенных местах, а также имеется специфическое облысение с возрастом [Liu Z. et al., 2024].

Для успешной пластической операции на лице и долговременному сохранению омолаживающего эффекта надо провести большую подготовительную работу перед операцией, проанализировать анатомические особенности лица пациента, уточнить его физиологические параметры, определить психологические реакции, мимику, уровень проявления эмоций, выяснить применение неоперационных методов омоложения кожи до операции (использование филлеров, нейтротоксинов, лазера и т.д.). Кроме того, для получения результатов, удовлетворяющих клиента, необходимо учитывать его социальный статус и эстетические представления [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. / Всеросс. Конф. «Боткинские чтения». – 2017].

Однако важным фактором успеха лифтинга лица остаётся состояние клеток кожи до операции, так как состояние ишемии / реперфузии, которое неизбежно будет развиваться в конце любого оперативного вмешательства, может вызвать гибель значительного процента клеток в области операционной раны, что приведёт к осложнениям после лифтинга лица. Для уточнения параметров клеток кожи и подкожно-жировой ткани, которые следует определить до операции в связи с возможным состоянием ишемии/реперфузии, мы проводим данное диссертационное исследование.

1.2. ИШЕМИЯ/РЕПЕРФУЗИЯ

Состояние ишемии неизбежно при любой операции, так как её составной частью является лигирование сосудов, однако, снятие лигатуры и восстановление кровотока приводит к серьёзным метаболическим сдвигам, которые резко ухудшают состояние больного. Этот эффект обозначают термином «ишемия – реперфузия», Работами в этой области показано, что проблема имеет универсальный характер и затрагивает все органы и ткани, вне зависимости от локализации операционного процесса [Buja M., 2024; Zhao K. et al., 2024; Whalen C. et al., 2024; Fan X. et al., 2024; Lee J. et al., 2022]. Состояние ишемии/реперфузии сопровождается рядом патологических эффектов, в том числе:

- экспрессией генов, сопряженных с состоянием ишемии/реперфузии [Dery K. et al., 2024];
- активацией факторов транскрипции, которые регулируют биогенез и функцию лизосом, а также их участие в адаптации к стрессу [Raben N., Puertollano R., 2016];
- окислительным стрессом [Zhao M. et al., 2016];
- активацией перекисного окисления липидов мембран клеток [Dery K. et al., 2024];
- изменением активности антиоксидантных ферментов [Атрощенко В. Г., 2002];

- активацией клеток эндотелия и повышением экспрессии молекул адгезии, что создаёт угрозу развития тромбоэмболии [Geng L. et al., 2020];
- системной воспалительной реакцией, инфильтрацией нейтрофилами, секрецией провоспалительных цитокинов и протеолитических ферментов в ECM [Артамонова З.А., 2016; Wang W. et al., 2022; Zhu Y. et al., 2021];
- нарушениями функциональной активности митохондрий [Pham L. et al., 2024; Morciano G., Pinton P., 2025];
- стрессом эндоплазматического ретикулума [Wang L. et al., 2024];
- снижением пролиферативного потенциала мезенхимальных стволовых клеток, что оказывает влияние на процессы регенерации тканей [Bertolo A. et al., 2017].

При ишемии продукция ROS быстро возрастает и начинает превышать возможности антиоксидантной защиты. Существенный избыток ROS напрямую модифицирует или деградирует клеточные макромолекулы, а также мембраны, белки, липиды и ДНК. Это приводит к активации каскада воспалительного процесса и секреции протеаз. Дериваты измененных макромолекул вовлечены в воспаление, аутофагию, апоптоз, некроз тканей [Zhao M., et al., 2016].

Патологические процессы, которые происходят в тканях, имеют значение для результатов пластической операции, так как могут приводить к осложнениям в виде некроза операционного шва и т.д. В развитии некроза тканей после операции играют роль: ишемия, воспаление, аутофагия, апоптоз и некроз [Salibian A, et al., 2016]. При этом подкожный инкапсулированный некроз может развиваться бессимптомно и приводить к нарушению анатомической структуры лица после лифтинга [Aydin D., Berg J., 2016]. Локальные зоны некроза часто наблюдаются в рубцах после операций, особенно в келоидных [Landa D, et al., 2016].

Несмотря на многочисленность работ по вопросу механизмов ишемии/реперфузии, практически нет работ, касающихся этой проблемы при пластических операциях на лице. Поскольку имеются органоспецифические и тканеспецифические особенности этого процесса, то изучение состояния ишемии/реперфузии при пластике лица представляется не только теоретической задачей, но и практической, так как позволяет искать новые подходы к решению этой проблемы.

Для понимания процессов, происходящих в тканях при ишемии/реперфузии, проводят исследования, касающиеся механизмов гибели клеток при этом состоянии. В настоящее время хирурги активно ищут способы предотвращения повреждения тканей после ишемии. Эти мероприятия направлены на восстановление кровотока, поддержание

высокого уровня оксигенации кожи, связывания и удаления свободных радикалов, оказывающих повреждающее действие на клетки, восстановления функциональной активности митохондрий.

При развитии состояния ишемии/реперфузии задействованы митохондрии [Wang J, et al., 2022], снижается мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\Psi$), генерируется высокий уровень активных форм кислорода (ROS), избыток которых связан с дисбалансом $\Delta\Psi$ [Elephantova K. et al., 2018; Pham L. et al., 2024]. Применение препаратов, повышающих энергетический потенциал митохондрий, может нивелировать негативные последствия ишемии/реперфузии.

Окислительный стресс приводит к формированию пор во внутренней мембране митохондрий, что повышает проницаемость мембраны для митохондриальных белков. Пермеабилзация наружной мембраны митохондрий (Mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP) – это часть развития апоптоза, сопряжённого с митохондриями, так как за счёт этого происходит выход цитохрома *C* в цитозоль, активация каспаз и развитие сигналов апоптоза [Dominic A. et al., 2022; Li A. et al., 2022; Morciano G., Pinton P., 2025]. MOMP также сопряжена с развитием воспаления: при MOMP многие мембранные белки убиквитинируются, что вызывает привлечения адаптерного белка NEMO и приводит к активации провоспалительных сигналов, сопряженных с NF- κ B [Vringer E. et al., 2025].

Давление кислорода в тканях зависит от их специфичности и в норме составляет 2–9% (14,4–64,8 мм рт.ст.). Снижение оксигенации тесно связано с патогенезом многих заболеваний [Jiang C, et al., 2015]. Изменение биоэнергетики митохондрий сопряжено с гипоксией в клетках [Hsiao H. et al., 2016; Shin J. et al., 2016], индикатором которой может служить фактор HIF-1 α . В качестве фактора транскрипции HIF-1 α активируется при снижении парциального давления кислорода (O_2) в клетках и тканях при гипоксии, при стрессе, он отвечает за адаптивные метаболические реакции на гипоксию и гипероксию в период реперфузии и реоксигенации. HIF-1 α потенцирует сукцинатоксидазное окисление, что улучшает выживаемость клеток при гипоксии, в сигнальный путь входит сукцинат-зависимый рецептор GRP91 [Орлов Ю.П. и др., 2022].

Фактор HIF-1 α должен защищать клетки от апоптоза или некроза в условиях ишемии. HIF-1 α защищает кожный лоскут от развития ишемического некроза при трансплантации [Lu C. et al., 2024]. При гипоксии сначала повышается экспрессия HIF-1 α , что приводит к активации аутофагии. Однако при длительной гипоксии происходит ингибирования активности HIF-1 α , что приводит к подавлению аутофагии, увеличение

уровня воспалительных цитокинов, в результате, к гибели клеток [Wang X. et al., 2017; Lu C. et al., 2024]. Окислительный статус влияет на пролиферацию и дифференцировку клеток, чем ниже уровень генерации свободных радикалов, тем выше потенциал клеток к выживанию [Bertolo A. et al., 2017]. При длительной гипоксии факторы HIF-1A и C/EBPs транскрипционно регулируют дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения [Jiang C, et al., 2015].

Нарушение функциональной активности митохондрий, снижение потенциала $\Delta\Psi$, приводит также к нарушению сигналов, связанных с кальцием. С кальциевыми сигналами ассоциированы антиапоптозные белки Bcl-2 и Bcl-xL [Rosa N. et al., 2022; Wang J. et al., 2022],

Ишемия и последующая реперфузия приводят к гибели клеток, связанной с изменениями в митохондриях [Murphy E., Eisner D., 2025; Eckl E. et al., 2021], Первоначальной реакцией на ишемию тканей является активация аутофагии. После продолжительной ишемии митохондрии клеток кожи подвержены дегенерации [Messner F. et al., 2016; Michot A. et al., 2016]. Аутофагия необходима для поддержания нормального уровня пролиферации эпидермиса, она также защищает клетки от гибели [Wang J. et al., 2020].

Так как в тканях при реоксигенации активирован апоптоз, то можно использовать регуляторы вторичных мессенджеров сигнальных путей апоптоза, сопряженных с митохондриями, лизосомами и эндоплазматическим ретикулумом (ER). Стресс ER связан с повышением экспрессии белков теплового шока и других вторичных мессенджеров сигналов стресса, что позволяет находить к ним ингибиторы и снижать нагрузку на ткани. В результате ишемии/реперфузии часто наблюдается острое повреждение тканей. Применение, например, аторвастатина может снизить уровень сывороточного креатинина, снижает уровень M1 макрофагов в тканях и повышает уровень M2 макрофагов, существенно снижает уровень секреции TNF- α и IFN- γ , но повышает уровень экспрессии PPAR- γ , что в результате ослабляет негативные проявления ишемии/реперфузии [Wang Q, et al., 2017].

Митохондрии играют важную роль в продолжительности жизни и в процессах старения. В контроль физиологии митохондрий вовлечены киназы mTOR, AMPK, а также сиртуины (Sirtuins). Эти сенсоры контролируют биогенез митохондрий, процессы слияния и деления, обмен основными компонентами митохондрий, аутофагию митохондрий (митофагию) [López-Lluch G., 2017].

1.3. КЛЕТОЧНЫЕ ЭНЕРГЕТИКИ И НЕКРОЗ ТКАНЕЙ ЛИЦА

Усилия хирургов также направлены на предотвращение гибели клеток при реперфузии. Здесь имеется несколько направлений. Так как дисфункция митохондрий играет ключевую роль в развитии апоптоза при реперфузии, то повышение энергетического статуса митохондрий перед операцией может нивелировать негативные последствия ишемии. Для этого используют метаболиты цикла Кребса (янтарная кислота и др.), коэнзимы группы Q, L-карнитин, витамин C [Szarka A. et al., 2021]. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) находят широкое применение в связи с их влиянием на метаболизм клеток и тканей. Применение антиоксидантов снижает уровень окислительного стресса и гибели клеток.

Также постепенно приобретает популярность применение парентерального питания до и после операции, что поддерживает нутритивный статус организма и оказывает положительное влияние на течение послеоперационного периода.

Имеющиеся в настоящее время препараты, восстанавливающие функциональную активности митохондрий, можно использовать для коррекции клеточных нарушений при состоянии ишемии/реперфузии. Таких препаратов много, некоторые представлены в таблице 1.

Наибольший интерес представляют препараты, регулирующие выработку АТФ, в частности, янтарная кислота, а также регуляторы митохондриального окисления, в частности, коэнзимы (коэнзим Q10), L-карнитин.

Ионизирующие и неионизирующие излучения вызывают нарушения в клетках и тканях организма, обусловленные действием свободных радикалов, активацией сигнальных путей аутофагии, апоптоза, некроза, в которых задействованы протеолитические ферменты, повреждающие структуры кожи и подкожно-жировой клетчатки. При этом нарушена функция митохондрий и имеется дефицит энергии в клетках. В настоящее время есть арсенал средств, работающих как хелаторы свободных радикалов.

Таблица 1.

Препараты, восстанавливающие функциональную активности митохондрий

Препарат	Механизм действия	Мишени
Рецепторы A1 аденозина	Защита клеток почек от апоптоза	Активация АКТ
Ингибитор JNK киназы СС-401	Ингибитор сигнальных путей апоптоза в клетках	Киназа JNK
Эритропоэтин	Активирует анти-апоптозные сигнальные пути в клетках	SGK-1, PI-3P, АКТ
N-n-Butyl Haloperidol iodide	Предотвращает гипоксию тканей	Скавенджер ROS
Глицин	Снижает концентрацию ROS, защищает клетки эпителия ЖКТ от окислительного стресса	Glyt-1

1.4. АУТОФАГИЯ

1.4.1. Роль аутофагия в клетках кожи лица

Любое хирургическое вмешательство сопровождается ишемией оперируемых тканей и органов, что может вызывать развитие послеоперационных осложнений. Одним из способов сохранить жизнеспособность клетки в условиях резкого ограничения энергии и макронутриентов, которые поступают с кровью, является аутофагия. Термин «аутофагия» впервые использовал Christian de Duve в 1963 году [Harnett M. et al., 2017]. При этом клетка перестает делиться, в лизосомах происходит утилизация части органелл, но способность клетки к выживанию сохраняется. Этот процесс имеет ограничения по времени (для каждого типа клеток различного), после чего должно возобновиться поступление необходимых веществ и энергии, а если это не происходит, то в клетке инициируются сигналы, при которых гибель клетки необратима [Hu M. et al., 2017; Frank D., et al., 2019].

В настоящее время аутофагия рассматривается с точки зрения механизма поддержания гомеостаза и включает три типа: микроаутофагия, макроаутофагия, шаперон–зависимая аутофагия [Kuchitsu Y., Taguchi T. 2024]. Любой тип аутофагии однозначно связан с активностью лизосом.

1) Микроаутофагия – это физиологический процесс, связанный с обменом веществ в клетке, при этом происходит катаболизм крупных белковых молекул, полисахаридов, органелл, мембранных структур, что необходимо для обновления состава клетки или её ремоделирования при активации [Kuchitsu Y., Taguchi T. 2024].

2) Макроаутофагия – это процесс адаптации клеток к стрессу при резком ограничении поступления в клетку макронутриентов и энергии, при этом происходит утилизация органелл и мембранных структур в лизосомах клетки. Макроаутофагия призвана поддерживать стабильность генома за счёт регуляции убиквитинирования хроматина, деградации фрагментов ДНК в цитозоле и т.д. [Zhang G. et al., 2025]. Макроаутофагия инициируется при активации сигнального пути от комплекса mTORC1 (Mammalian Target of Rapamycin Complex 1) [Chen X. et al., 2016]. с участием вторичного мессенджера Atg1/ULK1 [Takahashi Y. et al., 2025].

3) Шаперон-зависимая аутофагия, при которой белки с нарушенной четвертичной и третичной структурой транслоцируются с помощью шаперонов через мембрану лизосом для протеолиза [Nagar R., 2017]. Маркеры шаперон-зависимой аутофагии – это белок LAMP-2A и когнатный белок теплового шока Hsc70 [Zhou J. et al., 2017].

Если происходит утилизация митохондрий, этот процесс называют митофагией, утилизация ER – ретикулофагией, рибосом – рибофагией, липофагия – это селективная деградация липидных гранул или вакуолей и т.д.

Многочисленные физиологические и патологические процессы требуют активации аутофагии, это, в частности: дифференцировка эпидермальных кератиноцитов, воспаление [Hu M. et al., 2017], презентации антигена, клиренс антигенов или патогенов [McCirmick J. et al., 2018], окислительный стресс [Yoon J. et al., 2017], ограничение поступления в клетку макронутриентов и энергии, расщепление старых или поврежденных органелл, расщепление белковых агрегатов, освобождение от избытка определенных белков, в том числе сигнальных после выполнения их функции [Lim J. et al., 2019].

За изучение роли аутофагии в патогенезе заболеваний в 2016 году была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины [Levine B., Klionsky D., 2017].

Аутофагия сопряжена с окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, процессами старения клетки и другими механизмами, лежащими в основе патогенеза многих заболеваний. Несмотря на то, что экспрессия основных генов аутофагии - *BECN1*, *MAP1/LC3B*, *ATG5*, *ATG7*, *ULK1*, *PIK3C3*, *mTOR* - существенно не меняется с возрастом, показано, что при старении в клетке аккумулируются поврежденные белковые комплексы и органеллы [Kim H. et al., 2018]. С аутофагией связаны белки Beclin-1, LC3-II/LC3-I

(microtubule-associated protein 1 Light Chain 3), рецептор p62, ATG-5,-7,-12,-14 (Autophagy-Related Gene), LAMP-2A, FIP200, WIPI1, HSC70 и другие [Kim H. et al., 2018; Noguchi S. et al., 2019; Backe S. et al., 2023]. Уровень белка p62 предлагается в качестве биомаркёра аутофагии для оценки её активности в экспериментальных или клинических условиях [Hill D. et al., 2021]. LC3 считается центральным белком, регулирующим аутофагию, одна из его форм – LC3-II, связана с аутофагическими вакуолярными мембранами. Уровень LC3В коррелирует с поздней фазой формирования аутофагосом. В эксперименте *in vitro* показана небольшая разница в скорости лизосомального протеолиза белка LC3 в клетках молодых и старых фибробластов [Kim H. et al., 2018]. У пожилых людей наблюдались признаки дисфункции аутофагии, связанных с белками LC3-II и LC3-II/I [McCormick J. et al., 2023].

Для поддержания гомеостаза клеток работает несколько систем, в том числе, молекулярные шапероны и аутофагия. HSP90 формирует комплекс с белком Atg1, который супрессирует его киназную активность. Под действием Atg1 происходит фосфорилирование серина в N-концевом домене HSP90, ингибируется его АТФазная активность и изменяется активность самого шаперона HSP90. Эти изменения изменяют конформацию пептида, связанного с каталитическим центром Atg1. Фосфорилирование HSP90 приводит к диссоциации комплекса Hsp90-Atg1, активации Atg1 и запуску сигналов аутофагии [Backe S. et al., 2023].

Сигнальный путь аутофагии PI3K/AKT/mTOR/HIF-1a/BNIP3/Beclin-1 активируется при ишемии или недостатке нутриентов и энергии в клетках, он сопряжен с киназой mTOR – ключевым внутриклеточным регулятором. Когда аутофагия активируется в результате стресса, то инициируются два сигнальных пути: сопряжённый с mTORC1, а также с фосатилиинозитол-3-киназным комплексом III класса, в результате происходит сборка фагофора, который далее формирует везикулярные структуры – аутофагосомы. Зрелые аутофагосомы сливаются с лизосомами и образуются аутолизосомы, окруженные одинарной мембраной [Hill D., et al., 2021].

На рисунке 1 представлена фотография с электронного микроскопа, аутофагосомы указаны стрелками.

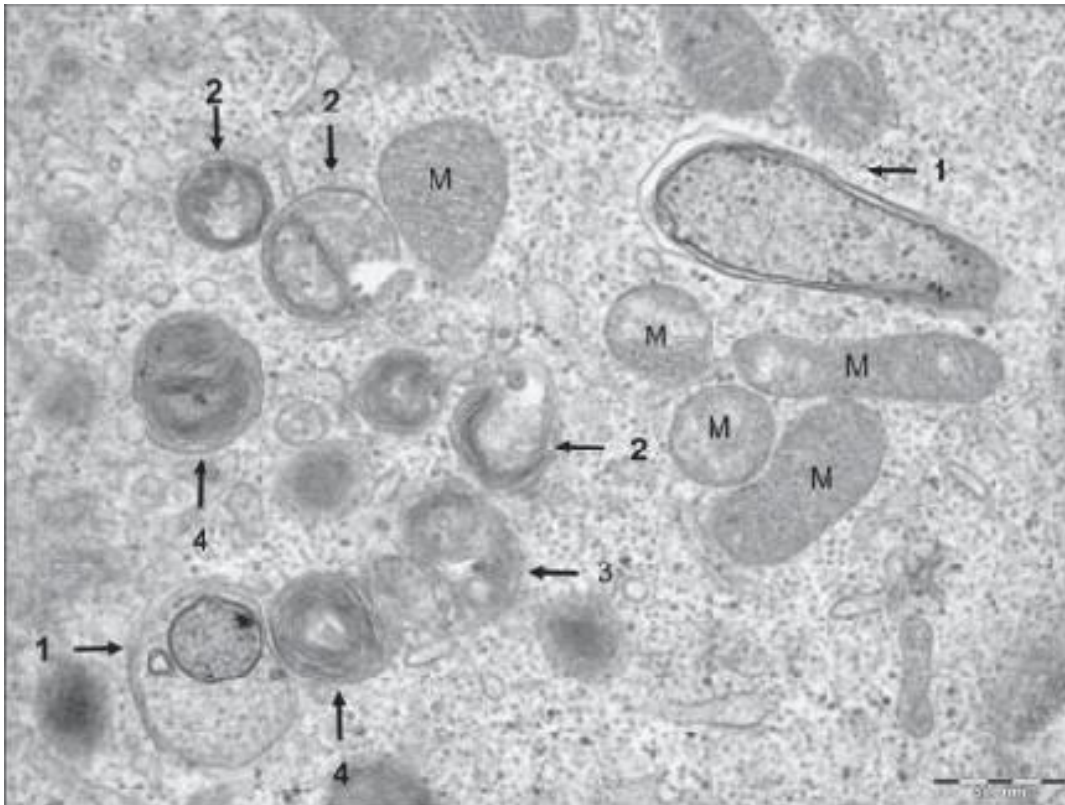


Рисунок 1. Данные трансмиссионной электронной микроскопии фибробластов человека. Аутофагосомы (1) и (2) окружены двойной мембраной с фагоцитированным материалом внутри (3). В результате слияния аутофагосомы с эндосомой образовалась амфисома, способная к деградации. Аутолизосомы заполнены частично расщеплёнными липидами (4). Митохондрии (М).

[The figure is used by courtesy of Gérard Pierron (CNRS, Villejuif, France). https://www.researchgate.net/figure/Autophagic-organelles-visualized-by-transmission-electron-microscopy-in-starved-human_fig1_26316939].

На рисунке 2 представлена схема формирования аутофагосом.

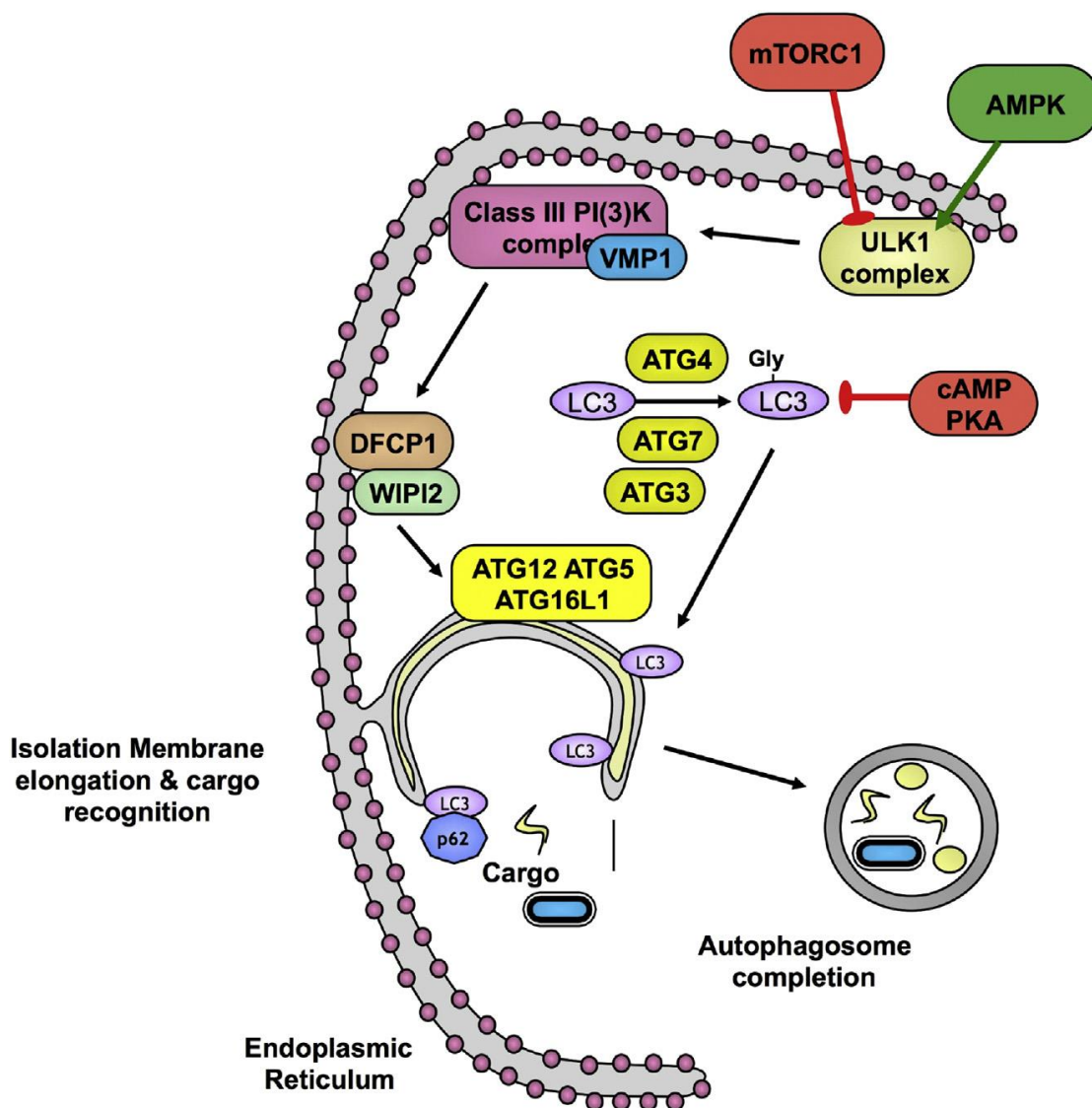


Рисунок 2. Молекулярные механизмы формирования аутофагосомы.

Цистерны эндоплазматического ретикулума (ЭР) – это основной источник мембраны аутофагосом. ATG9 – это мембранный белок, который перемещается между сетью транс-Гольджи, эндосомами и предшественниками аутофагосом, регулирует формирование аутофагосом. После индукции аутофагии комплекс ULK1-ATG13-FIP200-ATG101 перемещается в ЭР и связывается с белком мембраны VMP1, что приводит к активации фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) Vps34 и связыванию белков DFCP1, WIPI2) и комплекса ATG12-ATG5-ATG16L1 с внешней поверхностью изолирующей мембраны, удлинение которой требует последовательного действия протеазы ATG4, ATG7 и ATG3 для генерации белка LC3-II (легкой цепи 3 белка, ассоциированного с микротрубочками), (LC3-II – это гомолог дрожжевого ATG8). Белки ATG и LC3 важны для закрытия сформированной аутофагосомы. Специфические адаптерные белки (p62 / SQSTM1 и др.) связывают убиквитинированные белковые агрегаты, направляя их на деградацию в аутолизосомы. После диссоциации ATG16 динеин взаимодействует с LC3 для перемещению аутолизосомы в перинуклеарную область клетки для слияния с лизосомами.

[Harnett M. et al., *Biomed. J.* – 2017. – Vol.40, N.1. – P.9-22].

1.4.2. Связь аутофагии с воспалением

В процессе заживления раны происходят сложные взаимодействия между клетками и цитокинами, имеются нарушения заживления ран при снижении уровня провоспалительных цитокинов IL-6, TNF- α , PgE2 и т.д. Белок NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3) является ключевым регулятором заживления ран кожи, осуществляя связь между макрофагами и миофибробластами, он усиливает секрецию NO, IL-6, TNF- α в макрофагах M1 и IL-10 в макрофагах M2 [Zhao J. et al., 2025], координирует взаимодействие между инфламмосомами и реактивными метаболитами кислорода (ROS) [Dominic A. Et al., 2022],

При развитии воспалительных процессов в дерме накапливаются перекиси, истощается антиоксидантная защитная система кожи (супероксиддесмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза), что обуславливает изменение гидратации и снижение эластичности кожных покровов. Одновременно происходит накопление повреждений в митохондриях и митохондриальной ДНК, которая играет роль в развитии дегенеративных заболеваний. Ряд работ указывает на связь аутофагии и воспаления [Jin H. et al., 2017]. В модельной системе на животных было показано, что нарушение аутофагии связано с воспалительным процессом в слизистой оболочке. Если вводили ингибиторы аутофагии, то в слизистой снижалась экспрессия провоспалительных цитокинов и маркеров макрофагов с воспалительным фенотипом M1. Блокада аутофагосом обуславливала снижение экспрессии белков p62, BCL10, p-IkBa, NF- κ B p65 [Macias-Ceja D. et al., 2017].

Аутофагия не только играет роль в процессе воспаления, но и синхронизирует ряд сигнальных путей, вовлеченных в этот процесс. Ключевой фактор инициации аутофагии - Beclin-1 - экспрессируется на самых ранних стадиях воспаления [Zsiros V. et al., 2017]. Во время пика воспаления число органелл, подвергающихся аутофагии, возрастает, особенно в период 7–8 дня от начала воспаления. Уровень фосфорилированных p-Akt и p-mTOR достигает максимума на 3–5-й день от начала воспаления, затем постепенно снижается.

Аутофагия определяет метаболизм и дифференцировку клеток иммунной системы при воспалении. Показано пересечение сигнальных путей AMPK и киназы mTOR и их прямое участие в регуляции метаболических путей и дифференцировки иммунных клеток (Т и В лимфоцитов, предшественников лимфоцитов, миелоидных клеток) [Riffelmacher T. et al., 2017]. Аутофагия играет ведущую роль в поддержании жизнеспособности клеток иммунной системы при стрессе [McCirmick J. et al., 2018]. Клетки иммунной системы претерпевают метаболические изменения в случае активации аутофагии [Riffelmacher T. et

al., 2017]. С возрастом мононуклеарные клетки периферической крови людей приобретают признаки нарушения аутофагии [McCormick J. et al., 2023].

При пролонгированном состоянии ишемии возможности аутофагии по поддержанию жизнеспособности клеток резко снижаются, в этом случае начинается активация сигнальных путей апоптоза, что приводит клетки к гибели [Ploumi C. et al., 2022].

У нейтрофилов есть особенности активации аутофагии, в частности, это связано с высвобождением экстраклеточных частиц (trap), которые передают информацию другим клеткам об активации аутофагии [Sharma A. et al., 2017]. Кроме того, существует пересечение сигнальных путей аутофагии и фагоцитоза, что приводит к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов при активации аутофагии [Nanni M. et al., 2018].

Рецептор P2X7 – это ионный канал, активируемый АТФ и экстраклеточными лигандами, он активирует сигнальные пути аутофагии, пироптозиса, пролиферации и т.д., с участием сигнальных белков Beclin-1, LC3-II, каспазы-11, Akt/PKB, сопрягает сигнальные пути воспаления, аутофагии и метаболического стресса [Orioli E. et al., 2017].

Повреждение тканей при операции вызывает асептическое воспаление за счет активации NADPH оксидазы, ROS, активации протеаз, эндонуклеаз, повреждения митохондрий. Аутофагия, ассоциированная с гипоксией, сопряжена с экспрессией фактора HIF-1 α [Huang H. et al., 2018] и киназы AMPK, которые играют роль в развитии и поддержании повреждений тканей [Hill D., et al., 2021].

Аутофагия играет роль в процессе заживления ран. При повышенной активности аутофагии заживление ран замедлено, в хронических раневых поражениях кожи обнаружено повышение экспрессии белка LC3. Накопление в ране поляризованных M1 макрофагов, секретирующих провоспалительные цитокины, ассоциировано с повышением активности аутофагии [Guo Y. et al., 2016].

1.4.3. Аутофагия и эпидермальные кератиноциты

Аутофагия необходима для нормального гомеостаза кожи, дифференцировки клеток эпидермиса, регуляции обмена в клетках кожи и удалению повреждённых клеточных органелл [Hill D. et al., 2021]. Аутофагия играет роль в терминальной дифференцировке эпидермальных кератиноцитов, деградации меланосом в эпидермальных кератиноцитах, в выживании и пролиферации меланоцитов, росте волос и т.д. [Monteleon C. et al., 2018].

Активация аутофагии способствует скорейшему заживлению кожного лоскута после операции [Хуе К. et al., 2023], препятствует формированию гипертрофических рубцов в послеоперационном периоде [Okuno R. et al., 2018; Shi J. et al., 2018].

Эпидермальные кератиноциты мигрируют в гранулярный слой, где происходит их терминальная дифференцировка, которая сопровождается потерей органелл и преобразованием в денуклеированные клетки или корнеоциты. Кератиноциты подвергаются значительной структурной перестройке и ремоделированию при эпидермальной дифференцировке, что включает трансформацию протеома вместе с редуцированием общей клеточной биомассы. Это подразумевает активное участие аутофагии. Процессы аутофагии постоянно активированы в гранулярном слое, в клетках много аутофагосом. Дифференцирующиеся кератиноциты подвергаются селективной форме аутофагии - нуклеофагии, которая характеризуется накоплением аутолизосом, экспрессирующих белок p62 и LC3/LAMP2 (light chain 3/ lysosomal-associated membrane protein 2). Эти перинуклеарные везикулы, положительные по HIP (histone interacting protein) и белку гетерохроматина 1 α , локализуются в непосредственной близости с белками Lamin A и Lamin B1 [Frank D. et al., 2019]. В кератиноцитах белок Beclin 1 регулирует аутофагию совместно с белками Atg14 [Noguchi S. et al., 2019].

В эпидермальных кератиноцитах воспаление снижается при активации аутофагии за счет TLR3 рецептора [Li X. et al., 2020].

Митохондриальные ROS, образуемые в результате окислительного фосфорилирования, также необходимы и для нормальной дифференцировки кератиноцитов. ROS высвобождаются в цитозоль, запускают процессы аутофагии и лизосомо-зависимой деградации, что необходимо для процесса дифференцировки. В этом процессе лизосомы поддерживают метаболизм митохондрий и продукцию ROS митохондриями [Monteleon C. et al., 2018]. Активация аутофагии способствует защите кератиноцитов от окислительного стресса [Yoon J. et al., 2017].

В кератиноцитах снижение активности аутофагии связано с накоплением повреждённой ДНК, старением клеток, окислительным стрессом, изменением состава комплексных сфинголипидов, повышением чувствительность к окислительному стрессу [Song X. et al., 2017]. В условиях гипоксии возрастает скорость пролиферации кератиноцитов [Shih C. et al., 2018].

В кератиноцитах человека скорость фагоцитоза и аутофагии зависит от уровня экспрессии рецепторов FGFR2b (Fibroblast Growth Factor Receptor 2), сплайсинговый вариант рецептора FGFR2b инициирует несколько сигнальных путей, в том числе, аутофагии и фагоцитоза, при этом сигнальный путь аутофагии включает в качестве вторичных мессенджеров PLC γ , PKC δ и киназу JNK1 [Nanni M. et al., 2018].

1.4.4. Аутофагия в фибробластах кожи

Аутофагия в фибробластах кожи человека изменяется с возрастом. Некоторые работы прямо указывают на различия в процессах аутофагии между молодыми и старыми клетками, но в ряде работ не находят различий по возрасту. Так, в работе [Kim H. et al., 2018] установлено, что число аутофагосом в 1 микроМ² цитозоля примерно одинаково у молодых и старых фибробластов; экспрессия белка LC3-II и скорость протеолиза белков LC3 и p62 в лизосомах существенно не отличается у молодых и старых фибробластов.

В синхронизированной культуре фибробластов кожи человека происходит значительное ослабление процессов аутофагии при старении клеток по сравнению с молодыми клетками. Практически в 80% старых клеток наблюдалось снижение экспрессии белка LC3B, ассоциированного с формированием микротрубочек и с мембранами аутофагосом, он также коррелирует с поздней стадией формирования аутофагосом [Pernodet N. et al., 2016].

1.4.5. Старение кожи и аутофагия

Старение кожи характеризуется изменениями структурных, клеточных и молекулярных компонентов эпидермиса и дермы. С возрастом происходит уменьшение толщины эпидермиса, снижается объём клеточной массы, включая эпителиальные, иммунные и стромальные клетки, объём эластичных волокон и васкуляризация дермы, увеличивается число меланоцитов и тучных клеток [Arnal-Forné M. et al., 2024]. Гистологически стареющая кожа демонстрирует эпидермальную атрофию из-за уменьшения количества клеток. Старение кожи сопровождается уменьшением толщины дермы, появлением морщин, снижением тургора кожи и её обвисанием, появлением пигментных пятен [Gu Y. et al., 2020].

Несколько молекулярных механизмов влияют на старение кожи, включая укорочение теломер, окислительный стресс, цитокины, аутофагический контроль, микроРНК и микробиом [Lee H. et al., 2021]. Решающее значение для гомеостаза кожи имеет синтез и деградация компонентов экстраклеточного матрикса (ECM), в том числе, коллагена [Fullard N. et al., 2024]. При старении кожи происходит снижение синтеза коллагена, в том числе, проколлагена 1-го типа, его истощение и фрагментация, что приводит к потере механического натяжения кожи и к снижению её тургора [Boismal F. et al., 2024]. В норме коллаген составляет 70-80% сухого веса кожи и определяет структурную основу дермы и её упругость. Основной коллаген кожи – это типы I и III, есть небольшой

процент типов IV, V, VI, VII и XI. Нити коллагена, располагающиеся в виде сети, ответственны за изменения кожи при стрессе. С возрастом свободная длина коллагеновых волокон уменьшается, снижается плотность коллагеновой сети, что обуславливает появление морщин при многократно повторяющемся действии и неспособность кожи вернуться к первоначальному состоянию. Эластичность кожи также резко снижается с возрастом за счет потери воды [Woessner A. et al., 2024].

При сравнении экспрессии генов и белков ЕСМ обнаружено, что стареющие клетки продуцируют больше матриксных металлопротеиназ (ММР), чем клетки молодых людей. ММР отвечают, в частности, за деградацию коллагена. Ингибиторы ММР применяют для восстановления синтеза коллагена [Lee J. et al., 2025].

За изменения гидратации и упругости кожи отвечают протеогликаны и глюкозаминогликаны, которые претерпевают существенные изменения с возрастом; особенно малые лейцин-обогащенные протеогликаны, ответственные за регуляцию клеток. С возрастом изменяется секреция гиалуроновой кислоты, снижается концентрация декорина и бигликана в люминальном слое стареющей кожи, уменьшается длина декорина и появляется много его разновидностей, не свойственных молодой коже. Поскольку декорин имеет отношение к фибриллогенезу и определяет диаметр фибрилл, изменение его молекулярного состава оказывает влияние на эластичность кожи [Silver F. et al., 2021; Fu Z. et al., 2024].

В дерме старой кожи уменьшено количество фибробластов. Стареющие фибробласты могут ускорять возрастную дисфункцию других клеток кожи и вызывать системное воспаление [Zhang J. et al., 2024]. Связанный со старением кожи секреторный фенотип (SASP) фибробластов снижает пролиферацию, нарушает высвобождение основных факторов роста, усиливает деградацию ЕСМ посредством активации ММР. Накопление ROS запускает изменение гомеостаза ЕСМ, накопление стареющих фибробластов, потерю идентичности клеток и хроническое воспаление. Эти события регулируются сигнальными путями, такими как фактор, связанный с ядерным фактором эритроида 2 (Nrf2), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) [Zhang J. et al., 2024].

Сравнение секретома фибробластов, выделенных из кожи молодых и пожилых лиц, выявило значительное изменение 63 белков в состоянии покоя и 73 белков в состоянии, стимулированном TGF- β 1, количество секретируемых белков в старых клетках уменьшилось на 77%. Большинство белков было связано с цитоскелетом, при старении в фибробластах повышалась экспрессия коронина 1С и филамина В и уменьшалась

экспрессия кофилина и актина альфа, эти белки участвуют в полимеризации актиновых филаментов и в подвижности клеток [Boismal F. et al., 2024].

Старение связано с потерей подкожного жира лица, что обуславливает гравиметрические последствия – обвисание и потеря тургора кожи, сморщивание эпидермиса [Nkengne A., Bertin C., 2016].

В основе лежит нарушение дифференцировки преадипоцитов, на долю которых в жировой ткани приходится от 15 до 50% клеток. Дифференцировка преадипоцитов инициируется сигналами жирных кислот и глюкокортикоидов, ключевыми факторами транскрипции являются PPAR γ и C/EBP- α , снижением экспрессии которых резко снижает способность преадипоцитов к дифференцировке и пролиферации. Одновременно в подкожно-жировой ткани повышается уровень воспаления и резистентность к инсулину [Chon S., Pappas A., 2014].

У женщин в период менопаузы изменения в коже связаны со снижением уровня эстрогенов, который способствует анаболизму коллагена. В период менопаузы резко снижается уровень коллагена за счёт снижения его синтеза и повышения уровня деградации. Эти изменения отличаются от процессов естественного старения кожи, сопровождаются потерей волос, изменением цвета кожи и появлением пигментации, атрофии и сухости кожи [Korkina L. et al., 2024].

Снижение активности аутофагии сопряжено со старением кожи [Murase D. et al., 2020; Lee H. et al., 2021] и сопровождается изменением экспрессии генов [Kalfalah F. et al., 2016]. Связь между аутофагией и старением не является прямой, однако аутофагия играет решающую роль для предотвращения старения кожи [Kim H. et al., 2018]. В гиперпигментированной коже и в областях ксероза активность аутофагии снижена [Murase D. et al., 2020]. При активации аутофагии повышается деградация меланосом и обесцвечиваются кератиноциты с перемещёнными меланосомами [Kim J. et al., 2020].

Стареющие клетки накапливаются в тканях, что обуславливает проявление SASP фенотипа [Cavinato M. et al., 2021]. Существует механизм удаления стареющих клеток.

С возрастом снижается скорость обмена рецептора p62 [Cavinato M. et al. 2017], имеются различия в скорости его лизосомального протеолиза в молодых и старых фибробластах дермы [Kim H. et al., 2018], что говорит о снижении активности аутофагии при старении [Zhou J. et al., 2017].

При старении показано снижение степени конъюгирования белка LC3B-I с фосфатидилэтаноламином вследствие снижения уровня белков ATG3, ATG12-ATG5.

Маркеры шаперон-зависимой ауофагии – LAMP-2A и Hsc70, и маркеры обмена митохондрий – Drp1, PINK1, PGC1 α , также снижены с возрастом [Zhou J. et al., 2017].

При старении клетки претерпевают биохимические и морфологические изменения, что приводит к нарушению их функциональной активности. При репликативном старении клеток эндотелия в них происходит накопление удлинённых митохондрий, вакуолей фагосом, повышается продукция ROS и интерлейкина IL-1 β , снижается экспрессия анти-апоптозного белка Bcl-2, но повышается экспрессия Bcl-xL и Survivin. В стареющих клетках повышается экспрессия изоформ 181a, 34a и 146a митохондриальной микроРНК, что приводит к снижению экспрессии белка Bcl-2, индукции открытия пор PTP (permeability transition pore), активации каспазы-1 и каспазы-3, активация белков аутофагии LC3-I и LC3-II [Giuliani A. et al., 2018].

1.4.6. Стресс и аутофагия

Стресс оказывает негативное влияние на состояние кожи. Структурные изменения включают в себя сухость кожного покрова, повышенную ломкость, образование складок и морщин, дряблость и обвисание кожи, появление доброкачественных и злокачественных новообразований. К функциональным изменениям относятся: снижение барьерной функции кожи, дегидратация, снижение потенциала к восстановлению клеточной массы, снижение иммунологической защиты кожного покрова, нарушение терморегуляции. В основе этих процессов лежит потеря значительной части клеточной массы эпидермиса и дермы за счет повышенной гибели клеток и сниженной скорости их восстановления.

Стресс, ассоциированный с эндоплазматическим ретикулумом, и сниженная активность протеолитической системы сопряжены с нарушением процессов аутофагии. Снижение активности аутофагии сопряжено с рядом патологий, ассоциированных с возрастом, в частности, накопление триглицеридов, дисфункция митохондрий, мышечная дегенерация, сердечная недостаточность [Maciel M. et al., 2018].

В мононуклеарных клетках крови молодых и старых людей имеются различия в экспрессии белков теплового шока (HSP) и аутофагии, у молодых повышена экспрессия мРНК HSPA1A, а также белка LC3-II в ответ на рапамицин, у старых понижен ответ на рапамицин на уровне мРНК MAP1/LC3B. В мононуклеарах крови старых людей супрессирована аутофагия в ответ на обработку рапамицином [McCormick J. et al., 2018].

Старение сопровождается повышением уровня окислительного стресса в клетках кожи. Экспрессия основных белков аутофагии – BECN1, MAP1/LC3B, ATG5, ATG7, ULK1,

PIK3C3, mTOR – существенно не меняется с возрастом, однако, имеется накопление поврежденных белковых комплексов и органелл [Kim H. et al., 2018].

Окислительный стресс способен ослабить аутофагию за счет окисления белков ATG3 и ATG7. Обмен белков ATG3 и ATG7 зависит от цистеина, поэтому их окисление может приводить к ослаблению катаболизма при окислительном стрессе. При развитии аутофагии LC3 перемещается от каталитического тиола на ATG7 к тиолу в активном сайте ATG3, где он конъюгируется с фосфатидилэтанолаином (PE). LC3 связывается с каталитическими тиолами неактивных ATG3 и ATG7 и формирует стабильные тиоэфиры, которые перемещаются при стимуляции аутофагии. Транзитное взаимодействие с LC3 вовлекает каталитические тиолы на ATG3 и ATG7, которые при окислительном стрессе ингибируются. Белки Atg претерпевают изменения при окислительном стрессе в тканях с возрастом, что приводит к подавлению активности аутофагии [Burgoyne J., 2018].

Активация аутофагии сопряжена с фосфорилированием белков Atg1/Ulk1 и одновременным ингибированием белков HSP90 [Backe S. et al., 2023]. Также показана возрастная зависимость уровня экспрессии этих белков. Цитозольный протеин p62 регулирует фосфорилирование вторичных мессенджеров Src, STAT3 в сигнальных путях аутофагии [Ito S. et al., 2016], а также сопрягает сигнальные пути аутофагии и протеасомной деградации убиквитинированных белков [Liu W. et al., 2016], что снижено в клетках людей при старении [McCormick J. et al., 2023].

Индукция перекисного окисления снижала активность аутофагии в старых клетках [Yoon J. et al., 2017].

1.5. УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

1.5.1. Действие УФ на кожу человека

Ультрафиолетовое излучение (УФ) на 96–99% состоит из длинноволнового излучения – УФА (315–400 нм) [Wu S. et al., 2019], остальное приходится на долю средневолнового излучения – УФВ (280–315 нм) [Lee K. et al., 2019]. УФА обладает наибольшей способностью проникать в глубокие слои кожи, УФВ почти полностью поглощается эпидермисом. Коротковолновое УФС (100–280 нм) поглощается озоном атмосферы и не оказывает существенного влияния на кожу человека. Под действием УФ в составе солнечного света на коже человека остаётся загар [Kruglikov I., Scherer P., 2016].

УФВ излучение может непосредственно воздействовать на ДНК и вызывать её изменения, тогда как УФА оказывает опосредованное влияние на ДНК через

окислительный стресс, нарушение системы антиоксидантов и изменение окислительно-восстановительного баланса клетки [Appelqvist H. et al., 2013].

Толщина дермы кожи лица около 11,5 мм, поэтому только часть УФ может проникать в глубокие слои дермы и оказывать влияние на клетки и ЕСМ дермы. При длительном воздействии УФ на кожу (>20 недель) может быть потеря объема подкожной жировой ткани с последующей заменой её фиброзными структурами и развитием кожного фиброза [Kruglikov I., Scherer P., 2016]. Загрязнения окружающей среды, в том числе, мобильная связь 5G [Patrignoni L et al., 2024], потенцируют негативные эффекты УФ и генерацию ROS, ускоряют старение фибробластов дермы кожи [Guerrero-Navarro L. et al., 2024].

УФ может влиять на заживление операционной раны, замедление восстановления кожи после операции, появление очагов некроза в операционном шве и другие негативные события, которые приводят к осложнениям после операции лифтинга лица.

1.5.2. УФ и клетки кожи

Кератиноциты – это доминирующие клетки в эпидермисе кожи человека, на них ложится основная роль в защите кожи от УФ. УФ вызывает повреждение ДНК кератиноцитов, деструкцию мембран клеток, что приводит к воспалению кожи [Caiazzo G. et al., 2022]. УФ вызывает в кератиноцитах сначала аутофагию, а затем, при длительном воздействии, апоптоз или некроз, также возможно развитие пироптоза [Tang Z. et al., 2021].

УФ может напрямую или косвенно активировать кератиноциты, индуцировать в них экспрессию эндогенных лигандов, которые стимулируют каскад сигналов, изменяющих секреторный фенотип кератиноцитов, в результате они начинают секретировать белки и рецепторы, активирующие клетки иммунной системы кожи [Wang X. et al., 2013].

УФ повышает экспрессию рецепторов TLR-2, TLR-4 на клетках Лангерганса, одновременно повышается экспрессия белка INFRF-3 (interferon regulatory factor-3), MAPK киназы и ядерного фактора транскрипции NF-kB/p65, входящих в сигнальные пути этих рецепторов [Wang X. et al., 2013].

УФ вызывает в коже окислительно-восстановительный дисбаланс и гибель фибробластов кожи. После УФ в фибробластах кожи повышается экспрессия 2007 генов и снижается экспрессия 2791 гена, в том числе, генов антиоксидантов [Alafiatayo A. et al., 2020]. Под действием УФ в фибробластах регистрируется воспалительный фенотип SASP, секретируются молекулы, которые участвуют в регуляции сигнальных путей цитокинов в

клетках иммунной системы, в регуляции пролиферации эпителиальных клеток и межклеточной адгезии [Qiang M., Dai Z., 2024].

Фибробласты дермы могут фагоцитировать и разрушать эластин, коллаген и конечные продукты гликирования в лизосомах, что играет важную роль в гомеостазе ЕСМ и удалении токсичных продуктов в дерме [Huang Y. et al., 2019].

1.5.3. УФ и воспаление

УФВ вызывает повреждение ДНК кератиноцитов, деструкцию мембран клеток, что приводит к воспалению кожи [Caiazzo G. et al., 2022]. Гибель кератиноцитов в эпидермисе при УФ и секреция погибающими кератиноцитами IFN- γ вызывают поляризацию макрофагов в воспалительный фенотип M1, что усиливает воспаление в коже [Xiao T. et al., 2024].

УФ индуцирует секрецию в коже провоспалительных цитокинов IL-1, TNF- α , MMP и bFGF (basic fibroblast growth factor), сигнальные пути сопряжены с NF-kB [Lee K. et al., 2019]. УФ активирует кальпаин. Ингибирование кальпаина защищает от УФ белки, ассоциированные с дермально-эпидермальным переходом [Doleckova I. et al., 2024].

Нейтрофилы первыми приходят в сайт воспаления в коже. УФ повышает секрецию миелопероксидазы нейтрофилами кожи, активирует каспазы, генерацию ROS, активацию MAPK p38 [Azzouz D. et al., 2018]. При остром стрессе пик накопления нейтрофилов в дерме наступает через 12 часов и разрешается через 24 часа. Повторный стресс вызывает усиление притока нейтрофилов в кожу и продолжительную инфильтрацию ими воспалённого участка кожи [Xu Y. et al., 2024].

Каталаза работает как скавенджер в роговом слое эпидермиса кожи и захватывает свободные радикалы кислорода. УФ дезактивирует нативную форму каталазы, что снижает её антиоксидантную активность и повышает окислительный стресс и вероятность развития кожных заболеваний [Labecka N. et al., 2024].

Консервативные ядерные белки семейства HMGB, в частности HMGB1 (High-mobility group box 1), активируют воспаление. Рецептор HMGB1 – RAGE (receptor for advanced glycation end products), экспрессируется на кератиноцитах. При УФ облучении HMGB1 перемещается из ядра в цитоплазму, одновременно фосфорилируются киназы Erk1/2; если этого не происходит, в клетках резко ограничивается активность аутофагии [Mou t al. 2017; Park E. et al., 2017].

1.5.4. Стресс и УФ

Стресс, вызванный УФ, ультимативно ведёт к старению кожи, при этом в клетках дермы происходит накопление поврежденных белков, липидов, органелл и клеточных структур [Sample A., He Y., 2017].

Под действием УФ в кератиноцитах наблюдается накопление в ядре и около него фосфорилированного HSP27, что сопряжено с активацией ROS и сигнальных путей MAPK киназы [Scieglinska D. et al, 2019], в том числе, сигналы, связанные с MAPK p38 [Liu B. et al 2013]. В кератиноцитах УФ также обуславливает активацию HSP90, при этом снижается его связывание с протеинкиназой C (PKC), снижается экспрессия фосфорилированных STAT3 и АКТ/ПКВ (протеинкиназы B) [Scieglinska D. et al, 2019].

Белок HSP72 в кератиноцитах экспрессируется всегда, но его уровень повышается под действием УФ [Jonak C. et al., 2009]. Сразу после УФ облучения фактор транскрипции HSF1 диссоциирует из комплекса HSP72/HSF1, тримеризуется, фосфорилируется, затем связывает элемент теплового шока (HSE, heat shock element) в промоторном регионе гена *HSP72*. Уровень мРНК HSP72 повышается через ~1 – 3 часа после УФ облучения, а пик экспрессии белка HSP72 регистрируется через 6 часов. Это защищает кератиноциты от УФ и препятствует повреждению кожи [Zhou X. et al., 1998].

Предварительная гипертермия оказывает протективное влияние на кератиноциты в плане защиты от УФ, так как вызывает индукцию HSP72, который повышает резистентность кератиноцитов к апоптозу вследствие УФ [Merwald H. et al., 2006].

УФ дозо-зависимо повышает экспрессию белков HSP60, HSP70 и β -дефензина-2 в эпидермальных кератиноцитах человека. HSP70 – это ключевой фактор адаптивного ответа кератиноцитов на УФ. При загаре повышается экспрессия HSP70 в кератиноцитах и в клетках дермы, ответ быстрый, но не продолжительный [Kleszczyński K. et al., 2015]. Основными сигнальными путями, активированными УФ, являются сигналы, связанные с MAPK p38 [Liu K. et al., 2013; Kubo T. et al., 2024].

1.5.5. УФ и аутофагия

УФ облучение запускает процессы аутофагии в слоях дермы [Cavinato M. et al., 2017], что связано с накоплением поврежденных структур в клетках [Sample A., He Y., 2016]. Активация аутофагии снижает процент гибели кератиноцитов после УФ [Lin S. et al., 2019], предотвращает фотоповреждение кератиноцитов посредством регуляции сигнального пути AMPK/mTOR [Chu J. et al., 2023]. Под воздействием УФ в коже повышается экспрессия

факторов инициации аутофагии (FIP200, ULK1, ULK2, ATG13 и ATG101), а также экспрессия белков Beclin 1, LC3-I и LC3-II [Kim H. et al., 2021].

Снижение активности аутофагии было установлено при хроническом воздействии УФА на фибробласты кожи вследствие дисфункции лизосом и деградации сформированных аутофагосом, при этом имелся эффект фотостарения фибробластов [Huang Y. et al., 2019], что связано, в том числе, со снижением активности протеасом. Ингибирование протеасомной деградации поврежденных белков и активация аутофагии – это ранние проявления старения клеток, вызванного УФ, они зависят от накопления ROS [Cavinato M. et al., 2017; Lim G. et al., 2020].

Ослабление аутофагии ускоряет старение кожи, активация аутофагии, напротив, защищает кожу [Vikram A. et al., 2024].

В клетках кожи активность аутофагии снижается за счёт окислительного стресса [Pernodet N. et al., 2016]. Состояние ишемии/реперфузии сопровождается окислительным стрессом, выделением значительного числа свободных радикалов в клетке. Пересечение сигнальных путей ROS и сигналов аутофагии снижает активность аутофагии и активирует сигналы апоптоза [Guerrero-Navarro L. et al., 2024]. При длительном воздействии УФ также снижается активность аутофагии [Endo K. et al., 2020], что приводит к одновременной индукции не только апоптоза, но и воспаления [Azzouz D. et al., 2018; Chen Y. et al., 2024].

При фотостарении, вызванном УФА, в фибробластах экспрессия белка Beclin1 не изменялась, тогда как экспрессии рецептора p62 и белка LC3II были значительно увеличены по сравнению с клетками без УФ. Фотостарение, вызванное УФА, может подавлять аутофагию на стадии деградации сформированных аутофагосом. При фотостарении фибробластов также снижена экспрессия катепсинов -B, -L и -D, что указывает на снижение pH лизосом и ингибирование аутофагии [Huang Y. et al., 2019].

1.5.6. УФ и апоптоз

Если происходит ингибирование аутофагии, то клетки выходят в апоптоз [Kim H. et al., 2018]. В кератиноцитах УФ активирует апоптоз через рецепторы, а также с вовлечением сигнального пути Flk-1/JNK [Baek M. et al., 2018]. В фибробластах кожи активация апоптоза связана с сигналами от Fas-рецепторов. При снижении экспрессии адаптерного белка FADD (Fas-associated protein with death domain) повышается экспрессия RIPK1 (receptor-interacting protein 1) и сопряженная с ним секреция ROS, однако без участия белков p53, Bax, Bcl-2 и calpain-2 [Antunovic M. et al., 2019]. Это приводит к развитию некроптоза.

УФА и УФВ по-разному активируют сигналы апоптоза, так, активация каспазы-8 регистрируется через 2 часа после воздействия УФА, но не после УФВ. В данном случае активация каспазы-8 зависит от лизосомальных катепсинов, сигнал которым передаётся от вторичных мессенджеров, сопряженных с кислой сфингомиелиназой на плазматической мембране клеток. Активность aSMase повышена в кератиноцитах после УФА [Appelqvist H. et al., 2013].

Повреждение клеток, вызванное УФ-облучением, классически связано с апоптозом, однако, в макрофагах эпидермиса, в основном, генерируются сигналы некроза, что приводит к гибели клеток и иммуносупрессии [Harberts E. et al., 2014].

Для компенсации погибших в апоптозе клеток стимулируются процесс пролиферации, что необходимо для поддержания барьерной функции кожи [Cavinato M. et al., 2017].

Одним из эффективных средств предотвращения гибели клеток при УФ излучении является применение женьшеня (*Panax ginseng*) и камелии японской (*Camellia japonica*), которые предотвращают распад коллагена при воздействии УФ, ингибируют сигналы стресса и апоптоза [Chen J. et al., 2024].

1.5.7. УФ и меланогенез

УФ регулирует меланогенез в меланоцитах. Сначала MIF (macrophage migration inhibitory factor) стимулирует экспрессию PAR-2 (Protease-activated receptor) кератиноцитами, затем PAR-2 стимулирует перенос меланосом, повышает фагоцитарную активность кератиноцитов и поглощение ими меланосом [Bento-Lopes L. et al., 2023]. Гранулы пигмента передаются кератиноцитам по мере их секреции, что обеспечивает образование загара на коже. Биологическим смыслом этого является защита генома клеток от УФ [Li S. et al., 2019].

Под действием УФ кератиноциты секретируют факторы, которые регулируют активность меланоцитов и обеспечивают поддержание их жизнедеятельности, в частности, секретируют белок α -MSH (α -меланоцит-стимулирующий гормон), который регулирует синтез меланина в меланосомах, а также воспаление и апоптоз меланоцитов [Jeayeng S. et al., 2017].

Аутофагия участвует в деградации меланосом и в изменении цвета кожи [Kim H. et al., 2021]. Имеется взаимодействие между белками аутофагии и меланогенезом. Белок аутофагии UVRAG, кодируемый геном устойчивости к УФ-излучению, образует комплекс с

белком аутофагии BECN1 и киназой PI3KC3/Vps34, что активирует киназу и приводит к ремоделированию мембраны аутофагосомы [Li S. et al., 2019].

Гормон мелатонин, который имеет, в том числе, антиоксидантную активность, способствует снижению экспрессии HSP70 в кератиноцитах после воздействия УФ [Kleszczyński K. et al., 2015].

1.5.8. УФ и старение кожи

УФ обуславливает развитие изменений в клетках кожи, которые называются фотостарением [Zhang J. et al., 2024], наиболее страдает эпидермис кожи. В дерме происходит отёк, инфильтрация клетками иммунной системы и воспаление, кожа сморщивается и покрывается морщинами за счёт деградация коллагена и истончения эпидермиса, появляется эпидермальный гиперкератоз и гиперпигментация [Xia Y, et al., 2024; Vind A. et al., 2024].

Фотостарение клеток сопровождается активацией каскада сигналов, приводящих к повреждению ДНК, окислительному стрессу, активации перекисного окисления липидов, повышению уровня ROS, апоптозу и т.д. Стресс эндоплазматического ретикулума играет важную роль в фотостарении, вызванном УФ [Tai M. et al., 2024]. ROS также активируют сигнальные пути аутофагии в клетках кожи что может защитить клетки от гибели и задержать процесс фотостарения кожи [Wang M. et al., 2019].

После УФ в фибробластах кожи регистрируется нарушение клеточного цикла, которое приводит к ускорению пролиферации и миграции клеток, что служит для компенсации погибших в апоптозе клеток и необходимо для поддержания барьерной функции кожи [Sample A., He Y., 2016; Sun J. et al., 2024].

Молодая и старая кожи отличаются по возможностям восстановления структурных компонентов кожи после воздействия УФ. Фибробласты молодой кожи после УФ гибнут быстрее, чем фибробласта стареющей кожи. Это связано со способностью молодого организма выводить в апоптоз клетки, содержащие многочисленные дефекты [Premi S. et al., 2019]. Стареющие клетки накапливают большее количество мутировавших генов, но при этом не гибнут. Этот механизм является одним из оснований для развития рака кожи после интенсивной УФ нагрузки в пожилом возрасте [Ke Y. et al., 2021].

1.6. КЕЛЛОИДНЫЕ РУБЦЫ

Любое оперативное вмешательство заканчивается формированием рубца. В норме это не должно быть заметно, особенно после пластических операций, однако, в ряде случаев

может сформироваться патологический рубец – гипертрофический или келоидный. Келоидные рубцы отличаются от нормальных и гипертрофических рубцов по морфологии и экспрессии генов [Walter A. et al., 2023].

Келоидные рубцы встречаются исключительно у людей, в мире более 11 миллионов человек имеют келоидные рубцы, их наличие отрицательно влияет на самооценку человека [Boahene K. et al., 2018]. После операций на лице чаще всего келоидные рубцы формируются в периаурикулярной области, вблизи угла нижней челюсти, в латеральной подбородочной области головы и шеи, реже – в центральной части лица [Wang J. et al., 2021; Cho H. et al., 2024]. При попытке решить проблему хирургическим путём рецидив бывает в 21% случаев [Cardenas D. et al., 2024].

В фибробластах келоидных рубцов были выявлены различия в экспрессии нескольких сотен генов по сравнению с нормальными рубцами [Serror K. et al., 2023]. Экспрессия генов NOX, которые реагируют на натяжение тканей, играет ведущую роль в формировании келоидной ткани [Kang M. et al., 2025]. В фибробластах келоидных рубцов повышена экспрессия гена и белка Krox20, он способствует активации генов, связанных с ремоделированием тканей и заживлением ран [Bakry O. et al., 2022]. Также в келоидных рубцах повышена экспрессия гена и белка KANK4 (KN motif and ankyrin repeat domains 4), что повышает подвижность миофибробластов и способствует формированию келоидных рубцов [Oishi M. et al., 2024]. Важной молекулой в фиброзировании тканей является вариант сплайсинга гена фибронектина (cFN-EDA), который способствует экспрессии генов, отвечающих за накопление коллагена и рост келоидных рубцов [Cohen A. et al., 2023].

В келоидных рубцах выражена зональность между центром и периферией и между поверхностной и глубокой дермой по степени пролиферации, апоптоза и некроза. При иницировании апоптоза запускаются как рецептор – зависимые сигналы, так и сигнальные пути, сопряженные с митохондриями. Центральная область в глубокой дерме является основным местом образования структур ЕСМ, которые затем распространяются по периферии келоидного рубца. Фибробласты имеют высокий пролиферативный потенциал по сравнению с фибробластами нормальной дермы. Скорость миграция фибробластов на периферии выше, чем в центре, и они имели более высокую силу натяжения [Serror K. et al., 2023].

В келоидных рубцах гипоксия регистрируется только в центре, где в фибробластах повышены маркеры гликолиза – ЛДГ, МСТ4, и гипоксии - HIF-2 α , на периферии оксигенация тканей нормальная, несмотря на пролиферацию клеток и увеличение плотности фиброзной ткани. Фибробласты в центре келоидного рубца, экспрессирующие

виментин, имеют высокий уровень аутофагии (повышение экспрессии LC3, локализованного с катепсинами) по сравнению с фибробластами из периферии [Okuno R. et al., 2018].

Соотношение коллагеназ-I и -III было значительно повышено в келоидных рубцах по сравнению с нормой. В келоидных рубцах устойчиво повышены уровни мРНК $\alpha 1$ -проколлагена и коллагена-I. Синтез коллаген-I регулируется рядом цитокинов на уровне транскрипции, а также TGF- $\beta 1$ и TGF- $\beta 2$ повышают экспрессию гена коллагена-I. На поздних стадиях формирования рубца преимущественно экспрессируется изоформа TGF $\beta 3$, которая регулирует метаболизм соединительной ткани [Serror K. et al., 2023].

В центре келоидного рубца фибробласты синтезируют более высокие уровни зрелых коллагенов и TGF- β по сравнению с клетками периферии, повышена экспрессия мРНК TGF- $\beta 1$ и снижена экспрессия мРНК TGF- $\beta 2$. Под действием TGF- $\beta 1$ или при механическом стрессе и гипоксии повышается экспрессия белка CTGF (Connective tissue growth factor), что поддерживает фиброзный фенотип, особенно по краю келоидного рубца [Serror K. et al., 2023]. Сигнализация TGF- $\beta 1$ /Smad регулирует экспрессию генов, кодирующих белки ЕСМ, а также контролирует пролиферацию и апоптоз клеток [Cohen A. et al., 2023].

В келоидных рубцах активны макрофаги M1 и M2, тучные клетки и дендритные клетки, они взаимодействуют с фибробластами путем прямого контакта или паракринными действиями [Cohen A. et al., 2023]. Процент Th17 лимфоцитов увеличен в келоидных рубцах по сравнению с нормальными, секретируемый ими IL-17A способствует пролиферации и миграции фибробластов, а также синтезу коллагена [Deng C. et al., 2025].

В фибробластах повышена экспрессия α -цепи рецептора IL-10, при связывании которого с его лигандом (IL-10) активируется сигнальный путь с участием АКТ, STAT3, mTOR. IL-10 ингибирует аутофагию за счет перекреста между сигнальным путем IL-10 / IL-10R / STAT3 с одной стороны, и, с другой стороны, сигнального пути IL-10- / АКТ / mTOR. Ингибирование аутофагии в фибробластах приводит к формированию гипертрофических рубцов [Shi J. et al., 2018].

Заживление ран после операции лифтинга лица – это сложный процесс, в котором генетические особенности пациента играют не последнюю роль. Чтобы предотвратить формирование келоидного рубца после лифтинга, прежде всего, необходимо собрать анамнез, а при наличии подобных рубцов после травм надо очень подумать о том, можно ли делать этому пациенту операцию на лице.

1.7. АПОПТОЗ

1.7.1. Определение апоптоза

Апоптоз – это системный процесс, контролирующий гибель клеток, регулируемый генами, планируемый в соответствии с общим планом развития организма, требующий затраты энергии и синтеза белка, завершаемый формированием апоптозных телец [Christgen S. et al., 2021]. Морфологические характеристики апоптоза позволяют отличить его от других типов гибели клеток. К ним относятся: активация каспаз и эндонуклеаз, конденсация хроматина, олигонуклеосомальная фрагментация ДНК, фрагментация ядра, конденсация и вакуолизация цитоплазмы, реорганизация цитоскелета, потеря контакта с ЕСМ, сморщивание клетки, образование апоптозных телец, утилизация профессиональными фагоцитами изолированных клеточных частиц без контакта их содержимого с внешней средой.

Морфологические проявления апоптоза определяются, в основном, активностью каспаз в отношении их специфических субстратов. Например, нарушение репарации ДНК вызывается потерей активности поли(АДФ-рибозо)-полимеразы (PARP, КФ 2.4.2.30) и ДНК-протеинкиназы. Фрагментация ДНК осуществляется ДНК-фрагментирующими факторами и эндонуклеазами, которые активируются каспазами. Потеря адгезии клетки обусловлена потерей активности фокальных киназ. К фрагментации ядра приводит активация ламинов каспазами. Фрагментация цитоплазмы происходит в результате потери активности белков цитоскелета, таких как фодрин, актин, и другие. Расщепление РАК-2 и гельсолина приводит к модификации мембран клетки. Каспазы ответственны за потерю контроля над клеточным циклом за счет протеолиза Rb протеина, ингибитора p21 и других регуляторов клеточного цикла [Fritsch M. et al., 2019; Newton K. et al., 2019; Jiang M. et al., 2021]. Методы оценки апоптоза: световая микроскопия, электронная микроскопия, витальные красители, МТТ, ядерные красители, определение фрагментации ДНК методом электрофореза в геле, TUNEL, ISEL, проточная цитометрия с PI, PI + annexinV, TUNEL + PI, Hoechst 33342 [Kari S. et al., 2022].

Анализ жизнеспособности клеток, а также развитие в них апоптоза, может дать информацию о риске развития послеоперационных осложнений. Наиболее интересной с этой точки зрения методикой является определение индуцированного апоптоза, когда клетка контактирует с веществом, связывающим рецепторы апоптоза или вызывающее изменение митохондрий. Если в клетке уже активированы сигнальные пути апоптоза, то дополнительный триггер вызовет необратимую гибель клеток. Так можно выявить те

клетки, которые неизбежно погибнут во время операции вследствие ишемии. Для индукции апоптоза используют С2-церамид, который может проникать через мембрану клеток [Jiang S. et al., 2017].

С точки зрения регуляции сигнальных путей апоптоза наиболее важен С6-церамид, который является вторичным мессенджером сигнальных путей апоптоза, он также регулирует рост клеток, дифференцировку, клеточный цикл, старение, является вторичным мессенджером многих сигнальных путей, формирует каналы в мембранах клеток [Cheng Q. et al., 2018].

Химическое строение церамидов показано на рисунке 3. Структурные различия между церамидами представлены на рисунке 4 (по данным Avanti Polar Lipids, Inc. www.avantilipids.com).

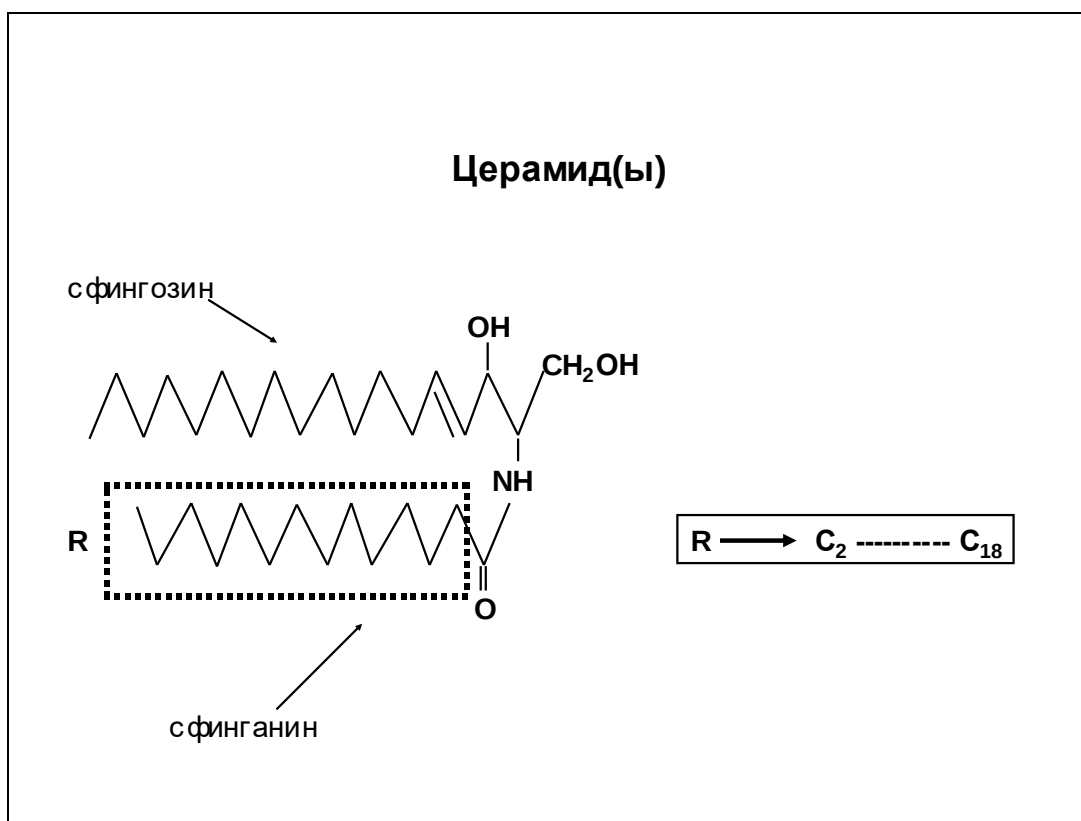
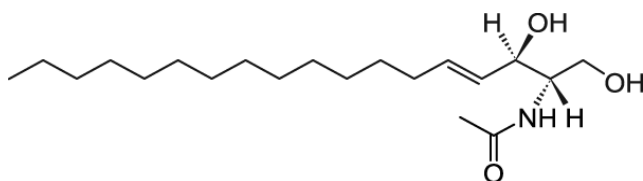
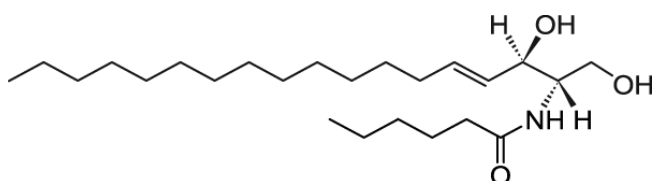


Рисунок 3. Химическое строение церамидов.

C2-Церамид (d18:1/2:0) *N*-acetyl-D-erythro-sphingosine



C6-Церамид (d18:1/6:0) *N*-hexanoyl-D-erythro-sphingosine



C16-церамид (d18:2(4E,8Z)/16:0) *N*-palmitoyl-D-erythro-sphingosine (d18:2)

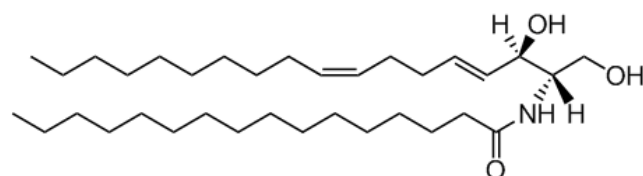


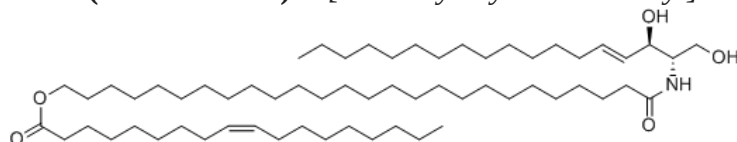
Рисунок 4. Структурные различия церамидов.

[Avanti Polar Lipids, Inc. www.avantilipids.com].

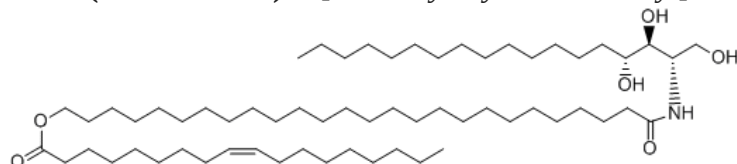
Особенно важна роль сфинголипидов в клеточных рафтах – мембранных доменах, в которых сфингомиелин и холестерин образуют структурную сеть, выполняющую различные физиологические функции – это компартмелизация клетки, изменение подвижности плазматической мембраны, проведение сигналов и т.д. [Mollinedo F., Gajate C., 2020].

Для кожи церамиды играют ключевую роль, они выполняют структурную функцию, организуют мембраны клеток, проводят сигналы, регулируют метаболизм клеток [Yong T. et al., 2025; Kim S. et al., 2024]. Повышение уровня короткоцепочечных церамидов в составе липидов кожи снижает барьерную функцию кожи и способствует развитию кожных заболеваний [Tawada C. et al., 2014]. Одним из факторов, способствующих снижению уровня длинноцепочечных церамидов в коже, является IFN-γ. Строение церамидов кожи представлено на рисунке 5 (по данным Avanti Polar Lipids, Inc. www.avantilipids.com).

CER1 (d18:1/26:0/18:1) *N*-[26-oleoyloxy hexacosanoyl]-*D*-erythro-sphingosine



CER9 (t18:0/26:0/18:1) *N*-[26-oleoyloxy hexacosanoyl]-*D*-ribo-phytosphingosine



CER1(d18:1/28:0/18:2) *N*-[28-linoleoyloxy octacosanoyl]-*D*-erythro-sphingosine

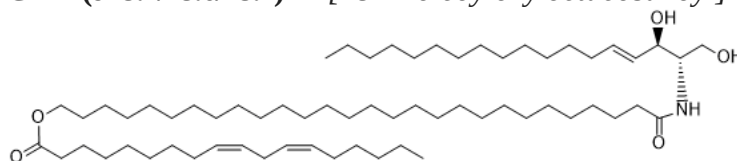


Рисунок 5. Структурные различия церамидов кожи человека.

[Avanti Polar Lipids, Inc. www.avantilipids.com].

1.7.2. Сигналы апоптоза, связанные с рецепторами

К рецепторам апоптоза относятся: TNF- α (TNF-R1, -R2, -R3, -R4), TNF- β , CD40, CD30, CD27, CD95/Fas/APO-1, NGF-Rp75^{low}, TGF- β , TR2, DR (**D**eath **R**eceptors) DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DR6 [Croft M. et al., 2017; Yi F. et al., 2018; Levoine N. et al., 2020; Al-Botaty B. et al., 2022; Ababneh O. et al., 2024]. Кроме апоптоза, эти рецепторы играют роль в физиологических процессах в клетке [Guegan J. et al., 2021; Seyrek K. et al., 2024], так CD40, CD30, CD27 участвуют в активации лимфоцитов [Hassan G. et al., 2022].

Общим для рецепторов апоптоза является функционирование в виде активных гомотримеров, что позволяет одновременно использовать несколько цитозольных сигнальных последовательностей для связи с многочисленными сопряженными сигнальными белками. Морфологически формирование тримерного комплекса рецепторов завершается кэппингом, то есть суперагрегацией тримеров в виде “шапочки”, что является церамид-зависимым процессом [Cui J. et al., 2021]. При наличии нескольких типов рецепторов апоптоза на плазматической мембране одной клетки специфичность сигнала может регулироваться фосфотирозинфосфатазой (ПТР) p15, которая, в частности,

ингибирует сигнал от рецептора CD95/Fas/APO-1 и повышает интенсивность сигнала от TNF-R1 [Zhang J. et al., 2021].

Рецептор апоптоза CD95/Fas – это трансмембранный гликопротеин I типа, функционально активен только в виде гомотримера. Состоит из экстраклеточного, трансмембранного и цитозольного доменов. Проксимальный участок цитозольного домена, непосредственно примыкающего к мембране, окружает рецептор–ассоциированная фосфотирозинфосфатаза FAP-1 (Fas-Associated Phosphatase), блокирующая проведение сигнала апоптоза в отсутствие лиганда. С этим участком рецептора CD95 также ассоциированы белки p33, p45, MBP (Myelin Basic Protein), FAF-1 (Fas-Associated protein Factor-1) и RIP, адаптером к которому служит белок CRADD [Matsuda T., Oritani K., 2021]. В сигнальных путях рецептора CD95 участвует PKC β , регулируемая С6-церамидом, этот сигнальный путь включает ROS, каспазу-7 и каспазу-3 [Cheng Q. et al., 2018].

Природный лиганд рецептора CD95/Fas – это CD95L (или FasL), его экспрессия регулируется на уровне транскрипции, основной его задачей является масштабная агрегация рецепторов. CD95L активен только в виде гомотримера, сайты ассоциации мономеров лиганда расположены в N-концевом регионе экстраклеточного домена, C-концевой регион используется для связывания с рецептором. Цитозольный домен CD95L имеет множество рекрутирующих доменов, в том числе адаптерных белков, что позволяет генерировать разные сигнальные каскады [Malarkannan S., 2020]. Трансмембранная форма CD95L может расщепляться металлопротеиназами и высвобождать растворимый лиганд (s-CD95L). Обе формы по-разному проводят сигналы через рецептор CD95. Полностью и необратимо запускает апоптоз только интенсивная агрегация рецепторов CD95/Fas лигандами, растворимыми или мембранно-связанными. [Devel L, et al., 2022].

Лиганд CD95L играет роль в гомеостазе клеток иммунной системы. CD95L экспрессируется на эффекторных клетках иммунной системы, включая NK клетки и Т-лимфоциты, что позволяет им активировать сигналы апоптоза в клетках – мишенях при распознавании [Guégan J., Legembre P., 2022].

Сигналы от рецепторов апоптоза проводятся при взаимодействии адаптерных белков, в которых имеются общие сигнальные последовательности. На C-конце цитозольного домена рецептора CD95/Fas имеется последовательность, называемая DD домен (Death domain), который связывает адаптерные молекулы и участвует в проведении сигнала от рецептора апоптоза [Moriwaki K. et al., 2021]. Адаптерные домены являются членами суперсемейства DD доменов, у человека это суперсемейство включает 86 членов: 28 CARD, 32 DD, 7 DED, 19 PYD. Адаптером также является белок FADD (Fas Associated

Death Domain protein) – этот цитозольный белок передает сигналы от рецепторов CD95/Fas, TNF-R1, DR3 и т.д. [Zhou W. et al., 2022].

Фосфорилирование FADD зависит от фазы клеточного цикла: при остановке в G2/M фазе FADD частично фосфорилирован, тогда как в G1/S фазовом переходе он находится исключительно в нефосфорилированной форме, этим объясняется повышенная чувствительность к Fas-зависимому апоптозу при прохождении G1_A/G1_B фазового перехода клеточного цикла и неответчаемость клеток на Fas-L при остановке в G1_A или S фазе. C-концевой регион FADD ассоциирован с цитозольным доменом CD95 через DD домен. FADD также содержит DED модули, один DED N-концевого региона FADD участвует в олигомеризации, а другой DED связывает прокаспазу-8, имеющую два собственных модуля DED [Wu E. et al., 2025].

Активированная каспаза-8 запускает протеолитический каскад каспаз-6, -7 и -3. Прокаспазы-10 также даёт начало протеолитическому каскаду после связывания с белком FADD рецепторов CD95/Fas, TNF-R1 или DR3 [Woznicki J. et al., 2021; Yang C. et al., 2024].

Сигнальные белки рецепторов апоптоза регулируются различными вариантами посттрансляционной модификации – фосфорилированием, убиквитинированием, гликозилированием и т.д., гликаны контролируют активацию рецепторов, передачу сигналов, эндоцитоз, распознавание клеток, клеточную адгезию, регулируют функцию внутриклеточных сигнальных белков [Seyrek K., Lavrik I., 2019; Zhang J. et al., 2021].

Для проведения сигналов от всех рецепторов апоптоза характерно формирование сигнального комплекса DISC (Death Inducing Signaling Complex) [Hughes M. Et al., 2013]. Для его формирования сначала требуется массивная агрегация рецепторов. В липидных рафтах уже существуют тримеры рецепторов, распознавание которых тримерами лигандов приводит к конформационному изменению DD доменов рецепторов в непосредственной близости от внутренней поверхности клеточной мембраны, что способствует привлечению FADD и последующему формированию комплекса DISC [Zhou W. et al., 2022].

Одним из компонентов комплекса DISC является белок FLASH, чей DED модуль способен связывать прокаспазу-8 или FADD. FADD связывается с прокаспазой-8 или-10 [Cui J. et al., 2021]. Только при вхождении в комплекс DISC две прокаспазы-8 олигомеризуются и аутопроцессируются с образованием активного димера p10/p20. DED модули каспазы-8 участвуют в проведении сигнала апоптоза [Mandal R. et al., 2020]. Так как каспаза-8 непосредственно взаимодействует только с белком FADD, она является началом протеолитического каскада только для сигнальных путей рецепторов Fas, TNF-R1, DR3 [Fox J. et al., 2021].

Активация сигналов апоптоза представлена на рисунке 6 (по данным Cell Signaling Technology).

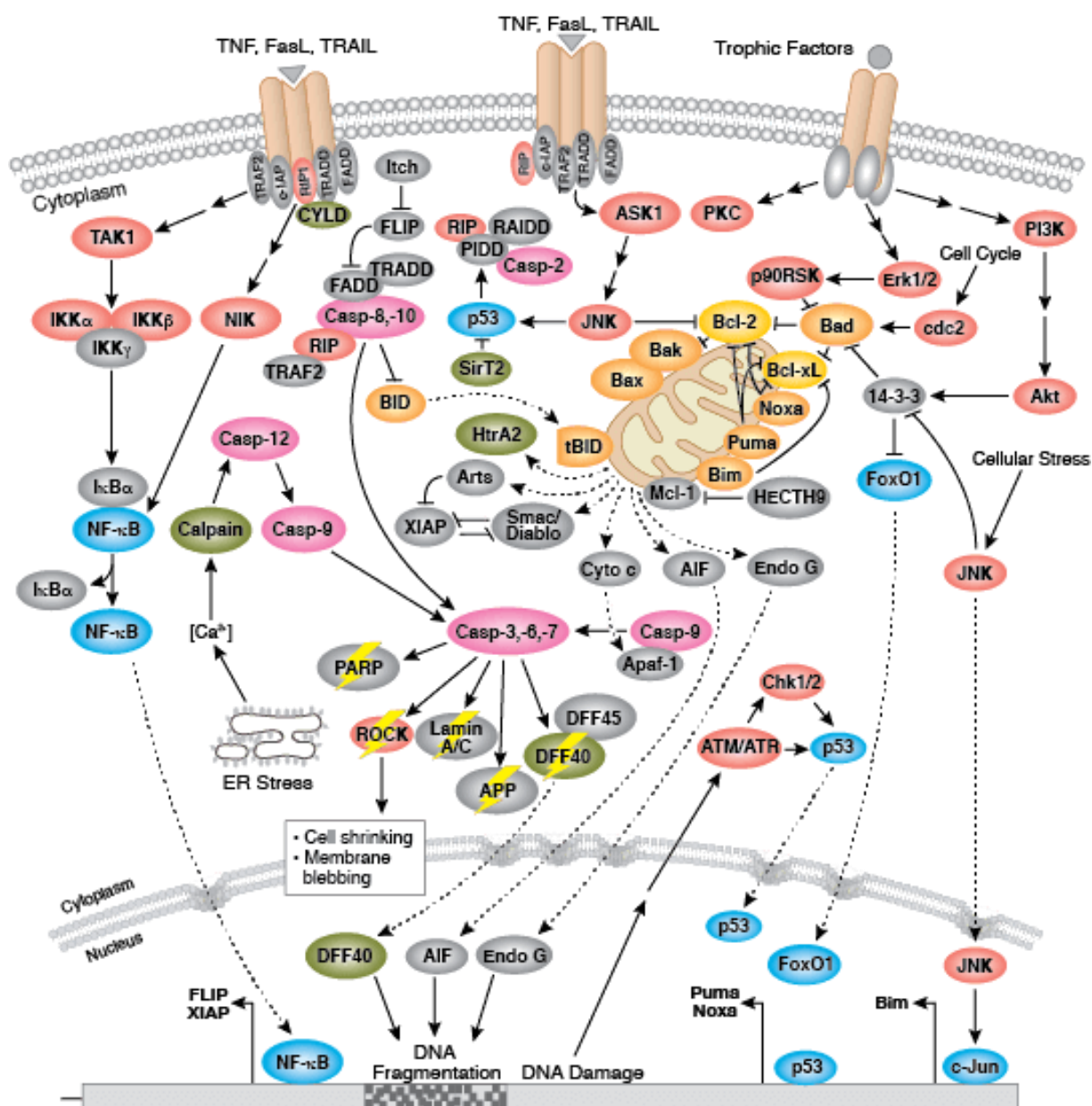


Рисунок 6. Сигналы от рецепторов апоптоза

[<https://www.cellsignal.com/pathways/regulation-of-apoptosis-pathway/>].

1.7.3. Митохондрии и апоптоз

Активация апоптоза может быть инициирована разными сигналами, в том числе от рецепторов апоптоза, от эндоплазматического ретикулума, от лизосом, от митохондрий. Сигналы апоптоза в фибробластах кожи, передаваемые через рецепторы DR, сопряжены с сигналами апоптоза от митохондрий [Lauterwasser J. et al., 2021], это осуществляется при

взаимодействии с белками семейства Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) [Aranda Salomão P. et al., 2019]. Белки семейства Bcl-2 могут ингибировать апоптоз, в том числе, регулируя экспрессию ингибиторного белка c-FLIP, что защищает клетку от апоптоза, инициированного TNF- α [Zhang R. et al., 2022; Ivanisenko N. et al., 2022].

К семейству Bcl-2 принадлежат как проапоптозные белки, так и антиапоптозные белки, регулирующие события, связанные с митохондриальным типом апоптоза, в том числе, пермеабиллизацию наружной мембраны митохондрий (MOMP, Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization), формирование пор в мембране и выход ДНК митохондрий и ряда белков из межмембранного пространства в цитозоль [Morris D. et al., 2020]. MOMP играет роль в регуляции не только апоптоза, но и ферроптоза, пироптоза и митоптоза.

Белки семейства Bcl-2 делятся на группы в зависимости от наличия или отсутствия 4-х высококонсервативных BH доменов (BH1, BH2, BH3, BH4). Все 4 домена имеют антиапоптозные белки Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W, Bcl-B, Bfl-1, Mcl-1L, а также проапоптозные белки Bax, Bak, Bok, Bcl-xS. В группу “BH3 domain-only”, у которой нет доменов BH1 и BH2, семейства Bcl-2, входят проапоптозные белки Bad, Bid, Bim/Bod, Bik, Hrk, Noxa, Bmf, Bnip3, Hrk/DP5, Beclin-1, Mule, Puma. Домен BH4 отсутствует у белков Mcl-1, Bfl-1/A1, Bcl2L121 [Rosa N. et al., 2022; Czabotar. P. et al., 2023].

При активации сигнала от рецептора CD95/Fas апоптоза неактивный предшественник белка Bid в цитозоле расщепляется каспазой-8 по Asp60 с формированием активного tBid, который перемещается к внешней мембране митохондрий, где вызывает конформационные изменения белка Bax. Проапоптозные белки Bax и Bak участвуют в MOMP при митохондриальном типе апоптоза [Bi G., Zhou J. 2021]. Bax формирует олигомеры в цитозоле и оттуда транслоцируется к мембране митохондрий, где взаимодействует с белками, образующими поры во внешней мембране митохондрий. Это приводит к выходу в цитозоль цитохрома c, формированию его комплекса с Araf-1 и каспазой-9 и активации каспазы-9, далее активируется каспаза-3 [Wang Y. et al., 2024]. При воспалении в расщеплении белка Bid также участвует каспаза-1, что сопрягает сигнальные пути апоптоза и воспаления [Heilig R. et al., 2020]. Вне апоптоза белки Bax и Bak предотвращают активацию программы старения клеток [Deng J. et al., 2021]. Активность белков Bcl-2 и Bax снижается с возрастом, что показано в фибробластах кожи [Li H. et al., 2022].

Каспаза-2L (изоформ каспазы-2) участвует в формировании сигнального комплекса DISC и проведения сигнала белка tBid. Каспаза-2 при этом сама может высвобождать

цитохром *c*, фактор AIF и белок Smac, независимо от транслокации белка tBid. Bcl-2 блокирует каспазу-2 и CRADD-индуцированный апоптоз [Wang Y. et al., 2024].

Белок Bad вызывает диссоциацию олигомерного комплекса Bax от Bcl-2 или Bcl-xL. При активации сигналов выживания клеток у человека, белок Bad фосфорилируется по Ser75, что обуславливает его связывание с белками 14-3-3, что препятствует ассоциации Bad с Bcl-2 или Bcl-xL. В нормальных фибробластах кожи активация Bad блокирует апоптоз, так как сигналы апоптоза вызывают активации белка Bad, которая не приводит к перемещению белка Bax из цитозоля и не вызывает диссоциации комплекса белков Bax/Bcl-2 [Emhemmed F. et al., 2019].

Белок семейства 14-3-3 регулируют передачу сигналов в клетке. При активации апоптоза фосфорилированная форма белка Bad образует стабильный комплекс с белком 14-3-3, что прерывает сигналы апоптоза, тогда как нефосфорилированный Bad не связывается с 14-3-3 и может перемещаться к митохондриям, где активирует сигналы апоптоза [Sluchanko N. et al., 2021]. Белки семейства 14-3-3 также регулируют кальций-зависимые калиевые каналы при стрессе [Chen S. et al., 2020].

Белок Bim играет ключевую роль в апоптозе лимфоцитов, он может взаимодействовать с белками Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1, Bcl-w, Bfl-1, BHRF-1. При стрессе и активации сигналов, связанных с JNK1 и ERK 1/2, Bim фосфорилируется по Ser69, диссоциирует из комплекса с динеином, перемещается к внешней мембране митохондрий, где регулирует формирование пор, обуславливающих выход белков в цитозоль. При альтернативном сплайсинге генов образуются три его изоформы – Bim(EL), Bim(L), Bim(S), последняя является наиболее цитотоксичной формой. Активность белков Bim(EL) и Bim(L) при апоптозе регулируется путем их фосфорилирования [Simula L. et al., 2020].

К сигнальным белкам апоптоза можно отнести и каспазы, но эти протеазы выполняют не только сигнальную роль, но, прежде всего, структурную роль, так как расщепляют компоненты клетки и способствуют формированию апоптозных телец. Для сигналов апоптоза, связанных с митохондриями, наиболее важны каспаза-2 и каспаза-9, которые активируются при выходе проапоптозных белков в ЕСМ при открытии пор во внешней мембране митохондрий [Huang R. et al., 2022].

В завершении данного раздела следует отметить, что активация гибели клеток, связанная с сигналами митохондрий, играет ведущую роль в гибели клеток при состоянии ишемии/реперфузии. Воздействие на сигнальные белки, применение ингибиторов или регуляторов сигналов апоптоза, может предотвратить гибель клеток при восстановлении кровотока в тканях.

1.8. НЕКРОПТОЗ

1.8.1. Некроптоз в клетках кожи и подкожно-жировой ткани

При операциях в области операционной раны происходит гибель клеток, тип гибели зависит от внутриклеточных и экстраклеточных сигналов. Для апоптоза (регулируется генами и завершается формированием апоптозных телец) необходим достаточный уровень энергии и синтеза белка в клетке. При высоком уровне ROS, стрессе или недостатке энергии и некоторых белков клетка гибнет путём некроза с разрывом плазматической мембраны и выходом содержимого в экстраклеточный матрикс. Некроз является результатом подавления синтеза АТФ или его массивной потери, характеризуется набуханием митохондрий, распадом плазматической мембраны, выходом содержимого клетки в окружающую среду с развитием воспалительной реакции [Christgen S. et al., 2021].

Некоторые типы некроза всё же контролируются генами и сигнальными путями (некроптоз, ферроптоз, пироптоз), однако, все внешние проявления этих процессов соответствуют некрозу [Park M. et al., 2021]. Морфологические различия апоптоза и некроза представлены на рисунке 7.

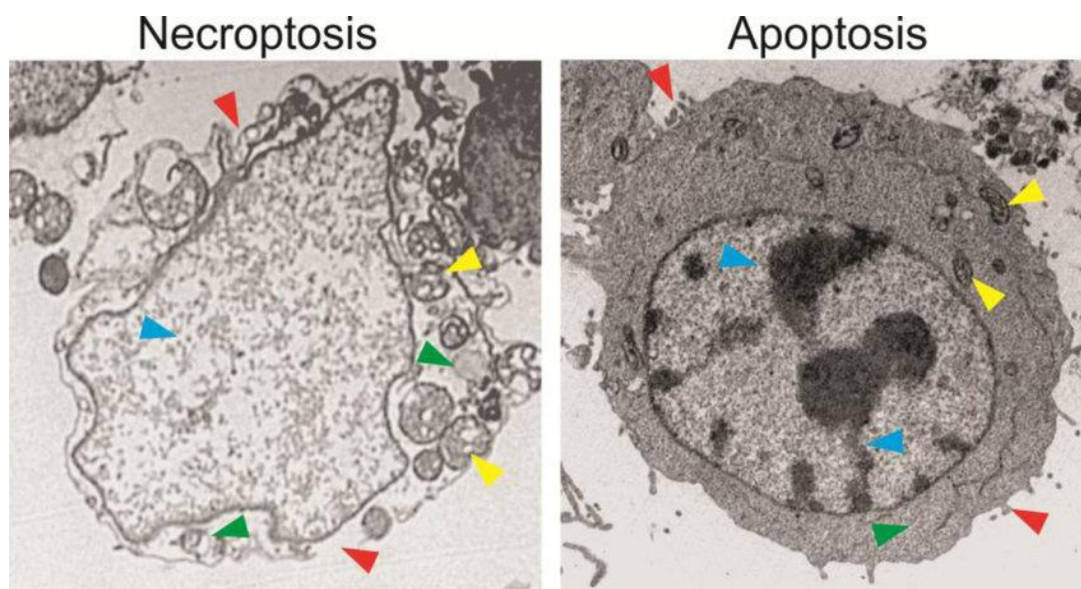


Рисунок 7. Морфологические различия клеток в апоптозе и некрозе.

[https://www.researchgate.net/figure/Morphological-features-of-necroptosis-and-apoptosis-in-cancer-cells-HT29-colon-cancer_fig1_297676893]

Нарушение васкуляризации тканей и развитие ишемии при оперативном вмешательстве является причиной частичного некроза кожи в послеоперационном периоде

[Mutlu Ö. et al., 2016]. Небольшие зоны некроза имеются почти во всех послеоперационных рубцах [Landa D. et al., 2016], а степень некротического поражения повышается по мере увеличения площади оперативного вмешательства [Agarwal P. et al., 2016].

Раньше полагали, что гибель клеток путём некроза происходит только вследствие потери энергетического потенциала клеткой, невозможности осуществить все процессы апоптоза из-за недостаточности функциональной активности митохондрий. Однако проведённые исследования установили, что некроз, как и апоптоз, может регулироваться сигнальными путями, более того, как и при апоптозе, процесс некроптоза регулируется экспрессией специфических генов [Xu D. et al., 2021]. Некроптоз, как и апоптоз, в настоящее время относят к программируемой гибели клеток [Park M. et al., 2021]. Имеются точки пересечения сигнальных путей апоптоза и некроза, вторичные мессенджеры сигнальных путей первого рецептора TNF (R1) отвечают за переключение сигналов апоптоза и некроза в клетках [Dojo Soeandy C. et al., 2021; Li T. et al., 2021; Li X. et al., 2021].

При некроптозе у клеток имеется специфический фенотип – сморщивание и повреждение мембраны, происходит секреция DAMP и провоспалительных цитокинов и хемокинов в ECM, что отличает некроз от апоптоза [Seo J. et al., 2021].

В канонические сигнальные пути некроптоза входят вторичные мессенджеры Akt/GSK3 β [Tao Y. et al., 2021], RIPK1 (Receptor-Interacting serine-threonine Kinase 1), RIPK3 (Receptor-Interacting serine-threonine Kinase 3), MLKL (Mixed Lineage Kinase Domain-Like pseudokinase), CaMKII (Calcium/calModulin dependent protein Kinase II) [Li T. et al., 2021], [Meng Y. et al., 2021; Zhou T. et al., 2021]. Киназа RIPK1 формирует комплекс RIPK1/RIPK3/MLKL [Zu R. et al., 2021]. Домен киназы RIPK1 – RHIM (homology interaction motif), осуществляет привлечение и активацию RIPK3 [Grootjans S. et al., 2017]. После формирования комплекса RIPK1/RIPK3/MLK происходит олигомеризация MLKL [Zu R. et al., 2021], что напрямую зависит от её взаимодействия с RIPK1 [Zhang Y. et al., 2021]. В физиологическом состоянии белок RIPK3 поддерживает псевдокиназу MLKL в неактивном состоянии [Meng Y. et al., 2021].

Ингибирование белка RIPK3 в раннем периоде реперфузии сопряжено с кальций-зависимыми изменениями митохондрий – их сморщиванием, но без развития некроза [Horvath C. et al., 2021]. Снижение активности RIPK3 также оказывает влияние на протективный эффект ATF6 в модели острой ишемии/реперфузии [Huang M. et al., 2021]. Активность RIPK1 регулируется посттрансляционной модификацией, включая убиквитинирование [Tu H. et al., 2021], фосфорилирование и т.д., нарушение этих процессов приводит к иммунным нарушениям [Zhang J. et al., 2021].

При взаимодействии RIPK1 с RIPK3 формируются некросомы, в которых происходит фосфорилирование MLKL, её олигомеризация и перемещение к плазматической мембране, где она образует поры, разрушающие мембрану, при этом содержимое клетки выходит в ECM и вызывает воспаление [Frank D. et al., 2019]. Активированная киназа MLKL также перемещается на мембрану эндоплазматического ретикулума, где инициирует сигналы стресса [Li X. et al., 2022].

Активация MLKL приводит к ослаблению аутофагии в связи с транслокацией MLKL к плазматической мембране [Frank D. et al., 2019], так как MLKL регулирует трафик эндосом и генерацию экстраклеточных везикул (ECV) [Yoon S. et al., 2017].

Активация некроптоза в клетке происходит при инициировании сигналов от рецептора при их связывании с лигандом [Zhu Y. et al., 2021]. Особенности активации сигналов некроптоза зависят от типа клеток [Zhu Y. et al., 2020]. Некроптоз инициируется при связывании рецептора CD95/Fas с его лигандом CD95L/FasL, первого рецептора TNF-R1 [Zhong Y. et al., 2022], TLR3/4 (Toll-like receptor 3/4), ZBP1/DAI (Z-DNA-binding protein) [Grootjans S. et al., 2017]. Если инициирующий сигнал происходит от TLR3/4, то в сигнальном пути участвует адаптер TRIF, если некроз инициируется от ZBP1/DAI, то он имеет собственный RHIM домен [Grootjans S. et al., 2017].

Сигналы от TNF-R1 могут стимулировать сигналы воспаления, регулируемые NF- κ B, воспаление и выживание клеток, при этом происходит ингибирование сигналов RIPK1, или могут активировать сигналы RIPK1 и приводить клетку к гибели. TNF- α проводит как сигналы апоптоза, так и некроза, при этом способен переключать сигналы разных типов гибели клеток [Al-Botaty B. et al., 2022]. При активации некроптоза в сигнальный путь TNF- α входит киназа RIPK1 [Chun N. et al., 2021].

Каким образом переключаются сигналы апоптоза и некроза? Если уровень RIP1 ниже 1000 молекул на клетку, то она выходит в апоптоз, если концентрация RIP1 выше, то вместе с каспазой-8 она встраивается в некросомы. При концентрации RIP1 выше 46 000 молекул происходит супрессия апоптоза и ультимативно развивается некроптоз [Li X. et al., 2021].

Каспаза-8 участвует не только в проведении сигналов апоптоза, но и некроптоза, она считается ключевым игроком в переключении сигналов апоптоза и некроза [Park M. et al., 2021]. Каспаза-8 может выступать в роли ингибитора некроптоза, что зависит от её активности как протеазы и расщепления белков – вторичных мессенджеров сигналов некроптоза [Li X. et al., 2022].

Супрессия активации RIPK1 ингибирует сигналы апоптоза от рецепторов TNF- α [Al-Botaty B. et al., 2022; Zhou C. et al., 2021]. При связывании R1 рецептора TNF- α сигнал апоптоза также может быть заблокирован белком ZFP91 (Zinc finger protein 91), который регулирует убиквитинирование IL-1 β и активность инфламмасом, что активирует сигналы некроптоза [Zhong Y. et al., 2022]. TNF- α регулирует переключение сигналов апоптоз vs некроптоз на уровне белков, ассоциированных с его рецептором R1 (RIP1, RIP3, TRADD) [Li B. et al., 2021].

В стареющей коже повышается уровень провоспалительных цитокинов, в том числе, TNF α , что обуславливает активацию некроптоза и вызывает воспаление в коже [Pilkington S. et al., 2019].

Дисфункция митохондрий – ключевой фактор развития некроптоза. Повышение уровня ROS в митохондриях вызывает аутофосфорилирование киназы RIPK1 и активацию сигналов некроптоза. Одновременно RIPK3 стимулирует транслокацию митохондриальной NOX4 (NADPH Oxidase-4), что повышает продукцию митохондриальных ROS [Rius-Pérez S. et al., 2022]. Регулятором некроптоза также является ассоциированная с митохондриями каспаза-9 [Molnár T. et al., 2021].

Сульфоредоксин, митохондриальный пероксиредоксин-3 и белок p53 локализуется в митохондриях в начале некроптоза. Отсутствие p53 активировало сульфоредоксин и прерывало сигналы некроптоза. Имеется положительная обратная связь между митохондриальными перекисями и p53, которая подавляет сульфоредоксин и пероксиредоксин-3, что приводит к некроптозу при воспалении [Rius-Pérez S. et al., 2022].

Окислительный стресс при ишемии/реперфузии сопряжен с развитием некроптоза клеток кожи [Liu L. et al., 2021; Adameova A. et al., 2022].

При реперфузии экстраклеточный АТФ может играть негативную роль, инициировать воспаление. Сигнализация от пуринэргических рецепторов, выброс провоспалительных цитокинов, DAMP, повышение притока кальция в клетки и последующая гибель клеток – это общие механизмы действия АТФ вне клеток при ишемии/реперфузии [Zhao H. et al., 2016].

Киназа RIPK1 активирует сигналы воспаления и синтеза провоспалительных цитокинов в клетке, сопряжённых с белком TRIM28. После вовлечения в комплекс RIPK1/RIPK3 киназы MLK и её олигомеризации, она активирует MAPK p38, что, в данном случае, является промотором фосфорилирования белка TRIM28, сопряженного с воспалением [Zu R. et al., 2021].

Цитозольные мультипротеиновые комплексы – инфламмасомы, состоят из белков NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3) [Zhao J. et al., 2025], адаптеров ASC, каспазы-1. В собранном виде инфламмасома активирует каспазу-1, индуцирует пироптоз и высвобождение в ECM интерлейкинов IL-1 β и IL-18, которые имеют отношение к природному иммунитету и поддержанию гомеостаза. Аберантная активация NLRP3 инфламмасом наблюдается при заболеваниях, сопровождающихся хроническим воспалением, и связана с развитием некроптоза [Huang Y. et al., 2021]. При воспалении идёт активный иммунный процесс. Провоспалительные цитокины координируют формирование NLRP3 инфламмасом. Сигнальные пути воспаления регулируются киназами RIPK1 и RIPK3 [Speir M. et al., 2021].

Высвобождение кальция, ROS и активация NF- κ B стимулируют активацию сигналов некроптоза при воспалении [Wei J. et al., 2021; Zhao W. et al., 2022].

Основная роль нейтрофилов в очаге воспаления – это фагоцитоз погибших клеток и дебриса [Atkin-Smith G., 2021], однако может быть гибель самих нейтрофилов, это происходит при условии стимуляции рецепторов TNF или при фагоцитозе нейтрофилами *Staphylococcus aureus*, когда в нейтрофилах инициируются сигналы некроптоза, вторичными мессенджерами которых являются белки TRADD и RIPK1 [Feoktistova M. et al., 2021]. Гибель нейтрофилов при воспалении приводит к аутоиммунной патологии [Wang X. et al., 2018].

Секреция TNF- α в ECM эффекторными CTL (цитотоксическими Т лимфоцитами) обуславливает активацию сигналов некроптоза в клетках – мишенях и последующий цитолиз, что зависит от RIPK1 [Chun N. et al., 2021]. Ингибиторы киназы RIPK1 предотвращают развитие TNF- α -зависимой цитотоксичности клеток [Delanghe T. et al., 2021].

В клетках эпителия кожи киназа RIPK1 поддерживает гомеостаз и предотвращает воспаление за счёт регуляции апоптоза и некроза, выступает как мастер-регулятор выживания клеток эпителия [Dannappel M. et al., 2014], [Kumari S. et al., 2021]. RIPK1 ингибирует RIPK3-зависимый некроптоз в кератиноцитах *in vivo*. Также при регулировании FADD-зависимого воспаления показана функция RIPK1, независимая от её киназной активности. Ингибирование RIPK1/RIPL3/MLKL-зависимого некроптоза в кератиноцитах предотвращает воспаление в коже [Schünke H. et al., 2021] и защищает её от развития псориаза [Duan X. et al., 2020].

В фибробластах кожи человека белки, связанные с развитием некроза, экспрессируются после экспозиции кожи к УФ и ассоциированные с сигнальными путями TNF- α [Alafiatayo A. et al., 2020].

ERK1/2 сигнализация относится к механизмам пролиферации и ответа клеток на внешние стимулы. Ингибирование ERK1/2 нарушает передачу сопряженных с ними сигналов, при этом происходит блокирование экспрессии генов, связанных с TNF- α и IL-6, что может активировать апоптоз, однако, прерывает сигналы некроза [Sipietier F. et al., 2021].

JNK киназа проводит сигналы адаптации к стрессу, она также сопряжена с сигналами гибели клеток и киназой RIPK1 при старении [Müller K. et al., 2021].

При некроптозе формируются некрсомы, которые обнаружены в тесном контакте с эндоплазматическим ретикуломом (ER). При некроптозе активированы сенсоры ER стресса (PERK, IRE1 α , ATF6), причём их активация сопряжена со сборкой комплекса RIPK1-RIPK3-MLKL. Активированная киназа MLKL перемещается к мембранам ER и инициирует сигналы ER стресса. Активация IRE1 α способствует сплайсингу XBP1 и последующему встраиванию мРНК XBP1 в экстраклеточные везикулы (ECV). В отличие от обычного ответа ER на стресс, при некроптозе сенсоры UPR (unfolded protein response) не меняют своей способности связывания с GRP78. Этот сигнальный путь сопрягает активацию MLKL при некроптозе с необычным ответом ER на стресс [Liang W. et al., 2021].

Некротизируемые клетки секретируют ECV, что приводит к экспорту сигналов некроптоза в другие клетки [Shlomovitz I. et al., 2021]. ECV включают в себя белки, специфичные для некроптоза, 352 белка были повышено экспрессированы в некротических ECV, в частности, фосфорилированная форма MLKL и другие сигнальные белки некроптоза, каспаза-8, провоспалительные цитокины, белки – компоненты формирования везикул и везикулярного транспорта. ECV фагоцитируются макрофагами, что приводит к изменению секреции их цитокинов и хемокинов [Shlomovitz I. et al., 2021].

При кратковременном ограничении притока макронутриентов в клетку активируется аутофагия за счёт сигналов от CAMK2, которые повышают фосфорилирование (т.е. активируют) киназы MLKL. Это, в свою очередь, приводит к снижению уровня белка LC3B и p62 – маркёров аутофагии. В отличие от сигналов некроптоза, вышеперечисленные события в передаче сигналов от CAMK2 способствуют защите клетки от гибели, вызванной депривацией питания. В этом случае MLKL, активированная CAMK2, вызывает разрыв мембран, что необходимо для созревания фагосом [Zhan Q. et al., 2022].

Изучение сигналов некроптоза при операции лифтинга лица имеет не только теоретическое, но и практическое значение, так как направленное воздействие на сигнальные белки некроптоза позволяет минимизировать послеоперационные осложнения, в частности, частичный некроз кожи в области операционной раны и связанное с ним расхождение операционного шва.

1.8.2. Влияние УФ на некроптоз в клетках кожи лица

Одним из активаторов гибели клеток является УФ. Интенсивный загар обуславливает воспаление и окислительный стресс в коже, в результате кератиноциты кожи гибнут апоптозом, некроптозом, пироптозом [Tang Z. et al., 2021].

Под действием УФ активируются ключевые молекулы некроптоза в клетках рогового слоя [Yu Z. et al., 2021]. Повышается выход провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF- α и т.д.), уровень MMP, bFGF, всё это приводит к старению кожи [Lee K. et al., 2019].

В коже после УФ регистрируется повышение маркера разрыва двух нитей ДНК (γ -H2AX). Происходит повреждение митохондрий, падение митохондриального потенциала, повышается секреция IL-1 α , IL-6, и PgE2 кератиноцитами, активируются сигнальные пути, сопряженные с воспалением [Chen Y. et al., 2024].

Морфологические проявления некроза представлены на рисунке 8.

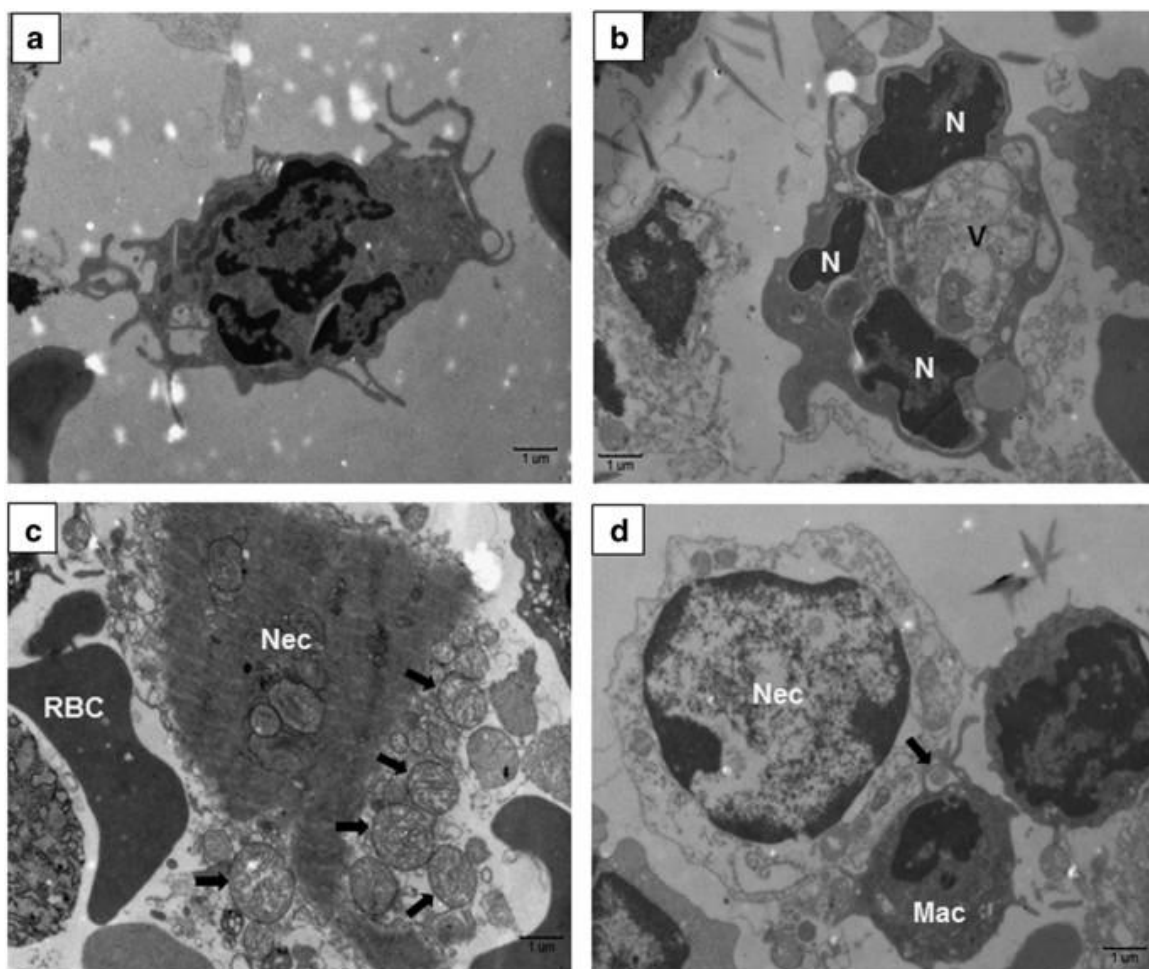


Рисунок 8. Электронная микроскопия клеток в норме и в некрозе.

«(a) Нормальный нейтрофил с многодольчатым ядром и с нормальным распределением хроматиновых структур.

(b) Активированный нейтрофил с признаками апоптоза, с конденсированным ядерным хроматином (N) и цитоплазматическими вакуолями (v).

(c) Некротическая клетка с сильно разбухшими митохондриями, которые выходят во внеклеточное пространство (стрелки). Эритроцит, RBC.

(d) Некротическая клетка, распознаваемая соседним макрофагом (Mac). Свободная митохондрия (стрелка) вне клетки, которая фагоцитируется макрофагом»

[<https://www.nature.com/articles/cddiscovery201756>].

2. ПАЦИЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. ПАЦИЕНТЫ

Операции лифтинга (подтяжки) лица были проведены 320 женщинам в возрасте от 21 до 64 лет в Клинике пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник», г. Москва. Основными группами сравнения являлись пациентки разного возраста:

- I) 21–30 лет,
- II) 31–40 лет,
- III) 41–50 лет,
- IV) 51–64 года.

Сравнение также проводилось в зависимости от наличия или отсутствия загара кожи, а также дополнительно были выделены небольшие группы пациентов, которым в течение 3-х недель до операции лифтинга лица было назначено применение клеточных энергетиков с целью изучения их влияния на состояние метаболизма клеток кожи лица.

Отдельное исследование, проведённое совместно с кафедрой стоматологии Сеченовского Университета, включало изучение состояния полости рта у 120 пациентов перед операцией лифтинга лица и влияние патологии зубов на возможные осложнения после операции.

Все лабораторные исследования были проведены согласно ГОСТам на базе лаборатории Клиники пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва. Все экспериментальные исследования были проведены на базе лаборатории регуляции репаративных процессов ФГБНУ «НИИОПП», г. Москва.

Все протоколы исследований по теме данной диссертации были разработаны совместно с дирекцией ООО «Фрау Клиник» и ФГБНУ «НИИОПП» и были одобрены Этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» (протоколы №4Б от 24.11.2020 и №2 от 04.04.2023). Все операции были проведены в плановом порядке согласно утверждённому протоколу.

Критерии включения или исключения пациента из исследования были разработаны для стандартного применения при всех исследовательских работах, проводимых в Клиники пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, в связи с этим возможно дублирование текста критериев в публикациях сотрудников ООО «Фрау Клиник», в том числе, [Копасов А.Е., 2021], а также в работах диссертанта [Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер., 2022].

2.1.1. Критерии включения и исключения пациентов из исследования

Критерии включения пациентов в исследование:

- 1) пациенты женского пола в возрасте от 21 до 65 лет;
- 2) подписанное лично пациентом согласие принять участие в исследовании;
- 3) отсутствие данных к исключению пациента из исследования;
- 4) операция по коррекции контура лица проводится впервые.

Критерии исключения пациентов из исследования

- 1) противопоказания для пребывания пациента в хирургическом отделении общего профиля, то есть: наличие острых вирусных или бактериальных инфекций, или гнойных очагов на теле пациента, инфицирование ВИЧ или вирусами гепатита, венерические заболевания;
- 2) отказ подписать форму информированного согласия или частичный отказ от участия во всех запланированных по данной теме исследованиях;
- 3) беременность, а также приём противозачаточных препаратов;
- 4) злокачественный опухолевый рост или состояние после радиотерапии;
- 5) язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки в стадии обострения, а также острый эзофагит или гастрит;
- 6) системные заболевания, в том числе системная красная волчанка, сахарный диабет, заболевания соединительной ткани;
- 7) сердечная недостаточность, гипертензия и другие сердечно – сосудистые заболевания;
- 8) хроническая обструктивная болезнь легких или бронхиальная астма тяжелого течения;
- 9) хроническая почечная недостаточность;
- 10) наличие других соматических заболеваний, которые могли бы оказать дезинформирующее влияние на полученные результаты;
- 11) аллергическая реакция на препараты, используемые в Клинике пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник» для общего наркоза, местного обезболивания и других лечебных процедур;
- 12) психические расстройства, как острые, так и хронические, а также инвалидность, связанная с невозможностью самообслуживания без посторонней помощи.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер., 2022]

Все пациенты подписывали форму информированного согласия, утвержденную Этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» и дирекций Клиники пластической и

эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник». Данная форма стандартная и используется для всех исследовательских работ, в связи с этим возможно дублирование текста информированного согласия в публикациях сотрудников ООО «Фрау Клиник», в том числе [Копасов А.Е., 2021].

2.1.2. Информация для пациентов с формой информированного согласия

Информация для пациентов

Вы участвуете в исследовании по теме: «МЕХАНИЗМЫ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ТКАНЕЙ ПРИ ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ ПО КОРРЕКЦИИ КОНТУРОВ ЛИЦА», выполняемом в рамках диссертационной работы доктором Ш.М. Абрамяном.

Основной задачей данного исследования является улучшение качества обслуживания пациентов в Клинике пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, снижение числа и тяжести послеоперационных осложнений, а также улучшение эстетических показателей после операции лифтинга лица. Для выполнения этой задачи доктор Ш.М. Абрамян должен проанализировать все достоинства и недостатки метода лифтинга лица, чтобы выбрать наилучшие схемы хирургического вмешательства, а также дополнительные клинические мероприятия, которые позволили бы улучшить послеоперационные показатели.

Для исследования метаболических особенностей и активности клеток кожи и подкожно-жировой клетчатки доктору Ш.М. Абрамяну необходимо определить ряд биохимических, цитологических и других параметров этих клеток. Для этого пациенту будет предложено дать разрешение на взятие части его операционного материала для проведения морфологического и цитологического исследования его тканей и клеток, а также сдать анализ крови до и после проведения операции лифтинга лица для проведения биохимических исследований. Пациенту предлагается проведение дополнительного динамического наблюдения в течение 30 дней после пластической операции лифтинга лица для установления возможных осложнений.

Пациенту следует знать, что пластическая операция лифтинга лица широко применяется в хирургической практике всего мира. При необходимости пациент может получить дополнительную информацию по данному вопросу, воспользовавшись телефоном Клиники пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, или её интернет-ресурсами.

Все полученные данные, включая исследования биологического материала, будут использованы только для статистической обработки без указания персональных данных пациента, ни в открытой печати, ни в тексте диссертационной работы, ни в официальных отчетах по теме исследования.

Информированное согласие пациента

Ознакомившись с предложенной мне информацией о планируемом исследовании, я выражаю свое полное согласие на участие в проведении исследования по теме: *«МЕХАНИЗМЫ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ТКАНЕЙ ПРИ ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ ПО КОРРЕКЦИИ КОНТУРОВ ЛИЦА»*, выполняемом в рамках диссертационной работы доктором Ш.М. Абрамяном в Клинике пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва.

В случаях, предусмотренных законодательством, мой законный представитель может подтвердить факт моего добровольного участия в планируемом исследовании.

Я подтверждаю факт возможности задавать любые вопросы, касающиеся моего участия в проекте, сдачи биологического материала и данных по исследованию моего биологического материала, а также получать ответы на поставленные выше вопросы и получать результаты исследования, если сочту это необходимым. Я подтверждаю своё согласие на использование в научных целях информации, полученной в результате моего лечения, и дальнейшего исследования моего биологического материала. Я имею подтверждение доктора Ш.М. Абрамяна, что все результаты будут носить статистический характер без упоминания моих персонифицированных данных ни в каком виде.

Я имею на руках копию подписанного мною и врачом документа **Информация для пациентов с формой информированного согласия и Информированное согласие пациента** на участии в проведении исследования по вышеуказанной теме.

Пациент _____ подпись _____ Ф.И.О.

Врач _____ подпись Абрамян Шмавон Моисович

Дата подписания документа:

« _____ » _____ 20 ____ г.

2.1.3. Показания и противопоказания для проведения операции лифтинга лица

Показания для проведения операции лифтинга лица

- 1) необходимость коррекции контуров лица по медицинским или эстетическим показаниям;
- 2) лечение кожных поражений лица и последствий травм с восстановлением эстетических и функциональных параметров лица;
- 3) требование пациента по изменению внешности (с уведомлением органов власти).

Противопоказания для проведения операции лифтинга лица

Перечень противопоказаний является стандартным для всех операций, проводимых в ООО «Фрау Клиник», в связи с этим возможно дублирование текста противопоказаний в публикациях сотрудников ООО «Фрау Клиник», в том числе, [Копасов А.Е., 2021].

Абсолютные противопоказания:

- 1) наличие у пациента стимулятора сердечного ритма;
- 2) аллергическая реакция пациента на препараты, применяемые в данной клинике для наркоза или местного обезболивания;
- 3) верифицированный опухолевый рост;
- 4) беременность;
- 5) верифицированный сахарный диабет любого типа;
- 6) системные заболевания (системная красная волчанка, рассеянный склероз и т.д.).

Относительные противопоказания:

- 1) заведомое несоблюдение пациентом правил гигиены и ухода за операционным швом вследствие особенностей психомоторного состояния;
- 2) отказ пациента прервать приём противозачаточных препаратов за месяц до операции.

2.1.4. Показатели качества выполненной операции лифтинга лица

Клинические показатели качества выполненной операции лифтинга лица:

1. Восстановление анатомически правильных контуров лица и кожного покрова.
2. Целостность кожных покровов лица с практически незаметным рубцом.
3. Отсутствие излишков кожи около рубца на лице.
4. Отсутствие осложнений или их минимальные проявления, не оказавшие влияния на состояние кожных покровов лица.
5. Отсутствие воспалительной реакции в области операционного шва и в тканях лица.

6. Отсутствие гиперестезии, парестезии или болей в области лица.

Эстетические показатели качества выполненной операции лифтинга лица:

1. Восстановление нормального контура лица.
2. Улучшение эстетического восприятия своего лица пациентом.
3. Отсутствие видимого перехода по границе операционного шва.
4. Сохранность гладкого рельефа кожи лица.

Полное соблюдение всех вышеперечисленных требований считается необходимым для того, чтобы операция лифтинга лица считалась выполненной качественно. При нарушении любого из вышеперечисленных требований результат выполненной пластики лица считается неудовлетворительным.

2.2. ТЕХНИКА ОПЕРАЦИИ ЛИФТИНГА ЛИЦА

2.2.1. Инструменты и материалы, использованные для операции

В рамках диссертационной работы для операций по коррекции контуров лица применялись следующие инструменты (Табл. 2) и расходные материалы (Табл. 3).

Таблица 2.

Набор инструментов для лифтинга лица

№	НАИМЕНОВАНИЕ	n =	ФИРМА И СТРАНА ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
1	Ручка для скальпеля	2	ПТО МЕДТЕХНИКА, РОССИЯ
2	Пинцет	4	MILTEX, США
3	Корнцанг	2	SURGICON, ПАКИСТАН
4	Москит	2	ПТО МЕДТЕХНИКА, РОССИЯ
5	Зажим Кохера	4	SURGICON, ПАКИСТАН
6	Зажим Алиса	2	SURGICON, ПАКИСТАН
7	Ретрактор Фарабефа	2	ПТО МЕДТЕХНИКА, РОССИЯ
8	Иглодержатель	3	MILTEX, США
9	Ножницы	4	SURGICON, ПАКИСТАН
10	Цапки бельевые	4	SURGICON, ПАКИСТАН
11	Линейка	1	AESCLAP (ЭСКУЛАП) B. BRAUN, ГЕРМАНИЯ
12	Канюля для липосакции	2	ПТО МЕДТЕХНИКА, РОССИЯ

Таблица 3.

Расходные материалы, использованные при операции по коррекции контуров лица

Вид	Тип	Фирма	Страна
Асептическая повязка 1	Салфетки стерильные 45*29 см	ЗАО «Производственная компания Волжская мануфактура»	РФ
Асептическая повязка 2	Бинт стерильный 7*14 см	АО «Гигровата – Санкт – Петербург»	РФ
Компрессионные повязки	Эластичный бинт	"Pilskalni", Grinvalti, Nicas pagast, Nicas novads	Латвия
Простыни, Халаты	Халат, простыня	ООО «Гекса – нетканые материалы»	РФ
Шприцы	Шприц 20 мл	Фогт Медикал Фертриб ГмбХ	Германия
Перчатки	Перчатки латексные	ООО «Ардейд – Импэкс»	РФ

Использованный при операции шовный материал представлен в таблице 4.

Таблица 4.

Нити, использованные при операции по коррекции контуров лица в рамках данной диссертационной работы

Название	мм	Фирма	Страна	Состав
Даргофил (dagrofil)	2,0	B.Braun Surgical S.A.	Испания	Полиэстер
Викрил (vicri)l	3,0	Johnson \$ Johnson Ethicon	Великобритания	полиглактин
Пролен/Премилен (premilen)	3,0	Johnson \$ Johnson Ethicon	Великобритания	Полипропилен
Пролен/Премилен (premilen)	5,0	Johnson \$ Johnson Ethicon	Великобритания	Полипропилен
Кожный степлер Proximate 35	6,9 мм	Ethicon Endo-Surgery, LLC	США	нержавеющая сталь

Медикаменты, использованные при операции лифтинга лица, представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Медикаменты, использованные при операции по коррекции контуров лица в рамках данной диссертационной работы

Назначение	Название	Фирма	Страна
Премедикация	Атропин	ОАО «Дальхимфарм»	РФ
	Дексаметазон	АО «Научно-производственный центр ЭЛЬФА»	РФ
	Латран	«Фармзащита»	РФ
	Транексам	ООО «Велфарм»	РФ

	Цефтриаксон	ПАО «Красфарма»	РФ
Индукция	Фентанил	ФГУП «Московский эндокринный завод»	РФ
	Пропофол	В.Браун Мельзунген АГ	Германия
	Рокуроний	ФРЕЗЕНИУС КАБИ ДОЙЧЛАНД ГМБХ	Германия
Ингаляционный анестетик	Севоран	Piramal Critical Care	США
Наружный антисептик	Октенисепт	SCHULKE	Германия
Назначения в стационаре после операции	Цефтриаксон	ПАО «Красфарма»	РФ
	Транексам	ООО «Велфарм»	РФ
	Кеторол	ООО «Велфарм»	РФ

2.2.2. Протокол проведения операции лифтинга лица

Данный протокол является стандартным для пластических операций по коррекции контуров лица, проводимых в Клинике пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, в связи с чем возможно дублирование текста данного протокола в публикациях сотрудников ООО «Фрау Клиник».

Пациенту делают комбинированный эндотрахеальный наркоз, в положении лёжа на спине операционное поле трехкратно обрабатывают раствором «Октенисепт». Затем выполняют инфильтрацию подбородочной области, передней и боковых отделов шеи физиологическим раствором с адреналином в концентрации 1000:1 в объёме 200 мл, после чего канюлей диаметром 3,0 мм по контурам нижней челюсти и шеи удаляют 200–300 мл жидкости вместе с жировой тканью.

В целях диссертационной работы извлечённую жировую ткань использовали как интактный контроль при изучении ишемии/реперфузии.

Затем выполняют инфильтрацию височной, щёчной и заушных областей физиологическим раствором с адреналином в концентрации 1000:1 объёмом 100 мл, после чего выполняют разрез кожи, начиная от височной области, огибая мочку уха; от сосцевидного отростка разреза идет на волосистую часть головы.

В целях диссертационной работы образец кожи использовали как интактный контроль при изучении ишемии/реперфузии.

В области виска производят тупую подкожную отслойку, при этом должна быть видна поверхностная височная фасция. Выполняют подкожную отслойку ножницами Купера в щёчной, подбородочной области и в области шеи, при этом концы ножниц

обращены вверх к коже. Отслоенное пространство туго заполняется салфетками с 5% аминокапроновой кислотой и проводится гемостаз отслоенного пространства монополярным электрокоагулятором фирмы «Фотек» в режиме «спрей» на цифрах 60 Вт. Те же манипуляции проводят с контрлатеральной стороны.

В области поверхностной мышечно-апоневротической системы (Superficial Mascula Aponevrotic System, SMAS) выполняется инфильтрация физиологическим раствором с адреналином в концентрации 1000:1 объемом 20–40 мл. Производится разрез в области SMAS от середины козелка ушной раковины до середины расстояния от козелка до латерального угла глаза, далее перед ухом, отступя от него на 1 см, разрез направляется вниз до угла нижней челюсти. Отслаивается SMAS и перемещается кзади и кверху для уменьшения носогубной складки и восстановления контуров нижней челюсти. Отслоенный лоскут SMAS фиксируется нитью Дагрофил 2,0. Производится гемостаз монополярным электрокоагулятором фирмы «Фотек» в режиме «спрей» на цифрах 60 Вт. Кожно-жировой лоскут перемещается кзади и кверху, фиксируя кожу в точках фиксации в области виска у верхушки ушной раковины, освобождается место для мочки уха, и фиксируется в области сосцевидного отростка нитью Пролен/Премилен 3,0.

Резецируют избытки кожно-жирового лоскута по линиям разреза, образцы тканей используют для изучения эффекта ишемии/реперфузии в конце операции.

Накладывают два П-образных шва в области козелка нитью Пролен/Премилен 3,0. Мочку уха фиксируют в несколько сжатом состоянии. Накладывают внутрикожные адаптирующие узловые швы нитью Викрил 3,0. Накладывают узловые швы кожным степлером Proximate 35 перед ухом и в области виска нитью Пролен/Премилен 5,0. По линии роста волос за ухом накладывают косметический внутрикожный шов нитью Пролен/Премилен 3,0. Таким образом, операционная рана ушита послойно с использованием нитей Дагрофил 2,0, Викрил 3,0 и Пролен/Премилен 3,0 и 5,0.

Устанавливают активные дренажи в шейно-подбородочной области, а также полутрубчатый дренаж в височной области. Те же манипуляции осуществляют с контрлатеральной стороны.

Проводят эластичное бинтование головы.

Назначения препаратов после операции:

1. Амоксиклав 625 мг по 1 таблетке 2 раза в день в течении 5 дней.
2. Дексаметазон: 1-й день по 4 мг 3 раза в день, 2-й день по 4 мг 2 раза в день, 3-й день по 4 мг 1 раз в день.

3. Кетонал, Нурофен, Кеторол (при болях) по 1 таблетке (не более 3 таблеток в сутки).

2.2.3. Послеоперационное ведение больного

В послеоперационном периоде проводятся перевязки, обработка раны растворами антисептиков, туширование линии швов раствором Бетадин. Смена бинтовой повязки на эластичный бинт на 2-е сутки после операции.

Снятие швов на 3-и сутки после операции с предушной области и подподбородочной области, заклеивание раны стрипами. На 10–14 сутки после операции снятие швов с височной и заушной областей, стрипов с предушной области.

2.3. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ

Данный протокол обследования обязателен для всех пациентов перед операцией, в связи с этим возможно дублирование текста в публикациях коллег из ООО «Фрау Клиник», г. Москва, в том числе [Копасов А.Е., 2021].

Перед операцией всем пациентам проводили обязательные исследования:

- электрокардиография (аппарат ECG-1250 Nihon Kohden, Япония);
- холтеровское мониторирование (аппарат BTL-08 H600, Великобритания) в течение 24 часов только при жалобах пациента или выявлении нарушения ритма на ЭКГ;
- рентгенологическое исследование органов грудной клетки (аппарат CARESTREAM DRX – Evolution, Германия);
- ультразвуковое исследование щитовидной железы (аппарат Hitachi-Aloka F37, Япония);
- фиброгастроскопия (фиброскоп Olympus GIF-040, Япония).
- исследование функции внешнего дыхания (спирометр Spirobank III MIR с SpO2 анализатором для пульсоксиметрии (Medical International Research S.r.l, Италия), определяли жизненную ёмкость легких и форсированную жизненную ёмкость легких, объём фиксированного выдоха за первую секунду, процентное содержание оксигемоглобина в артериальной крови и другие показатели [GLI2012 <http://www.lungfunction.org>];
- цветное доплеровское картирование и измерение импульсного доплеровского режима кровотока в венах тканей лица (ультразвуковой сканер ALOKA SSD-4000 (ProSound PHD, Aloka, Япония) для оценки гемодинамики микроциркуляторного русла лица [Авдошенко К.Е., Постникова Е.В., 2023].

2.4. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данный протокол является стандартным для Клиники пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник», г. Москва, в связи с чем возможно дублирование текста в публикациях коллег из ООО «Фрау Коиник», г. Москва, в том числе [Копасов А.Е., 2021].

Биохимические исследования в сыворотке крови и изучение общих показателей крови пациенток (общий (клинический) анализ крови с определением уровня эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарной формулы) проводились в лаборатории Клиники пластической и эстетической хирургии ООО «Фрау Клиник», г. Москва, имеющей соответственный сертификат, по стандартным методикам и согласно требованиям ГОСТов. Исследования крови в рамках данной диссертационной работы проводили до операции и на следующий день после операции. Кровь брали утром натощак из локтевой вены в пробирку–вакутейнер (с ЭДТА, гепарином или без реактивов в зависимости от цели исследования). Пробирки центрифугировали, затем открывали в боксе таким образом, чтобы не было контакта персонала с биологическим материалом.

Подсчет клеток крови проводили на гематологическом анализаторе Pentra Nexus HORIBA (Horiba ABX SAS, Франция).

Биохимические показатели крови определяли на автоматическом анализаторе Fuji Dri-Chem4000 (Fujifilm, Япония).

Окислительный стресс в сыворотке крови оценивали с помощью коммерческого набора MILLIPLEX® kit (Merck-Millipore, Германия, Cat. No. H0XSTMAG-18K). Измерения проведены на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex System, Bio-Rad Laboratories, Германия). Интенсивность флуоресценции измеряли на ридере Multiplex plate reader по программе Milliplex® Analyst 5.1.

Количественное определение генерации супероксидного аниона измеряли на спектрофотометре с программным управлением UV-3000 (Shimadzu Corp., Япония) по методу Woodman и др. [Woodman R. et al. 1995]; [Black C. et al., 1991]; [Suzuki Y., Lehrer R., 1980] в модификации Морозова С.Г. [Елистратова И.В. и др, 2015].

Уровень цитокинов в сыворотке крови определяли на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) с помощью коммерческих наборов MILLIPLEX® kit (Merck-Millipore, Германия) – Human Cytokine Panel I -III.

2.5. ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК ИЗ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

2.5.1. Выделение клеток из операционного материала

Научные результаты раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М. и др., 2022; Абрамян Ш.М. и др., 2018].

Для работы с клетками использовали среду RPMI-1640 (Flow Laboratories), обогащённую 10 мМ буфера Hepes (Sigma Chemical Co.), 2 мМ L-глутамина (Sigma), 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma), 50 мкМ 2-меркаптоэтанола (Flow) и эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) (Flow). Клетки отмывали в фосфатном буфере (Phosphate Buffered Saline – PBS, Sigma).

Из кожи и подкожно-жировой клетчатки в области иссечения тканей лица были выделены образцы (2×1×0,5см), отмыты в стерильном холодном PBS, перенесены в полную среду RPMI 1640 с 15% ЭТС и оставлены в холодильнике при температуре $t^0+4^0\text{C}$ до окончания операции; затем образцы транспортировали в переносном холодильнике в лабораторию.

Методика выделения клеток из операционного материала является модификацией Морозова С.Г. [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016] методов [Hagman D. et al. 2012; Cho K. et al. 2014]. Образцы ткани разрезали острыми ножницами на мелкие фрагменты, помещали в 100-мл флакон Карреля с буфером (раствор Хенкса с Ca^{+2} и Mg^{+2} + 0,5% бычьего сывороточного альбумина, BSA). Во флакон добавляли 10-кратный раствор коллагеназы II (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 0,5 мг/мл, который готовили *ex tempore* перед экспериментом и стерилизовали через одноразовый фильтр диаметром (d) 0,22 мкм. Суспензию инкубировали при $t^0+37^0\text{C}$ и 5% CO_2 при непрерывном мягком перемешивании на шейкере. Через 20 минут отбирали аликвоту 2 мкл и проверяли на световом микроскопе состояние клеточной взвеси, инкубацию суспензии продолжали до тех пор, пока не получали взвесь одиночных клеток, время инкубации не превышало 45 минут. Затем в суспензию клеток добавляли ЭДТА в конечной концентрации 10mM и лизирующий буфер для эритроцитов (Becton Dickinson Co., США), переносили в центрифужные пробирки и отмывали дважды в полной среде RPMI-1640 центрифугированием при 200g. К осадку добавляли полную среду RPMI-1640 + 15% ЭТС, инкубировали при $t^0+37^0\text{C}$ и 5% CO_2 в течение 2-х часов для восстановления рецепторного аппарата клеток, затем фильтровали через хлопковую вату для удаления погибших клеток. Жизнеспособность клеток по окраске трипановым синим составляла $95\pm 2\%$. Определяли концентрацию выделенных клеток и пересчитывали число клеток на общий вес образца ткани.

2.5.2. Измерение спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках

Научные результаты этого раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М. и др., 2022; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017].

Для определения уровня спонтанного апоптоза клетки подкожно-жировой ткани, выделенные из операционного материала, довели до концентрации 10×10^6 /мл в 4% параформальдегиде, отмывали центрифугированием и окрашивали пропидиумом иодидом (propidium iodide, PI, Sigma) в гипотоническом буфере (H_2O_{dest} с 0,1% цитратом натрия и 0,01% Тритоном X100 (Sigma)).

Для активации сигналов апоптоза и определения уровня индуцированного апоптоза, клетки, выделенные из кожи и подкожно-жировой ткани, довели до концентрации 10×10^6 /мл в полной среде RPMI 1640 с 5% ЭТС и инкубировали 2,5 часа при $t^0 + 37^0C$ и 5% CO_2 в присутствии 20 микроМ клеточно-проникающего C2-церамида (Avanti Lipids Co., USA). Затем клетки отмывали, фиксировали 4% параформальдегидом и окрашивали PI в гипотоническом буфере [Кандалова О.В. и др., 2012].

2.5.3. Индукции некроптоза в клетках из операционного материала

Научные результаты этого раздела отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др., 2022].

Для эксперимента *in vitro* по индукции некроптоза в каждом образце кожи и подкожно-жировой ткани были отобраны клетки, их концентрация доведена до 1×10^6 /мл среды RPMI 1640 с 10% ЭТС, в экспериментальную пробу добавлен фактор некроза опухолей альфа ($TNF\alpha$, Sigma) 10 нМ в 10 мкл PBS, в контрольную – 10 мкл PBS.

Клетки инкубировали 2 часа в термостате при $+37^0C$ и 5% CO_2 , затем отмывали, фиксировали 4% параформальдегидом, снова отмывали и окрашивали моноклональными антителами (mAb) к рецепторам R1 и R2 $TNF\alpha$, киназам RIPK1, RIPK3 и MLKL, к фосфорилированным киназам (p)-RIPK3 (Ser²²⁷), (p)-MLKL (Ser³⁵⁸), (p)-RIPK1 (Ser¹⁶⁶).

Окраску проводили с помощью коммерческого набора Becton Dickinson по инструкции. Клетки анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) по программе SimulSet.

Данная методика является авторской модификацией Морозова С.Г. [Абрамян Ш.М. и др., 2022] метода [Miao B., Degterev A. 2009].

2.6. ОКРАСКА АНТИТЕЛАМИ К СТРУКТУРАМ КЛЕТОК

Научные результаты раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017; Абрамян Ш.М. и др., 2022].

Были окрашены клетки крови и клетки, выделенные из операционного материала. По 1 мл крови переносили в центрифужные пробирки, добавляли по 14 мл лизирующей жидкости для удаления эритроцитов (Becton Dickinson, США), инкубировали 5 минут при $t^0+25^0\text{C}$, центрифугировали 10 минут при 200g и $t^0+25^0\text{C}$.

Супернатант удаляли, осадок встряхивали, добавляли полную среду RPMI-1640 и отмывали суспензию клеток центрифугированием в тех же условиях [Кандалова О.В. и др., 2012].

Для получения моноклеаров крови осадок разводили PBS 1:1 и по 2 мл наслаивали на градиент плотности Фиколла-Верографина (1,078 г/л), центрифугировали 20 минут при ускорении 2000 g и $t^0+25^0\text{C}$. Моноклеары отбирали из интерфазы, отмывали средой RPMI-1640 и доводили до концентрации 1×10^6 клеток/мл.

Окраску проводили mAb, напрямую меченными флуоресцентными красителями. Клетки отмывали в PBS, доводили до концентрации $0,5 \times 10^6$ клеток в 50 мкл, добавляли 20 мкл соответствующих mAb и инкубировали 40 минут при $t^0+40\text{C}$. Клетки трижды отмывали, осадок встряхивали и фиксировали в 4% параформальдегиде на PBS с 5% азидом натрия.

В работе использовались mAb к антигенам клеток: α -CD3 (Т-лимфоциты); α -CD4 (Т-хелперы/индукторы); α -CD8 (Т-супрессоры/цитотоксические лимфоциты, NK клетки); α -CD25 (IL-2R, ранний маркер активации клеток); α -CD38 (активированные Т- и В-лимфоциты); α -HLA-DR (молекулы гистосовместимости II класса, маркер активированных клеток); α -CD19 и α -CD20 (В-лимфоциты); α -CD16 (нейтрофилы); α -CD54 (ICAM-1, молекулы адгезии); α -CD11a (LFA-1, молекулы адгезии); α -CD95 (Fas/APO-1, рецептор апоптоза); α -TNF-R1 (1-й рецептор TNF- α) (ab270654); α -TNF-R2 (2-й рецептор TNF- α) (ab8161). киназам RIPK1 (ab227843), RIPK3 (ab246523) и MLKL (ab208082), к фосфорилированным киназам (p)-RIPK3 (Ser²²⁷) (ab209384), (p)-MLKL (Ser³⁵⁸) (ab187091) (все mAb Abcam), а также к (p)-RIPK1 (Ser¹⁶⁶) (44590, Cell Signaling Technologies).

Для анализа популяций клеток, выделенных из операционного материала, суспензии клеток окрашивали mAb к рецепторам онкостатина М (anti-OSTM, ab156939) на адипоцитах [Elks C. et al., 2016; Lee Y. et al., 2004; Majka S. et al., 2014], рецепторам эфрина (anti-Eph-R, ab5497) на эпителиальных клетках [Perez White B., Getsios S., 2014], рецепторам

нейтрофилов (anti-CD66b, ab48589), лимфоцитов (anti-CD3, ab106215) и моноцитов / макрофагов (anti-CD11c, ab313900) (все mAb Abcam).

2.7. ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ

2.7.1. Проточная цитометрия клеток крови

Научные результаты данного раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017; Абрамян Ш.М. и др., 2022].

Клетки крови, окрашенные mAb, анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) по программе SimulSet с настройками, оптимальными для каждого исследования и неизменяемыми при повторных экспериментах.

Первичный анализ клеток проводили при прямом и боковом просвечивании лазером в системе координат на каналах FSC-A / SSC-A (Forward Scate Cells / Side Scate Cells). В каждом образце анализировалось 10 тысяч событий на гейт одной популяции клеток, который устанавливали по экспрессии соответствующего маркёра или автоматически по прилагаемой программе.

Интенсивность флуоресценции антител, меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), определяли на канале FL1 при длине волны 530 ± 5 нм, флуоресценцию фикоэритрина измеряли на канале FL2 при длине волны 585 ± 5 нм. Интенсивность флуоресценции приводилась ко внутреннему стандарту.

В качестве негативного контроля регистрировалась флуоресценция $F(ab')_2$ фрагментов изотипспецифичных иммуноглобулинов, меченных соответствующими красителями, но без первичных антител.

Далее анализировалась гистограмма, соответствующая распределению клеток на канале, по которой определяли процентное содержание антиген-положительных клеток и интенсивность флуоресценции (mean) в условных единицах, отражающую относительную плотность антигена на поверхности клетки или уровень включения флуоресцентной метки в клетку [www.bdbiosciences.com/en-us/resources/ Becton Dickinson Co,].

Для компьютерного анализа полученных данных с цитометра использовали программу WinMDI, версию 8.2.

2.7.2. Проточная цитометрия клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани

Научные результаты данного раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. / Анналы Пластич. Реконст. Эстет. Хир., 2017; Абрамян Ш.М. и др. / Бюлл. Эксп. Биол. Мед. 2022; Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер., 2022].

Полученную суспензию клеток в PBS доводили до концентрации 1×10^6 /мл. Образцы исследовали в настройках, неизменных для анализа на определённые белки. При проведении проточной цитометрии макрофагов жировой ткани учитывалось, что они имеют существенный уровень спонтанной аутофлуоресценции в голубом свете, поэтому для их идентификации использовали антитела, окрашенные PE или PE-Cy5. Для более чётких результатов окрашивали аликвоту клеток специально для исследования определённой популяции или субпопуляции, и не использовали коктейль из антител. Перед началом каждого измерения панели проб обязательно делали компенсацию на каналах FL1 / FL2, чтобы избежать спектральных наложений. Если компенсация была проведена корректно, то медиана интенсивности флуоресценции положительных и негативных индивидуальных контролей были выровнены во всех соседних каналах. При проведении цитометрии в каждом гейте, соответствующем популяции клеток, подсчитывали 10000 событий, в целом на образец было 50000 событий. Сначала анализировали клетки на каналах FSC-A / FSC-H, где сначала выделяли гейт, соответствующий адипоцитам, и его анализировали на каналах FSC / SSC. Затем анализировали гейт, соответствующий лейкоцитам (CD45+ клетки), в котором в системе координат каналов FL2-A / SSC определяли флуоресценцию нейтрофилов, тканевых макрофагов и лимфоцитов. Далее анализировались гистограммы, соответствующие распределению клеток, окрашенных теми или иными антителами.

2.7.3. Оценка фрагментации ДНК методом проточной цитометрии

Научные результаты данного раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017; Абрамян Ш.М. и др., 2022].

Метод основан на включении пропидиума иодида (PI) в олигонуклеосомальные фрагменты ДНК. К фиксированным клеткам (1×10^6 клеток в 150 мкл 1% параформальдегида) добавляли 0,5 мл гипотонического раствора PI (50 мкг PI (Sigma) на 1 мл 0,1% цитратного буфера (Реахим) с 0,1% Тритоном X-100 (Sigma)), инкубировали 40 минут в темноте при $t^{0+4^0}\text{C}$ и анализировали на проточном цитометре. Флуоресценция PI определялась на канале FL2-A при длине волны 585 ± 5 нм или канале FL3-A при длине

волны 610 ± 5 нм. Низкомолекулярные фрагменты ДНК определяли в виде гиподиплоидного суб-G1 пика в гистограмме ДНК. Пример приведен на рисунке 9.

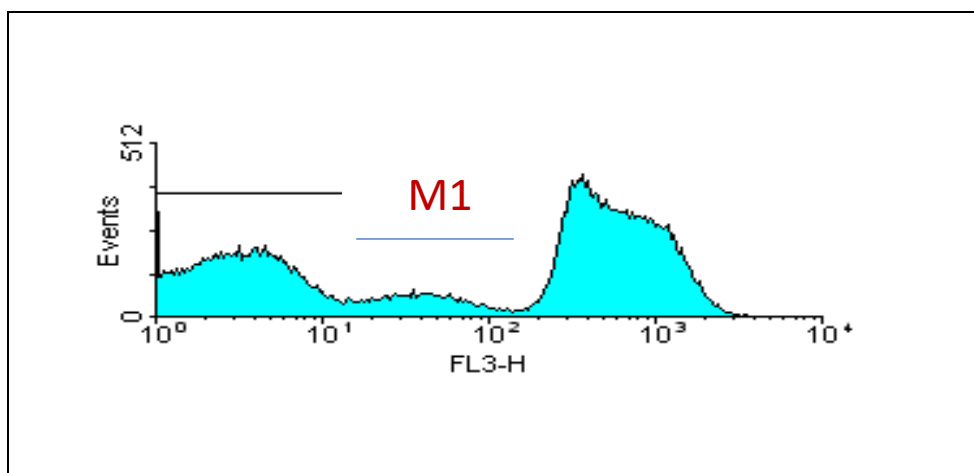


Рисунок 9. Пример гистограммы клеток с апоптозом.

Пик диплоидных клеток расположен справа, субдиплоидный пик клеток в апоптозе обозначен курсором M1.

2.8. ИЗМЕРЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ $\Delta\Psi_m$

Мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\Psi_m$) измеряли по методике MitoProbe™ JC-1 Assay staining protocol for flow cytometry [<https://www.lifetechnologies.com/de/de/home/life-science/cell-analysis/flow-cytometry/cell-health-and-viability-assays-for-flow-cytometry/apoptosis-assays-for-flow-cytometry/jc-1-dye-mitochondrial-membrane-potential-probe.html#protocol>].

Метод основан на селективном встраивании красителя JC-1 в митохондрии и изменении его флуоресценции с зелёной на оранжевую в зависимости от повышения мембранного потенциала митохондрий (~ до 80–100 милливольт). При поляризации мембраны происходит временное формирование агрегатов красителя JC-1, что приводит к смещению длины волны эмиссии с 530 нм (для мономеров JC-1) до 590 нм (для агрегатов JC-1) при длине волны возбуждения 490 нм. Краситель JC-1 позволяет количественно измерить изменение мембранного потенциала митохондрий по интенсивности флуоресценции (mean) образцов на соответствующих каналах: зелёная флуоресценция определяется на канале FL1, оранжевая – на канале FL2 [Cottet-Rousselle C. et al., 2011], [Elefantova K. et al., 2018]. Как должны выглядеть результаты измерения показано на рисунке 10 (слайд фирмы–производителя наборов для исследования).

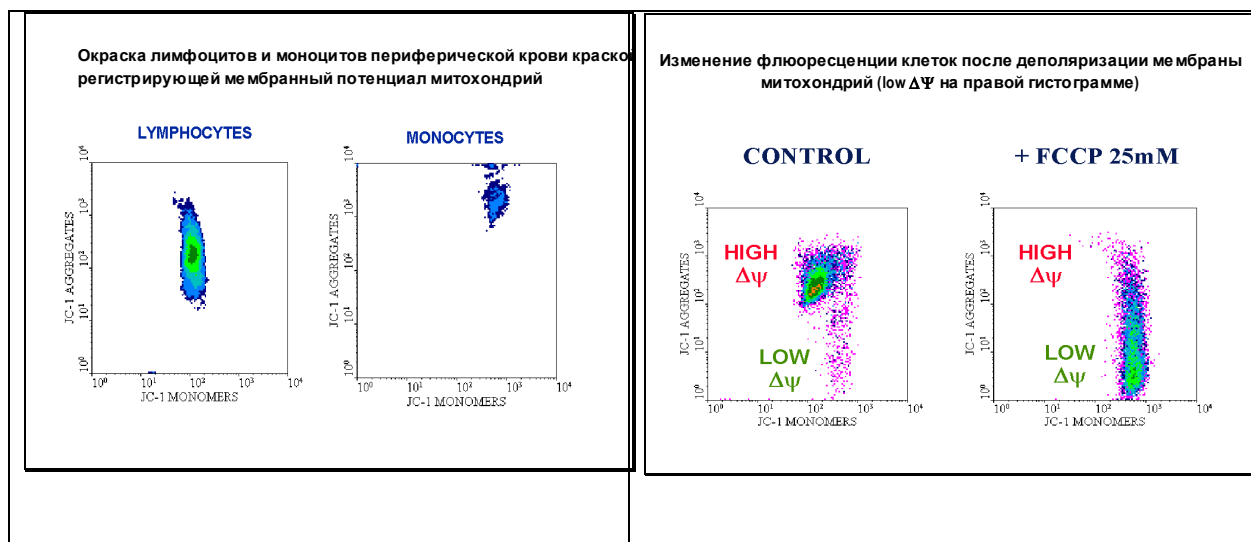


Рисунок 10. Пример изменения флуоресценции клеток при падении мембранного потенциала митохондрий.

[http://www.bdbiosciences.com/ds/ab/others/551302_Book_Website.pdf].

Краситель JC-1 первоначально был разведён в DMSO и аликвоты хранились в холодильнике. Согласно инструкции, при добавлении краски в суспензию клеток её сразу тщательно перемешивали на вортексе для обеспечения растворимости. Суспензию живых клеток доводили до 1×10^6 /мл в полной среде RPMI-1640 с 10% ЭТС, добавляли краситель JC-1 (10 μ г/мл), инкубировали 10 минут при $t^0 + 37^0\text{C}$, после чего клетки дважды отмывали в PBS. Измерение проводили на проточном цитометре с тремя лазерами FACSCalibur (Becton Dickinson, США) на каналах FL1 (488 нм) и FL-2 (530 нм) с обязательной предварительной компенсацией.

Для постановки негативного контроля суспензии идентичных клеток обрабатывали раствором протонного транслокатора FCCP (250 нМ), который вызывает коллапс мембранного потенциала и, соответственно, резкое изменение флуоресценции.

Контроль процента живых клеток и процента клеток в апоптозе (который далее учитывали при измерении $\Delta\Psi_m$) осуществляли по интенсивности флуоресценции пропидиума иодида на канале FL-3 (633 нм) одновременно с окраской JC-1.

Также дополнительно определяли относительную массу митохондрий в клетках по окраске нонил-акридиновым оранжевым (NAO), который связывает митохондрии независимо от энергетического статуса. Для этого клетки в концентрации 1×10^6 /мл инкубировали 10 минут в полной среде RPMI-1640 + 10% ЭТС и 10 μ М NAO (в темноте при комнатной температуре), затем дважды отмывали в холодном PBS. Интенсивность флуоресценции NAO сразу же анализировали на проточном цитометре на канале FL-1.

2.9. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСКОБОВ КОЖИ

Научные результаты данного раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017; Абрамян Ш.М. и др., 2017; Абрамян Ш.М. и др., 2018].

Взятие соскоба кожи проводили по правилам МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» (<https://docs.cntd.ru/document/1200044664>). В работе использовали методики для клинических исследований [White T. et al., 1990; Buitrago M. et al., 2013; Jo J. et al., 2016; Pellegatta T. et al., 2016]. Пробы брали в области планируемого разреза перед операцией лифтинга лица. При визуальном осмотре внешних изменений на коже обнаружено не было. Перед процедурой кожу протирали тампонами со стерильным физиологическим раствором, затем стерильным рабером делали неглубокие соскобы, не затрагивающие дерму. Полученные образцы хранили в стерильных пробирках в заморозке при $t^0-70^0\text{C}$ до проведения исследования. Наличие бактериальной или грибковой контаминации верифицировали методом ПЦР в реальном времени с парами праймеров, синтезированными на основании соответствующих олигонуклеотидов патогенов, известных из базы данных [GenBank database, <http://www.ncbi.nih.gov/Genbank/>].

2.10. АНАЛИЗ МАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Научные результаты данного раздела отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др., 2018].

В работе был проанализирован биологический материал 100 пациентов (25–64 лет, все женщины), которым перед операцией лифтинга лица было проведено стоматологическое обследование, из них санация полости рта потребовалась 76 пациентам. Для исследования были выбраны пациенты с кариесом дентина (K02.1; $n=41$), пульпитом (K04.0; $n=11$), хроническим апикальным периодонтитом (апикальной гранулемой, K04.5; $n=15$) и клиновидным дефектом (K03.10; $n=9$) (по классификации МКБ-10), а также пациенты без патологии зубов (норма; $n=24$). При наличии вирусных или острых бактериальных инфекций пациенты исключались из исследования.

С помощью стоматологических брашиков были сделаны смывы клеток дёсенной борозды зуба, требующего санации. Брашики с адгезированными клетками прополаскивали в 1 мл стерильного PBS, после чего пробирку центрифугировали, клетки переводили в полную среду RPMI-1640 с 10% ЭТС. Далее клетки окрашивали mAb, отмывали и

добавляли 0,5 мл 4% параформальдегида на PBS для фиксации клеток, затем анализировали на проточном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson, USA) на каналах FL1-A, FL2-A и FL3-A при длине волны, соответственно, 488 ± 5 нм, 530 ± 5 нм и 605 ± 5 нм.

Уровень спонтанного апоптоза определяли методом проточной цитометрии на канале FL2-A или FL3-A по включению пропидиума иодида в гипотоническом буфере в олигонуклеосомальные фрагменты ДНК [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2017]. Индуцированный апоптоз измеряли после культивирования выделенных живых клеток с C2-церамидом [$10\text{нМ/мл}/10^6$ клеток] в течение 2-х часов [Janssens M. et al., 2012].

Процент фагоцитоза нейтрофилов определяли методом проточной цитометрии по включению в клетки меченных флуоресцеинами инактивированных стафилококков. Генерацию супероксидного аниона нейтрофилами определяли при стимуляции форболовым эфиром на двулучевом спектрофотометре Hitachi по соответствующей программе [Елистратова И.В. и др., 2015].

2.11. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Описание данного раздела имеется в публикациях автора [3-6, 10].

Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе методов вариационной статистики с применением пакетов компьютерных программ Word 98, Excel 98, «Биостат». Использовали параметрические и непараметрические критерии. Числовые данные представлены в абсолютных цифрах и %, средние показатели как $M \pm m$, качественные переменные представляли абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Достоверность различий между средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента, нормальность распределения – по критерию Шапиро-Уилки. Для сравнения групп по частоте качественных переменных использовали критерий хи-квадрат. Статистический анализ более чем двух групп проводился методом множественного сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса, дисперсионному анализу ANOVA. $P < 0,05$ дается как статистически значимое различие между группами.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3. 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

В данной диссертационной работе представлены анонимные материалы обследования и хирургического лечения 320 пациентов, все женщины от 21 года до 65 лет.

Перед операцией лифтинга лица у больных собирался анамнез *vitae*, анамнез *morbi* и аллергоанамнез. Никаких жалоб пациенты не предъявляли, соматических нарушений выявлено не было. Проводился общий осмотр пациента, определялась окраска слизистых оболочек и признаки гиповентиляции легких. Проводили физикальное обследование (пальпацию, перкуссию, аускультацию, измерение артериального давления). Далее осматривали лицо и тело на предмет высыпаний или аллергических реакций (покраснение кожи, диатез, отек и т.д.). При наличии острой бактериальной или вирусной инфекции сроки операции переносили до выздоровления. Визуально и с помощью приборов оценивали состояние кожи лица, её цвет, тургор, особенности строения, васкуляризацию, ответ на механические воздействия. Проводили стандартные инструментальные методы обследования перед операцией. Никаких значимых отклонений от нормы выявлено не было. После осмотра пациент проходил обязательную консультацию психотерапевта, заключение которого необходимо для решения о проведении операции. После обследования определяли схему проведения операции по коррекции контуров лица, уточняли оптимальный тип планируемой операции, который определялся параметрами изменения кожного покрова черепа в области лица. В данной диссертационной работе мы сконцентрировались на анализе только одного типа операции, схема проведения которого представлена в разделе «Материалы и Методы».

Лабораторная диагностика включала стандартные исследования, указанные в разделе «Материалы и Методы»: все показатели пациентов до и после операции были в норме.

Биохимический анализ крови проводится с целью обнаружения какой-либо органной дисфункции. У всех пациентов показатели соответствовали норме (Табл. 6), после операции было небольшое повышение уровня мочевины и креатинина, но в пределах нормы. Отклонений в коагулограмме не обнаружено.

Таблица 6.

Некоторые биохимических показатели крови у всех пациентов до и сразу после операции лифтинга лица

Показатели	До операции	После операции	P < 0,05
Общий белок, г/л	72,3 ± 3,1	72,5 ± 3,2	-
Глюкоза, мм/л	4,46 ± 0,21	4,38 ± 0,35	-
ТГ, мм/л	0,79 ± 0,19	0,85 ± 0,22	-
Холестерин, мм/л	4,49 ± 0,37	4,68 ± 0,39	-
ЛПНП, мм/л	3,11 ± 0,12	3,55 ± 0,31	-
Мочевина, мм/л	5,89 ± 0,43	6,36 ± 0,54	-
Мочевая кислота, мм/л	0,38 ± 0,11	0,42 ± 0,12	-
Креатинин, мкм/л	75,19 ± 2,14	87,11 ± 3,65	-

У всех пациентов определяли показатели перекисного окисления липидов (Табл. 7). Сразу после операции показатели СОД, каталазы, МДА и лактата были достоверно выше нормы (P<0,05), показатели ЛДГ после операции повышены по сравнению с данными до операции (P<0,05), но не превышали норму. Уровень пирувата имел тенденцию к повышению (P>0,05),

Таблица 7.

Показатели перекисного окисления у всех пациентов до и сразу после операции лифтинга лица

Показатели	До Операции	После Операции	P < 0,05
Супероксиддесмутаза у.е.	42,3 ± 2,6	71,5 ± 4,9	+
Каталаза МЕ/мл	47,1 ± 3,3	64,7 ± 5,2	+
Малоновый диальдегид мкм/л	19,6 ± 1,9	35,3 ± 4,2	+
Лактатдегидрогеназа МЕ/л	144 ± 5	271 ± 8	+
Лактат мм/л	1,15 ± 0,24	1,96 ± 0,35	
Пируват мм/л	0,052 ± 0,01	0,054 ± 0,01	

мм/л – миллимоль на литр; мкм/л – микромоль на литр, МЕ – международная единица (соответствует количеству фермента, вызывающего распад 1 моля субстрата в минуту при температуре 25°C).

У 45 пациентов в возрасте от 35 до 45 лет, не курящих, без загара, были определены показатели провоспалительных цитокинов в сыворотке крови до и сразу после операции лифтинга лица (Табл. 8). В состояние реперфузии сразу после операции достоверно повышены все исследуемые показатели, что прямо указывает на активацию процессов воспаления при реперфузии.

Таблица 8.

Уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациентов до и сразу после операции лифтинга лица

Показатели	До операции (n=45)	После операции (n=45)	P < 0,05
IL-1 β , пикограмм/мл	1,12 + 0,15	1,93 + 0,14	+
IL-6, пикограмм/мл	11,38 + 0,64	19,33 + 1,41	+
IL-8, пикограмм/мл	8,56 + 0,69	14,22 + 1,12	-
IL-34, нанограмм/мл	0,11 + 0,04	0,28 + 0,09	+
TNF- α , пикограмм/мл	0,75 + 0,13	1,31 + 0,17	+
СРБ, микрограмм/мл	1,44 + 0,52	2,39 + 0,41	-

В течение месяца после проведенной пластической операции по коррекции контуров лица пациенты находились под наблюдением. Учитывая, что пациенты после операция лифтинга лица могут иметь осложнения [Yi K. et al., 2025], мы проанализировали состояние всех пациентов в течение месяца после операции на предмет наличия наиболее распространенных осложнений. Тяжелых послеоперационных осложнений не было выявлено ни у одного пациента. Далее перечислены послеоперационные осложнения и число пациентов (из всех 320), у которых они были зарегистрированы в первые 10 дней:

- боль после операции – 44 (13,8%),
- гематомы – 36 (11,3%),
- лимфедема или отёчность лица – 52 (16,3%),
- повреждение нервов – 0,
- удлинение сроков заживления послеоперационной раны – 39 (12,2%),
- неровный контур операционного шва – 4 (1,3%),
- частичные инкапсулированные некрозы шва – 12 (3,8%),
- инфекция и воспаление кожи в области операционного шва – 11 (3,4%).

В течение месяца практически все вышеперечисленные осложнения удалось купировать, все пациенты были вполне удовлетворены результатами проведенной коррекции контуров лица.

3.2. ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТКАНЕЙ ПРИ ЛИФТИНГЕ ЛИЦА

Научные результаты данной главы частично отражены в работах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Определение уровня спонтанного и индуцированного апоптоза клеток, полученных из оперативного материала при лифтинге лица // Патогенез. - 2016. - Т. 14. - №4. - С. 63-68; Абрамян Ш.М., Волкова Е.Н., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Возрастные особенности экспрессии маркёров аутофагии в клетках кожи пациентов с лифтингом лица // Патогенез. - 2018. - Т. 16. - №4. - С. 174-177; Абрамян Ш.М., Кандалова О.В., Волкова Е.Н., Найденов Н.П., Морозов С.Г. Измерение уровня экспрессии вторичных мессенджеров апоптоза в клетках кожи, выделенных из операционного материала при проведении операции лифтинга лица у пациенток разных возрастных групп // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2022. - Т. 66. - №4 - С. 107-114].

Целью данного раздела было определение основных популяций клеток в образцах кожи и подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при коррекции лица. В данном исследовании были две группы пациентов:

- 226 женщин, которые до операции не подвергались ультрафиолетовому облучению (УФ), как минимум, в течение месяца,
- 55 женщин, которые загорали в течение 2–3 недель до операции, были выделены в отдельную группу сравнения.

В качестве контроля представлены результаты исследования образцов тканей, выделенных в самом начале операции, то есть практически не подвергавшихся состоянию ишемии.

Ткани, выделенные по завершению операции (~ через 3 часа), уже подвергались ишемии/реперфузии и являлись экспериментальными.

Методы выделения клеток из операционного материала описаны в разделе «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ», а также опубликованы в работах [Абрамян Ш.М. и др., 2018; Абрамян Ш.М. и др. 2022], жизнеспособность выделенных клеток составляла $96 \pm 3\%$ по окраске трипановым синим. Так как кожа состоит из нескольких популяций клеток, включая эпителиальные и стромальные клетки, а также клетки локальной иммунной

системы, то для подтверждения популяционной принадлежности анализировали процент антиген-положительных клеток, специфичных в отношении маркёров эпителиальных клеток (Eph-R), адипоцитов (OSMR), нейтрофилов (CD66b), макрофагов (anti-CD11c) и лимфоцитов (CD3).

Образцы клеток, выделенных из операционного материала, были проанализированы на проточном цитометре (см. раздел «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ»). Первоначальный скрининг проводили на каналах FSC / SSC, выделяли гейты популяций клеток. Далее на каналах FL1 / SSC или FL2-A / SSC анализировали экспрессию маркёров клеток в указанных гейтах [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Абрамян Ш.М. и др., 2022]. По нашим данным, основными популяциями клеток, выделенными из образцов тканей, были эпителиальные клетки, адипоциты, лимфоциты, нейтрофилы и макрофаги (Рис. 10).

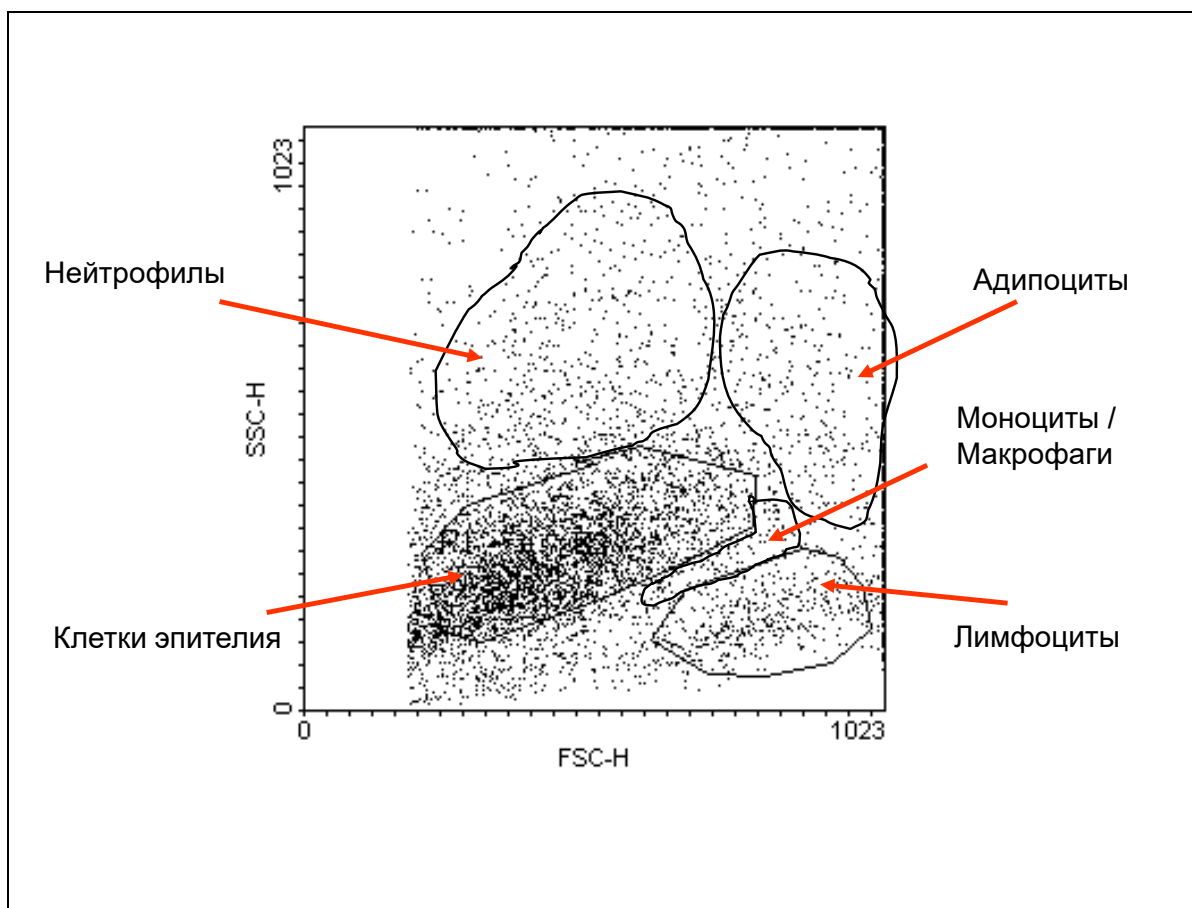


Рисунок 10. Основные популяции клеток, выделенные из подкожно-жировой ткани при операции лифтинга лица (по данным проточной цитометрии).
[Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Патогенез, 2016, Т.14, №4, С.63-68].

За 100% принято всё число событий в образце (проанализированные клетки, остатки клеток после апоптоза и некроза, дебрис), поэтому сумма основных популяций всегда будет меньше 100%. Процентное соотношение основных популяций клеток,

выделенных из тканей, зависит от метода выделения клеток и отражает распределение клеток относительно друг друга. Для выделения клеток мы всегда использовали один и тот же метод, это позволяло нам провести сравнительный анализа и получить объективную оценку изменения соотношения клеток [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016].

3.2.1. Влияние возраста на состав клеток кожи лица

На состояние кожи и подкожно-жировой клетчатки влияет возраст человека. Решающее значение для гомеостаза кожи имеет синтез и деградация компонентов экстраклеточного матрикса (ECM) [Ezure T. et al. 2016]. С возрастом происходят изменения структурных, клеточных и молекулярных компонентов кожи, нарушается васкуляризация дермы, снижаются объёмы клеточной массы и эластичных волокон, происходит потеря коллагена за счёт снижения его синтеза фибробластами дермы и повышения деградации. Всё это приводит к уменьшению толщины эпидермиса и дермы [Arnal-Forné M. et al. 2024].

Поэтому мы проанализировали полученные данные в зависимости от возраста пациентов. Данные для пациентов без загара представлены в таблице 9.

Таблица 9.

Возрастные особенности соотношения популяций клеток*, полученных из операционного материала при лифтинге лица в начале операции (контроль)

Клетки	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 36)	31 – 40 лет, (n = 56)	41 – 50 лет, (n = 72)	51 – 64 года, (n = 62)
Клетки эпителия, %	42 ± 2	39 ± 2	36 ± 3	33 ± 2**
Адиipoциты, %	12 ± 3	15 ± 2	18 ± 3	21 ± 2**
Нейтрофилы, %	15 ± 2	15 ± 1	14 ± 1	14 ± 2
Лимфоциты, %	11 ± 2	10 ± 1	9 ± 3	9 ± 2
Моноциты / макрофаги, %	6 ± 2	7 ± 1	7 ± 1	9 ± 1

*суммарный процент указанных популяций меньше 100%, так как не учитывались минорные популяции клеток;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

В суспензии клеток, выделенных из кожи и подкожно-жировой клетчатки лица пациентов моложе 40 лет, был самый высокий процент клеток эпителия (Табл. 9). У женщин моложе 40 лет клетки эпителия и адипоциты имеют бóльший размер по сравнению

с клетками лиц более старшего возраста, на это указывает их расположение в системе координат FSC / SSC при цитометрии.

С возрастом процент адипоцитов в тканях лица возрастает ($P < 0,05$), у лиц старше 50 лет практически вдвое превышает этот показатель по сравнению с женщинами моложе 30 лет (Табл. 9). Адипоциты выполняют структурную и метаболическую функции [Chon S., Pappas A. 2014]. Старение связано с изменением свойств подкожного жира и нарушением дифференцировки преадипоцитов, на долю которых в жировой ткани приходится от 15 до 50% клеток, из них образованы зрелые адипоциты [Kruglikov I. et al, 2016]. Изменения структуры подкожного жира лица обуславливают гравиметрические последствия, в том числе обвисание кожи лица, потерю тургора кожи, сморщивание эпидермиса [Nkengne A., Bertin C., 2016].

Текстура кожи с возрастом изменяется вследствие накопления стареющих фибробластов дермы, это так называемый воспалительно-гистологический возраст-ассоциированный секреторный фенотип (senescence-associated secretory phenotype, SASP). Эти клетки подвержены ненормальному ремоделированию коллагена и ECM [Takaya K. et al, 2024]. При старении в фибробластах уменьшается экспрессия белков, участвующих в полимеризации актиновых филаментов и в подвижности клеток [Boismal F. et al. 2024]. Происходит истощение, фрагментация и деградация коллагена, что приводит к потере механического натяжения кожи [Fullard N. et al. 2024].

С возрастом в коже регистрируется усиление хронического воспаления, что отражается в виде тенденции к увеличению процента макрофагов кожи, происходящих из моноцитов ($P > 0,05$) (Табл. 9). Известно, что стареющая кожа содержит на 50% больше макрофагов, происходящих из моноцитов, которые имеют провоспалительный фенотип M1, они оказывают негативное влияние на синтез белков ECM фибробластами кожи [Gather L, et al., 2022].

Хроническое воспаление в стареющей коже связано, в частности, с усилением секреции матриксных металлопротеиназ (MMP) стареющими фибробластами [Fullard N. et al. 2024], а также с накоплением активных форм кислорода, которые запускают в клетках изменение сигнальных путей, связанных с киназой mTOR, трансформирующим фактором роста TGF- β , инсулиноподобным фактором роста IGF-1, ядерным фактором Nrf2 [Zhang J. et al. 2024].

Известно, что состав лимфоцитов кожи с возрастом изменяется, например, в коже пожилых людей существенно повышается процент CD8⁺ цитотоксических Т лимфоцитов

[Pilkington S. et al., 2019]. Мы установили, что процент лимфоцитов в коже и подкожно-жировой ткани лица у женщин имеет тенденцию к снижению с возрастом ($P>0,05$) (Табл. 9).

Так как диссертационная работа посвящена изучению механизмов ишемии/реперфузии, далее мы изучили образцы клеток из тканей, полученные при завершении операции лифтинга лица (~ через 3 часа от начала операции), в которых проявляются последствия ишемии тканей в результате наложения лигатуры (Табл. 10).

Таблица 10.

Соотношения популяций клеток*, выделенных из операционного материала при лифтинге лица в конце операции (ишемия/реперфузия) в зависимости от возраста

Клетки	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 36)	31 – 40 лет, (n = 56)	41 – 50 лет, (n = 72)	51 – 64 года, (n = 62)
Клетки эпителия, %	32 ± 2	32 ± 2	30 ± 3	28 ± 2
Адиipoциты, %	9 ± 3	11 ± 2	14 ± 3	16 ± 2**
Нейтрофилы, %	22 ± 2	20 ± 1	20 ± 2	20 ± 1
Лимфоциты, %	13 ± 2	13 ± 1	12 ± 3	11 ± 3
Моноциты / макрофаги, %	10 ± 2	10 ± 2	11 ± 1	12 ± 1

*суммарный процент указанных популяций меньше 100%, так как не учитывались минорные популяции клеток;

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Нейтрофилы активно мигрируют в зону повреждения тканей во время операции [Phillipson M., Kubes P. 2019], поэтому процентное соотношение нейтрофилов значительно возросло в конце операции (Табл. 10) по сравнению с её началом (Табл. 9) (15% vs 22% для лиц моложе 30 лет, $P<0,05$) и (14% vs 29% для лиц старше 50 лет, $P<0,05$), что отражает влияние состояния ишемии/реперфузии на клетки иммунной системы кожи и подкожно-жирового слоя лица. Это явилось причиной уменьшения процентного соотношения адипоцитов и эпителиальных клеток.

По нашим данным процент макрофагов достоверно повысился в конце операции, то есть при состоянии ишемии/реперфузии (Табл. 10), по сравнению с её началом (Табл. 9) (6% vs 10% для лиц моложе 30 лет, $P<0,05$) и (9% vs 12% для лиц старше 50 лет, $P<0,05$), при этом не было значимых различий в зависимости от возраста пациенток внутри группы сравнения ($P>0,05$). Макрофаги играют важную роль на всех стадиях заживления раны: на

ранней стадии они удаляют патогены и дебрис из раны, а также клетки в апоптозе. На более поздней стадии заживления раны макрофаги блокируют воспаление и секретируют факторы, регулирующие пролиферацию и миграцию кератиноцитов, фибробластов кожи и клеток эндотелия [Aitcheson S. et al., 2021].

Процентное соотношение лимфоцитов несколько возросло в конце операции (Табл. 10) по сравнению с её началом (Табл. 9), однако, нет достоверных различий в зависимости от возраста пациенток ($P>0,05$). Роль многочисленных субпопуляций лимфоцитов в развитии состояния реперфузии показана во многих работах, но при этом имеется строгая органная зависимость этих эффектов. Общими эффектами являются: взаимодействие лимфоцитов и нейтрофилов, регуляция лимфоцитами поляризации макрофагов до провоспалительного фенотипа M1 [Li D., Gao S. 2024], ответ лимфоцитов на сигналы повреждения (DAMP), исходящих из клеток кожи, в свою очередь, активированные CD4+T-лимфоциты секретируют микровезикулы, повреждающие клетки эпителия [Alganabi M. et al., 2022; Vdovenko D. et al., 2022; Ou Q. et al., 2023].

Процессы старения затрагивают не только кожу, но и все анатомические структуры лица – лицевой скелет, мышцы, удерживающие связки, жировые пакеты, саму кожу [Еленская Ю.М. и др. 2024; Cotofana S. et al., 2016]. В период менопаузы в связи со снижением уровня эстрогенов появляются пигментация, атрофия и сухость кожи, увеличиваются морщины, снижается тургор кожи и происходит её обвисание [Kruglikov I., Scherer P. 2016; Lee H, et al., 2021; Boismal F. et al. 2024].

3.2.2. Влияние загара (ультрафиолета) на состав клеток кожи лица

Данные по составу клеток кожи и подкожно-жировой клетчатки для пациенток после загара представлены в таблице 11.

По нашим данным процент клеток эпителия в образцах, выделенных из тканей лица в самом начале операции, имел тенденцию к снижению у пациенток после УФ (Табл. 11) по сравнению с пациентками без загара (Табл. 9) ($P>0,05$), при этом процент адипоцитов практически не изменился.

УФ вызывает повреждение ДНК кератиноцитов, деструкцию мембран клеток, что приводит к воспалению кожи и апоптозу [Azzouz D. et al., 2018]. [Caiazzo G. et al., 2022]. УФ индуцирует секрецию провоспалительных цитокинов IL-1, TNF- α , MMPs и основного фактора роста фибробластов bFGF, а также активирует апоптоз в кератиноцитах через сигнальные пути Flk-1/JNK [Baek M. et al., 2018].

Стареющие под действием УФ фибробласты участвуют в регуляции сигнальных путей цитокинов в клетках иммунной системы, в регуляции пролиферации эпителиальных клеток и межклеточной адгезии [Qiang M., Dai Z. 2024].

Таблица 11.

Соотношения популяций клеток*, выделенных из операционного материала при лифтинге лица пациенток с загаром в начале операции (контроль)

Клетки	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 16)	31 – 40 лет, (n = 15)	41 – 50 лет, (n = 12)	51 – 64 года, (n = 12)
Клетки эпителия, %	39 ± 2	37 ± 2	35 ± 3	32 ± 2**
Адиipoциты, %	13 ± 3	15 ± 2	18 ± 3	20 ± 2**
Нейтрофилы, %	19 ± 1	18 ± 1	17 ± 1	18 ± 1
Лимфоциты, %	10 ± 2	10 ± 1	9 ± 3	9 ± 2
Моноциты / макрофаги, %	6 ± 2	7 ± 3	8 ± 1	8 ± 2

*суммарный процент указанных популяций меньше 100%, так как не учитывались минорные популяции клеток;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Молодая и старая кожи отличаются по возможностям восстановления структурных компонентов кожи после воздействия УФ. Фибробласты молодой кожи после УФ гибнут быстрее, чем фибробласта стареющей кожи. Это связано со способностью молодого организма выводить в апоптоз клетки, содержащие многочисленные генетические дефекты. Стареющие клетки накапливают большее количество мутировавших генов, но при этом не гибнут. Этот механизм является одним из оснований для развития рака кожи после интенсивной УФ нагрузки в пожилом возрасте [Jian J. et al., 2011].

Клетки иммунной системы реагировали на УФ: так процент нейтрофилов в образцах, выделенных из тканей лица в самом начале операции, достоверно повысился у пациенток после УФ (Табл. 11) по сравнению с пациентками без загара (Табл. 9). Нейтрофилы первыми приходят в сайт воспаления в коже. УФ повышает секрецию миелопероксидазы нейтрофилов кожи, активирует каспазы, генерацию ROS митохондриями, активацию MAPK p38 [Azzouz D. et al., 2018].

При остром стрессе пик накопления нейтрофилов в дерме наступает через 12 часов и разрешается через 24 часа. Однако повторный стресс вызывает усиление притока

нейтрофилов в кожу и продолжительную инфильтрацию воспалённого участка кожи нейтрофилами [Xu Y. et al., 2024].

Что касается лимфоцитов и макрофагов, то их процентное содержание в образцах, выделенных из тканей лица в самом начале операции, не зависело от наличия загара (Табл. 11) или отсутствия загара (Табл. 9).

Далее представлены результаты по влиянию УФ на соотношение клеток, выделенных из операционного материала в состоянии реперфузии (Табл. 12).

Проведение операции лифтинга лица у пациентов после воздействия УФ и состояние ишемии/реперфузии в конце операции (Табл. 12) привели к небольшому увеличению процента макрофагов и лимфоцитов в группах лиц старше 40 лет по сравнению с пациентами без загара (Табл. 10) ($P>0,05$). Процент нейтрофилов достоверно возростал после УФ у лиц старше 50 лет (Табл. 12) по сравнению с пациентами без загара (Табл. III.10) ($P<0,05$). Это указывает на то, что нарушения васкуляризации и оксигенации тканей при ишемии/реперфузии отягощаются после экспозиции кожи к УФ.

Таблица 12.

Соотношения популяций клеток*, выделенных из операционного материала при лифтинге лица пациенток с загаром в конце операции (ишемия/реперфузия)

Клетки	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 16)	31 – 40 лет, (n = 15)	41 – 50 лет, (n = 12)	51 – 64 года, (n = 12)
Клетки эпителия, %	28 ± 2	28 ± 2	26 ± 3	24 ± 1**
Адиipoциты, %	9 ± 1	9 ± 2	10 ± 3	10 ± 2
Нейтрофилы, %	22 ± 2	22 ± 1	23 ± 1	25 ± 1
Лимфоциты, %	15 ± 2	15 ± 1	15 ± 3	16 ± 3
Моноциты / макрофаги, %	12 ± 1	12 ± 2	12 ± 1	12 ± 1

*суммарный процент указанных популяций меньше 100%, так как не учитывались минорные популяции клеток;

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

В завершении данного раздела работы можно сделать выводы:

- состав клеток кожи и подкожно-жировой ткани лица изменяется с возрастом и зависит от наличия или отсутствия загара на лице;

- в результате нарушения васкуляризации и оксигенации тканей лица после лифтинга (при состоянии ишемии/реперфузии) достоверно повышается число нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов в тканях, что указывает на развитие воспалительной реакции в тканях к концу операции;
- состояние ишемии/реперфузии тканей лица после лифтинга отягощается наличием загара.

3.3. СИГНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ АУТОФАГИИ В КЛЕТКАХ КОЖИ ЛИЦА

Научные результаты данной главы частично отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др. / Патогенез. 2018. – Т.16, №4. – С.174-177].

Целью данного раздела работы является изучение влияния состояния ишемии/реперфузии на экспрессию внутриклеточных белков, сопряженных с аутофагией, в клетках кожи и подкожно-жировой ткани, выделенных при операции лифтинга лица, зависимости от возраста пациентов.

Аутофагия необходима для нормального гомеостаза кожи, дифференцировки клеток эпидермиса [Monteleon C. et al., 2018], регуляции обмена в клетках и удалению повреждённых клеточных органелл [Hill D. et al., 2021]. Активация аутофагии способствует скорейшему заживлению кожного лоскута после операции [Хуе К. et al., 2023], препятствует формированию гипертрофических рубцов в послеоперационном периоде [Okuno R. et al., 2018; Shi J. et al., 2018].

Снижение активности аутофагии сопряжено со старением кожи [Lee H. et al., 2021] и сопровождается изменением экспрессии генов [Kalfalah F. et al., 2016]. Показано, что аутофагия активирована при гипоксии [Huang H. et al., 2018]. В кератиноцитах снижение активности аутофагии связано с накоплением повреждённой ДНК, старением клеток и окислительным стрессом [Song X., et al., 2017]. В связи с этим исследование роли аутофагии в реакциях клеток кожи на состояние ишемии/реперфузии представляется актуальным.

Несколько биомаркёров аутофагии используются для количественной оценки её активности, в том числе белки LC3/LAMP2, Atg5, p62 и Beclin-1 [Noguchi S. et al., 2019; Baske S. et al., 2023]. LC3 считается центральным белком, регулирующим аутофагию, одна из его форм – LC3-II (микротрубочковый-ассоциированный белок-1, легкая цепь-3)-II, связана с аутофагическими вакуолярными мембранами. Уровень LC3B коррелирует с поздней фазой формирования аутофагосом. Уровень белка p62 предлагается в качестве

биомаркёра аутофагии, позволяющего оценивать её активность как в экспериментальных, так и в клинических условиях [Hill D. et al., 2021].

Суспензии клеток, выделенных из операционного материала при лифтинге лица, были окрашены антителами к рецепторам, идентифицирующим основные популяции клеток кожи. Далее в гейтах соответствующих клеток определяли флуоресценцию белков LC3/LAMP2, Atg5, p62 и Beclin-1, экспрессия которых отражает активность аутофагии [Kim H. et al., 2018].

В таблице 13 приведены данные по уровню экспрессии белков аутофагии в клетках эпителия в зависимости от возраста пациентов. Клетки из образцов ткани, выделенных в самом начале операции, не подвергались гипоксии и служили контролем.

Таблица 13.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в клетках эпителия кожи лица в зависимости от возраста (из образцов, выделенных в начале операции лифтинга лица, контроль)

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	121 ± 3	123 ± 2	119 ± 3	105 ± 3**
Beclin-1, mean	137 ± 3	135 ± 3	129 ± 4	125 ± 3**
Atg-5, mean	72 ± 2	76 ± 3	68 ± 2	62 ± 2**
p62, mean	201 ± 4	198 ± 5	162 ± 5**	144 ± 4**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Данные по ишемии/реперфузии для клеток эпителия, выделенных при завершении операции лифтинга лица, представлены в таблице 14.

В начале операции (Табл. 13) в группе пациентов старше 50 лет уровень экспрессии белка LC3 в клетках эпителия был достоверно снижен по сравнению с лицами моложе 30 лет (105 ± 3 vs 121 ± 3 , $P < 0,05$). Состояние ишемии/реперфузии (Табл. 14) привело к достоверному возрастанию уровня экспрессии белка LC3 в клетках эпителия по сравнению с контролем у всех пациентов; для лиц моложе 30 лет эти показатели составляли, соответственно, 204 ± 5 vs 121 ± 3 ($P < 0,05$), для лиц старше 50 лет – 158 ± 4 vs 105 ± 3 ($P < 0,05$).

Экспрессия белка LC3 отражает снижение активности аутофагии в клетках эпителия с возрастом и указывает на активацию сигналов аутофагии в результате состояния

ишемии/реперфузии. По данным литературы есть схожие повышения уровней белков, связанных с аутофагией (LC3-II и LC3-II/I), у молодых и пожилых людей, при этом у пожилых наблюдались признаки дисфункции аутофагии [McCormick J. et al., 2023].

Таблица 14.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в клетках эпителия кожи лица в результате ишемии/реперфузии (из образцов ткани, выделенных в конце операции лифтинга лица) в зависимости от возраста

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	204 ± 5	183 ± 4	171 ± 5**	158 ± 4**
Beclin-1, mean	191 ± 4	189 ± 5	173 ± 3**	165 ± 4**
Atg-5, mean	109 ± 4	101 ± 3	99 ± 3**	92 ± 3**
p62, mean	254 ± 3	248 ± 2	240 ± 3**	231 ± 4**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Также в эксперименте *in vitro* показана небольшая разница в скорости лизосомального протеолиза белка LC3 в клетках молодых и старых фибробластов [Kim H. et al., 2018].

Для белка Beclin-1 установлено, что его экспрессия в контрольных клетках эпителия (Табл. 13) снижена у лиц старше 50 лет по сравнению с молодыми пациентами до 30 лет (125 ± 3 vs 137 ± 3 , $P < 0,05$). Уровень экспрессии белка Beclin-1 возрастает при ишемии/реперфузии (165 ± 4 vs 191 ± 4 , моложе 30 лет и старше 50 лет, соответственно $P < 0,05$) (Табл. 14). То есть, имеется сходная тенденция изменения уровня белка, как и для LC3. В кератиноцитах Beclin 1 регулирует аутофагию совместно с белками Atg14 [Noguchi S. et al., 2019].

Уровень белка Atg-5 также указывал на возрастные различия в контроле (Табл. 13) и возрастал в результате ишемии/реперфузии, но не так выражено, как белки аутофагии LC3 и Beclin-1 (Табл. 14). Сходные тенденции показаны для белка p62. Как для Atg-5, так и для p62, установлены достоверные различия в их экспрессии для лиц старше 40 лет по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P < 0,05$). Известно, что с возрастом активность аутофагии в клетках кожи снижается [Murase D. et al., 2020]. Индукция перекисного окисления снижала активность аутофагии в старых клетках. Активация аутофагии

способствует защите кератиноцитов от окислительного стресса [Yoon J. et al., 2017]. В кератиноцитах кожи при гипоксии стимулируется пролиферация [Shih C. et al., 2018].

Возрастные особенности аутофагии также были установлены в адипоцитах, выделенных из операционного материала: в клетках пациенток старше 50 лет все исследованные показатели аутофагии достоверно снижены ($P < 0,05$) по сравнению с показателями группы пациенток моложе 30 лет (Табл. 15).

Таблица 15.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в адипоцитах кожи лица в зависимости от возраста (из образцов, выделенных в начале операции лифтинга лица, контроль)

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	108 ± 4	102 ± 5	96 ± 3	92 ± 4**
Beclin-1, mean	211 ± 4	205 ± 5	186 ± 4**	152 ± 4**
Atg-5, mean	83 ± 2	85 ± 3	79 ± 3	71 ± 3**
p62, mean	234 ± 5	228 ± 6	195 ± 4**	171 ± 4**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Уровень экспрессии белка LC3 в адипоцитах (Табл. 15) был менее выражен по сравнению с клетками эпителия (Табл. 13); его экспрессия после ишемии/реперфузии возрастала и была зависима от возраста пациентов (Табл. 16).

Для адипоцитов Beclin-1 считается ключевой молекулой, регулирующей аутофагию [Deng Y. et al., 2014]. В отличие от клеток эпителия (Табл. 13), уровень экспрессии белка Beclin-1 в адипоцитах существенно выше (Табл. 15), он достоверно снижается в группе пациенток старше 50 лет по сравнению с пациентками моложе 30 лет ($P < 0,05$). После состояния ишемии/реперфузии уровень белка Beclin-1 был достоверно выше, чем в контроле ($P < 0,05$), при этом имела зависимость экспрессии от возраста (Табл. 16).

Экспрессия белков Atg-5 и p62 в адипоцитах достоверно возрастала ($P < 0,05$) при состоянии ишемии/реперфузии (Табл. 16) по сравнению с клетками в контроле (Табл. 15). Активация аутофагии сопряжена с фосфорилированием белков Atg1/Ulk1 и одновременным ингибированием белков HSP90 [Backe S. et al., 2023]. Также показана возрастная зависимость уровня экспрессии этих белков. Цитозольный протеин p62 регулирует

фосфорилирование вторичных мессенджеров Src, STAT3 в сигнальных путях аутофагии [Ito S. et al., 2016], а также сопрягает сигнальные пути аутофагии и протеасомной деградации убиквитинированных белков [Liu W. et al., 2016], что снижено в клетках людей при старении [McCormick J. et al., 2023].

Наши данные по экспрессии белка p62 согласуются с мнением авторов, показавших, что с возрастом снижается скорость обмена рецептора p62 [Cavinato M. et al. 2017], имеются различия в скорости лизосомального протеолиза у молодых и старых фибробластов дермы [Kim H. et al., 2018]. что говорит о снижении активности аутофагии при старении [Zhou J. et al., 2017].

Таблица 16.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в адипоцитах кожи лица в результате ишемии/реперфузии (из образцов ткани, выделенных в конце операции лифтинга лица) в зависимости от возраста

Маркеры	Группы пациенток****			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	182 ± 3	172 ± 4	175 ± 6	161 ± 3**
Beclin-1, mean	287 ± 5	281 ± 3	273 ± 4**	269 ± 4**
Atg-5, mean	149 ± 4	145 ± 5	138 ± 5	132 ± 4**
p62, mean	273 ± 3	271 ± 6	264 ± 4	250 ± 4**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

У лиц старше 50 лет по сравнению с показателями пациенток моложе 30 лет достоверно ($P < 0,05$) снижены все исследованные показатели аутофагии в лимфоцитах (Табл. 17) и в нейтрофилах (Табл. 19), выделенных из операционного материала в начале операции (контроль). Это согласуется с данными литературы, что с возрастом мононуклеарные клетки периферической крови людей приобретают признаки нарушения аутофагии [McCormick J. et al., 2023]. Клетки иммунной системы претерпевают метаболические изменения в случае активации аутофагии [Riffelmacher T. et al., 2017].

Уровень экспрессии белка LC3 в лимфоцитах (Табл. 18) и нейтрофилах (Табл. 20) после ишемии/реперфузии был достоверно повышен ($P < 0,05$) по сравнению с контролем (Табл. 17 и Табл. 19, соответственно), его экспрессия имела зависимость от возраста пациентов.

Также были достоверно повышены ($P<0,05$) уровни белков Beclin-1, Atg-5 и p62 в лимфоцитах (Табл. 18) и нейтрофилах (Табл. 20) при состоянии ишемии/реперфузии, что указывает на её активацию аутофагии. Белки Atg претерпевают изменения при окислительном стрессе в тканях с возрастом, что приводит к подавлению активности аутофагии [Burgoyne J. 2018].

Таблица 17.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в лимфоцитах кожи лица в зависимости от возраста (из образцов, выделенных в начале операции лифтинга лица, контроль)

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 55 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	145 ± 3	139 ± 5	127 ± 4**	121 ± 4**
Beclin-1, mean	102 ± 2	100 ± 3	89 ± 4**	81 ± 5**
Atg-5, mean	63 ± 3	60 ± 4	58 ± 3	52 ± 4**
p62, mean	189 ± 5	182 ± 5	173 ± 4**	165 ± 5**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 18.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в лимфоцитах кожи лица в результате ишемии/реперфузии (из образцов ткани, выделенных в конце операции лифтинга лица) в зависимости от возраста

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 55 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	221 ± 4	219 ± 2	202 ± 4**	184 ± 5**
Beclin-1, mean	185 ± 5	181 ± 6	170 ± 4	165 ± 5**
Atg-5, mean	98 ± 3	95 ± 3	89 ± 3	84 ± 4**
p62, mean	234 ± 4	236 ± 5	227 ± 4	208 ± 4**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 19.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в нейтрофилах кожи лица в зависимости от возраста (из образцов, выделенных в начале операции лифтинга лица, контроль)

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 55 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	131 ± 2	130 ± 4	122 ± 3**	116 ± 5**
Beclin-1, mean	122 ± 4	124 ± 5	118 ± 4	112 ± 3**
Atg-5, mean	73 ± 1	72 ± 3	69 ± 3	62 ± 2**
p62, mean	195 ± 4	192 ± 6	189 ± 4	183 ± 3**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

У нейтрофилов есть особенности активации аутофагии, в частности, это связано с высвобождением экстраклеточных частиц (trap), которые передают информацию другим клеткам об активации аутофагии [Sharma A. et al., 2017]. Кроме того, существует пересечение сигнальных путей аутофагии и фагоцитоза, что приводит к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов при активации аутофагии [Nanni M. et al., 2018].

Таблица 20.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в нейтрофилах кожи лица в результате ишемии/реперфузии (из образцов ткани, выделенных в конце операции лифтинга лица) в зависимости от возраста

Маркеры	Группы пациенток***			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 55 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
LC3, mean(*)	185 ± 4	183 ± 5	172 ± 3**	164 ± 3**
Beclin-1, mean	194 ± 4	187 ± 3	175 ± 4	159 ± 3**
Atg-5, mean	149 ± 3	142 ± 3	128 ± 6	121 ± 5**
p62, mean	252 ± 5	249 ± 4	231 ± 4	224 ± 5**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Аутофагия играет ведущую роль в поддержании жизнеспособности клеток иммунной системы при стрессе, с возрастом в иммунных клетках происходят изменения, которые отражаются на их способности отвечать на стресс [McCirmick J. et al., 2018]. При пролонгированном состоянии ишемии/реперфузии возможности аутофагии по поддержанию жизнеспособности клеток резко снижаются, в этом случае начинается активация сигнальных путей апоптоза, что приводит клетки к гибели [Ploumi C. et al., 2022].

Старение – это сложный процесс, и, как таковая, связь между аутофагией и старением не является прямой, однако, аутофагия играет решающую роль для предотвращения старения кожи [Kim H. et al., 2018]. Эти данные имеют значение для определения подхода к пациентам старше 50 лет, так как ответ их тканей на операционное вмешательство отличается от ответа тканей молодых людей. В связи с этим требуется применение препаратов, повышающих жизнеспособность клеток, о чём будет представлен материал в последующих главах.

В завершении данного раздела, можно сделать выводы:

- состояние ишемии/реперфузии в конце операции лифтинга лица сопровождается активацией процессов аутофагии в клетках кожи и подкожно-жировой ткани, а также в лимфоцитах и нейтрофилах;
- экспрессии маркеров аутофагии снижается с возрастом, у лиц старше 50 лет эти показатели достоверно отличаются от показателей лиц моложе 30 лет.

3.4. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТА НА СИГНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ АУТОФАГИИ В КЛЕТКАХ КОЖИ ЛИЦА

Научные результаты данной главы частично отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др. / Патогенез. 2018. – Т.16, №4. – С.174-177].

Цель данного раздела диссертационной работы – сравнение показателей аутофагии пациентов, кожа которых была подвергнута естественному загару не позднее 3-х недель до операции, с показателями аутофагии пациентов без загара.

Ультрафиолетовое (УФ) излучение (загар) обуславливает развитие изменений в клетках кожи, вызывая фотостарение [Zhang J. et al., 2024], особенно эпидермиса, сопряженное с нарушениями аутофагии [Huang Y. et al., 2019]. Кожа сморщивается за счёт деградация коллагена и истончения эпидермиса, появляется эпидермальный гиперкератоз и гиперпигментация. В дерме происходит отёк, инфильтрация клетками иммунной системы и воспаление [Xia Y, et al., 2024; Vind A. et al., 2024].

Эффект фотостарения кожи после УФ связан с окислительным стрессом, активацией перекисного окисления липидов, повышением уровня ROS, активацией сигналов гибели клеток. В фибробластах кожи УФ вызывает нарушение клеточного цикла, ускорение пролиферации и миграции клеток [Sun J. et al., 2024]. ROS, индуцированные УФ излучением, активируют сигнальные пути аутофагии в клетках кожи [Wang M. et al., 2019], что может защитить клетки кожи от гибели и задержать процесс фотостарения кожи [Lim G. et al., 2020].

Изменения от УФ могут влиять на заживление операционной раны, замедление восстановления кожи после операции, появление очагов некроза в операционном шве и другие негативные события, которые приводят к осложнениям после операции лифтинга лица.

Для выполнения этого раздела работы были отобраны пары пациентов (от 35 до 45 лет), по принципу случай / контроль, похожих по возрасту и другим показателям, но отличалась наличием загара у лиц экспериментальной группы и отсутствием загара в контрольной группе. В каждой группе было по 28 человек, у всех проведена операция лифтинга лица и получены образцы тканей. Клетки были выделены по стандартной методике (раздел «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ») [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016; Hagman D. et al. 2012; Cho K. et al. 2014], уровень экспрессии маркеров аутофагии определен с помощью mAb. Результаты по экспрессии маркеров аутофагии в клетках кожи и подкожно-жировой ткани представлены в таблицах 21–24.

Таблица 21.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в клетках эпителия, выделенных из тканей в начале операции лифтинге лица (контроль) у пациентов с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35 – 45 лет)		
	Без загара (n = 28)	С загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	120 ± 2	134 ± 3	+
Beclin-1, mean	131 ± 4	149 ± 6	+
Atg-5, mean	72 ± 2	93 ± 4	-
p62, mean	183 ± 4	221 ± 5	+

**mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;*

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.*

Таблица 22.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в адипоцитах, выделенных из тканей в начале операции лифтинге лица (контроль) у пациентов с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35 – 45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	99 ± 3	119 ± 4	+
Beclin-1, mean	196 ± 4	233 ± 4	+
Atg-5, mean	83 ± 3	99 ± 2	+
p62, mean	211 ± 5	237 ± 4	+

**mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;*

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.*

Загар обуславливает более высокий уровень активности аутофагии, что отражается повышением экспрессии белков LC3, Beclin-1, Atg-5 и рецептора p62, P<0,05) в клетках эпителия, алипоцитах, лимфоцитах и нейтрофилах, выделенных в начале операции лифтинге лица (Табл. 21–24). По данным литературы повторное облучение УФ-ом нормальных фибробластов дермы человека вызывает повышение количества аутофагосом, что положительно коррелировало с накоплением белков p62 и LC3 [Endo K. et al., 2020; Lin S. et al., 2019].

Таблица 23.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в лимфоцитах, выделенных из тканей в начале операции лифтинге лица (контроль) у пациентов 35–45 лет с загаром и без загара

Маркеры	Группа пациентов** (35 – 45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	132 ± 4	149 ± 4	+
Beclin-1, mean	94 ± 2	114 ± 3	+
Atg-5, mean	58 ± 2	73 ± 4	+
p62, mean	178 ± 4	198 ± 4	+

**mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;*

*** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.*

Таблица 24.

Уровень экспрессии маркёров аутофагии в нейтрофилах, выделенных из тканей в начале операции лифтинге лица (контроль) у пациентов с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35 – 45 лет)		
	Без загара (n = 28)	С загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	127 ± 4	143 ± 4	+
Beclin-1, mean	121 ± 5	135 ± 3	+
Atg-5, mean	71 ± 3	82 ± 2	+
p62, mean	191 ± 6	209 ± 4	+

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Активация аутофагии снижает степень фотоповреждение кератиноцитов после УФ за счёт регуляции сигнального пути AMPK/mTOR [Lin S. et al., 2019; Chu J. et al., 2023]. При хроническом воздействии УФ имелся эффект фотостарения фибробластов кожи вследствие дисфункции лизосом и деградации аутофагосом [Huang Y. et al., 2019], это связано, в том числе, с ослаблением активности протеолиза [Cavinato M. et al., 2017; Lim G. et al., 2020] и с окислительным стрессом [Pernodet N. et al., 2016].

Изучение клеток, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица в состоянии реперфузии, указывало на влияние УФ на процессы аутофагии в клетках. Наличие загара повышало (P<0,05) уровень белков – маркёров аутофагии, в клетках эпителия, адипоцитах, лимфоцитах и нейтрофилах (Табл. 25–28).

Таблица 25.

Уровень экспрессии белков аутофагии в клетках эпителия, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (ишемия/реперфузия) у пациенток 35–45 лет с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35–45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	177 ± 3	194 ± 4	+
Beclin-1, mean	176 ± 3	189 ± 5	+
Atg-5, mean	82 ± 1	98 ± 3	-
p62, mean	233 ± 5	249 ± 4	+

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 26.

Уровень экспрессии белков аутофагии в адипоцитах, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (ишемия/реперфузия) у пациенток 35–45 лет с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35–45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	172 ± 3	190 ± 4	+
Beclin-1, mean	276 ± 4	299 ± 5	+
Atg-5, mean	139 ± 2	156 ± 3	-
p62, mean	258 ± 5	277 ± 5	+

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 27.

Уровень экспрессии белков аутофагии в лимфоцитах, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (ишемия/реперфузия) у пациенток 35–45 лет с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35–45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	212 ± 3	233 ± 5	+
Beclin-1, mean	174 ± 4	197 ± 3	+
Atg-5, mean	91 ± 2	115 ± 3	-
p62, mean	228 ± 4	246 ± 5	+

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 28.

Уровень экспрессии белков аутофагии в нейтрофилах, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (ишемия/реперфузия) у пациенток 35–45 лет с загаром и без загара

Маркеры	Группы пациентов** (35–45 лет)		
	без загара (n = 28)	с загаром (n = 28)	P<0,05
LC3, mean(*)	175 ± 4	203 ± 5	+
Beclin-1, mean	179 ± 4	199 ± 3	+
Atg-5, mean	134 ± 3	156 ± 4	-
p62, mean	237 ± 4	259 ± 5	+

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** указано число пациенток, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Состояние ишемии/реперфузии сопровождается окислительным стрессом, выделением значительного числа свободных радикалов в клетке. Пересечение сигнальных путей ROS и сигналов аутофагии снижает активность аутофагии и активирует сигналы апоптоза [Guerrero-Navarro L. et al., 2024]. При длительном воздействии УФ также снижается активность аутофагии [Endo K. et al., 2020], что приводит к одновременной индукции не только апоптоза, но и воспаления [Azzouz D. et al., 2018; Chen Y. et al., 2024]. Поэтому в тканях в состоянии ишемии/реперфузии есть клетки в состоянии аутофагии и в состоянии апоптоза, что будет проанализировано в следующей главе диссертации.

Таким образом, можно сделать промежуточные выводы;

- УФ облучение пациентов ~ за 3 недели до проведения операции лифтинга лица достоверно повышает уровень экспрессии белков – маркёров аутофагии в клетках эпителия, адипоцитах, лимфоцитах и нейтрофилах лиц с загаром по сравнению с показателями лиц без загара;
- состояние ишемии/реперфузии в конце операции лифтинга лица усиливает негативное влияние УФ на клетки кожи и подкожно-жировой ткани.

3.5. АПОПТОЗ В КЛЕТКАХ КОЖИ И ПОДКОЖНО-ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ЛИФТИНГЕ ЛИЦА

Научные результаты раздела 3.5. получены в соавторстве с Кандаловой О.В., Волковой Е.Н., Найденовым Н.П. и Морозовым С.Г. и частично или полностью отражены в работах [Абрамян Ш.М. и др. Измерение уровня экспрессии вторичных мессенджеров апоптоза в клетках кожи, выделенных из операционного материала при проведении операции лифтинга лица у пациенток разных возрастных групп // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2022. - Т. 66. - №4 - С. 107-114; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Определение уровня спонтанного и индуцированного апоптоза клеток, полученных из оперативного материала при лифтинге лица // Патогенез. - 2016. - Т. 14. - №4. - С. 63-68].

3.5.1. Уровень спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках лица

При восстановлении кровотока (в состоянии реперфузии) после операции лифтинга лица может быть гибель клеток вследствие активации апоптоза. Апоптоз – это генно-регулируемый процесс, занимающий несколько часов (время зависит от типа клеток), морфологически гибель клетки можно определить только на его поздних этапах. Апоптоз,

который регистрируется без дополнительных стимулов, называется спонтанным, он отражает число клеток, которые имеют морфологические признаки апоптоза в момент исследования. Если для проявления клеток в апоптозе требуется дополнительное воздействие, которое бы выявило клетки с активированными сигналами, но ещё без морфологических проявлений гибели, это индуцированный апоптоз. Существует ряд методов его регистрации, в данной работе мы использовали C2-церамид, который не является природным компонентом, но, в отличие от длинноцепочечных природных сфинголипидов, способен проникать через неповреждённую плазматическую мембрану клетки и амплифицировать уже активированные сигнальные пути программированной гибели.

Цель работы по разделу 3.5. – определение маркёров апоптоза в клетках, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица. При этом контроль – это клетки, выделенные в самом начале операции; клетки, выделенные в конце операции (~через 3 часа), – реперфузия. В данном исследовании был проанализирован биологический материал 134 женщин, которые были разделены по возрасту:

- 21 – 30 лет, (n = 30);
- 31 – 40 лет, (n = 34);
- 41 – 50 лет, (n = 36);
- 51 – 64 года, (n = 34).

В выделенных клетках были исследованы следующие показатели: процент спонтанного и индуцированного апоптоза, экспрессия белков, связанных с рецепторами апоптоза, экспрессия белков апоптоза, сопряжённых с митохондриями, фактора гипоксии HIF-1 α , изменение мембранного потенциала митохондрий по окраске JC-1. Все показатели исследованы в начале и в конце операции лифтинга.

Процент апоптоза оценивали по окраске пропидиумом иодидом в гипотоническом буфере в клетках, фиксированных 4% параформальдегидом на PBS, и пермеабилizованных, что позволяет окрасить всю ДНК в клетке [Кандалова О.В. и др., 2012]. Данные по проценту спонтанного апоптоза в основных популяциях клеток, выделенных в начале операции лифтинга, представлены в таблице 29.

Достоверных различий между возрастными группами по уровню спонтанного апоптоза не выявлено. Самый высокий процент спонтанного апоптоза зарегистрирован в эпителиальных клетках кожи (Табл. 29).

Для лиц старше 50 лет показано достоверное повышение процента C2-церамид-индуцированного апоптоза (Табл. 30) в основных популяциях клеток, выделенных в начале

операции лифтинга лица, по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P<0,05$), а также для клеток эпителия и адипоцитов для лиц старше 40 лет по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P<0,05$).

Таблица 29.

Уровень (%) спонтанного апоптоза в основных популяциях клеток, выделенных в начале операции лифтинга лица (контроль), в зависимости от возраста

Клетки	Группы пациентов*			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	Спонтанный апоптоз			
Эпителиальные клетки	$5,2 \pm 0,4\%$	$5,2 \pm 0,2\%$	$5,6 \pm 0,3\%$	$6,2 \pm 0,3\%$
Адипоциты	$3,5 \pm 0,1\%$	$3,5 \pm 0,2\%$	$3,7 \pm 0,2\%$	$3,8 \pm 0,2\%$
Нейтрофилы	$4,0 \pm 0,2\%$	$4,1 \pm 0,3\%$	$4,1 \pm 0,2\%$	$4,2 \pm 0,2\%$
Лимфоциты	$1,9 \pm 0,1\%$	$2,0 \pm 0,1\%$	$1,9 \pm 0,2\%$	$2,1 \pm 0,1\%$

* указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

Таблица 30.

Уровень (%) С2-церамид-индуцированного апоптоза в популяциях клеток, выделенных из тканей лица в начале операции лифтинга (контроль) в зависимости от возраста

Клетки	Группы пациентов**			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	Индукцированный апоптоз			
Эпителиальные клетки	$18 \pm 2\%$	$19 \pm 2\%$	$24 \pm 3\%^*$	$28 \pm 5\%^*$
Адипоциты	$12 \pm 1\%$	$13 \pm 4\%$	$18 \pm 3\%^*$	$23 \pm 3\%^*$
Нейтрофилы	$9 \pm 1\%$	$9 \pm 2\%$	$12 \pm 1\%$	$15 \pm 2\%^*$
Лимфоциты	$8 \pm 1\%$	$8 \pm 1\%$	$10 \pm 2\%$	$13 \pm 1\%^*$

* $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

Далее показан пример регистрации уровня апоптоза по данным проточной цитометрии (Рис. 11). Приведен процент спонтанного апоптоза (Рис. 11 (А)) и С2-церамид-индуцированного апоптоза (Рис. 11 (В)) в гейте эпителиальных клеток: правый пик соответствует диплоидным клеткам, левый пик, обозначенный маркёром M1, соответствует клетками в апоптозе. Из приведенного примера видно, что уровень индуцированного апоптоза существенно выше, чем уровень спонтанного апоптоза.

Среди всех полученных данных выделялись две группы – с минимальными и максимальными значениями уровня индуцированного апоптоза (Рис. 12). Для эпителиальных клеток это, соответственно, $18\pm4\%$ и $37\pm5\%$, для адипоцитов – $18\pm5\%$ и $31\pm4\%$.

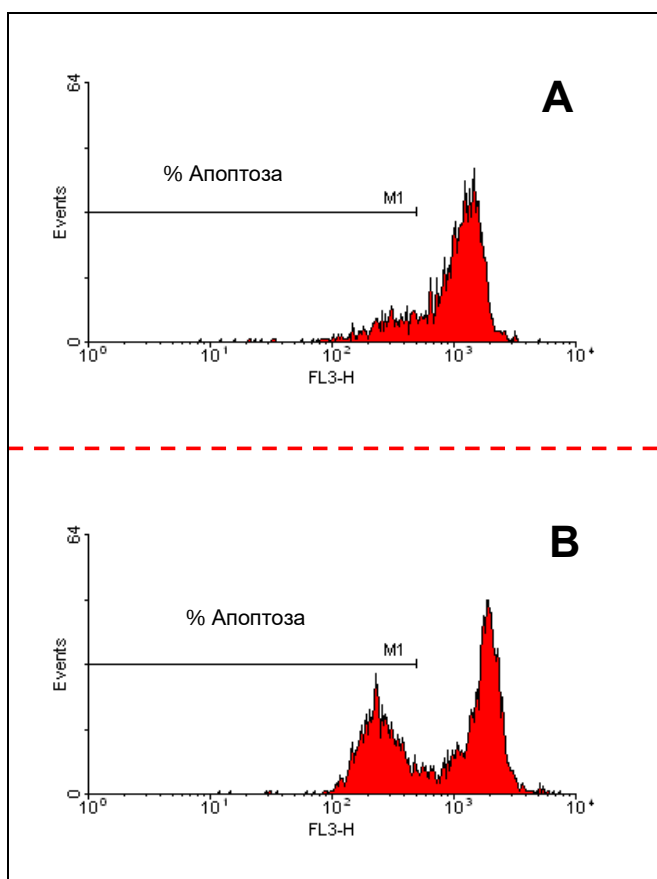


Рисунок 11. Примеры оценки спонтанного (А) и индуцированного (В) апоптоза в гейте эпителиальных клеток.

Представлены данные проточной цитометрии. Клетки были фиксированы и окрашены пропидиумом иодидом в гипотоническом буфере, что даёт возможность показать всю ДНК клетки. Правый пик соответствует диплоидным клеткам. Левый (субдиплоидный) пик соответствует клеткам в апоптозе, он обозначен маркёром M1.

[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

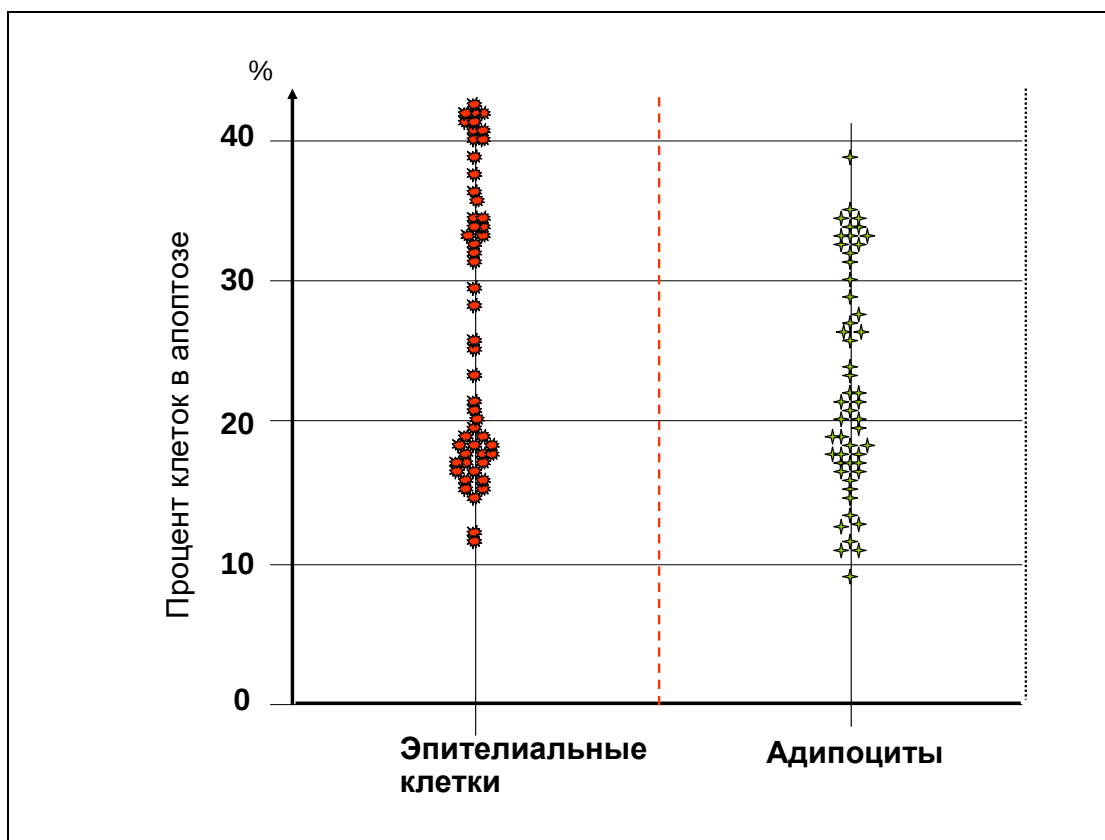


Рисунок 12. Числовые значения уровня С2-церамид-индуцированного апоптоза в клетках эпителия и в адипоцитах всех пациентов.

Представлены числовые результаты по данным проточной цитометрии, каждая точка соответствует индивидуальному показателю одного пациента.

[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

Анализ этих данных показал, что в группе лиц старше 50 лет из 24 пациентов у 8 были максимальные значения индуцированного апоптоза в клетках эпителия, что указывает на высокую вероятность гибели эпителиальных клеток во время операции лифтинга лица у пациентов старшей возрастной группы.

После снятия лигатуры (т.е. состояния ишемии тканей) и восстановления кровотока, развивается состояние реперфузии, при котором в клетках происходят негативные изменения, в том числе, активированы сигнальные пути гибели. Далее мы проанализировали уровень спонтанного апоптоза (Табл. 31) и индуцированного апоптоза (Табл. 32) в клетках в состоянии реперфузии, т.е. выделенных из тканей лица в конце операции (~через 3 часа после её начала).

Представленные данные (Табл. 31) указывают на более высокий ($P < 0,05$) процент клеток, подверженных спонтанному апоптозу, при реперфузии по сравнению с процентом таких клеток в начале операции (Табл. 29). Это, соответственно, $8,4 \pm 0,3\%$ vs $5,2 \pm 0,4\%$, ($P < 0,05$) для клеток эпителия у лиц моложе 30 лет и $10,1 \pm 0,3\%$ vs $6,2 \pm 0,3\%$, ($P < 0,05$) для

клеток эпителия у лиц старше 50 лет. Особенно выражены различия для клеток иммунной системы, так для нейтрофилов это составляет $9,2 \pm 0,3\%$ vs $4,0 \pm 0,2\%$, соответственно, для лиц моложе 30 лет, и $12,0 \pm 0,3\%$ vs $4,2 \pm 0,2\%$ у лиц старше 50 лет. То есть, несколько часов гипоксии тканей достоверно повышают уровень спонтанной гибели клеток.

Таблица 31.

Уровень (%) спонтанного апоптоза в популяциях клеток, выделенных в конце операции лифтинга лица (реперфузия) в зависимости от возраста

Клетки	Группы пациентов**			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	Спонтанный апоптоз			
Эпителиальные клетки	$8,4 \pm 0,3\%$	$8,9 \pm 0,3\%$	$9,7 \pm 0,2\%$	$10,1 \pm 0,3\%^*$
Адиipoциты	$6,8 \pm 0,2\%$	$6,9 \pm 0,2\%$	$7,4 \pm 0,2\%$	$7,8 \pm 0,3\%^*$
Нейтрофилы	$9,2 \pm 0,3\%$	$9,9 \pm 0,3\%$	$10,8 \pm 0,3\%$	$12,0 \pm 0,3\%^*$
Лимфоциты	$5,1 \pm 0,3\%$	$5,9 \pm 0,3\%$	$6,8 \pm 0,2\%^*$	$7,4 \pm 0,3\%^*$

* $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Нейтрофилы отвечают за очистку тканей от погибших клеток [Atkin-Smith G., 2021]. Процент нейтрофилов возрастает при состоянии ишемии/реперфузии (показано в разделе III.2.), однако, в них также могут быть активированы сигналы гибели, что обуславливает отложенный клиренс погибших клеток и поддерживает воспаление в тканях. Мы показали, что процент С2-церамид-индуцированного апоптоза повышен ($P < 0,05$) в нейтрофилах при реперфузии (Табл. 32). Для С2-церамид-индуцированного апоптоза в клетках эпителия, адипоцитах и лимфоцитах показано его повышение в состоянии реперфузии (Табл. 32) по сравнению с клетками в начале операции (*контроль*) (Табл. 30).

Также выявлено повышение процента С2-церамид-индуцированного апоптоза при реперфузии в клетках эпителия, адипоцитах и нейтрофилах пациентов старше 50 лет, что достоверно выше ($P < 0,05$) показателей для лиц моложе 30 лет (Табл. 32), и, возможно, обуславливают более высокий риск развития осложнений, связанных с гибелью клеток, после операции лифтинга лица.

Таблица 32.

Уровень (%) индуцированного апоптоза в популяциях клеток, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (реперфузия) в зависимости от возраста

Клетки	Группы пациентов**			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	Индукцированный апоптоз			
Эпителиальные клетки	24 ± 3%	26 ± 2%	29 ± 3%	34 ± 2%*
Адиipoциты	18 ± 3%	19 ± 2%	23 ± 3%	27 ± 4%*
Нейтрофилы	16 ± 2%	17 ± 2%	21 ± 4%	25 ± 3%*
Лимфоциты	11 ± 2%	12 ± 3%	13 ± 2%	14 ± 2%

* $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

3.5.2. Экспрессия рецепторов апоптоза и каспаз в клетках лица

Определить активацию сигнальных путей апоптоза в клетке можно по повышению экспрессии рецепторов апоптоза, повышению уровня проапоптозных белков митохондрий (Bak и др.), снижению антиапоптозных белков митохондрий (Bcl-2 и др.), по активации каспаз. В данном разделе были проанализированы рецепторы апоптоза CD95, TNF-R1 и TNF-R2, они проводят сигналы после внешнего воздействия на клетку, все они имеют общие особенности в цитозольном регионе, в том числе, присутствие домена DD (death domain) [Moriwaki K. et al., 2021], адаптера FADD [Zhou W. et al., 2022] и формирование рецепторного комплекса.

Показано повышение ($P < 0,05$) экспрессии рецепторов CD95 (FAS/Apo-1) и первого рецептора TNF- α – TNF-R1, при состоянии реперфузии (Табл. 34) по сравнению с данными в начале операции лифтинга лица (контроль) (Табл. 33). У лиц старше 50 лет достоверно выше ($P < 0,05$) показатели экспрессии рецепторов апоптоза, чем у лиц моложе 30 лет, как в контроле (Табл. 33), так и при состоянии реперфузии (Табл. 34). Рецепторы CD95 и TNF-R1 также проводят сигналы, сопряженные с воспалением [Galli G. et al. 2022]. Поскольку состояние реперфузии подразумевает развитие воспаления, наши данные согласуются с данными литературы.

Таблица 33.

Уровень экспрессии рецепторов апоптоза в общей суспензии клеток, выделенных из тканей в начале операции лифтинга лица (контроль), в зависимости от возраста

Рецепторы	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
CD95 (Fas/Apo-1), %	21 ± 2%	24 ± 2%	28 ± 2%	34 ± 3% **
CD95, mean(*)	108 ± 3	112 ± 4	122 ± 4	139 ± 4**
TNF-R1, %	26 ± 2%	29 ± 3%	30 ± 3%	35 ± 3%**
TNF-R1, mean	75 ± 3	82 ± 3	86 ± 3	91 ± 2 **
TNF-R2, %	20 ± 2%	21 ± 2%	23 ± 2%	25 ± 2%
TNF-R2, mean	159 ± 4	164 ± 6	167 ± 5	170 ± 4

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 34.

Уровень экспрессии рецепторов апоптоза в общей суспензии клеток, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (реперфузия), в зависимости от возраста

Рецепторы	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
CD95 (Fas/Apo-1), %	49 ± 4%	52 ± 6%	57 ± 5%	64 ± 5% **
CD95, mean(*)	140 ± 6	145 ± 8	158 ± 7	181 ± 9 **
TNF-R1, %	37 ± 6%	39 ± 7%	42 ± 5%	45 ± 8%
TNF-R1, mean	243 ± 9	256 ± 11	262 ± 10	281 ± 11 **
TNF-R2, %	30 ± 5%	32 ± 7%	36 ± 5%	38 ± 6%
TNF-R2, mean	189 ± 9	193 ± 11	197 ± 4	211 ± 10

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Анализ рецепторов апоптоза может быть использован для оценки риска осложнений после пластических операций на лице.

Все сигналы от рецепторов апоптоза приводят к взаимодействию двух прокаспаз-8, формированию одной активной каспазы-8, которая активирует каспазу-3. Сеть активных каспаз определяет морфологические изменения в клетке при апоптозе [Mandal R. et al., 2020; Cui J. et al., 2021]. Каспазы-2 и -9 входят в сигнальный путь апоптоза, инициированный нарушением мембраны митохондрий [Wang Y. et al., 2024], они определяют морфологические изменения, связанные с митоптозом. Митохондриальный тип апоптоза характерен, в частности, для клеток, имеющих низкий энергетический потенциал [Vringer E. et al., 2024].

Уровни экспрессии каспаз-3, -2 и -9 были достоверно повышены ($P<0,05$) при состоянии реперфузии по сравнению с контрольными клетками, выделенными в начале операции лифтинга лица (Табл. 35). У пациентов старше 40 лет интенсивность флуоресценции, соответствующая активности каспаз, достоверно выше ($P<0,05$) этих показатели для лиц моложе 30 лет, как в контроле, так и при состоянии реперфузии (Табл. 35).

Таблица 35.

Уровень экспрессии каспаз в общей популяции клеток, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица, в зависимости от возраста

Каспазы	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	<i>Контроль</i>			
Каспаза-3, mean	112 ± 4	125 ± 5**	138 ± 5**	149 ± 5 **
Каспаза-2, mean	192 ± 3	204 ± 3	209 ± 5**	223 ± 4 **
Каспаза-9, mean	204 ± 5	221 ± 4**	229 ± 4**	237 ± 5 **
	<i>Реперфузия</i>			
Каспаза-3, mean	177 ± 9	186 ± 6	194 ± 7	217 ± 9 **
Каспаза-2, mean	241 ± 5	267 ± 5**	279 ± 5 **	294 ± 5 **
Каспаза-9, mean	266 ± 4	275 ± 4	288 ± 4**	299 ± 6 **

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Далее представлены данные проточной цитометрии (гистограммы), отражающие уровень экспрессии каспазы-9 в лимфоцитах при С-2-церамид-индуцированном апоптозе (Рис. 13). У лиц старше 50 лет при индуцированном апоптозе активность каспазы-9 достоверно возрастает ($P < 0,05$).

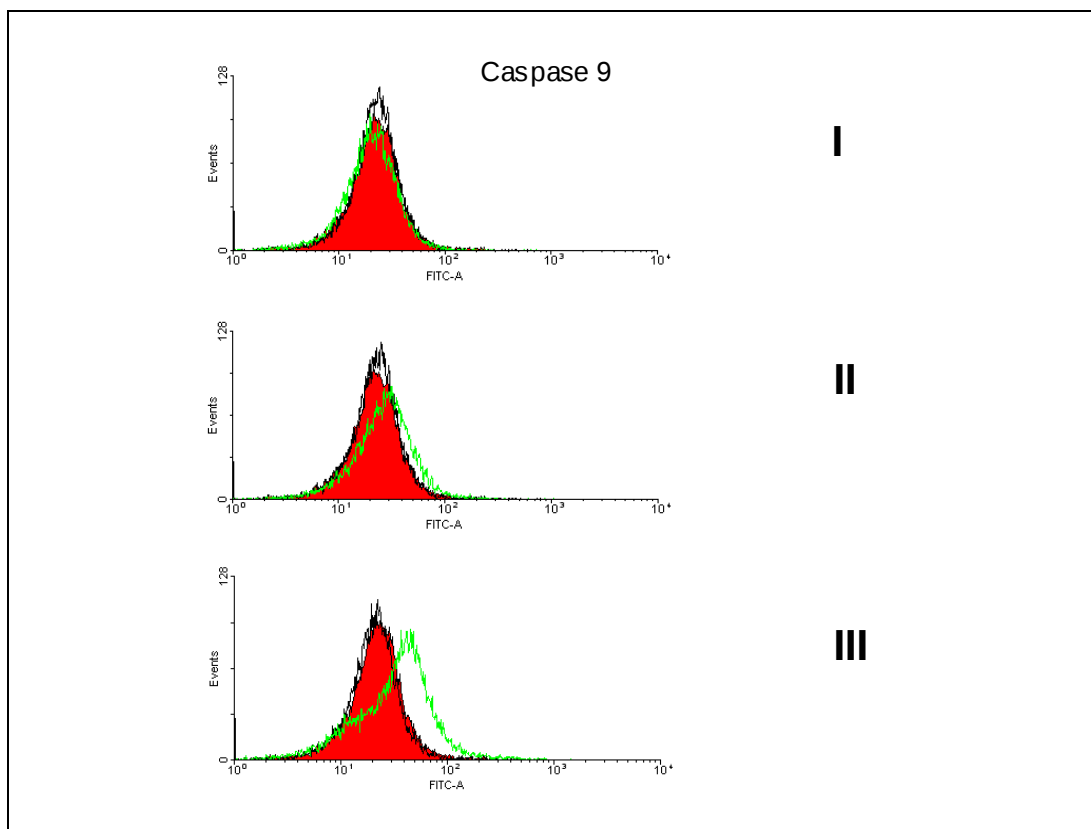


Рисунок 13. Примеры гистограмм, отражающих уровень экспрессии каспазы-9 в лимфоцитах после обработки С2-церамидом у пациентов разного возраста.

Представлены данные проточной цитометрии. Гистограммы соответствуют показателям индивидуальных лиц разного возраста (I – 31–40 лет; II – 41–50 лет; III - 51–64 года). Контроль обозначен красным пиком, гистограмма каспазы-9 показана в виде прозрачного зелёного пика.

3.5.3. Экспрессия белков апоптоза, сопряжённого с митохондриями, в клетках кожи лица

Научные результаты раздела III.5.3. отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др. Измерение уровня экспрессии вторичных мессенджеров апоптоза в клетках кожи, выделенных из операционного материала при проведении операции лифтинга лица у пациенток разных возрастных групп // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2022. - Т. 66. - №4 - С. 107-114.].

При распознавании рецепторов апоптоза в клетках кожи одновременно запускаются сигналы, связанные с митохондриальными белками Bcl-2 [Aranda Salomão P. et al., 2019].

Белки семейства Bcl могут ингибировать апоптоз, в том числе, регулируя активность ингибиторного белка c-FLIP [Ivanisenko N. et al., 2022], что защищает клетку от апоптоза, инициированного TNF- α [Zhang R. et al., 2022]. Белки Bid и Bad входит в группу “BH3 domain-only” семейства Bcl-2. Bid при активации каспазой-8 превращается в укороченный tBID, он перемещается к мембране митохондрий и вызывает конформационные изменения белка Bax, после этого происходит открытие пор во внешней мембране митохондрий [Heilig R. et al., 2020]. Белки Bax и Bak взаимодействует с белками, образующими поры во внешней мембране митохондрий [Bi G., Zhou J. 2021; Deng J. et al., 2021]. что приводит к выходу цитохрома c в ЕСМ и активации каспазы-9 и -2 [Wang Y. et al., 2024].

Далее приведены средние значения интенсивности флуоресценции проапоптотных белков митохондрий у всех пациентов в начале операции лифтинга лица (контроль) и в конце операции (реперфузия) (Табл. 36).

Таблица 36.

Уровень экспрессии белков митохондрий, связанных с апоптозом, в общей популяции клеток, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица

Сигнальные белки	Контроль (n = 124)***	Реперфузия (n = 124)***	P < 0,05**
Bad, mean*	59 $\pm$ 3	62 $\pm$ 4	-
Bid, mean	48 $\pm$ 4	72 $\pm$ 4	+
Bak, mean	121 $\pm$ 3	169 $\pm$ 5	+
Bax, mean	132 $\pm$ 4	176 $\pm$ 6	+
Bim, mean	72 $\pm$ 5	98 $\pm$ 4	+
14-3-3, mean	151 $\pm$ 6	196 $\pm$ 5	+

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

**P<0,05 по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114].

Выявлено достоверное (P<0,05) повышение уровня экспрессии белков Bid, Bim, Bax и Bak в клетках, выделенных в конце операции (Табл. 36), что указывает на роль этих белков в гибели клеток кожи после состояния ишемии. Экспрессия белка Bad не зависела от состояния ишемии/реперфузии, что согласуется с работами, в которых показано, что в нормальных клетках кожи активация белка Bad не сопряжена с развитием апоптоза

[Emhemmed F. et al., 2019]. Экспрессия Bid повышена ($P<0,05$) в конце операции, что указывает на митохондриальный тип апоптоза при ишемии/реперфузии.

В проведении сигналов апоптоза принимают участие только некоторые изоформы белков семейства 14-3-3, но антитела, которые мы использовали, показывают суммарный уровень всех белков 14-3-3 в клетке. Общий уровень белков 14-3-3 был достоверно ($P<0,05$) повышен в клетках, подвергшихся ишемии/реперфузии, по сравнению с контрольными клетками (Табл. 36).

Чтобы определить активацию сигнальных путей апоптоза, ассоциированных с митохондриями, мы измерили уровень экспрессии фосфорилированных (p) белков в клетках, выделенных из операционного материала, по окраске антителами к (p)-Bak, (p)-Bim, (p)-Bax. Вместо фосфорилированной формы (p)-Bid мы исследовали tBid, так как именно эта укороченная форма участвует в передаче сигналов апоптоза. Полученные данные указывают на повышение активности сигналов апоптоза в клетках после ишемии по сравнению с контролем ($P<0,05$) (Табл. 37).

Таблица 37.

Определение активации сигнальных путей апоптоза, связанных с митохондриями, в клетках, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица

Сигнальные белки	Контроль (n = 124) ***	Реперфузия (n = 124) ***	P < 0,05**
** (p)-Bax, mean*	82 ± 3	112 ± 3	+
(p)-Bak, mean	97 ± 5	134 ± 4	+
(p)-Bim, mean	109 ± 2	141 ± 5	+
(p)-14-3-3, mean	173 ± 5	206 ± 4	+
tBid, mean	62 ± 3	135 ± 6	+

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114].

Далее в контрольных клетках и в клетках после ишемии были проанализированы показатели экспрессии белков митохондрий в зависимости от возраста пациентов (Табл. 38). С возрастом экспрессия антиапоптозного белка Bcl-2 снижается, а проапоптозных белков Bax, Bad, Bid, Bim – повышается ($P<0,05$).

При реперфузии экспрессия всех проапоптозных белков повышалась по сравнению с контролем ($P<0,05$), у лиц старше 50 лет была более выражена по сравнению с лицами моложе 30 лет. Для белков 14-3-3 установлены достоверные различия ($P<0,05$) экспрессии в группе пациенток старше 50 лет по сравнению с группой моложе 30 лет (Табл. 38). В состоянии реперфузии экспрессия этих белков указывает на активацию митохондриального пути апоптоза. Интенсивность флуоресценции при реперфузии возрастает по сравнению с контролем, но тенденция та же – уровень белка Bcl-2 с возрастом снижается, а белка Bax – повышается (Табл. 38).

Таблица 38.

Уровень экспрессии белков митохондрий в общей популяции клеток, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица, в зависимости от возраста

Белки митохондрий	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	<i>Контроль</i>			
Bcl-2, mean	64 ± 3	55 ± 4	48 ± 3 **	41 ± 3 **
Bax, mean	98 ± 3	112 ± 5	119 ± 3 **	128 ± 4 **
Bak, mean	86 ± 4	105 ± 5	111 ± 5 **	119 ± 4 **
Bid, mean	32 ± 3	39 ± 4	43 ± 5 **	49 ± 4 **
Bim, mean	53 ± 3	66 ± 2	70 ± 2 **	75 ± 3 **
14-3-3, mean	130 ± 5	143 ± 2	149 ± 5 **	155 ± 4 **
	<i>Реперфузия</i>			
Bcl-2, mean	295 ± 9	289 ± 11	267 ± 8 **	158 ± 9 **
Bax, mean	144 ± 6	156 ± 4 **	171 ± 5 **	192 ± 4 **
Bak, mean	132 ± 5	144 ± 3 **	159 ± 4 **	180 ± 6 **
Bid, mean	56 ± 2	64 ± 2 **	76 ± 3 **	82 ± 4 **
Bim, mean	87 ± 3	92 ± 3	104 ± 5 **	118 ± 4 **
14-3-3, mean	172 ± 5	187 ± 4	207 ± 5 **	223 ± 5 **

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114],

Снижение активности белков Bcl-2 и Bax с возрастом показано в фибробластах стареющей кожи [Li H. et al., 2022], полученные нами данные соответствуют этому наблюдению.

Далее приведены данные проточной цитометрии – гистограммы по экспрессии белков митохондрий в лимфоцитах кожи в зависимости от возраста (Рис. 14).

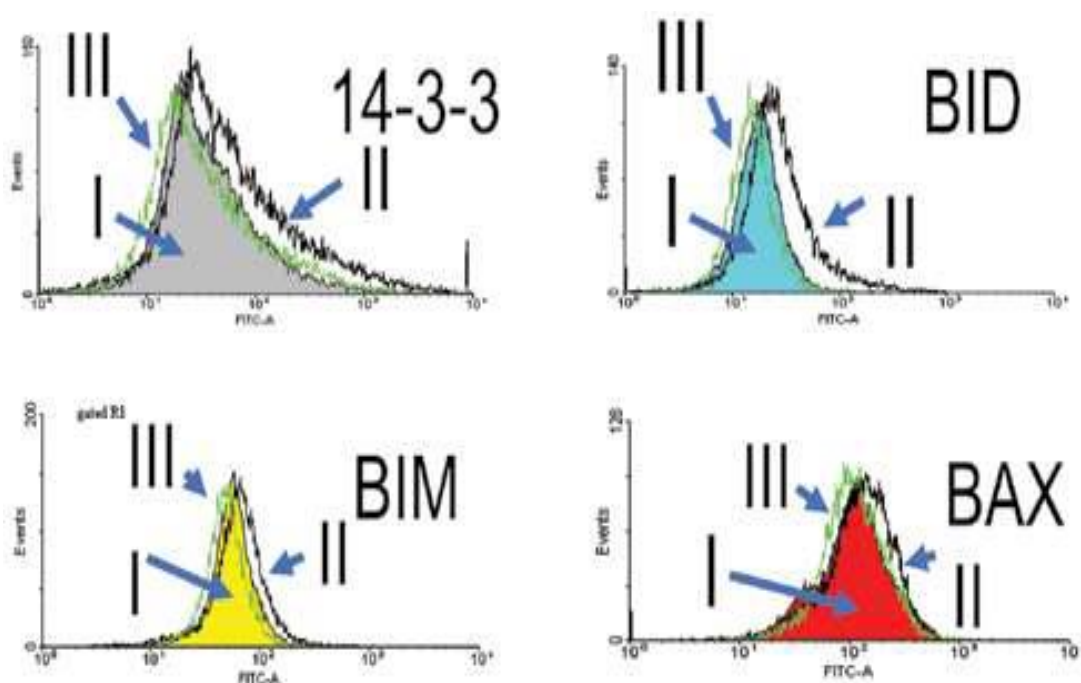


Рисунок 14. Примеры гистограмм, отражающие экспрессию апоптозных белков митохондрий в гейте лимфоцитов у пациентов разного возраста (данные проточной цитометрии).

Окрашенные пики (I) отражают уровень экспрессии соответствующего белка в клетках пациентов моложе 30 лет; (II) – экспрессия соответствующего белка у лиц 30–40 лет; (III) – экспрессия соответствующего белка у лиц старше 50 лет.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114],

При ишемии/реперфузии обязательно задействованы митохондрии, в которых генерируется высокий уровень перекисей и свободных радикалов, которые могут активировать сигналы апоптоза, сопряженные с митохондриями [Wang J, et al., 2022]. При гипоксии, стрессе и других неблагоприятных факторах, снижается мембранный потенциал митохондрий, который может быть качественно и полуколичественно оценён по изменению флуоресценции красителя JC-1 в клетке (МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, раздел II.8.). Чем более активирован апоптоз в клетках, тем ниже уровень мембранного потенциал

митохондрий. Фактор HIF-1 α служит индикатором гипоксии в клетках [Hsiao H. et al., 2016].

Состояние реперфузии обуславливает достоверное ($P<0,05$) повышение уровня экспрессии фактора гипоксии HIF-1 α и снижение мембранного потенциала митохондрий (по изменению окраски JC-1) по сравнению с показателями для клеток, выделенных в начале операции лифтинга лица (Табл. 39). У лиц старше 50 лет достоверно ($P<0,05$) повышается интенсивность флуоресценции HIF-1 α и снижается уровень мембранного потенциала митохондрий по сравнению с пациентами моложе 30 лет, что отражает снижение энергетического потенциала клеток с возрастом. Эти параметры необходимо учитывать при проведении операции лифтинга для минимизации послеоперационных осложнений.

Таблица 39.

Уровень экспрессии маркера гипоксии фактора HIF-1 α и уровень мембранного потенциала митохондрий (по окраске JC-1) в общей популяции клеток, выделенных из тканей при операции лифтинга лица, в зависимости от возраста

Показатель	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	<i>Контроль</i>			
HIF-1 α , mean*	82 $\pm$ 5	94 $\pm$ 4	109 $\pm$ 5**	121 $\pm$ 5**
JC-1, mean	132 $\pm$ 5%	121 $\pm$ 4%	112 $\pm$ 4%	98 $\pm$ 5%
	<i>Реперфузия</i>			
HIF-1 α , mean	135 $\pm$ 5	147 $\pm$ 4	161 $\pm$ 5**	188 $\pm$ 6**
JC-1, mean	104 $\pm$ 5	95 $\pm$ 3	82 $\pm$ 4**	75 $\pm$ 3**

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P<0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.
[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

Фактор транскрипции HIF-1 α активируется при снижении парциального давления кислорода [Hsiao H. et al., 2016]. HIF-1 α отвечает за адаптивные реакции на гипоксию и гипероксию в период реперфузии, он потенцирует сукцинатоксидазное окисление, что улучшает выживаемость клеток, в сигнальный путь входит сукцинат-зависимый рецептор GRP91 [Орлов Ю.П. и др., 2022]. При гипоксии повышение экспрессии HIF-1 α сначала приводит к активации аутофагии, но при длительной гипоксии активность HIF-1 α снижается, повышаются уровни воспалительных цитокинов, подавляется аутофагия и

активируются сигналы гибели клеток [Wang X. et al., 2017].

В клетках эпителия (Табл. 40) и в адипоцитах (Табл. 41) пациентов старше 40 лет достоверно повышен уровень экспрессии фактора HIF-1 α ($P < 0,05$) и снижен мембранный потенциал митохондрий по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P < 0,05$).

Наши данные по изменению мембранного потенциала митохондрий согласуются с данными литературы по дисфункции митохондрий человека с возрастом, что имеет отношение к патогенезу возрастных заболеваний [López-Lluch G., 2017]. При ишемии клеток кожи митохондрии подвержены дегенерации и направляются в лизосомы для микроаутофагии (миитофагия) [Messner F. et al., 2016; Michot A. et al., 2016], это связывает аутофагию с окислительным стрессом [Monteleon C. et al., 2018].

Таблица 40.

Уровень экспрессии маркера гипоксии фактора HIF-1 α и уровень мембранного потенциала митохондрий (по окраске JC-1) в эпителиальных клетках, выделенных из тканей при операции лифтинга лица, в зависимости от возраста

Показатель	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	(контроль),			
HIF-1 α (mean*)	101 $\pm$ 4	108 $\pm$ 3	121 $\pm$ 4**	135 $\pm$ 5**
JC-1 (mean)	145 $\pm$ 4	137 $\pm$ 4	124 $\pm$ 5**	119 $\pm$ 5**
	(реперфузия),			
HIF-1 α , mean	141 $\pm$ 5	155 $\pm$ 4	172 $\pm$ 5**	198 $\pm$ 4**
JC-1, mean	113 $\pm$ 5	101 $\pm$ 3	94 $\pm$ 4**	82 $\pm$ 3**

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

Таблица 41.

Уровень экспрессии маркера гипоксии фактора HIF-1 α и уровень мембранного потенциала митохондрий (по окраске JC-1) в адипоцитах, выделенных из тканей при операции лифтинга лица, в зависимости от возраста

Показатель	Группы пациентов***			
	21 – 30 лет, (n = 30)	31 – 40 лет, (n = 34)	41 – 50 лет, (n = 36)	51 – 64 года, (n = 34)
	<i>Контроль</i>			
HIF-1 α , mean*	109 $\pm$ 4	118 $\pm$ 5	132 $\pm$ 4**	145 $\pm$ 5**
JC-1 (mean*)	186 $\pm$ 7	180 $\pm$ 5	169 $\pm$ 5**	161 $\pm$ 4**
	<i>Реперфузия</i>			
HIF-1 α , mean	147 $\pm$ 5	160 $\pm$ 4	178 $\pm$ 5**	204 $\pm$ 5**
JC-1, mean	116 $\pm$ 5	105 $\pm$ 5	98 $\pm$ 4**	85 $\pm$ 5**

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет;

*** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.
[Абрамян Ш.М. и Морозов С.Г. / Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68].

3.5.4. Оценка апоптоза в клетках кожи лица в зависимости от загара

Целью данного раздела работы было сравнения показателей апоптоза пациентов с белой кожей и пациентов, кожа которых была подвергнута УФ излучению (загару) не позднее 3-х недель до начала исследования.

Для этого были отобраны пары пациентов по принципу случай / контроль, похожих по возрасту и другим показателям, но один имел загар, в другой – нет. В каждой группе было по 20 человек, все женщины от 35 до 45 лет, у всех проведена операция по коррекции лифтинга лица и выделены клетки из кожи и подкожно-жировой ткани во время операции. Методика выделения клеток из операционного материала представлена в разделе 2.5.1., процент клеток в апоптозе определяли по включению пропидиума иодида в ДНК (раздел 2.5.2.), процент индуцированного апоптоза измеряли с помощью клеточно-проникающего C2-церамида (раздел 2.5.2.).

Далее приведены результаты оценки спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках, выделенных из операционного материала в начале операции (Табл. 42) и в конце операции лифтинга лица (Табл. 43).

Наличие загара во всех случаях повышает процент клеток в апоптозе. Для спонтанного апоптоза это статистически достоверно во всех случаях ($P < 0,05$), для C2-церамид-индуцированного апоптоза – это тенденция к повышению гибели клеток ($P > 0,05$)

по сравнению с группой лиц без загара. Повышение процента C2-церамид-индуцированного апоптоза достоверно выше ($P<0,05$) при реперфузии по сравнению с контролем во всех образцах клеток (Табл. 42-43).

В клетках эпидермиса и дермы УФ вызывает деградацию белков дермально-эпидермального соединения [Doleckova I. et al., 2024], деструкцию мембран и повреждение ядерной ДНК [Caiazza G. et al., 2022]. Поэтому активация программированной гибели в эпителиальных клетках — это составная часть защиты кожи от повреждения, а также это необходимый момент терминальной дифференцировки клеток [Tang Z. et al., 2021].

В клетках эпидермиса кожи УФ активирует сигнальные пути Flk/JNK киназы [Baek M. et al., 2018], MAPK киназы p38 [Liu K. et al., 2013], AMPK [Park E. et al., 2017], NRF2 [Sun J. et al., 2024], сигналы cGAS/STING, которые сопряжены с нестабильностью генома клеток [Chen Y. et al., 2024]. В клетках эпидермиса УФ стимулирует стресс ER [Chen J. et al., 2024; Tai M. et al., 2024], повышает экспрессию белков теплового шока, в том числе, HSP72, и фактора транскрипции HSF-1 [Zhou X. et al., 1998].

Таблица 42.

Уровень (%) апоптоза в клетках, выделенных из тканей в начале операции лифтинга лица (контроль) у пациенток 35–45 лет с заггаром и без него

Клетки	Группы пациенток* 35–45 лет		
	Без загара (n = 20)	С заггаром (n = 20)	P<0,05
	Спонтанный апоптоз		
Эпителиальные клетки, %	5,4 ± 0,3%	7,1 ± 0,3%	+
Адиipoциты, %	3,8 ± 0,2%	5,6 ± 0,1%	+
Нейтрофилы, %	4,1 ± 0,3%	5,9 ± 0,2%	+
Лимфоциты, %	2,2 ± 0,2%	4,5 ± 0,3%	+
Индукцированный апоптоз			
Эпителиальные клетки, %	23 ± 3%	28 ± 3%	-
Адиipoциты, %	15 ± 1%	19 ± 3%*	-
Нейтрофилы, %	11 ± 2%	16 ± 2%	-
Лимфоциты, %	9 ± 2%	14 ± 2%	+

* указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Таблица 43.

Уровень (%) апоптоза в клетках, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (реперфузия) у пациенток 35–45 лет с загаром и без него

Клетки	Группы пациенток* 35–45 лет		
	Без загара (n = 20)	С загаром (n = 20)	P<0,05
	Спонтанный апоптоз		
Эпителиальные клетки, %	9,4 ± 0,5%	12,2 ± 1,2%	+
Адиipoциты, %	7,2 ± 0,2%	8,9 ± 0,6%	+
Нейтрофилы, %	10,5 ± 1,3%	14,1 ± 2,1%	+
Лимфоциты, %	6,4 ± 0,2%	8,6 ± 0,4%	+
Индукцированный апоптоз			
Эпителиальные клетки, %	27 ± 2%	31 ± 3%	-
Адиipoциты, %	20 ± 2%	24 ± 3%	-
Нейтрофилы, %	17 ± 2%	21 ± 2%	-
Лимфоциты, %	12 ± 1%	16 ± 2%	-

* указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Стресс запускает каскад сигналов воспаления, активирует апоптоз, что приводит к истончению эпидермиса после УФ облучения [Vind A. et al., 2024]. Эти процессы приводят к фотостарению клеток кожи [Qiang M., Dai Z., 2024].

Ишемия и последующая реперфузия приводят к гибели клеток, связанной с изменениями в митохондриях [Murphy E., Eisner D., 2025]. При этом окислительный стресс приводит к формированию пор во внутренней мембране митохондрий, что повышает проницаемость мембраны и приводит к активации апоптоза [Morciano G. et al., 2025].

Далее приведены результаты по влиянию УФ на уровень экспрессии фактора HIF-1 α (показатель гипоксии), а также на мембранный потенциал митохондрий (по окраске JC-1) (Табл. 44).

Таблица 44.

Уровень экспрессии маркера гипоксии фактора HIF-1 α и уровень мембранного потенциала митохондрий (по окраске JC-1) в общей суспензии клеток, выделенных из тканей во время операции лифтинга лица у пациенток 35–45 лет с загаром и без него

Показатель	Группы пациентов** 35–45 лет		
	Без загара (n = 20)	С загаром (n = 20)	P<0,05
	<i>Контроль</i>		
HIF-1 α , mean*	102 $\pm$ 4	153 $\pm$ 6	+
JC-1 (mean*)	119 $\pm$ 3	65 $\pm$ 5	+
<i>Реперфузия</i>			
HIF-1 α , mean*	152 $\pm$ 5	200 $\pm$ 6	+
JC-1 (mean*)	89 $\pm$ 4	53 $\pm$ 4	+

*mean – интенсивность флуоресценции образцов клеток, в условных единицах.

** указано число пациентов, которые принимали участие именно в этом исследовании.

Наличие загара способствовало достоверному (P<0,05) повышению экспрессии фактора HIF-1 α как в контрольных клетках, так и при реперфузии. Показатели при ишемии/реперфузии достоверно (P<0,05) выше как для фактора HIF-1 α , так и для мембранного потенциала митохондрий (Табл. 44).

Таким образом, в клетках, выделенных из кожи и подкожно-жировой ткани лица, даже в начале операции экспрессированы все необходимые компоненты сигнальных путей апоптоза и есть все предпосылки для активации апоптоза во время операции.

Можно сделать промежуточные выводы данной главы:

1. В контрольных клетках, выделенных из тканей лица в начале операции, процент спонтанного апоптоза низкий, зависит от типа клеток, но не зависит от возраста пациентов.
2. Процент C2-церамид-индуцированного апоптоза в контрольных клетках достоверно выше по сравнению с уровнем спонтанного апоптоза, показатели достоверно повышаются с возрастом.
3. Уровень спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках лица достоверно выше при состоянии реперфузии по сравнению с началом операции, у лиц старше 50 лет процент гибели клеток достоверно выше по сравнению с лицами моложе 30 лет.
4. С возрастом снижается энергетический потенциал митохондрий, что может оказывать влияние на жизнеспособность клеток после операции лифтинга.

5. В состоянии ишемии/реперфузии достоверно повышена экспрессия белков митохондрий, сопряжённых с апоптозом, по сравнению с контрольными клетками.
6. Наличие загара оказывает негативное влияние на все показатели апоптоза, особенно в состоянии ишемии/реперфузии.

3.6. ОЦЕНКА НЕКРОПТОЗА В КЛЕТКАХ КОЖИ ПРИ ЛИФТИНГЕ ЛИЦА

Научные результаты раздела III.6. частично отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др. Влияние возраста и загара на экспрессию вторичных мессенджеров сигнальных путей некроптоза в клетках кожи при операциях лифтинга лица // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 174. - № 12. – С. 674-677].

В послеоперационном периоде вследствие развития состояния ишемии/реперфузии и связанных с этим метаболических нарушений в тканях, в частности, с окислительным стрессом [Adameova A. et al., 2022], могут развиваться осложнения, в том числе, частичный некроз операционного шва [Mutlu Ö. et al., 2016]. Почти во всех послеоперационных рубцах имеются небольшие зоны некроза [Landa D. et al., 2016], уровень некротического поражения повышается по мере увеличения площади оперативного вмешательства [Agarwal P. et al., 2016]. Особенно выражен некроз при формировании келоидных рубцов, так как в их центральной части имеются очаги глубокой гипоксии [Okuno R. et al., 2018].

По данным литературы установлено, что часть клеток при развитии состояния реперфузии гибнет путём некроза, одним из видов которого является некроптоз. Следует сразу подчеркнуть, что некроптоз по своим морфологическим проявлениям – это тот же некроз, но у него есть особенные механизмы регуляции. Поэтому, когда мы измеряем процент клеток, которые просто распались до дебриса, это некроз, и только определение специфичных для некроптоза маркёров позволяет говорить о том, что клетки погибли в результате некроптоза.

Некроптоз регулируется экспрессией специфических генов [Xu D. et al., 2021], в клетках кожи человека эти гены также кодируют белки, которые активируются после экспозиции кожи к УФ и ассоциированы с сигнальными путями TNF- α [Alafiatayo A. et al., 2020]. В канонические сигнальные пути некроптоза входят вторичные мессенджеры Akt/GSK3 β , киназы RIPK1, RIPK3, MLKL, CaMKII [Meng Y. et al., 2021; Zhou T. et al., 2021].

В разделе 3.6. работы мы проанализировали экспрессию белков некроптоза RIPK1, RIPK3, MLKL, а также рецепторов TNF- α -R1 (методом проточной цитометрии по окраске антителами), в клетках кожи, выделенных при операции лифтинга лица у пациентов разного

возраста (n=84), а также имеющих естественный заггар сроком не позднее трех недель (n=31). Клетки были выделены из тканей в начале операции (контроль) и в конце операции (реперфузия).

3.6.1. Процент клеток в состоянии некроза

Для определения процента спонтанного некроза в клетках их фиксировали в 4% параформальдегиде и окрашивали пропидиумом иодидом (PI) в гипотоническом буфере. Для измерения процента индуцированного некроза клетки предварительно инкубировали с TNF- α (см. Материалы и методы), отмывали, фиксировали и окрашивали PI. Клетки анализировали на проточном цитометре FACSCalibur по программе SimulSet [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г., 2016]. Пример гистограммы, отражающей клетки в состоянии некроза, приведен на рисунке 15. Так как применённый нами метод измерения на проточном цитометре выявляет все клетки, которые погибли в результате распада плазматической мембраны, невозможно вычленил среди них те, которые погибли некроптозом. В связи с этим мы указываем гибель клеток как некроз.

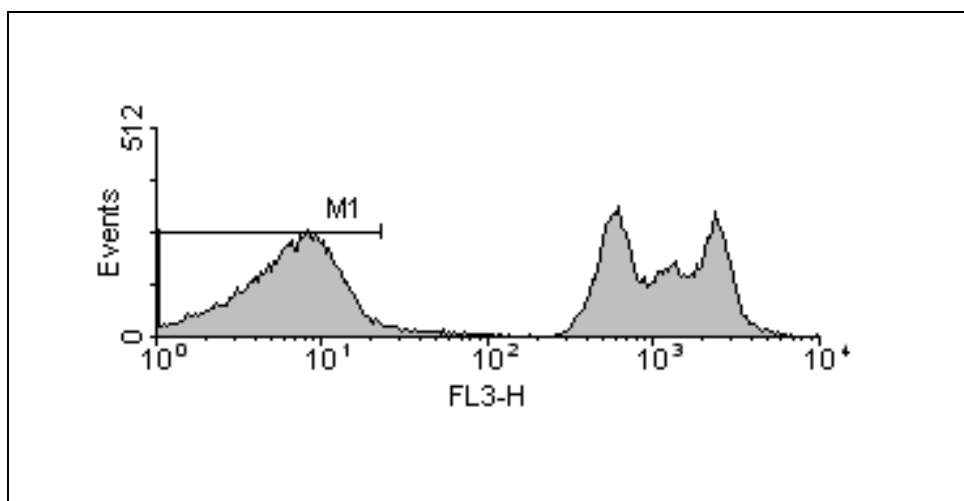


Рисунок 15. Пример гистограммы клеток с некрозом.

Пик диплоидных клеток расположен справа, пик клеток в некрозе обозначен курсором M1 и расположен слева.

Для уточнения процента некроза в отдельных популяциях клеток, выделенных из тканей лица, были проанализированы гейты соответствующих клеток. Результаты представлены в таблице 45 (контроль) и в таблице 46 (реперфузия).

Таблица 45.

Уровень (%) некроза в основных популяциях клеток, выделенных из тканей в начале операции лифтинга лица (контроль), в зависимости от возраста пациентов

Клетки	Группы пациентов			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
	<i>Спонтанный некроз</i>			
Эпителиальные клетки	1,9 ± 0,2%	1,8 ± 0,2%	1,9 ± 0,1%	2,0 ± 0,1%
Адиipoциты	1,7 ± 0,3%	1,7 ± 0,3%	1,9 ± 0,2%	1,8 ± 0,3%
Нейтрофилы	1,6 ± 0,1%	1,7 ± 0,3%	1,9 ± 0,3%	1,8 ± 0,4%
Лимфоциты	1,2 ± 0,2%	1,2 ± 0,1%	1,3 ± 0,2%	1,5 ± 0,2%
<i>TNF – индуцированный некроз</i>				
Эпителиальные клетки	6,8 ± 0,4%	7,0 ± 0,3%	7,1 ± 0,3%	7,3 ± 0,5%
Адиipoциты	3,9 ± 0,3%	4,1 ± 0,3%	4,2 ± 0,2%	4,2 ± 0,3%
Нейтрофилы	5,9 ± 0,4%	6,2 ± 0,3%	6,4 ± 0,3%	6,5 ± 0,3%
Лимфоциты	4,5 ± 0,3%	4,6 ± 0,3%	5,0 ± 0,4%	5,1 ± 0,4%

*теап – интенсивность флуоресценции, условные единицы.

Таблица 46.

Уровень (%) некроза в основных популяциях клеток, выделенных из тканей в конце операции лифтинга лица (реперфузия), в зависимости от возраста пациентов

Клетки	Группы пациентов			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
	<i>Спонтанный некроз</i>			
Эпителиальные клетки	7,1 ± 0,4%	7,5 ± 0,4%	7,7 ± 0,5%	7,9 ± 0,4%
Адиipoциты	5,0 ± 0,2%	5,3 ± 0,3%	5,3 ± 0,2%	5,5 ± 0,3%
Нейтрофилы	7,8 ± 0,5%	7,9 ± 0,3%	8,3 ± 0,4%	8,5 ± 0,4%
Лимфоциты	2,9 ± 0,2%	3,2 ± 0,2%	3,3 ± 0,2%	3,5 ± 0,2%
<i>TNF – индуцированный некроз</i>				
Эпителиальные клетки	14 ± 1%	15 ± 3%	17 ± 2%	19 ± 2%**
Адиipoциты	11 ± 2%	12 ± 2%	14 ± 2%	15 ± 2%
Нейтрофилы	15 ± 2%	17 ± 3%	20 ± 3%	21 ± 2%**
Лимфоциты	8 ± 1%	9 ± 1%	9 ± 1%	10 ± 1%

*теап – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет.

При анализе клеток, выделенных из тканей в начале операции, обращает на себя внимание тот факт, что процент спонтанного некроза существенно меньше, чем процент

апоптоза. Измерение как спонтанного, так и индуцированного некроза в контрольных клетках (Табл. 45) не выявило достоверных различий для лиц разного возраста, хотя имелась некоторая тенденция к повышению уровня некроза с возрастом ($P>0,05$).

Состояние ишемии/реперфузии (Табл. 46) оказало негативное влияние на жизнеспособность клеток, что отразилось в достоверно более высоком проценте клеток, в которых регистрировался спонтанный некроз, по сравнению с контролем, наиболее выраженный - в нейтрофилах и в клетках эпителия. Только для этих популяций клеток показано достоверное ($P<0,05$) повышение процента TNF-индуцированного некроза с возрастом.

Таким образом, состояние реперфузии при завершении операции лифтинга лица приводит к достоверному повышению процента клеток, распавшихся в результате некроза.

3.6.2. Экспрессия белков, сопряжённых с некроптозом, в клетках кожи при лифтинге лица, в зависимости от возраста

Для установления типа некроза клетки были проанализированы на предмет экспрессии белков – вторичных мессенджеров сигнальных путей некроптоза – это киназы RIPK1, RIPK3, MLKL, а также рецепторы TNF α -R1. Также измерен уровень экспрессии фосфорилированных киназ (p-RIPK1, p-RIPK3, p-MLKL), повышение их экспрессии указывает на активацию сигналов некроптоза в клетках [Li T. et al., 2021; Li X. et al., 2021; He P. et al., 2020].

У пациентов старше 50 лет повышена экспрессия всех проанализированных сигнальных белков некроптоза по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P<0,05$) (Табл. 47). В группе лиц старше 50 лет повышена экспрессия рецепторов TNF-R1 ($P<0,05$), отвечающих, в том числе, за переключение сигналов апоптоза и некроза [Al-Botaty B. et al., 2022]. Уровень экспрессии фосфорилированных киназ также достоверно выше у лиц старше 40 лет по сравнению с лицами моложе 30 лет ($P<0,05$), что отражает активацию процесса некроптоза в клетках кожи и подкожно-жировой ткани с возрастом (Табл. 47). Сигналы от TNF-R1 могут стимулировать сигналы воспаления, регулируемые NF- κ B, или могут активировать сигналы некроптоза, и тогда в сигнальный путь TNF- α входит киназа RIPK1 [Chun N. et al., 2021]. Показано, что TNF- α вызывает некроптоз и последующий цитолиз в клетках – мишенях, атакованных цитотоксическими Т лимфоцитами, что зависит от активации киназы RIPK1, ингибирование которой блокирует развитие TNF- α -зависимого цитолиза клеток [Chun N. et al., 2021; Delanghe T. et al., 2021].

Таблица 47.

Уровень экспрессии сигнальных белков некроптоза в клетках кожи, полученных в начале операции лифтинга лица (контроль), в зависимости от возраста пациентов

Сигнальные белки	Группы пациентов			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
	<i>Спонтанный некроптоз</i>			
TNF-R1, mean (*)	713 ± 9	731 ± 8	892 ± 8**	955 ± 11**
RIPK1, mean	64 ± 7	67 ± 5	78 ± 7	106 ± 4**
RIPK3, mean	47 ± 6	55 ± 7	59 ± 6	75 ± 4**
MLKL, mean	30 ± 4	36 ± 5	38 ± 5	56 ± 5**
# (p)-RIPK1, mean	74 ± 3	78 ± 5	109 ± 4**	120 ± 5**
(p)-RIPK3, mean	69 ± 5	75 ± 4	94 ± 3**	98 ± 4**
(p)-MLKL, mean	90 ± 7	101 ± 6	125 ± 3**	135 ± 4**
	<i>TNF – индуцированный некроптоз</i>			
(p)-RIPK1, mean	89 ± 5	95 ± 8	134 ± 5**	161 ± 6**
(p)-RIPK3, mean	77 ± 5	88 ± 4	111 ± 7**	138 ± 5**
(p)-MLKL, mean	96 ± 6	106 ± 6	138 ± 8**	185 ± 7**

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

(p) – фосфорилированные белки,

** $P < 0,05$ по отношению к лицам моложе 30 лет.

[Абрамян Ш.М. и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114].

В стареющей коже повышается уровень TNF α , что обуславливает активацию некроптоза клеток, выход их ферментов в ЕСМ с последующим развитием воспаления в коже [Pilkington S. et al., 2019].

В клетках кожи лица уровень экспрессии маркёров некроптоза достоверно повышается при развитии состояния реперфузии (Табл. 48) после лифтинга лица по сравнению с контрольными клетками (Табл. 47). В клетках эпителия кожи киназа RIPK1 выступает как мастер-регулятор выживания клеток, поддерживает гомеостаз и предотвращает воспаление за счёт регуляции апоптоза и некроза [Dannappel M. et al., 2014; Kumari S. et al., 2021]. По нашим данным, экспрессия киназы RIPK1, как нативной, так и фосфорилированной форм, достоверно возрастает после ишемии в состоянии реперфузии (Табл. 48) по сравнению с контролем ($p < 0,05$), уровень её экспрессии также повышается с возрастом: для лиц старше 40 лет он достоверно выше показателей пациентов моложе 30 лет ($p < 0,05$). Подобная динамика характерна также для других сигнальных белков

некроптоза – киназ RIPK1 и MLKL, как танинной, так и фосфоилированной формы этих белков.

Таблица 48.

Уровень экспрессии сигнальных белков некроптоза в клетках кожи, полученных в конце операции лифтинга лица (реперфузия), в зависимости от возраста пациентов

Сигнальные белки	Группы пациентов			
	21 – 30 лет, (n = 18)	31 – 40 лет, (n = 22)	41 – 50 лет, (n = 24)	51 – 64 года, (n = 20)
	<i>Спонтанный некроптоз</i>			
TNF-R1, mean (*)	748 ± 11	781 ± 14	904 ± 21 **	977 ± 18 **
RIPK1, mean	76 ± 4	81 ± 5	92 ± 4 **	118 ± 6 **
RIPK3, mean	55 ± 5	59 ± 3	71 ± 4 **	83 ± 5 **
MLKL, mean	42 ± 3	47 ± 4	59 ± 5 **	69 ± 4 **
# (p)-RIPK1, mean	81 ± 7	93 ± 8	115 ± 4 **	127 ± 6 **
(p)-RIPK3, mean	74 ± 5	85 ± 4	99 ± 5 **	105 ± 4 **
(p)-MLKL, mean	98 ± 6	115 ± 7	129 ± 5 **	141 ± 6 **
	<i>TNF – индуцированный некроптоз</i>			
(p)-RIPK1, mean	115 ± 6	124 ± 5	139 ± 6 **	172 ± 7 **
(p)-RIPK3, mean	87 ± 4	106 ± 5	124 ± 5 **	149 ± 6 **
(p)-MLKL, mean	119 ± 6	127 ± 7	142 ± 7 **	191 ± 8 **

*mean – интенсивность флуоресценции, условные единицы;

(p) – фосфорилированные белки,

**P<0,05 по отношению к лицам моложе 30 лет.

Таким образом, установлено, что операция лифтинга лица обуславливает развитие состояния ишемии/реперфузии, при котором в клетках кожи и подкожно-жировой ткани активируются процессы гибели клеток путём некроптоза. Процент клеток, которые подвергаются именно этому типу гибели, меньше, чем процент клеток, которые выходят в апоптоз.

3.6.3. Влияние загара на экспрессию белков некроптоза в клетках кожи лица

Мы поставили задачу проанализировать влияние УФ на экспрессию белков, сопряжённых с некроптозом, а также оценить активность сигнальных путей некроптоза в клетках кожи при операции лифтинга лица в зависимости от загара (контроль - Табл. 49, реперфузия - Табл. 50). Всего в этом исследовании было 84 пациента, все женщины, без загара - 53, с загаром – 31.

Таблица 49.

Уровень экспрессии белков некроптоза в клетках кожи, выделенных в начале операции лифтинга лица (контроль), в зависимости от наличия загара у пациентов

Сигнальные белки	Загар (n = 31)	Нет загара (n = 53)	P < 0,05
	<i>Спонтанный некроптоз</i>		
TNF-R1, mean (*)	843 ± 4	781 ± 4	+
RIPK1, mean	97 ± 3	62 ± 2	+
RIPK3, mean	68 ± 6	43 ± 5	+
MLKL, mean	49 ± 3	32 ± 2	+
# (p)-RIPK1, mean	119 ± 8	62 ± 3	+
(p)-RIPK3, mean	94 ± 4	55 ± 2	+
(p)-MLKL, mean	139 ± 6	71 ± 4	+
	<i>TNFα-индуцированный некроптоз</i>		
(p)-RIPK1, mean	146 ± 4	91 ± 5	+
(p)-RIPK3, mean	124 ± 5	78 ± 4	+
(p)-MLKL, mean	169 ± 5	102 ± 3	+

*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

#(p) – фосфорилированные белки,

[Абрамян Ш.М. и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2022. – Т.66, №4. – С. 107-114].

В коже после УФ активируются сигналы аутофагии, апоптоза и некроза, регистрируется повышение маркера разрыва двух нитей ДНК – γ -H2AX, происходит повреждение митохондрий и падение митохондриального потенциала $\Delta\Psi$, повышается секреция провоспалительных цитокинов кератиноцитами, активируются сигнальные пути, сопряженные с воспалением [Chen Y. et al., 2024].

Экспрессия сигнальных белков некроптоза была проанализирована для всех пациентов без загара по сравнению со всеми пациентами с загара, выявлено достоверное различие для всех исследованных показателей, как для нативных, так и для фосфорилированных форм белков, что прямо указывает на активацию сигналов некроптоза в клетках, выделенных из тканей лица, под воздействием УФ (Табл. 49).

В состоянии реперфузии в конце операции лифтинга лица в клетках активность сигналов некроптоза выше, чем в начале операции, воздействие УФ потенцирует активацию некроптоза (Табл. 50), что повышает уровень гибели клеток и обуславливает развитие послеоперационных осложнений.

Таблица 50.

Уровень экспрессии белков некроптоза в клетках кожи, выделенных в начале операции лифтинга лица (реперфузия), в зависимости от наличия загара у пациентов

Сигнальные белки	Загар (n = 31)	Нет загара (n = 53)	P < 0,05
	<i>Спонтанный некроптоз</i>		
TNF-R1, mean (*)	885 ± 9	806 ± 9	+
RIPK1, mean	114 ± 5	79 ± 4	+
RIPK3, mean	101 ± 4	61 ± 3	+
MLKL, mean	78 ± 5	44 ± 3	+
# (p)-RIPK1, mean	127 ± 5	72 ± 5	+
(p)-RIPK3, mean	109 ± 6	69 ± 5	+
(p)-MLKL, mean	146 ± 4	102 ± 6	+
	<i>TNFα-индуцированный некроптоз</i>		
(p)-RIPK1, mean	152 ± 6	105 ± 5	+
(p)-RIPK3, mean	130 ± 4	101 ± 5	+
(p)-MLKL, mean	176 ± 5	124 ± 4	+

*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

#(p) – фосфорилированные белки

В геноме имеются сайты, которые особенно чувствительны к воздействию УФ [Premi S. et al., 2019]. В клетках кожи УФ повышает экспрессию генов, связанных с преждевременным старением [Alafiatayo A. et al., 2020]. УФ активирует ключевые молекулы некроптоза в клетках рогового слоя [Yu Z. et al., 2021]. Интенсивный загар повышает уровень провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF-α и т.д.), развитие воспаления и окислительного стресса в клетках кожи лица, что в результате приводит к гибели кератиноцитов [Tang Z. et al., 2021], а также обуславливает старение кожи [Lee K. et al., 2019].

Таким образом, наличие загара, полученного не позднее, чем за 3 недели до операции лифтинга лица обуславливает угрозу развития послеоперационных осложнений, связанных с частичным некрозом операционного шва, поэтому операция не желательна сразу после загара.

3.7. РОЛЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОЛОСТИ РТА В ОСЛОЖНЕНИЯХ ПОСЛЕ ЛИФТИНГА ЛИЦА

Научные результаты раздела 3.7. получены в соавторстве с Рожновой Е.В., Иванченко О.Б., Блохиным С.Н. и Морозовым С.Г. и отражены в работах [Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178; Абрамян Ш.М. и др. / Материалы Всеросс. Конф. «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии», – 2017, С.7].

Цель данного раздела диссертации – исследование клеток иммунной системы полости рта у пациентов с хронической патологией зубов до проведения операции лифтинга лица, а также анализ этих показателей в связи с возможными осложнениями в послеоперационном периоде.

Известно, что заболевания полости рта оказывают влияние на осложнения при пластике лица [Wall A. et al., 2016]. Перед операцией лифтинга лица требуется обязательное санирование полости рта [Cottom H. et al., 2013], однако, у больных с хроническим периодонтитом практически невозможно добиться полной эрадикации в течение короткого периода времени [Dolińska E. et al., 2017].

Кариес зубов и хронический периодонтит – это наиболее часто встречающиеся заболевания [Rajendra Santosh A. et al., 2017], влияющие на инфицирование тканей лица пациентов при проведении пластических операций. Одной из причин является развитие вторичного гайморита или синусита на фоне патологии зубов верхней челюсти [Voss P. et al., 2016].

Одонтогенная инфекция может оказывать влияние на состояние мягких тканей лица за счёт секретируемых метаболитов [Le Moual H. et al., 2016]. Микробиом ротовой полости также может вызывать развитие аутоиммунной патологии [Nikitakis N. et al., 2017] и системных заболеваний [van der Meulen T. et al., 2016], что может осложнять течение послеоперационного периода после операций на лице [Wall A. et al., 2016; Zawadzki P. et al., 2017].

Клетки иммунной системы ротовой полости обеспечивают контроль над патогенами у здоровых людей, в частности, нейтрофилы и моноциты обеспечивают клиренс патогенов [Fine N. et al., 2016], лимфоциты отвечают за специфический иммунный ответ [Абрамян Ш.М. и др. / Трансл. мед. – 2017]. Клетки эпителия ротовой полости активно секретируя хемокины, цитокины и другие факторы антимикробной защиты [Ramage G. et al., 2017]. При хронической одонтогенной инфекции иммунная система может не поддерживать

необходимый уровень защиты, что сказывается на микробной контаминации мягких тканей лица.

В данной работе был исследован биологический материал 100 пациентов (25–68 лет), которым перед операцией лифтинга лица было проведено стоматологическое обследование. Из них санация полости рта потребовалась 76 пациентам. Для исследования были выбраны пациенты с кариесом дентина (K02.1; n=41), пульпитом (K04.0; n=11), хроническим апикальным периодонтитом (апикальной гранулемой, K04.5; n=15) и клиновидным дефектом (K03.10; n=9) (по классификации МКБ-10), а также пациенты без патологии зубов (норма; n=24).

Клетки были получены из смывов дёсенной борозды зуба, требующего санации, с помощью стоматологических брашиков (см. «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ», раздел 2.10). Контролем служили смывы дёсенной борозды здорового зуба. Выделенные клетки были окрашены mAb и проанализированы на проточном цитометре (см. «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ», раздел 2.7). Были выделены нейтрофилы, моноциты, лимфоциты и эпителиальные клетки (Рис. 16).

Процент макрофагов повышен при всех исследованных патологиях полости рта (Рис. 16). Макрофаги играют роль в фагоцитозе патогенов и погибших клеток, а также регулируют процессы заживления ран в полости рта [Vescarelli E. et al., 2017]. Инфекция приводит к активации сигнальных путей некроптоза в макрофагах [Huang H. et al., 2021], что играет роль в патогенезе периодонтита. В тканях десны пациентов с периодонтитом повышена экспрессия маркёров некроптоза RIPK3 и Mkl1 [Klaas L. et al., 2021]. В макрофагах при периодонтите также повышена экспрессия TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP9 и других провоспалительных цитокинов [Yang Y. et al., 2022], а также активированы сигналы стресса [Place D. et al., 2021].

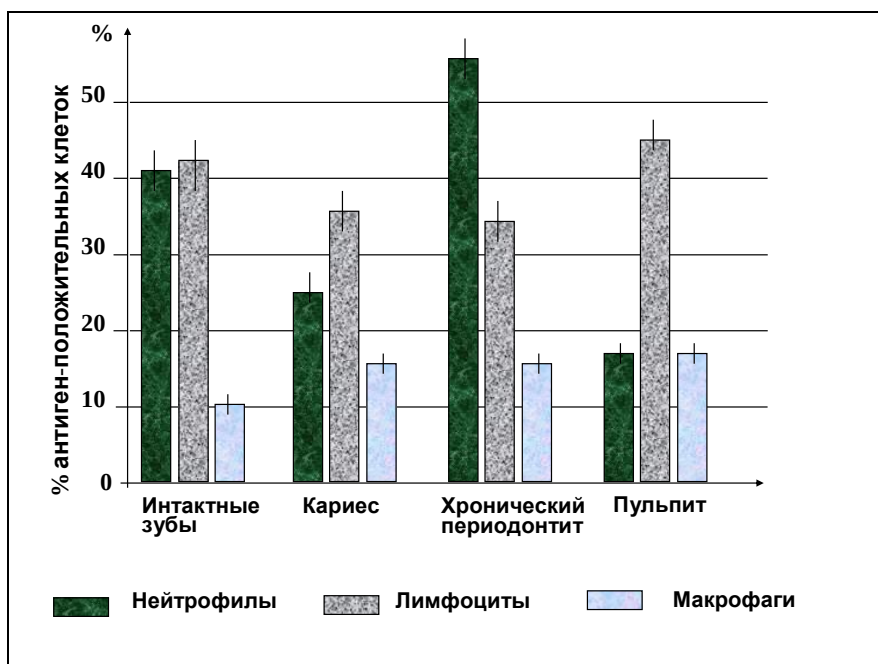


Рисунок 16. Влияние патологии зубов на состав клеток дёсенной борозды.

При оси ординат отложены проценты выделенных клеток (нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов).

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

Процент нейтрофилов (CD16⁺) повышен при кариесе дентина, пульпите и хроническом периодонтите ($P < 0,05$) (Табл. 51), что отражает их способность накапливаться в сайте воспаления [Fine N. et al., 2016]. При пульпите и хроническом периодонтите повышенный уровень генерации супероксидного аниона нейтрофилами при стимуляции форболовым эфиром (PMA), что имеет отношение к патогенезу этих заболеваний, так как реактивные метаболиты кислорода могут разрушать ткани десны. Также повышен процент спонтанного фагоцитоза.

Не все субпопуляции нейтрофилов распознают и нейтрализуют бактерии в полости рта [Fine N. et al., 2016]. Известно, что при периодонтите в полости рта обнаружено несколько субпопуляций нейтрофилов – это наивные циркулирующие клетки, провоспалительные и промежуточно активированные клетки с повышенной гранулярностью, преобладают клетки с активированными сигналами воспаления.

Таблица 51.

Реакция нейтрофилов дёсенной борозды пациентов до операции лифтинга лица [10]

Показатели	Норма (n = 24)	Заболевания зубов			
		Хронический периодонтит (n = 15)	Пульпит (n = 11)	Кариес дентина (n = 41)	Клиновидный дефект (n = 9)
Нейтрофилы в суспензии, %	19 ± 6	42 ± 4 #	38 ± 3 #	31 ± 5 #	26 ± 4
Спонтанный фагоцитоз, %	52 ± 5	71 ± 3 #	68 ± 4 #	59 ± 6	53 ± 5
Индукцированный фагоцитоз, %	95 ± 2	92 ± 4	87 ± 7	92 ± 4	95 ± 3
**Уровень O_2 в ответ на РМА	0,387 ± 0,031	0,551 ± 0,042 #	0,497 ± 0,012 #	0,391 ± 0,063	0,398 ± 0,047

O_2 – супероксидный анион; РМА – форболмиристатацетат;

$p < 0,05$ по сравнению с нормой (контролем):

**уровень O_2 в ответ на РМА [нМ/мл/ 10^6 клеток].

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

Далее мы определили уровень спонтанного апоптоза клеток, выделенных из дёсенной борозды зубов (Табл. 52). Естественная гибель нейтрофилов при пульпите и хроническом периодонтите достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми зубами, гибель моноцитов не отличалась от контрольного уровня, гибель лимфоцитов достоверно выше при пульпите и периодонтите ($p < 0,05$) с тенденцией к повышению при кариесе и клиновидном дефекте ($p > 0,05$).

Таблица 52.

Спонтанный апоптоз клеток (%), выделенных из дёсенной борозды пациентов до операции лифтинга лица

Клетки	Норма (n = 24)	Типы патологии зубов			
		Хронический периодонтит (n = 15)	Пульпит (n = 11)	Кариес дентина (n = 41)	Клиновидный дефект (n = 9)
Нейтрофилы	6 ± 3	24 ± 3 #	18 ± 2 #	10 ± 3	7 ± 2
Лимфоциты	4 ± 2	10 ± 1 #	15 ± 2 #	8 ± 3	7 ± 3
Моноциты	3 ± 3	4 ± 3	5 ± 3	4 ± 2	3 ± 2
Клетки эпителия	6 ± 3	24 ± 3 #	18 ± 2 #	10 ± 3	7 ± 2

$P < 0,05$ по сравнению с нормой (контролем).

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

Таблица 53.

Индукцированный C2-церамидом апоптоз клеток (%), выделенных из дёсенной борозды пациентов до операции лифтинга лица

Клетки	Норма (n = 24)	Типы патологии зубов			
		Хронический периодонтит (n = 15)	Пульпит (n = 11)	Кариес дентина (n = 41)	Хронический периодонтит (n = 15)
Нейтрофилы	21 ± 1	39 ± 2 #	38 ± 3 #	29 ± 3 #	24 ± 2
Лимфоциты	15 ± 2	28 ± 1 #	32 ± 2 #	18 ± 3	19 ± 4
Моноциты	14 ± 2	24 ± 2 #	29 ± 3 #	18 ± 2	16 ± 5
Клетки эпителия	24 ± 3	41 ± 3 #	44 ± 5 #	39 ± 3 #	38 ± #

$P < 0,05$ по сравнению с нормой (контролем).

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

Уровень апоптоза, индуцированного C2-церамидом, отражает способность клеток к гибели при контакте с патогенами или с их активными метаболитами. Показатели индуцированного апоптоза нейтрофилов при пульпите, кариесе дентина и хроническом периодонтите достоверно выше ($P < 0,05$) по сравнению со здоровыми лицами. Для лимфоцитов и моноцитов различия в уровне апоптоза достоверны для пульпита и хроническом периодонтита, для клеток эпителия при всех заболеваниях имеются достоверные различия по сравнению с нормой ($P < 0,05$) (Табл. 53).

Примеры исследования апоптоза клеток на проточном цитометре приведены на рисунке 17.

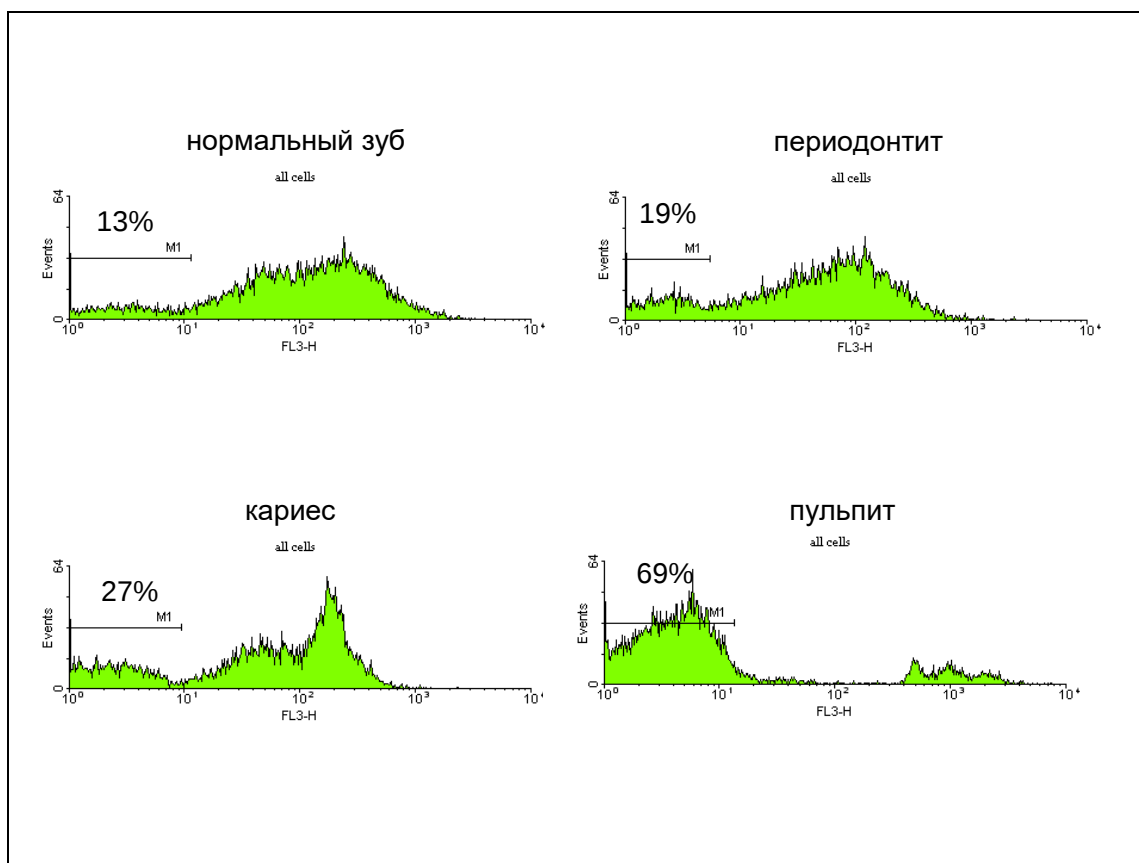


Рисунок 17. Процент C2-церамид-индуцированного апоптоза в общей суспензии клеток, выделенных из дёсенной борозды при патологии зубов.

Данные проточной цитометрии. Клетки в апоптозе представлены крайним левым пиком. Правые пики отражают уровень ДНК в неповрежденных клетках.

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

По нашим данным, при патологии зубов повышена гибель клеток локальной иммунной системы ротовой полости. Учитывая тесную взаимосвязь полости рта и других тканей лица, можно говорить о влиянии нарушения локального иммунитета на метаболизм клеток мягких тканей лица, что может отразиться на процессах заживления ран после операциях на лице.

Всем пациентам перед операцией лифтинга лица проведена санация полости рта. В послеоперационном периоде у некоторых пациентов были осложнения, анализ которых в зависимости от имевшейся ранее патологии зубов представлен в таблице 54. У пациентов с патологией зубов, даже санированных перед операцией, достоверно повышена частота случаев возникновения осложнений – 56 (73,6%) по сравнению с пациентами со здоровой полостью рта – 7 (29,1%) ($p < 0,001$) (Табл. 54), при этом напрямую осложнения не были связаны с инфекцией – число случаев инфекции только 5 (6,6%) у пациентов с санированной полостью перед операцией, а у здоровых женщин контрольной группы её не

было. В основном, это касалось удлинения сроков заживления операционной раны, развития гематомы или отека мягких тканей (более выраженного и более продолжительного по сравнению с обычным послеоперационным состоянием).

Таблица 54.

Число случаев послеоперационных осложнений (абс.) у пациентов разного возраста (n=100), имевших заболевания зубов до операции лифтинга лица (n=76) и контрольной группы (n=24)

Патология зубов	Осложнения после лифтинга лица					Всего
	инфекция	отек тканей	гематома	частичный некроз шва	удлинение сроков заживления раны	
Кариес дентина (n = 41)	3 (7,3%)	8 (19,6%)	5 (12,2%)	1 (2,4%)	11 (26,8%)	28 (68,3%)*
Пульпит (n = 11)	1 (9,1%)	3 (27,3%)	1 (9,1%)	1 (9,1%)	5 (45,4%)	11 (100%)**
Хронический периодонтит (n = 15)	1 (6,%)	3 (20%)	3 (20%)	1 (6,7%)	6 (40%)	14 (93,4%)**
Клиновидный дефект (n = 9)	–	1 (11,1%)	1 (11,1%)	–	1 (11,1%)	3 (33,3%)
Контроль (n = 24)	–	5 (20,9%)	2 (8,3%)	–	–	7 (29,2%)

* $p < 0,05$, критерий хи-квадрат при сравнении значений в группе патологии зубов с контрольной группой,

** $p < 0,001$, критерий хи-квадрат при сравнении значений в группе патологии зубов с контрольной группой

[Абрамян Ш.М. и др. / Патол. Физиол. Эксп. Тер. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178].

Достоверно чаще осложнения выявлены у пациентов с пролеченным кариесом дентина – 28 (68,3%) ($p < 0,05$), пульпитом – 11 (100%) ($p < 0,001$), хроническим периодонтитом – 14 (93,4%) ($p < 0,001$) по сравнению с здоровыми пациентами – 7 (29,2%).

В данном исследовании инфекционные осложнения, как мы указывали ранее, не были зарегистрированы у пациентов без патологии зубов, хотя прямой взаимосвязи между этими состояниями нет. В основе патогенеза послеоперационных осложнений, как одно из звеньев, лежит нарушение активности клеток локальной иммунной системы полости рта, в частности, повышение генерации супероксидного аниона нейтрофилами. Повышение уровня спонтанного и индуцированного апоптоза клеток иммунной системы прямо связано с состоянием операционного шва, так как провоцирует развитие частичных некрозов шва и его заживление вторичным натяжением.

Из данного раздела работы можно сделать выводы:

1. Хронический пульпит и периодонтит сопровождаются повышением генерации супероксидного аниона нейтрофилам, что поддерживает воспаление в окружающих тканях.
2. При хроническом пульпите и периодонтите достоверно повышены уровни спонтанного и C2-церамид-индуцированного апоптоза в клетках дёсенной борозды поврежденных зубов.
3. Наличие хронических заболеваний зубов (кариес дентина, пульпит, хронический периодонтит, клиновидный дефект зуба) оказывает негативное влияние на состояние клеток локальной иммунной системы ротовой полости у пациентов пластических хирургов, что негативно влияет на течение послеоперационного периода после проведения операции лифтинга лица.

3.8. ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ И МИКОЗНОЙ ФЛОРЫ КОЖИ ЛИЦА ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕД ОПЕРАЦИЕЙ ЛИФТИНГА ЛИЦА

3.8.1. Анализ микробной контаминации кожи перед операцией лифтинга лица

Научные результаты данного раздела получены в соавторстве с Рожновой Е.В., Иванченко О.Б., Блохиным С.Н. и Морозовым С.Г. и отражены в работе [Абрамян Ш.М. и др. Роль одонтогенной инфекции в развитии осложнений после операций лифтинга лица / Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии», 21-22 ноября 2017 года, Санкт-Петербург. – С.7].

Целью данного раздела диссертационной работы было выявление факторов риска развития воспаления или некроза операционного шва после лифтинга лица, связанных с инфицированием кожных покровов. В связи с этим стояла задача провести микробиологический анализ кожи лица и определить чувствительности выявленного микробиома к антибиотикам.

Данное исследование проведено в связи с тем, что в клинике пластической хирургии, в частности, при проведении лифтинга лица, инфицирование кожи и подкожной клетчатки бактериями или микроскопическими грибами следует учитывать как фактор риска развития осложнений в послеоперационном периоде [Rajendra Santosh A. et al., 2017]. Эти осложнения встречаются редко, однако, представляют угрозу для жизни пациента. Послеоперационное инфицирование мягких тканей лица бывает после ретракции зубов, особенно при тяжелых случаях кариеса или при наличии пульпита. Несмотря на

антисептическую обработку и стерильность операционной, есть ряд факторов, которые могут привести к развитию послеоперационного некроза мягких тканей [Saraiya H., 2012].

Кожа человека колонизирована более чем 300 видами бактерий, основными из которых являются *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* [van der Meulen T. et al., 2016], при этом микробиом каждого человека индивидуален. На поверхности эпителия бактерии существуют, в основном, в виде биопленок [Ramage G. et al., 2017], что позволяет им адаптироваться к условиям существования, регулировать рост и метаболизм колоний, поддерживать резистентность к антибиотикам и влиять на иммунный ответ организма хозяина [Pellegatta T. et al., 2016].

Антигены бактерий стимулируют иммунную реакцию в клетках подкожной жировой ткани, повышают экспрессию рецепторов, распознающих бактериальные пептиды. В клетках активируется синтез провоспалительных цитокинов. При этом микробы могут активировать сигналы гибели в самих клетках иммунной системы, в частности, стрептококки активируют сигналы некроптоза в макрофагах [Huang H. et al., 2021].

В данном исследовании принимали участие 100 пациентов, все женщины в возрасте от 35 до 45 лет, все не имели загара. У женщин в соскобах кожи лица методом ПЦР были выявлены: *Propionibacteria* spp. – в 72% случаев, *Corynebacteria* spp. – 47%, *Staphylococcus* spp. – в 23%, *Lactococcus* spp. – в 16%, *Streptococcus* spp. – в 7%, *Enterobacteria* spp. – в 6%, *E. coli* – в 5%. *Staphylococcus aureus* (фактор риска некроза тканей) обнаружен у 13 (13%) пациентов. У всех исследованных лиц микробная контаминация носила характер микст-инфекции.

Далее был проведён посев и определена чувствительность к антибиотикам; результаты этих исследований явились основанием для введения антибиотиков перед операцией, а также для промывания ран отобранным антибиотиком перед закрытием кожного покрова. После проведения операции лифтинга лица не было осложнений, связанных с инфицированием операционного шва, также не было осложнений, связанных с замедлением времени заживления операционной раны.

Проведение микробиологического анализа кожи лица перед операцией лифтинга, определение чувствительности бактерий к антибиотикам, последующее проведение индивидуальной антибиотикотерапии перед операцией и во время её, позволяет минимизировать риск развития некроза операционного шва или его воспаления.

3.8.2. Изучение грибковой контаминации кожи перед операцией лифтинга лица

Научные результаты данного раздела отражены в работе [Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. / Успехи мед. микологии. – 2017. – Т. XVII. – С. 234-236].

Кроме бактерий кожа человека колонизирована многочисленными микроскопическими грибами. Частыми причинами развития послеоперационных микозов являются очаги инфекции в области головы, в том числе, хронические синуситы, ларингит, отит, блефарит и т.д. Развитие послеоперационных микозов в подавляющем большинстве случаев обусловлено предоперационной контаминацией кожи патогенными микроскопическими грибами родов *Candida*, *Rhodotorula*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Exophiala*, *Curvularia*, *Blastomyces*. Поэтому мы также провели микологический анализ соскобов кожи лица в области предполагаемого операционного воздействия для выявления возможной контаминации микроскопическими грибами рода *Candida*, *Rhodotorula*, *Malassezia* [White T. et al., 1990].

Было обследовано 100 пациентов, тех же, у которых был проведен бактериальный анализ перед проведением лифтинга лица. Были получены следующие результаты: контаминация микроскопическими грибами обнаружена у 54% пациентов: *Candida spp.* – в 32% случаев, *Rhodotorula spp.* – в 9%, *Malassezia spp.* – в 72%, микст *Candida spp.* + *Malassezia spp.* – в 11%. Среди образцов рода *Candida* были обнаружены *C. albicans* (53%), *C. tropicalis* (19%), *C. Glabrata* (19%), *C. parapsiosis* (7%). Среди образцов рода *Rhodotorula* обнаружен только один вид *Rh. glutinis* (100%). Среди образцов рода *Malassezia* были обнаружены *M. sympodialis* (80%), *M. globosa* (16%), *M. restricta* (4%).

Несмотря на то, что в данном исследовании принимали участие ухоженные женщины, выявлен высокий процент контаминации кожи лица микроскопическими грибами рода *Candida*, *Malassezia* и *Rhodotorula*, что указывает, скорее всего, на плохие экологические параметры окружающей среды.

Контаминация кожи дрожжами *Candida spp.* является фактором риска развития осложнений в области послеоперационного рубца после проведения операции лифтинга лица. Грибы *Malassezia spp.* присутствуют на здоровой коже, частота их обнаружения значительно возрастает при наличии заболеваний кожи. Достаточно высокая частота обнаружения дрожжей *Rhodotorula spp.* на коже лица здоровых пациентов является особенностью последнего десятилетия, возможно, это связано с тем, что ранее этим микроскопическим грибам не уделяли должного внимания и не исследовали соскобы кожи на предмет их обнаружения.

Высокий процент обнаружения патогенных и условно-патогенных микроскопических грибов на коже лица здоровых людей, у которых нет системных заболеваний или иммунодефицитов, может быть связан не только с плохой экологией, но и с особенностями питания, например, употреблением экзотических фруктов, с приёмом антибиотиков [Kim S. et al., 2013] или косметическими средствами. В последнее время также повышается частота обнаружения аспергиллёзных хронических синуситов. *Aspergillus spp.* часто диагностируют у лиц с нормальным иммунитетом, приезжающих из тропических стран.

Среди хирургических причин развития послеоперационных микозов лица можно особенно выделить осложнения при использовании катетеров, канюль, дренажей и другого инструментария многоразового применения. Достаточно редкие случаи микозов связаны с использованием для омоложения контура лица жировой ткани, бывшей в заморозке, что может вызвать её вторичную контаминацию и привести к развитию микоза лица.

Для предотвращения развития осложнений после операции лифтинга мы провели тщательную предоперационную санацию кожи лица антимикотическими топическими препаратами, содержащими фунгицидные компоненты. Никаких послеоперационных осложнений, связанных с микозной контаминацией кожи лица, у наших пациентов не регистрировалось.

Таким образом, предоперационная диагностика возможной контаминации кожи бактериями и микроскопическими грибами, а также адекватная предоперационная обработка кожи лица препаратами, специфически направленными на выявленные патогены, обеспечивает предотвращение развития послеоперационных осложнений, связанных с инфекцией.

3.9. ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ЭНЕРГЕТИКОВ НА СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ ЛИФТИНГА ЛИЦА

Научные результаты данного раздела отражены в работах [Абрамян Ш.М. и др. Роль клеточных энергетиков в купировании некроза тканей лица // Вестник Российской Военно-медицинской Академии. – 2017. – Т.4, №60 (Приложение 1). – С. 97; Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Сравнение числа осложнений при проведении пластических операций на лице у женщин, принимавших препараты, повышающие энергетический статус клетки // Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. – 2017. – №1. – С. 1542-1543].

В настоящее время хирурги активно ищут способы предотвращения повреждения тканей после ишемии, быстрого восстановления кровотока, поддержания высокого уровня

оксигенации кожи, связывания и удаления свободных радикалов, повреждающих клетки. Одним из таких способов является применение препаратов, повышающих энергетический статус клеток. Их достаточно много, но для наших целей мы выбрали янтарную кислоту – метаболит цикла Кребса, которая используется для повышения энергетического статуса клеток. Было проведено сравнение послеоперационных осложнений у пациенток после лифтинга лица, принимавших /не принимавших препараты янтарной кислоты в предоперационном периоде.

Из 36 пациенток 18 принимали препарат янтарной кислоты в течение 10 дней перед операцией (по 1 таблетке 0,5 г 3 раза в день во время еды). Группа пациенток, принимавших препарат, соответствовала по возрасту и индексу массы тела группе без медикаментов.

Все пациентки наблюдались в течение 1 месяца после лифтинга лица на предмет возможных осложнений (некроз мягких тканей в области послеоперационного рубца, серома, гематома в области рубца, тромбоз вен подкожной клетчатки, неровный рубец, инфекционные осложнения), а также оценивалась длительность периода заживления раны. Частичный некроз в области рубца был у двух пациенток старше 50 лет, не принимавших препараты янтарной кислоты ($p > 0,05$). В группе принимавших янтарную кислоту некрозов тканей в области рубца не определялось. По числу инфекционных осложнений различий не было (по 3 в каждой группе), тромбозов не выявлено, гематома была у 4 пациенток в контрольной группе и ни у одной в группе женщин, принимавших янтарную кислоту ($p < 0,05$). При оценке длительности заживления раны после операции установлено, что сроки сократились на 3–5 дней у 16 (89%) женщин в группе пациенток, принимавших янтарную кислоту ($p < 0,001$).

Таким образом, прием янтарной кислоты в течение 10 дней в предоперационный период положительно влияет на сроки заживления послеоперационной раны, а также снижает риск развития гематомы и зон частичного некроза в области послеоперационного рубца. При этом янтарная кислота не оказывает влияния на другие виды осложнений, включая инфекционные.

Следующий раздел работы посвящен изучению состояния митохондрий клеток после применения коэнзима Q и L-карнитина у пациентов, которым проводилась пластика лица, и сравнение послеоперационных результатов и осложнений в зависимости от энергетики клеток.

В исследовании приняли участие пациенты в возрасте от 32 до 64 лет ($n = 64$), которым в Клинике пластической хирургии был проведен лифтинг лица. Три группы пациентов, одинаковые по возрасту, соматическому состоянию, индексу массы тела,

получали препараты 21 день до пластики лица: I группа – контроль (плацебо) (n=21), II группа – коэнзим Q (0,5 г 2 раза в день во время еды) (n=22), III группа – L-карнитин (100 мкг 1 раз в день в виде капель) (n=21).

Из области операционной раны получены образцы кожи и подкожно-жировой клетчатки, из которых выделены клетки, которые окрашены флуоресцентным красителем JC-1 для оценки энергетического статуса митохондрий. Процент апоптоза и некроза клеток оценивали по окраске пропидиумом иодидом, связывающим ДНК. Флуоресценция регистрировалась на проточном цитометре FACSCalibur. Данные обработаны по программе ANOVA.

Коэнзим Q и L-карнитин достоверно улучшали состояние митохондрий клеток, выделенных из зоны операции при пластике лица: достоверно снижали % клеток в апоптозе (I – $8,2 \pm 1,3\%$; II – $3,9 \pm 0,8\%$; III – $4,2 \pm 0,7\%$, $p < 0,05$), % некротических клеток $< 1\%$. В течение 1 месяца после пластики лица оценивали длительность периода заживления раны, некроз мягких тканей в области рубца, наличие серомы, гематомы, тромбоза вен подкожной клетчатки, неровного рубца, инфекционных осложнений. Частичный некроз в области рубца был у 3 (14,3%) пациентов I группы (старше 48 лет), не принимавших энергетики, по сравнению с отсутствием регистрации некрозов тканей в области рубца во II и III группах ($p = 0,08$ и $p = 0,073$ соответственно во II и III группе). Инфекционные осложнения были по 1 во II и III группах и 3 – в I группе ($p > 0,05$ в обоих случаях). Тромбозов не было, гематомы были у 3 (14,3%) пациентов I группы и ни у одного во II и III группах ($p = 0,08$ и $p = 0,073$ соответственно во II и III группе). Сроки заживления раны после операции сокращались на $4 \pm 1,2$ и $3 \pm 0,8$ дня во II и III группах соответственно по сравнению с I группой ($p < 0,05$).

Таким образом, применение клеточных энергетиков в течение 21 дня до операции достоверно повышает энергетический статус митохондрий клеток и их выживаемость, что положительно влияет на сроки заживления послеоперационной раны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей работе была проведена комплексная оценка состояния клеток кожи и подкожно-жировой ткани во время операции по коррекции контуров лица. Мы выделяли клетки в самом начале операции, которые были контролем, а также по завершению операции, то есть в состоянии реперфузии. Операция лифтинга продолжается примерно 3 часа, за это время успевают развиваться патологические изменения в клетках и в тканях.

Для проведения данной работы были применены методы выделения клеток с жизнеспособностью более 98%, что позволило анализировать экспрессию реальных сигнальных белков, отвечающих за активацию процессов апоптоза, некроптоза и аутофагии. Клетки были окрашены моноклональными антителами, специфичными к исследуемым белкам, для анализа уровня экспрессии белков использовали метод проточной цитометрии. Антитела также были использованы для идентификации популяций и субпопуляций клеток, выделяемых из тканей.

В процессе работы было показано, что одновременно в клетках кожи и подкожно-жировой ткани активированы разные механизмы гибели – апоптоз, некроптоз (есть данные литературы также по наличию ферроптоза), а также активированы процессы аутофагии, которая должна, по определению, защищать клетки от гибели и позволить им сохранить жизнеспособность.

Основные идентифицированные популяции клеток – это клетки эпителия, адипоциты, нейтрофилы, лимфоциты, макрофаги / моноциты. Также имелись минорные популяции клеток, которые не были проанализированы в данной работе, поэтому суммарный процент основных популяций всегда был меньше 100%. Мы показали, что соотношение основных популяций клеток изменяется по мере старения организма.

В подкожно-жировой ткани лица адипоциты выполняют не только структурную роль, но и регулируют метаболизм. Нами было установлено, что относительное содержание адипоцитов достоверно возрастает с возрастом, при этом снижается относительное содержание клеток эпителия, то есть, происходит истончение кожи с возрастом.

За очистку подкожно-жировой ткани от клеток, погибших апоптозом, некрозом или пироптозом отвечают фагоциты, в том числе, макрофаги. Мы анализировали суммарную популяцию всех макрофагов / моноцитов в выделенных тканях, поэтому не говорим сейчас об изменениях субпопуляций макрофагов, нами чётко получено, что, во-первых, процент макрофагов повышается с возрастом, во-вторых, в состоянии реперфузии процент макрофагов достоверно повышен по сравнению с контролем.

Установлено, что число лимфоцитов в жировой ткани с возрастом снижалось, а в

период реперфузии их процент был достоверно выше, чем в контроле.

В основных популяциях клеток был измерен уровень спонтанного апоптоза, то есть определён процент клеток, в которых на момент исследования имелся распад ДНК при сохранённой мембране клеток. Это принципиальное отличие апоптоза от некроза, при котором клетки превращаются в дебрис в окружении собственных протеолитических ферментов. Кстати, используемый нами метод окраски фиксированных и пермеабелизованных клеток пропидиумом иодидом в гипотоническом буфере позволяет прокрашивать всю ДНК клетки, то есть одновременно определять процент апоптоза, некроза и число живых клеток. Так было показано, что при реперфузии процент некроза достоверно ниже, чем процент клеток в апоптозе. Такие данные для клеток, выделенных при операции лифтинга лица, получены впервые. Было установлено, что наиболее подвержены апоптозу клетки эпителия. При оценке индуцированного апоптоза, то есть когда в клетке запущены сигналы гибели, но ещё нет морфологических проявлений, мы применили клеточно-проникающий C2-церамид, который активирует сигналы апоптоза и даёт возможность зарегистрировать начало изменений в клетке в виде распада ДНК.

В данной работе было также показано, что стареющая кожа лица реагирует на операцию повышенным уровнем спонтанного и C2-церамид-индуцированного апоптоза. Особенно это проявляется в период реперфузии, что указывает на то, что и после завершения операции клетки находятся в состоянии активации гибели. При этом есть определенный процент клеток, в которых аутофагия препятствует гибели клеток.

При анализе клеток в состоянии аутофагии мы использовали окраску на белки – маркёры аутофагии, такие, как Beclin1, Atg, LC3 и т.д. Это позволило оценить процент клеток, в которых сигналы аутофагии активированы. Известно, что процесс аутофагии весьма ограничен по времени, для разных типов клеток этот период различается, но общее одно – если в определённое время не восстанавливается приток макронутриентов и энергии в клетку, то в ней активируются сигналы апоптоза или некроза, причём, необратимо. Через 3 часа после начала операции процент клеток с активированными сигналами аутофагии был намного выше процента клеток в апоптозе или некрозе, что указывает на то, что в этот период времени восстановление жизнедеятельности клеток весьма вероятно.

Что касается некроптоза, то нами показано, что его сигналы активированы только в минимальном проценте клеток в контроле и достоверно возрастают в состоянии реперфузии. Интересно, что мы не получили достоверных различий по проценту некроза клеток в зависимости от возраста пациентов, при том, что процент апоптоза повышался с возрастом.

Дополнительно мы провели исследование (совместно с коллегами из Сеченовского университета, кафедра стоматологии), касающееся влияния хронической патологии зубов на послеоперационные осложнения после лифтинга лица. Несмотря на санацию зубов перед операцией, у пациентов с хроническим пульпитом и периодонтитом процент осложнений был выше, чем у пациентов без патологии зубов. Это указывает на важность сбора анамнеза перед операцией, чтобы оценивать все возможные риски развития осложнений.

Таким образом показано, что операция по коррекции контуров лица сопровождается процессами гибели клеток разными путями, которые требуют коррекции метаболических нарушений в клетках. Для уточнения возможности улучшить метаболизм клеток, мы провели небольшое исследование. Группа пациентов добровольно в течение 3 недель месяца до начала операции лифтинга лица принимала препараты, повышающие энергетический потенциал митохондрий. При анализе послеоперационного состояния данных пациентов мы получили некоторое снижение числа осложнений и укорочение послеоперационного периода. Полученные первые обнадеживающие результаты, что можно купировать негативные последствия ишемии/реперфузии терапевтическими способами. Работа, несомненно, будет продолжена для получения еще более убедительных данных.

ВЫВОДЫ

- 1) Установлено, что операция по коррекции лица сопровождается активацией процессов аутофагии в клетках кожи и подкожно-жировой ткани. Экспрессия белков, сопряженных с аутофагией, снижается с возрастом.
- 2) Показано изменение мембранного потенциала митохондрий в клетках, в которых активированы процессы аутофагии.
- 3) Показано, что в клетках кожи при операции лифтинга лица активированы сигнальные пути апоптоза, что отражается на повышении уровня индуцированного С2-церамидом апоптоза. Возрастные изменения кожи обуславливают более высокий риск развития послеоперационных осложнений, связанных с гибелью клеток кожи после операции.
- 4) Наличие загара обуславливает повышение уровня индуцированного С2-церамидом апоптоза, указывает на готовность клеток кожи к гибели при возникновении неблагоприятных факторов, в том числе ишемии, вызванной оперативным вмешательством на тканях лица.
- 5) Применение клеточных энергетиков в течение 21 дня до операции достоверно повышает энергетический статус митохондрий клеток и их выживаемость, что положительно влияет на сроки заживления послеоперационной раны (коэнзима Q, L-карнитина), снижает риск развития гематомы, некроза в области послеоперационного рубца (янтарная кислота).
- 6) Наличие хронических заболеваний зубов (кариес дентина, пульпит, хронический периодонтит, клиновидный дефект зуба) оказывает негативное влияние на состояние клеток локальной иммунной системы ротовой полости у пациентов пластических хирургов, что негативно влияет на течение послеоперационного периода после проведения операции лифтинга лица.
- 7) Состояние клеток подкожно-жировой клетчатки, а также активация в них сигнальных путей апоптоза, является патофизиологической основой для развития послеоперационных осложнений.

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
M – молярность
ММР – матриксные металлопротеиназы
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
P2X – пуринэргические рецепторы
pH – концентрация ионов водорода
РНК – рибонуклеиновая кислота
УЗИ – ультразвуковое исследование
УФ – ультрафиолет
ЦНС – центральная нервная система
ЭКГ – электрокардиограмма
ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка
Ab – антитело
Ag – антиген
AIF – фактор, индуцирующий апоптоз
ATF6 – сигнальные белки стресса эндоплазматического ретикулума
ATG – сигнальные белки аутофагии
Bcl2 – семейство белков, играющих роль в апоптозе
Beclin-1 – белок аутофагии
BECN1 – ген аутофагии
BNIP3/NIX – белки, сопряженные с митохондрией
CARD – домен, рекрутируемый каспазой
CD – кластеры дифференцировки
CD95/Fas – рецептор сигнального пути апоптоза
Cer – церамид
CTGF (connective tissue growth factor) – фактор роста соединительной ткани
CTL – цитотоксические Т-лимфоциты
DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением
DAP – белки, ассоциированные с гибелью клетки
DISC (Death Inducing Signaling Complex) – сигнальный комплекс
DMEM – Дальбекко модифицированная среда Игла
dsДНК – двунитевая ДНК
ECM – экстраклеточный матрикс
ECV – экстраклеточные везикулы
ER – эндоплазматический ретикулум
ERK – киназа, передающая сигнал от внеклеточных стимулов
F(ab)2 – фрагмент иммуноглобулина, связывающий антиген
FACS – флуоресцентно – активирующий клеточный сортер
Fas-L – лиганд Fas-рецептора
FGFR2b (Fibroblast Growth Factor Receptor 2) – рецептор фактора роста фибробластов

FITC (fluorescein isothiocyanate) – флуоресцеин изотиоцианат
 FUNDC1 – белок, сопряженный с митохондрией
 g – единица гравитации
 GCSF – гранулоцитарный колонестимулирующий фактор
 GRP78 – сигнальные белки стресса эндоплазматического ретикулума
 HIF-1 α – индуцибельный фактор гипоксии
 HIP (histone interacting protein) – белок, регулирующий гистоны
 HSP – белки теплового шока
 Hsc70 – когнатный белок теплового шока
 i.p. – интраперитонеально
 IFN- γ – интерферон гамма
 Ig – иммуноглобулин
 IL – интерлейкин
 IP-10 – интерферон- γ индуцибельный белок-1
 IRE1 α – сигнальные белки стресса эндоплазматического ретикулума
 IRF5 – интерферон- γ регуляторный фактор-5
 I κ B – ингибитор
 JC-1 – митохондриальный краситель
 L – лиганд
 LAMP2 – маркер шаперон-зависимой аутофагии
 LC3 – микротрубочковый-ассоциированный белок-1, легкая цепь-3
 Lck – специфическая тирозинкиназа (РТК) лимфоцитов
 mAb – моноклональные антитела
 МММ – мембраны эндоплазматического ретикулума, связанные с митохондриями
 MAPK – митогенактивированная протеинкиназа
 MIF (macrophage migration inhibitory factor)
 MOMP – пермеабиллизация наружной мембраны митохондрий
 mtDNA – митохондриальная ДНК
 mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) – киназа mTOR
 mTORC1 – первый комплекс киназы mTOR
 NAIP5 NLR family, apoptosis inhibitory protein – ингибитор апоптоза
 NETs (traps) – нейтрофильные экстраклеточные частицы
 NF- κ B – ядерный фактор транскрипции
 NK – натуральные киллеры
 NKT клетки – натуральные киллерные лимфоциты
 NLRP3 – белок инфламмасом
 NO – окись азота
 NOS – синтаза окиси азота
 Nox1-4 (NADPH oxidases 1–4) – НАДФ оксидаза 1–4
 NRF2 – ядерный фактор
 PAK-2 – p21-ассоциированная киназа
 PAR-1 – протеазо-активированный рецептор
 PBS – фосфатный буферный раствор
 PERK – сигнальные белки стресса эндоплазматического ретикулума

PI – пропидиум иодид
PINK1 – белок, сопряженный с митофагией
PKB – протеинкиназа В
PKC – протеинкиназа С
PLA2 – фосфолипаза А2
PLC – фосфолипаза С
PLD – фосфолипаза D
PTK – протеинтирозинкиназа
PTP – транзитные поры в мембране митохондрий
R – рецептор
RANKL – сигнальный белок
RIPK3 (Receptor-interacting Protein Kinase 3) – сигнальный белок
ROS – реактивные метаболиты кислорода
RPMI 1640 – среда для культивирования клеток
s – (soluble), растворимый
SASP –секреторный фенотип клеток при старении
STAT (signal transducer and activator of transcription) – сигнальный белок
TGF- β – трансформирующий ростовой фактор бета
Th1 – Т хелперы первого порядка
Th2 – Т хелперы второго порядка
TLR (Toll-like receptor) – толл-подобные рецепторы
TNF- α – фактор некроза опухолей альфа
TRAF – TNF-рецептор ассоциированный фактор
TRAIL – лиганд, ассоциированный с рецептором TNF- α
XBP1 – сигнальные белки стресса эндоплазматического ретикулума
 $\Delta\Psi$ – мембранный потенциал митохондрий

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамян Ш.М., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Роль клеточных энергетиков в купировании некроза тканей лица, Всеармейская научно-практическая конференция, посвященная 95-летию со дня рождения член-корр. РАМН, проф. Г.И. Алексеева «Актуальные вопросы военно-полевой терапии» 27 октября 2017, СПб., Материалы конференции // Вестник Российской Военно-медицинской Академии. - 2017. – Т.4, №60 (Приложение 1). – С.97.
2. Абрамян Ш.М., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Роль лимфоцитов кожи и подкожно-жировой ткани в развитии осложнений после операции лифтинга лица // Трансляционная медицина. – 2017. – (Приложение 3). – С.6.
3. Абрамян Ш.М., Волкова Е.Н., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Возрастные особенности экспрессии маркёров аутофагии в клетках кожи пациентов с лифтингом лица // Патогенез. – 2018. – Т.16, №4. – С.174-177.
4. Абрамян Ш.М., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Влияние возраста и загара на экспрессию вторичных мессенджеров сигнальных путей некроптоза в клетках кожи при операции лифтинга лица // Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. – 2022. – Т.174, №12. – С.674-677.
5. Абрамян Ш.М., Кандалова О.В., Волкова Е.Н., Найденов Н.П., Морозов С.Г. Измерение уровня экспрессии вторичных мессенджеров апоптоза в клетках кожи, выделенных из операционного материала при проведении операции лифтинга лица у пациенток разных возрастных групп // Патологическая Физиология и Экспериментальная Терапия. – 2022 – Т.66, №4. – С.107-114.
6. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Особенности кожи и их роль в пластической хирургии лица, С.5-7. Всероссийская научно-практическая конференция «Боткинские чтения». Сборник тезисов // Под редакцией академика РАН В.И. Мазурова, Санкт-Петербург: Изд-во «Человек и его здоровье», 2017. – 319с.
7. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Изучение состояния сигнальных путей апоптоза в клетках при проведении пластических операций на лице. Материалы конференции «Пластическая хирургия в России. Актуальные вопросы микрохирургии», посвященной памяти профессора Н.О. Миланова, февраль 2017, Москва // Анналы пластической реконструктивной и эстетической хирургии. – 2017. – №1. – С.70-71.
8. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Определение уровня спонтанного и индуцированного апоптоза клеток, полученных из операционного материала при лифтинге лица // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.63-68.

9. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Сравнение числа осложнений при проведении пластических операций на лице у женщин, принимавших препараты, повышающие энергетический статус клеток, №1831. Тезисы Национального хирургического конгресса совместно с XX юбилейным съездом РОЭХ, Москва // Альманах Института хирургии им. А.В. Вишневского. – 2017. – №1. – С.1542.
10. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Факторы риска развития микозов лица как осложнение после пластической хирургии головы и шеи // Успехи медицинской микологии. – Т.ХVII. – С.234-236. Москва, Издательство Национальной академии микологии, 2017. – 486 с.
11. Абрамян Ш.М., Рожнова Е.В., Волкова Е.Н., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Роль клеток иммунной системы ротовой полости в послеоперационных осложнениях при лифтинге лица // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т.62, №4. – С. 174-178.
12. Абрамян Ш.М., Рожнова Е.В., Иванченко О.Б., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Роль одонтогенной инфекции в развитии осложнений после операций лифтинга лица, С.7. Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии», 21-22 ноября 2017 года, Санкт-Петербург. Из-во Военно-медицинской академии, 2017. – 105 с.
13. Абрамян Ш.М., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Экспрессия белков, сопряженных с аутофагией, как прогностические маркеры развития апоптоза и воспалительного процесса в тканях кожи лица после операции / Сборник тезисов Сеченовского Международного Биомедицинского Саммита 2017 (СМБС-2017), 16-20 июня 2017 г., С. 28-29. - М.: Изд-во ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, 2017, 106 с.
14. Абрамян Ш.М., Морозов С.Г. Некоторые особенности обследования и лечения больных, перенесших тяжёлую инфекционную патологию, перед проведением пластической операции на лице / Материалы Международной научно-практической конференции «Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых», посвященной 140-летию со дня рождения профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, 15-16 мая 2017, Симферополь. – С. 3-4
15. Абрамян Ш.М. Изучение молекулярных механизмов ишемии – реперфузии и её значение для пластической хирургии / Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье. Тезисы XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей 22 апреля 2017, Санкт-Петербург. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2017. – Т. 20. - С. 17-18.

16. Авдошенко К.Е., Постникова Е.В. Роль лазерной доплеровской флоуметрии в оценке рисков возникновения трофических нарушений в кожно-жировых лоскутах боковых отделов лица и шеи при омолаживающих операциях у курящих пациентов // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2023. – №4. – С.37-43.
17. Андриющенко О.А., Вербо Е.В., Миронцев А.В. Топографо-анатомическое обоснование методики устранения возрастных изменений лица в глубоком клетчаточном пространстве // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2024. – №1. – С.21-30.
18. Артамонова З.А. Закономерности изменений показателей клеточного иммунитета, апоптоза и тканевого фактора в патогенезе острой мезентериальной ишемии и их прогностическое значение: дис. ... кандидата медицинских наук: 14.03.03 // МЗ РФ ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Иркутск, 2016. – 138с.
19. Атрощенко В. Г. Роль изменений свободно-радикального окисления в механизме формирования реперфузионного синдрома и возможность его медикаментозной профилактики: дис. ... кандидата медицинских наук: 14.00.16, 14.00.27 // «Новосибирская Государственная медицинская академия МЗ РФ. – Новосибирск, 2002. – 295с.
20. Байбурина Г.А. Особенности формирования адаптационно-компенсаторных реакций в зависимости от базовой толерантности к гипоксии (экспериментальное исследование): автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 3.3.3 // ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ. – Саранск, 2021. – 46с.
21. Байтингер В.Ф., Селянинов К.В. Реперфузионный синдром: сосудистые проявления в кожно-фациальных лоскутах // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №2. – С.40-47.
22. Борисенко А.С., Шаробаро В.И., Шарашова Н.С., Бурхонова Н.С., Авдеев А.Е. Современные хирургические методы омоложения нижней трети лица и шеи. Обзор литературы // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2023. – №4. – С.64-72.
23. Бычкова Н.Ю. Амбулаторный скрининг и профилактика осложнений при коррекции возрастных изменений периорбитальной области при диспластическом фенотипе // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2022. – №4. – С.84-94.
24. Вербо Е.В., Мантурова Н.Е., Орлова Ю.М. Развитие реконструктивной хирургии лица в разрезе исторического аспекта специальности в мировом масштабе // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №1. – С.94-105.

25. Вербо Е.В., Орлова Ю.М. Андриященко О.Ю., МIRONCEB A.B. Тенденция развития омолаживающих операций на лице и особенности выполнения высокой мобилизации ПМАС // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2023. – №3. – С.34-45.
26. Воронков Н.С., Маслов Л.Н. Роль аутофагии в ишемическом и реперфузионном повреждении сердца // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2020. – Т.106, №2. – С.135-156.
27. Гуревич К.Г., Ураков А.Л., Фишер Е.Л., Абзалилов Т.А., Хайрзаманова К.А., Ягудин Т.А., Самородов А.В. Возможности фармакологической коррекции реперфузионного повреждения ишемизированного миокарда // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2021. – Т.19, №3. – С. 259-267.
28. Джалилова Д.Ш. Морфологические и молекулярно-биологические особенности системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии: диссертация кандидата биологических наук: 03.03.04 // ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека». – Москва, 2019. – 295с.
29. Дикарев А.С., Мантарджиев Д.В., Циненко Д.И. Контурная пластика лица пористыми имплантатами как вспомогательная мера оптимизации результатов хирургического омоложения // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №1. – С.36-43.
30. Еленская Ю.М., Вербо Е.В., Мантурова Н.Е. Эффективность сочетанной методики блефаропластики и липофилинга в средней трети лица // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2024. – №3. – С.5-12.
31. Елистратова И.В., Тарасова М.В., Морозов С.Г. Динамика генерации супероксидного аниона нейтрофилами крови больных атопическим дерматитом в молодом возрасте // Патогенез. – 2015. – Т.13, №4. – С.41-46.
32. Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А. Реперфузионное повреждение тканей в хирургии артерий нижних конечностей // Новости Хирургии. – 2015. – Т.23, №3. – С.348-352.
33. Кандалова О.В., Таратутина Т.В., Мартынова Е.А. Сравнение спонтанного и керамид-индуцированного апоптоза в клетках кожи больных атопическим дерматитом, экземой и псориазом // Патогенез. – 2012. – Т.10, №4. – С.60-65.
34. Кандалова О.В., Ключникова Д.Е., Абрамян Ш.М. Состояние иммунной системы полости рта при бактериальной и грибковой микст-инфекции / Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы экспериментальной микробиологии: теория, методология, практика, инноватика», 19

- мая 2022 г. Курск. – С. 96-101. Изд-во Курского государственного медицинского университета, 2022. – 204 с.
35. Кандалова О.В., Абрамян Ш.М., Ключникова Д.Е. Возрастные изменения иммунной системы кожи лица и их роль в осложнениях при лифтинге лица / 16 Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов 14-16 марта 2023 г., Москва. Сборник трудов. – С. 49-50.
36. Копасов А.Е. Патогенетическое обоснование влияния ожирения на осложнения после абдоминопластики: автореферат дис. ...кандидата медицинских наук: 3.3.3 // «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (НИИОП). – Москва, 2021. – 24с.
37. Мантурова Н.Е., Рахимов А.Я., Вербо Е.В., Татаурщикова Н.С., Абдулаева С.В. Метод объективной оценки факторов риска при коррекции контуров тела // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2023. – №4. – С.35-39.
38. Мнацаканян Г.В. Осложнения хирургического лечения у больных с острой ишемией нижних конечностей: автореферат дис. ...кандидата медицинских наук: 3.1.15 // ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 24с.
39. МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» (<https://docs.cntd.ru/cument/1200044664>).
40. Мухомедзянов А.В. Предупреждение реперфузионного повреждения сердца с помощью дистантного посткондиционирования и агонистов опиоидных рецепторов: диссертация кандидата медицинских наук: 14.03.06, 14.03.03 // ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет». – Томск, 2020. – 108с.
41. Нарыжная Н.В. Опиоидные рецепторы и внутриклеточные сигнальные механизмы, опосредующие кардиопротекторный эффект адаптации к хронической гипоксии: автореферат дис. ...доктора медицинских наук: 14.03.03, 03.03.01 // ФГБНУ «Научно-исследовательский институт кардиологии». – Томск, 2016. – 43с.
42. Орлов Ю.П., Бутров А.В., Свиридов С.В., Афанасьев В.В. Сукцинаты в решении «кислородного парадокса» реперфузии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2022. – Т.122, №9. – С.63-69.
43. Пшенников А.С. Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей: диссертация доктора медицинских наук: 14.01.26 // ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ. – Рязань, 2018. – 201с.

44. Торопова Я.Г. Экспериментальное обоснование использования липосомальной формы эмоксипина (производного 3-оксипиридина) для коррекции ишемических и реперфузионных повреждений миокарда: автореферат дис. ...кандидата биологических наук: 14.03.03 // ФГБОУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН. – Санкт-Петербург, 2013. – 21с.
45. Указ Президента РФ от 24.12.93 № 2288 «Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан».
46. Яковенко Д.В. Закономерности изменения анаболических процессов при окислительном стрессе и его коррекции дигидрохверцетином у белых крыс: диссертация кандидата биологических наук: 3.3.3 // ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет». – Хабаровск, 2021 – 165с.
47. Adameova A., Horvath C., Abdul-Ghani S., Varga Z., Suleiman M., Dhalla N. Interplay of oxidative stress and necrosis-like cell death in cardiac ischemia/reperfusion injury: A Focus on necroptosis // *Biomedicines*. – 2022. – Vol.10, N.1. – P.127-132.
48. Agarwal P., Kumar A., Sharma D. Feasibility of type III venous flap in coverage of hand defects following trauma and burns // *J. Clin. Orthop. Trauma*. – 2016. – Vol.7, (Suppl 2). – P.150-153.
49. Aitcheson S., Frentiu F., Hurn S., Edwards K., Murray R. Skin wound healing: Normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds // *Molecules*. – 2021. – Vol.26, N.16. – P.4917-4921.
50. Alafiatayo A., Lai K., Ahmad S., Mahmood M., Shaharuddin N. RNA-Seq analysis revealed genes associated with UV-induced cell necrosis through MAPK/TNF-alpha pathways in human dermal fibroblast cells as an inducer of premature photoaging // *Genomics*. – 2020. – V.112, N.1. – P.484-493.
51. Al-Botaty B., Elkhoely A., K El-Sayed E., Ahmed A. Ethyl pyruvate attenuates isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: Insight to TNF- α -mediated apoptotic and necroptotic signaling interplay // *Int. Immunopharmacol.* – 2022. – Vol.103. – P.108495.
52. Alganabi M., Biouss G., Ganji N., Yamoto M., Lee C., Li B., Pierro A. Remote ischemic conditioning causes CD4 T cells shift towards reduced cell-mediated inflammation // *Pediatr. Surg. Int.* – 2022. – Vol.38, N.5. – P.657-664.
53. Antunovic M., Matic I., Nagy B., Caput Mihalic K., Skelin J., Stambuk J, et al. FADD-deficient mouse embryonic fibroblasts undergo RIPK1-dependent apoptosis and autophagy after NB-UVB irradiation // *J. Photochem. Photobiol. B*. – 2019, Vol.194.- P.32–45.
54. Appelqvist H., Wäster P., Eriksson I., Rosdahl I., Ollinger K. Lysosomal exocytosis and

- caspase-8-mediated apoptosis in UVA-irradiated keratinocytes // *J. Cell. Sci.* – 2013. – Vol.126, Pt.24. – P.5578-5584.
55. Aranda Salomão P., de Oliveira F., Dos Santos D., Domezi J., Dionísio T., de Oliveira R., Magalhães A. TiF4 and NaF varnishes induce low levels of apoptosis in murine and human fibroblasts through mitochondrial Bcl-2 family and death receptor signalling // *Arch. Oral Biol.* – 2019. – Vol.97. – P.245-252.
 56. Arnal-Forné M., Molina-García T., Ortega M., Marcos-Garcés V., Molina P., Ferrández-Izquierdo A. et al. Changes in human skin composition due to intrinsic aging: a histologic and morphometric study // *Histochem. Cell. Biol.* – 2024. – Vol.162, N.4. – P.259-271.
 57. Atkin-Smith G. Phagocytic clearance of apoptotic, necrotic, necroptotic and pyroptotic cells // *Biochem. Soc. Trans.* – 2021. – Vol.49, N.2. – P.793-804.
 58. Aydin D., Berg J. Subcutaneous encapsulated fat necrosis // *Clin. Case Rep.* – 2016. – Vol.4, N.4. – P.456-457.
 59. Azzouz D., Khan M., Swezey N., Palaniyar N. Two-in-one: UV radiation simultaneously induces apoptosis and NETosis // *Cell. Death Discov.* – 2018. – Vol.4. – P.51-56.
 60. Backe S., Sager R., Heritz J., Wengert L., Meluni K., Aran-Guiu X. et al., Activation of autophagy depends on Atg1/Ulk1-mediated phosphorylation and inhibition of the Hsp90 chaperone machinery // *Cell. Rep.* – 2023. – Vol.42, N.7. – P.112807.
 61. Baek M., Kim M., Lim J., Morales L., Hernandez J., Mummidi S. et al. Epidermal-specific deletion of TC-PTP promotes UVB-induced epidermal cell survival through the regulation of Flk-1/JNK signaling // *Cell. Death Dis.* – 2018. – Vol.9, N.7. – P.730-736.
 62. Bakry O., Samaka R., Fayez N., Seleit I. Krox20 expression in abnormal scars: An immunohistochemical study // *J. Cosmet. Dermatol.* – 2022. – Vol.21, N.10. – P.5116-5126.
 63. Bento-Lopes L., Cabaço L., Charneca J., Neto M., Seabra M., Barral D. Melanin's journey from melanocytes to keratinocytes: Uncovering the molecular mechanisms of melanin transfer and processing // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol.24, N.14. – P.11289.
 64. Berry C., Le T., An N., Griffin M., Januszyk M., Kendig C. et al. Pharmacological and cell-based treatments to increase local skin flap viability in animal models // *J. Transl. Med.* – 2024. – Vol.22, N.1. – P.68-72.
 65. Bertolo A., Capossela S., Fränkl G., Baur M., Pötzel T., Stoyanov J. Oxidative status predicts quality in human mesenchymal stem cells // *Stem Cell. Res. Ther.* – 2017. – Vol.8, N.1. – P.3-8.
 66. Beyfuss K, Hood D. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle // *Redox Rep.* – 2018. – Vol.23, N.1. – P.100-117.

67. Bi G., Zhou J. Regulation of cell death and signaling by pore-forming resistosomes // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2021. – Vol.59. – P.239-263.
68. Black C., Samuni A., Cook J., Krishna C., Kaufman D., Malech H., Russo A. Kinetics of superoxide production by stimulated neutrophils // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1991. – Vol.286, N.1. – P.126-131.
69. Boahene K., Brissett A., Jones L. Facial plastic surgery controversies: keloids // *Facial. Plast. Surg. Clin. North. Am.* – 2018. – Vol.26, N.2. – P.105-112B.
70. Boismal F., Peltier S., Ly-Ka-So S., Chevreux G., Blondel L., Serror K. et al. Proteomic and secretomic comparison of young and aged dermal fibroblasts highlights cytoskeleton as a key component during aging // *Aging (Albany NY).* – 2024. – Vol.16, N.16. – P.11776-11795.
71. Buitrago M., Aguado J., Ballen A., Bernal-Martinez L., Prieto M., Garcia-Reyne A. et al. Efficacy of DNA amplification in tissue biopsy samples to improve the detection of invasive fungal disease // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2013. – Vol.19, N.6. – P.E271-E277.
72. Buja M. Pathobiology of myocardial and cardiomyocyte injury in ischemic heart disease: Perspective from seventy years of cell injury research // *Exp. Mol. Pathol.* – 2024. – Vol.140. – P.104944.
73. Burgoyne J. Oxidative stress impairs autophagy through oxidation of ATG3 and ATG7 // *Autophagy.* – 2018. – Vol.14, N.6. – P.1092-1093.
74. Caberlotto E., Ruiz L., Miller Z., Poletti M., Tadlock L. Effects of a skin-massaging device on the *ex vivo* expression of human dermis proteins and *in vivo* facial wrinkles // *PLoS One.* – 2017. – Vol.12, N.3. – P.e0172624.
75. Caiazza G., Parisi M., Luciano M., DI Caprio R., Gallo L., Cacciapuoti S. et al. Beneficial effects of Rocchetta® oligomineral water in HaCaT keratinocytes after ultraviolet-B irradiation // *Ital. J. Dermatol. Venerol.* – 2022. – Vol.157, N.4. – P.335-341.
76. Cardenas D., Cincalir T., Dogaroiu A., Hinson C., Sink M., Bruce B. et al. Wound coverage, adjuvant treatments, and surgical outcomes for major keloid scars: A systematic review and meta-analysis // *Aesthet. Surg. J. Open. Forum.* – 2024. – Vol.7. – P.129-135.
77. Carvalho Brinca A., de Castro Pinho A., Costa Vieira R. Blood perfusion of random skin flaps in humans. *In Vivo* assessment by laser speckle contrast imaging // *Dermatol. Surg.* – 2021. – Vol.47, N.11. – P.1421-1426.
78. Cavinato M., Koziel R., Romani N., Weinmüllner R., Jenewein B., Hermann M. et al. UVB-induced senescence of human dermal fibroblasts involves impairment of proteasome and enhanced autophagic activity // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* – 2017. – Vol.72, N.5. – P.632-639.

79. Cavinato M., Madreiter-Sokolowski C., Büttner S., Schosserer M., Zwerschke W., Wedel S. et al. Targeting cellular senescence based on interorganelle communication, multilevel proteostasis, and metabolic control // *FEBS J.* – 2021. – Vol.288, N.12. – P.3834-3854.
80. Chen J., Tai M., Chen J., Ni J., Yi H., Chen L. et al. Panax ginseng extract prevents UVB-induced skin photodamage by modulating VMP1-mediated ER stress // *Phytomedicine.* – 2024. – Vol.134. – P.156010.
81. Chen S., Feng X., Chen X., Zhuang Z., Xiao J., Fu H. et al. 14-3-3 γ , a novel regulator of the large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2020. – Vol.319, N.1. – P.F52-F62.
82. Chen X., Li M., Li L., Xu S., Huang D., Ju M. et al. Trehalose, sucrose and raffinose are novel activators of autophagy in human keratinocytes through an mTOR-independent pathway // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol.6. – P.28423.
83. Chen Y., Zhang S., Qu L. The protective effect of *Artemisia Capillaris* thunb. extract against UVB-induced apoptosis and inflammation through inhibiting the cGAS/STING pathway // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2024. – Vol.258. – P.112989.
84. Cheng Q., Li X., Wang Y., Dong M., Zhan F., Liu J. The ceramide pathway is involved in the survival, apoptosis and exosome functions of human multiple myeloma cells in vitro // *Acta. Pharmacol. Sin.* – 2018. – Vol.39, N.4. – P.561-568.
85. Chien A., Qi J., Cheng N., Do T., Mesfin M., Egbers R. et al. Perioral wrinkles are associated with female gender, aging, and smoking: Development of a gender-specific photonumeric scale // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2016. – Vol.74, N.5. – P.924-930.
86. Cho H., Dohi T., Wakai H., Quong W., Linh N., Usami S., Ogawa R. In the face and neck, keloid scar distribution is related to skin thickness and stiffness changes associated with movement // *Wound. Repair. Regen.* – 2024. – Vol.32, N.4. – P.419-428.
87. Cho K., Morris D., Lumeng C. Flow cytometry analyses of adipose tissue macrophages // *Methods Enzymol.* – 2014. – Vol.537. – P.297-314.
88. Chon S., Pappas A. Differentiation and characterization of human facial subcutaneous adipocytes // *Adipocyte.* – 2014. – Vol.4, N.1. – P.13-21.
89. Christgen S., Tweedell R., Kanneganti T. Programming inflammatory cell death for therapy // *Pharmacol. Ther.* – 2021. – P.108010.
90. Chu J., Xiang Y., Lin X., He M., Wang Y., Ma Q., Duan J., Sun S. Handelin protects human skin keratinocytes against ultraviolet B-induced photodamage via autophagy activation by regulating the AMPK-mTOR signaling pathway // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2023. – Vol.743. – P.109646.

91. Chun N., Ang R., Chan M., Fairchild R., Baldwin W., Horwitz J. et al. T cell-derived tumor necrosis factor induces cytotoxicity by activating RIPK1-dependent target cell death // *JCI Insight*. – 2021. – Vol.6, N.24. – P.e148643.
92. Cohen A., Nikbakht N., Uitto J. Keloid disorder: genetic basis, gene expression profiles, and immunological modulation of the fibrotic processes in the skin // *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol.* – 2023. – Vol.15, N.7. – P.a041245.
93. Cotofana S., Fratila A., Schenck T., Redka-Swoboda W., Zilinsky I., Pavicic T. The anatomy of the aging face: A review // *Facial Plast. Surg.* – 2016. – Vol.32, N.3. – P.253-260.
94. Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes // *Cytometry. Part A*. – 2011. – Vol.79A. – P.405-425.
95. Cottom H., Gallagher J., Dhariwal D., Abu-Serriah M. Odontogenic cervico-fascial infections: a continuing threat // *J. Ir. Dent. Assoc.* – 2013. – Vol.59, N.6. – P. 301-307.
96. Croft M., Siegel R. Beyond TNF: TNF superfamily cytokines as targets for the treatment of rheumatic diseases // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2017. – Vol.13, N.4. – P.217–233.
97. Cui J., Zhao S., Li Y., Zhang D., Wang B., Xie J., Wang J. Regulated cell death: discovery, features and implications for neurodegenerative diseases // *Cell. Commun. Signal.* – 2021. – Vol. 19, N.1. – P.120-125.
98. Czabotar P., Garcia-Saez A. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2023. – Vol.24, N.10. – P.732-748.
99. Dannappel M., Vlantis K. Kumari S., Polykratis A., Kim C., Wachsmuth L. et al. RIPK1 maintains epithelial homeostasis by inhibiting apoptosis and necroptosis // *Nature*. – 2014. – Vol.513, N.7516. – P.90-94.
100. D'Arcy M. Mitophagy in health and disease. Molecular mechanisms, regulatory pathways, and therapeutic implications // *Apoptosis*. – 2024. – Vol.29, N.9-10. – P.1415-1428.
101. Delanghe T., Huyghe J., Lee S., Priem D., Van Coillie S., Gilbert B. et al. Antioxidant and food additive BHA prevents TNF cytotoxicity by acting as a direct RIPK1 inhibitor // *Cell. Death Dis.* – 2021. – Vol.12, N.7. – P.699-702.
102. Deng C., Xu X., Zhang Y., Liu L., Wang X., Chen J. et al. Single-cell RNA-seq reveals immune cell heterogeneity and increased Th17 cells in human fibrotic skin diseases // *Front. Immunol.* – 2025. – Vol.15. – P.1522076.
103. Deng J., Gutiérrez L., Stoll G., Motiño O., Martins I., Núñez L. et al. Paradoxical implication of BAX/BAK in the persistence of tetraploid cells // *Cell. Death. Dis.* – 2021. – Vol.12, N.11. – P.1039-1045.
104. Deng Y., Xu J., Zhang X., Yang J., Zhang D., Huang J. et al. Berberine attenuates

- autophagy in adipocytes by targeting BECN1 // *Autophagy*. – 2014. – Vol.10, N.10. – P.1776-1786.
- Dery K., Wong Z., Wei M., Kupiec-Weglinski J. Mechanistic insights into alternative gene splicing in oxidative stress and tissue injury // *Antioxid. Redox Signal.* – 2024. – Vol.41, N.13-15. – P.890-909.
105. Dojo Soeandy C., Elia A., Cao Y., Rodgers C., Huang S., Elia A., Henderson J. Necroptotic-apoptotic regulation in an endothelin-1 model of cerebral ischemia // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2021. – Vol.41, N.8. – P.1727-1742.
106. Doleckova I., Vidovic T., Jandova L., Gretzmeier C., Navarini A., MacArthur M. et al. Calpain inhibition protects against UVB-induced degradation of dermal-epidermal junction-associated proteins // *J. Invest. Dermatol.* – 2024. – Vol.144, N.9. – P.2103-2107.
107. Dolińska E., Skurska A., Pietruska M., Dymicka-Piekarska V., Milewski R., Pietruski J. et al. The effect of nonsurgical periodontal therapy on HNP1-3 level in gingival crevicular fluid of chronic periodontitis patients // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. – 2017. – Vol.65, N.4. – P.355-361.
108. Dominic A., Le N., Takahashi M. Loop between NLRP3 inflammasome and reactive oxygen species // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2022. – Vol.36, N.10-12. – P.784-796.
109. Duan X., Liu X., Liu N., Huang Y., Jin Z., Zhang S., Ming Z., Chen H. Inhibition of keratinocyte necroptosis mediated by RIPK1/RIPK3/MLKL provides a protective effect against psoriatic inflammation // *Cell. Death Dis.* – 2020. – Vol.11, N.2. – P.134-137.
110. Eckl E., Ziegemann O., Krumwiede L., Fessler E., Jae L. Sensing, signaling and surviving mitochondrial stress // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2021. – Vol.78, N.16. – P.5925-5951.
111. Edtinger K., Yang X., Uehara H., Tullius S. Current status of vascularized composite tissue allotransplantation // *Burns Trauma*. – 2014. – Vol.2, N.2. – P.53-60.
112. Elefantova K., Lakatos B., Kubickova J., Sulova Z., Breier A. Detection of the mitochondrial membrane potential by the cationic dye JC-1 in L1210 cells with massive overexpression of the plasma membrane ABCB1 drug transporter // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol.19, N.7. – P.1985-1989.
113. Elks C., Zhao P., Grant R., Hang H., Bailey J., Burk D. et al. Loss of oncostatin M signaling in adipocytes induces insulin resistance and adipose tissue inflammation in vivo // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol.291, N.33. – P.17066-17076.
114. Emhemmed F., Azouaou S., Hassan S., Lefebvre R., Désaubry L., Muller C., et al. The synthetic flavagline FL3 spares normal human skin cells from its cytotoxic effect via an activation of Bad // *Toxicol. In Vitro*. – 2019. – Vol.60. – P.27-35.
115. Endo K., Katsuyama Y., Taira N., Yoshioka M., Okano Y., Masaki H. Impairment of the

- autophagy system in repetitively UVA-irradiated fibroblasts // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2020. – Vol.36, N.2. – P.111-117.
- 116.Ezure T., Yagi E., Amano S., Matsuzaki K. Dermal anchoring structures: convex matrix structures at the bottom of the dermal layer that contribute to the maintenance of facial skin morphology // *Skin Res. Technol.* – 2016. – Vol.22, N.2. – P.152-157.
 - 117.Falcone D., Richters R., Uzunbajakava N., Van Erp P., Van De Kerkhof P. Sensitive skin and the influence of female hormone fluctuations: results from a cross-sectional digital survey in the Dutch population // *Eur. J. Dermatol.* – 2017. – Vol.27, N.1. – P. 42-48.
 - 118.Fan X., Wu L., Wang F., Liu D., Cen X., Xia H. Mitophagy regulates kidney diseases // *Kidney Dis (Basel).* – 2024. – Vol.10, N.6. – P.573-587.
 - 119.Fede C., Albertin G., Petrelli L., Sfriso M., Biz C., De Caro R., Stecco C. Hormone receptor expression in human fascial tissue // *Eur. J. Histochem.* – 2016. – Vol.60, N.4. – P.2710.
 - 120.Feoktistova M., Makarov R., Yazdi A., Panayotova-Dimitrova D. RIPK1 and TRADD regulate TNF-induced signaling and ripoptosome formation // *It. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.22. – P.12459.
 - 121.Fine N., Hassanpour S., Borenstein A., Sima C., Oveisi M., Scholey J. et al. Distinct oral neutrophil subsets define health and periodontal disease states // *J. Dent. Res.* – 2016. – Vol.95, N.8. – P.931-938.
 - 122.Fox J., Hughes M., Meng X., Sarnowska N., Powley I., Jukes-Jones R., et al. Cryo-EM structural analysis of FADD / Caspase-8 complexes defines the catalytic dimer architecture for coordinated control of cell fate // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol.12, N.1. – P.819-822.
 - 123.Frank D., Vaux D., Murphy J., Vince J., Lindqvist L. Activated MLKL attenuates autophagy following its translocation to intracellular membranes // *J. Cell. Sci.* – 2019. – Vol.132, N.5. – P.220996.
 - 124.Fritsch M., Gunther S., Schwarzer R., Albert M., Schorn F., Werthenbach J. et al. Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis // *Nature.* – 2019. – Vol.575. – P.683–687.
 - 125.Fu Z., Yang G., Yun S., Jang J., Ha H., Shin I. et al. Hyaluronan and proteoglycan link protein 1 - A novel signaling molecule for rejuvenating aged skin // *Matrix. Biol.* – 2024. – Vol.134. – P.30-47.
 - 126.Fullard N., Wordsworth J., Welsh C., Maltman V., Bascom C., Tasseff R. et al. Cell senescence-independent changes of human skin fibroblasts with age // *Cells.* – 2024. – Vol.13, N.8. – P.659-664.
 - 127.Galli G., Vacher P., Ryffel B., Blanco P., Legembre P. Fas/CD95 signaling pathway in

- Damage-Associated Molecular Pattern (DAMP)-sensing receptors // *Cells*. – 2022. – Vol.11, N.9. – P.1438-1440.
- 128.Gather L., Nath N., Falckenhayn C., Oterino-Sogo S., Bosch T., Wenck H. et al. Macrophages are polarized toward an inflammatory phenotype by their aged microenvironment in the human skin // *J. Invest. Dermatol.* – 2022. – Vol.142, N.12. – P.3136-3145.
 - 129.GenBank database, Available at <http://www.ncbi.nih.gov/Genbank/>
 - 130.Geng L., Zhang G., Yao M., Fang Y. Rip1-dependent endothelial necroptosis participates in ischemia-reperfusion injury of mouse flap // *J. Dermatol. Sci.* – 2020. – Vol.97, N.1. – P.30-40.
 - 131.Gillespie J., Pandya J., Agarwal S., Gassman A., Krakauer M. Negative-pressure wound therapy for periocular necrotizing fasciitis // *Plast. Reconstr. Surg. Glob Open*. – 2018. – Vol.6, N.12. – P.e1921.
 - 132.Giuliani A., Cirilli I., Prattichizzo F., Mensà E., Fulgenzi G., Sabbatinelli J. et al. The mitomiR / Bcl-2 axis affects mitochondrial function and autophagic vacuole formation in senescent endothelial cells // *Aging (Albany NY)*. – 2018. – Vol.10, N.10. – P.2855-2873.
 - 133.GLI2012 <http://www.lungfunction.org>
 - 134.Goder M., Kornhaber R., Bordoni D., Winkler E., Haik J., Tessone A. Cutaneous basal cell carcinoma arising within a keloid scar: a case report // *Oncotargets Ther.* – 2016. – Vol.9. – P.4793-4796.
 - 135.Grootjans S., Vanden Berghe T., Vandenabeele P. Initiation and execution mechanisms of necroptosis: an overview // *Cell. Death Differ.* – 2017. – Vol.24, N.7. – P.1184-1195.
 - 136.Gu Y., Han J., Jiang C., Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging // *Ageing Res Rev.* – 2020. – Vol.59. – P.101036.
 - 137.Guégan J., Legembre P. Nonapoptotic functions of Fas/CD95 in the immune response // *FEBS J.* – 2018. – Vol.285, N.5. – P.809-827.
 - 138.Guegan J., Pollet J., Ginestier C., Charafe-Jauffret E., Peter M., Legembre P. CD95/Fas suppresses NF-kappaB activation through recruitment of KPC2 in a CD95L/FasL-independent mechanism // *iScience*. – 2021. – Vol.24. – P.103538.
 - 139.Guerrero-Navarro L., Jansen-Dürr P., Cavinato M. Synergistic interplay of UV radiation and urban particulate matter induces impairment of autophagy and alters cellular fate in senescence-prone human dermal fibroblasts // *Aging Cell*. – 2024. – Vol.23, N.4. – P.e14086.
 - 140.Guo Y., Lin C., Xu P., Wu S., Fu X., Xia W., Yao M. AGEs induced autophagy impairs cutaneous wound healing via stimulating macrophage polarization to M1 in diabetes // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol.6. – P.36416.
 - 141.Hagman D., Kuzma J., Larson I., Foster-Schubert K., Kuan L., Cignarella A. et al.

- Characterizing and quantifying leukocyte populations in human adipose tissue: impact of enzymatic tissue processing // *J. Immunol. Methods.* – 2012. – Vol.386, N.1-2. – P.50-59.
- 142.Harberts E., Fischelevich R., Liu J., Atamas S., Gaspari A. MyD88 mediates the decision to die by apoptosis or necroptosis after UV irradiation // *Innate Immun.* – 2014. – Vol.20, N.5. – P.529-539.
- 143.Harnett M., Pineda M., Latré de Laté P., Eason R., Besteiro S., Harnett W., Langsley G. From Christian de Duve to Yoshinori Ohsumi: More to autophagy than just dining at home // *Biomed. J.* – 2017. – Vol.40, N.1. – P.9-22.
- 144.Hassan G., Salti S., Mourad W. Novel functions of integrins as receptors of CD154: Their role in inflammation and apoptosis // *Cells.* 2022. – Vol.11, N.11. – P.1747-1752.
- 145.He P., Ai T., Yang Z., Wu J., Han J. Detection of necroptosis by phospho-MLKL immunohistochemical labeling // *STAR Protoc.* – 2020. – Vol.2, N.1. – P.100251.
- 146.Heilig R., Dilucca M., Boucher D., Chen K., Hancz D., Demarco B. et al. Caspase-1 cleaves Bid to release mitochondrial SMAC and drive secondary necrosis in the absence of GSDMD // *Life. Sci. Alliance.* – 2020. – Vol.3, N.6. – P.e202000735.
- 147.Heo Y., Yagi S., Toriyama K., Takanari K., Fujimoto Y., Nishio N. et al. Relationship between BMI and postoperative complications with free flap in anterolateral craniofacial reconstruction // *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* – 2016. – Vol.4, N.3. – P.636.-639.
- 148.Hill D., Cosgarea I., Reynolds N., Lovat P., Armstrong J. Research techniques made simple: analysis of autophagy in the skin // *J. Invest. Dermatol.* – 2021. – Vol.141, N.1. – P.5-9.
- 149.Hong G., Wan J., Yoon S., Wong S., Yi K. Anatomical considerations for thread-based brow lifting and wrinkle treatment // *J. Dermatolog. Treat.* 2025. – Vol.36, N.1. – P.2448265.
- 150.Horvath C., Young M., Jarabicova I., Kindernay L., Ferenczyova K., Ravingerova T. Inhibition of cardiac RIP3 mitigates early reperfusion injury and calcium-induced mitochondrial swelling without altering necroptotic signalling // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.15. – P.7983-7985.
- 151.Hsiao H., Lin Y., Wang J., Tsai Y., Liu Y. Hypoxia inducible factor-1 α inhibition produced anti-allodynia effect and suppressed inflammatory cytokine production in early stage of mouse complex regional pain syndrome model // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2016. – Vol.43, N.3. – P.355-359.
- 152.Hu M., Luo Q., Alitongbieke G., Chong S., Xu C., Xie L. et al. Celastrol-induced Nur77 interaction with TRAF2 alleviates inflammation by promoting mitochondrial ubiquitination and autophagy // *Mol. Cell.* – 2017. – Vol.66, N.1. – P.141-153.
- 153.Hu W., Henry A., Lucas C., Ta P., Philandrianos C., Kerfant N. Microsurgical replantation of a

- two-segment total scalp avulsion // *J. Craniofac. Surg.* – 2016. – Vol.27, N.4. – P.1068-1069.
- 154.Huang H., Cho S., Harris R., Yang J., Bermejo S., Sharma L. et al. RIPK3 activates MLKL-mediated necroptosis and inflammasome signaling during *Streptococcus* infection // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2021. – Vol.64, N.5. – P.579-591.
 - 155.Huang H., Wang W., Lin P., Huang C., Chen C., Chen Y. The roles of autophagy and hypoxia in human inflammatory periapical lesions // *Int. Endod. J.* – 2018. – Vol.51 (Suppl 2). – P.e125-e145.
 - 156.Huang M., Wan D., Deng J., Guo W., Huang Y., Chen H. et al. Downregulation of RIP3 improves the protective effect of ATF6 in an acute liver injury model // *Biomed. Res. Int.* – 2021. – Vol.2021. – P.8717565.
 - 157.Huang R., Liu C., Fu R., Yan Y., Yang J., Wang X., Li Q. Downregulation of PLK4 expression induces apoptosis and G0/G1-phase cell cycle arrest in keloid fibroblasts // *Cell. Prolif.* – 2022. – Vol.55, N.7. – P.e13271.
 - 158.Huang Y., Li Y., Qu Y., Zheng Y., Ouyang M., Zhang Y., Lai W., Xu Q. UVA-induced photoaging inhibits autophagic degradation by impairing lysosomal function in dermal fibroblasts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2019. – Vol.518, N.4. – P.611-618.
 - 159.Huang Y., Xu W., Zhou R NLRP3 inflammasome activation and cell death // *Cell. Mol. Immunol.* – 2021. – Vol.18, N.9. – P.2114-2127.
 - 160.Hughes M., Langlais C., Cain K., MacFarlane M. Isolation, characterization and reconstitution of cell death signalling complexes // *Methods.* – 2013. – Vol.61, N.2. – P.98-104.
 - 161.Ito S., Kimura S., Warabi E., Kawachi Y., Yamatoji M., Uchida F5. et al. p62 modulates the intrinsic signaling of UVB-induced apoptosis // *J. Dermatol. Sci.* – 2016. – Vol.83, N.3. – P.226-233.
 - 162.Ivanisenko N., Seyrek K., Hillert-Richter L., König C., Espe J., Bose K., Lavrik I. Regulation of extrinsic apoptotic signaling by c-FLIP: towards targeting cancer networks // *Trends Cancer.* – 2022. – Vol.8, N.3. – P.190-209.
 - 163.Jang Y., Kim J., Jeong S., Paik M., Kim J., Cho M. Trifloxystrobin-induced mitophagy through mitochondrial damage in human skin keratinocytes // *J. Toxicol. Sci.* – 2016. – Vol.41, N.6. – P.731-737.
 - 164.Janssens M., van Smeden J., Gooris G., Bras W., Portale G., Caspers P. et al. Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients // *J. Lipid Res.* – 2012. – Vol.53. – P.2755–2766.
 - 165.Jeayeng S., Wongkajornsilp A., Slominski A., Jirawatnotai S., Sampattavanich S., Panich U. Nrf2 in keratinocytes modulates UVB-induced DNA damage and apoptosis in melanocytes

- through MAPK signaling // *Free Radic. Biol. Med.* – 2017. – Vol.108. – P.918-928.
- 166.Jian J., Pelle E., Yang Q., Pernodet N., Maes D., Huang X. Iron sensitizes keratinocytes and fibroblasts to UVA-mediated matrix metalloproteinase-1 through TNF- α and ERK activation // *Exp. Dermatol.* – 2011. – Vol.20, N.3. – P.249–254.
 - 167.Jiang C., Sun J., Dai Y., Cao P., Zhang L., Peng S. et al. HIF-1A and C/EBPs transcriptionally regulate adipogenic differentiation of bone marrow-derived MSCs in hypoxia // *Stem Cell. Res. Ther.* – 2015. – Vol.6. – P.21-33.
 - 168.Jiang M., Qi L., Li L., Wu Y., Song D., Li Y. Caspase-8: A key protein of cross-talk signal way in "PANoptosis" in cancer // *Int. J. Cancer.* – 2021. – Vol.149, N.7. – P.1408-1420.
 - 169.Jiang S., Wang Q., Feng M., Li J., Guan Z., An D. et al. C2-ceramide enhances sorafenib-induced caspase-dependent apoptosis via PI3K/AKT/mTOR and Erk signaling pathways in HCC cells // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2017. – Vol.101, N.4. – P.1535-1546.
 - 170.Jin H., Suh H., Kim S., Jo E. Mitochondrial control of innate immunity and inflammation // *Immune Netw.* – 2017. – Vol.17, N.2. – P.77-88.
 - 171.Jo J., Kennedy E., Kong H. Research techniques made simple: Bacterial 16S ribosomal RNA gene sequencing in cutaneous research // *J. Invest. Dermatol.* – 2016. – V.136, P.23-27.
 - 172.Jonak C., Klosner G., Trautinger F. Significance of heat shock proteins in the skin upon UV exposure // *Front. Biosci. (Landmark Ed).* – 2009. – Vol.14, N.12.4 – P.758-768.
 - 173.Kalfalah F., Janke L., Schiavi A., Tigges J., Ix A., Ventura N. et al. Crosstalk of clock gene expression and autophagy in aging // *Aging (Albany NY).* – 2016. – Vol.8, N.9. – P.1876-1895.
 - 174.Kang M., Ko U., Oh E., Kim H., Chung H., Shin J. Tension-sensitive HOX gene expression in fibroblasts for differential scar formation // *J. Transl. Med.* – 2025. – Vol.23, N.1. – P.168-175.
 - 175.Kari S., Subramanian K., Altomonte I., Murugesan A., Yli-Harja O., Kandhavelu M. Programmed cell death detection methods: a systematic review and a categorical comparison // *Apoptosis.* – 2022. – Vol.27, N.7-8. – P.482-508.
 - 176.Ke J., Zhao F., Luo Y., Deng F., Wu X. Mir-124 negatively regulated parp1 to alleviate renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting TNF α /RIP1/RIP3 pathway // *Int. J. Biol .Sci.* – 2021. – Vol.17, N.8. – P.2099-2111.
 - 177.Ke Y, Wang X. TGF β signaling in photoaging and UV-induced skin cancer // *J. Invest. Dermatol.* – 2021. – Vol.141, N.4S. – P.1104-1110.
 - 178.Khalaf R, Duarte Bateman D, Reyes J, Najafali D, Rampazzo A, Bassiri Gharb B. Systematic review of pathologic markers in skin ischemia with and without reperfusion injury in microsurgical reconstruction: Biomarker alterations precede histological structure changes //

- Microsurgery. – 2024. – Vol.44, N.2. – P.e31141.
- 179.Kim H., Oh S., Yang J., Sun H., Jang M., Kang D., Son K., Byun K. Evaluating whether radiofrequency irradiation attenuated UV-B-induced skin pigmentation by increasing melanosomal autophagy and decreasing melanin synthesis // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.19. – P.10724.
 - 180.Kim H., Park S., Moon S., Lee J., Kim S. Autophagy in human skin fibroblasts: impact of age // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol.19, N.8. – P.2254-2258.
 - 181.Kim J., Kim J., Ahn Y., Lee E., Hwang S., Almurayshid A. et al. Autophagy induction can regulate skin pigmentation by causing melanosome degradation in keratinocytes and melanocytes // *Pigment. Cell. Melanoma Res.* – 2020. – Vol.33, N.3. – P.403-415.
 - 182.Kim S., Kim H., Hwang K. Mixed infection of an atypical *Mycobacterium* and *Aspergillus* following a cryopreserved fat graft to a face // *J. Craniofac. Surg.* – 2013. – Vol.24, N.5. – P.1676-1678.
 - 183.Kim S., Yun J., Kim W., Seon E., Lee C., Jeon J. et al., The effect of ceramides on skin absorption by Raman spectroscopy // *Skin Res. Technol.* – 2024. – Vol.30, N.10. – P.e70046.
 - 184.Klaas L., Vier J., Gentle I., Häcker G., Kirschnek S. Diversity of cell death signaling pathways in macrophages upon infection with modified vaccinia virus Ankara (MVA) // *Cell. Death Dis.* – 2021. – Vol.12, N.11. – P.1011-1014.
 - 185.Kleszczyński K., Zwicker S., Tukaj S., Kasperkiewicz M., Zillikens D., Wolf R., Fischer T. Melatonin compensates silencing of heat shock protein 70 and suppresses ultraviolet radiation-induced inflammation in human skin ex vivo and cultured keratinocytes // *J. Pineal. Res.* – 2015. – Vol.58. – P.117–126.
 - 186.Korkina L., Kharaeva Z., Shokarova A., Barokova E., Mayer W., Trakhtman I. et al. Effects of plant meristem-cell-based cosmetics on menopausal skin: clinical data and mechanisms // *Biomolecules.* – 2024. – Vol.14, N.9. – P.1176-1182.
 - 187.Kruglikov I., Scherer P. Skin aging: are adipocytes the next target? // *Aging (Albany NY).* – 2016. – Vol.8, N.7. – P.1457-1469.
 - 188.Kruglikov I., Trujillo O., Kristen Q., Isac K., Zorko J., Fam M. et al. The facial adipose tissue: a revision // *Facial Plast. Surg.* – 2016. – Vol.32, N.6. – P.671-682.
 - 189.Kubo T., Sasaki K., Sato S., Minowa T., Hida T., Murata K. et al. Distinct induction pathways of heat shock protein 27 in human keratinocytes: Heat stimulation or capsaicin through phosphorylation of heat shock factor 1 at serine 326 and/or suppression of $\Delta Np63$ // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2024. – Vol.708. – P.149817.
 - 190.Kuchitsu Y., Taguchi T. Lysosomal microautophagy: an emerging dimension in mammalian

- autophagy // Trends. Cell. Biol. – 2024. – Vol.34, N.7. – P.606-616.
- 191.Kumari S., Van T., Preukschat D., Schuenke H., Basic M., Bleich A. et al. NF- κ B inhibition in keratinocytes causes RIPK1-mediated necroptosis and skin inflammation // Life Sci. Alliance. – 2021. – Vol.4, N.6. – P.e202000956.
 - 192.Labecka N., Szczepanczyk M., Mojumdar E., Sparr E., Björklund S. Unraveling UVB effects: catalase activity and molecular alterations in the stratum corneum // J. Colloid. Interface Sci. – 2024. – N.666. – P.176-188.
 - 193.Landa D., van Dishoeck A., Steyerberg E., Hovius S. Quality of measurements of acute surgical and traumatic wounds using a digital wound-analysing tool // Int. Wound J. – 2016. – Vol.13, N.5. – P.619-624.
 - 194.Lauterwasser J., Fimm-Todt F., Oelgeklaus A., Schreiner A., Funk K., Falquez-Medina H. et al. Hexokinases inhibit death receptor-dependent apoptosis on the mitochondria // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2021. – Vol.118, N.33. – P.e2021175118.
 - 195.Le Moual H. Microbiota-derived metabolites modulate tissue homeostasis: relevance to the oral cavity // Oral. Dis. – 2016. – Vol.22, N.5. – P.350-352.
 - 196.Lee H., Hong Y., Kim M. Structural and functional changes and possible molecular mechanisms in aged skin // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol.22, N.22. – P.12489.
 - 197.Lee J., Jang G., Joo Y., Choi J., Lee D., Yoo J. Design and synthesis of hydroxamate-based matrix metalloproteinase-2 inhibitors for anti-photoaging // J. Microbiol. Biotechnol. – 2025. – Vol.35. – P.e2412027.
 - 198.Lee J., You H., Lee T., Kang H. Current status of experimental animal skin flap models: ischemic preconditioning and molecular factors // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol.23, N.9. – P.5234-5247.
 - 199.Lee K., Park K., Hahn J. Alleviation of ultraviolet-B radiation-induced photoaging by a TNFR antagonistic peptide, TNFR2-SKE // Mol. Cells. – 2019. – Vol.42, N.2. – P.151-160.
 - 200.Lee Y., Chen S., Wiesner R., Huang Y. Simple flow cytometric method used to assess lipid accumulation in fat cells // J. Lipid Res. – 2004. – Vol.45. – P.1162–1167.
 - 201.Levine B., Klionsky D. Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in physiology or medicine: breakthroughs in baker yeast fuel advances in biomedical research // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2017. – Vol.114, N.2. – P.201-205.
 - 202.Levoine N., Jean M., Legembre P. CD95 structure, aggregation and cell signaling // Front. Cell. Dev. Biol. – 2020. – Vol.8. – P.314-320.
 - 203.Li B., Yi X., Zhuang T., Zhang S., Li S., Yang Y. et al. RIP1-mediated necroptosis facilitates oxidative stress-induced melanocyte death, offering insight into vitiligo // J. Invest. Dermatol.

- 2021. – Vol.141, N.12. – P.2921-2931.
- 204.Li D., Gao S. The interplay between T lymphocytes and macrophages in myocardial ischemia/reperfusion injury // *Mol. Cell. Biochem.* – 2024. – Vol.479, N.8. – P.1925-1936.
- 205.Li H., Yang T., Tian L., Zhang P. Effects of Qi-Bao-Mei-Ran-Dan on proliferative activity and expressions of apoptosis-related genes Bcl-2, Bax and autophagy-related protein LC3II in fibroblasts of aging skin // *Asian J. Surg.* – 2022. – Vol.45, N.6. – P.1319-1321.
- 206.Li L., Chen X., Gu H. The signaling involved in autophagy machinery in keratinocytes and therapeutic approaches for skin diseases // *Oncotarget.* – 2016. – Vol.7, N.31. – P.50682-50697.
- 207.Li S., Jang G., Quach C., Liang C. Darkening with UVRAG // *Autophagy.* – 2019. – Vol.15, N.2. – P.366-367.
- 208.Li T., Zhang J., Wang P., Zhang Z., Huang J. Selenoproteins protect against avian liver necrosis by metabolizing peroxides and regulating Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 1/Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 3/Mixed Lineage Kinase Domain-Like and Mitogen-Activated Protein Kinase signaling // *Front. Physiol.* – 2021. – Vol.12. – P.696256.
- 209.Li X., Jung K., Yim S., Hong D., Kim C., Hong J. et al. Autophagy suppresses Toll-Like Receptor 3-mediated inflammatory reaction in human epidermal keratinocytes // *Biomed. Res. Int.* – 2020. – Vol.2020. – P.4584626.
- 210.Li X., Li F., Zhang X., Zhang H., Zhao Q., Li M., Wu X., Wang L., Liu J., Wu X., et al. Caspase-8 auto-cleavage regulates programmed cell death and collaborates with RIPK3/MLKL to prevent lymphopenia / *Cell. Death Differ.* – 2022. -Vol.29, N.8. – P.1500-1512.
- 211.Li X., Zhong C., Wu R., Xu X., Yang Z., Cai S. et al. RIP1-dependent linear and nonlinear recruitments of caspase-8 and RIP3 respectively to necrosome specify distinct cell death outcomes // *Protein Cell.* – 2021. – Vol.12, N.11. – P.858-876.
- 212.Liang W., Qi W., Geng Y., Wang L., Zhao J., Zhu K. et al. Necroptosis activates UPR sensors without disrupting their binding with GRP78 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2021. – Vol.118, N.39. - P.e2110476118.
- 213.Lim G., Park J., Cho Y., Lim D. Kim A., Moh S. et al. Alpha-neoendorphin can reduce UVB-induced skin photoaging by activating cellular autophagy // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2020. – Vol.689. – P.108437.
- 214.Lim J., Lim C., Kim S., Nam G., Chang M., Park K. et al. Antiaging and antioxidant effects of topical autophagy activator: A randomized, placebo-controlled, double-blinded study // *J. Cosmet. Dermatol.* – 2019. – Vol.18, N.1. – P.197-203.

- 215.Lin S., Li L., Li M., Gu H., Chen X. Raffinose increases autophagy and reduces cell death in UVB-irradiated keratinocytes // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2019. – Vol.201. – P.111653.
- 216.Lindenmann J., Smolle C., Kamolz L., Smolle-Juettner F., Graier W. Survey of molecular mechanisms of hyperbaric oxygen in tissue repair // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.21. – P.11754.
- 217.Liu B., Chen L., Li S., Wang Z., Cheng W. Smac/DIABLO regulates the apoptosis of hypertrophic scar fibroblasts // *Int. J. Mol. Med.* – 2013. – Vol.32, N.3. – P.615-622.
- 218.Liu K., Yu D., Cho Y., Bode A., Ma W., Yao K. et al. Sunlight UV-induced skin cancer relies upon activation of the p38 α signaling pathway // *Cancer Res.* – 2013. – Vol.73. – P.2181–2188.
- 219.Liu L., Tang Z., Zeng Y., Liu Y., Zhou L., Yang S., Wang D. Role of necroptosis in infection-related, immune-mediated, and autoimmune skin diseases // *J. Dermatol.* – 2021. – Vol.48, N.8. – P.1129-1138.
- 220.Liu W., Ye L., Huang W., Guo L., Xu Z., Wu H. et al. p62 links the autophagy pathway and the ubiquitin-proteasome system upon ubiquitinated protein degradation // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2016. – Vol.21, N.29. – P.1-14.
- 221.Liu W., Zhang Q., Guo S., Wang H. The role of microRNAs regulation of endoplasmic reticulum stress in ischemia-reperfusion injury: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2024. – Vol.283, Pt.1. – P.137566.
- 222.Liu Z., Qi Q., Wang S., Zhai G. A novel approach to the detection of facial wrinkles: Database, detection algorithm, and evaluation metrics // *Comput. Biol. Med.* 2024. – Vol.174. – P.108431.
- 223.Lochhead J., Ronaldson P., Davis T. The role of oxidative stress in blood-brain barrier disruption during ischemic stroke: Antioxidants in clinical trials // *Biochem. Pharmacol.* – 2024. – Vol.228. – P.116186.
- 224.López-Lluch G. Mitochondrial activity and dynamics changes regarding metabolism in ageing and obesity // *Mech. Ageing Dev.* – 2017. – Vol.162. – P.108-121.
- 225.Lu C., Chen M., Zhao Y., Zhan Y., Wei X., Lu L. et al. A Co-MOF encapsulated microneedle patch activates hypoxia induction factor-1 to pre-protect transplanted flaps from distal ischemic necrosis // *Acta. Biomater.* – 2024. – Vol.184. – P.171-185.
- 226.Macias-Ceja D., Cosín-Roger J., Ortiz-Masiá D., Salvador P., Hernández C., Esplugues J. et al. Stimulation of autophagy prevents intestinal mucosal inflammation and ameliorates murine colitis // *Br. J. Pharmacol.* – 2017. – Vol.174, N.15. – P.2501-2511.
- 227.Maciél M., Hernández-Barrientos D., Herrera I., Selman M., Pardo A., Cabrera S. Impaired

- autophagic activity and ATG4B deficiency are associated with increased endoplasmic reticulum stress-induced lung injury // *Aging* (Albany NY). – 2018. – Vol.10, N.8. – P.2098-2112.
- 228.Majka S., Miller H., Helm K., Acosta A., Childs C., Kong R., Klemm D. Analysis and isolation of adipocytes by flow cytometry // *Methods Enzymol.* – 2014. – Vol.537. – P.281-296.
- 229.Malarkannan S. Molecular mechanisms of FasL-mediated apo reverse-signaling // *Mol. Immunol.* – 2020. – Vol.127. – P.31-37.
- 230.Mandal R., Barrón J., Kostova I., Becker S., Strebhardt K. Caspase-8: The double-edged sword // *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* – 2020. – Vol.1873, N.2. – P.188357.
- 231.McCormick J., Meade R., King K., Notley S., Akerman A., McGarr G. et al. Physiological responses to 9 hours of heat exposure in young and older adults. Part II: Autophagy and the acute cellular stress response // *J. Appl. Physiol.* (1985). – 2023. – Vol.135, N.3. – P.688-695.
- 232.McCormick J., Van Dusseldorp T., Ulrich C., Lanphere R., Dokladny K., Mosely P. et al. The effect of aging on the autophagic and heat shock response in human peripheral blood mononuclear cells // *Physiol. Int.* – 2018. – Vol.105, N.3. – P.247-256.
- 233.Meng Y., Davies K., Fitzgibbon C., Young S., Garnish S., Horne C. et al. Human RIPK3 maintains MLKL in an inactive conformation prior to cell death by necroptosis // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol.12, N.1. – P.6783.
- 234.Mercurio D., Jdid R., Morizot F., Masson P., Maia Campos P. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol.174, N.3. – P.553-561.
- 235.Merwald H., Kokesch C., Klosner G., Matsui M., Trautinger F. Induction of the 72-kilodalton heat shock protein and protection from ultraviolet B-induced cell death in human keratinocytes by repetitive exposure to heat shock or 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J2 // *Cell. Stress Chaperones.* – 2006. – Vol.11, N.1. – P.81-88.
- 236.Messner F., Grahammer J., Hautz T., Brandacher G., Schneeberger S. Ischemia / reperfusion injury in vascularized tissue allotransplantation: tissue damage and clinical relevance // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* – 2016. – Vol.21, N.5. – P.503-509.
- 237.Miao B., Degterev A. Methods to analyze cellular necroptosis // *Methods. Mol. Biol.* – 2009. – Vol.559. – P.79-93.
- 238.Michot A., Chaput B., Gobel F., Menez T., de Bonnecaze G., Pelissier P. Chronic ischaemia does not appear to hinder healing with Integra(®) implementation at a tibial artery bypass site // *Int. Wound J.* – 2016. – Vol.13, N.5. – P.1003-1005.

- 239.Mollinedo F., Gajate C. Lipid rafts as signaling hubs in cancer cell survival/death and invasion: implications in tumor progression and therapy: Thematic review series: Biology of lipid rafts // J. Lipid. Res. – 2020. – Vol.61, N.5. – P.611-635.
- 240.Molnár T., Pallagi P., Tél B., Király R., Csoma E., Jenei V. et al. Caspase-9 acts as a regulator of necroptotic cell death // FEBS J. – 2021. – Vol.288, N.22. – P.6476-6491.
- 241.Monteleon C., Agnihotri T., Dahal A., Liu M., Rebecca V., Beatty G. et al. Lysosomes support the degradation, signaling, and mitochondrial metabolism necessary for human epidermal differentiation // J. Invest. Dermatol. – 2018. – Vol.138, N.9. – P.1945-1954.
- 242.Morciano G., Pinton P. Modulation of mitochondrial permeability transition pores in reperfusion injury: Mechanisms and therapeutic approaches // Eur. J. Clin. Invest. – 2025. – Vol.55, N.1. – P.e14331.
- 243.Moriwaki K., Chan F., Miyoshi E. Sweet modification and regulation of death receptor signalling pathway // J. Biochem. – 2021. – Vol.169, N.6. – P.643-652.
- 244.Morris D., Johnson S., Bleck C., Lee D., Tjandra N. Humanin selectively prevents the activation of pro-apoptotic protein BID by sequestering it into fibers // J. Biol. Chem. – 2020. – Vol.295, N.52. – P.18226-18238.
- 245.Müller K., Honcharova-Biletska H., Koppe C., Egger M., Chan L., Schneider A. et al. JNK signaling prevents biliary cyst formation through a Caspase-8-dependent function of RIPK1 during aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA - 2021. – Vol.118, N.12. – P.e2007194118.
- 246.Murase D., Kusaka-Kikushima A., Hachiya A., Fullenkamp R., Stepp A., Imai A. et al., Autophagy declines with premature skin aging resulting in dynamic alterations in skin pigmentation and epidermal differentiation // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol.21, N.16. – P.5708-5712.
- 247.Murphy E., Eisner D. How does mitochondrial Ca²⁺ change during ischemia and reperfusion? Implications for activation of the permeability transition pore // J. Gen. Physiol. – 2025. – Vol.157, N.1. – P.e202313520.
- 248.Mutlu Ö., Yasak T., Egemen O., Kayadibi T., Tasasiz K. The use of submental artery perforator island flap without including digastric muscle in the reconstruction of lower face and intraoral defects // J. Craniofac. Surg. – 2016. – Vol.27, N.4. – P.e406-e409.
- 249.Nagar R. Autophagy: A brief overview in perspective of dermatology // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. – 2017. – Vol.83, N.3. – P.290-297.
- 250.Nanni M., Ranieri D., Raffa S., Torrisi M., Belleudi F. Interplay between FGFR2b-induced autophagy and phagocytosis: role of PLC γ -mediated signalling // J. Cell. Mol. Med. – 2018. – Vol.22, N.1. – P.668-683.

251. Newton K., Wickliffe K., Maltzman A., Dugger D., Reja R., Zhang Y. et al. Activity of caspase-8 determines plasticity between cell death pathways // *Nature*. – 2019. – Vol.575. – P.679–682.
252. Nikitakis N., Papaioannou W., Sakkas L., Kousvelari E. The autoimmunity-oral microbiome connection // *Oral. Dis.* – 2017. – Vol.23, N.7. – P.828-839.
253. Nkengne A., Bertin C. Aging and facial changes-documenting clinical signs, Part 2: Methods of documentation of facial changes // *Skinmed.* – 2016. – Vol.14, N.6. – P.429-435.
254. Noguchi S., Honda S., Saitoh T., Matsumura H., Nishimura E., Akira S., Shimizu S. Beclin 1 regulates recycling endosome and is required for skin development in mice // *Commun. Biol.* – 2019. – Vol.2. – P.37-42.
255. Oishi M., Shinjo K., Takanari K., Muraoka A., Suzuki M., Kanbe M. et al. Exclusive expression of KANK4 promotes myofibroblast mobility in keloid tissues // *Sci. Rep.* – 2024. – Vol.14, N.1. – P.8725-8731.
256. Okuno R., Ito Y., Eid N., Otsuki Y., Kondo Y., Ueda K. Upregulation of autophagy and glycolysis markers in keloid hypoxic-zone fibroblasts: Morphological characteristics and implications // *Histol. Histopathol.* – 2018. – Vol.33, N.10. – P.1075-1087.
257. Orioli E., De Marchi E., Giuliani A., Adinolfi E. P2X7 receptor orchestrates multiple signalling pathways triggering inflammation, autophagy and metabolic / trophic responses // *Curr. Med. Chem.* – 2017. – Vol.24, N.21. – P.2261-2275.
258. Ou Q., Power R., Griffin M. Revisiting regulatory T cells as modulators of innate immune response and inflammatory diseases // *Front. Immunol.* – 2023. – Vol.14. – P.1287465.
259. Park E., Kim Y., Chang K. Hemin reduces HMGB1 release by UVB in an AMPK/HO-1-dependent pathway in human keratinocytes HaCaT cells // *Arch. Med. Res.* – 2017. – Vol.48, N.5. – P.423-431.
260. Park M., Ha S., Vetrivel P., Kim H., Bhosale P., Abusaliya A., Kim G. Differences of key proteins between apoptosis and necroptosis // *Biomed. Res. Int.* – 2021. – Vol.2021. – P.3420168.
261. Patrignoni L., Hurtier A., Orlacchio R., Joushomme A., Poullietier de Gannes F., Lévêque P. et al. Evaluation of mitochondrial stress following ultraviolet radiation and 5G radiofrequency field exposure in human skin cells // *Bioelectromagnetics.* – 2024. – Vol.45, N.3. – P.110-129.
262. Pellegatta T., Saler M., Bonfanti V., Nicoletti G., Faga A. Novel perspectives on the role of the human microbiota in regenerative medicine and surgery // *Biomed. Reports.* – 2016. – V.5, P.519-524.
263. Perez White B., Getsios S. Eph receptor and ephrin function in breast, gut, and skin epithelia //

- Cell. Adh. Migr. – 2014. – Vol.8, N.4. – P.327-338.
- 264.Pernodet N., Dong K., Pelle E. Autophagy in human skin fibroblasts: Comparison between young and aged cells and evaluation of its cellular rhythm and response to Ultraviolet A radiation // J. Cosmet. Sci. – 2016. – Vol.67, N.1. – P.13-20.
- 265.Pham L., Arroum T., Wan J., Pavelich L., Bell J., Morse P. et al. Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through tight control of cytochrome c oxidase in health and disease - Implications for ischemia/reperfusion injury, inflammatory diseases, diabetes, and cancer // Redox Biol. – 2024. – Vol.78. – P.103426.
- 266.Phillipson M., Kubes P. The healing power of neutrophils // Trends Immunol. – 2019. – Vol.40, N.7. – P.635-647.
- 267.Pilkington S., Ogden S., Eaton L., Dearman R., Kimber I., Griffiths C. Lower levels of interleukin-1 β gene expression are associated with impaired Langerhans' cell migration in aged human skin // Immunology. – 2018. – Vol.153, N.1. – P.60-70.
- 268.Pinho A., Brinca A., Xará J., Batista M., Vieira R. Postoperative time and anatomic location influence skin graft reperfusion assessed with laser speckle contrast imaging // Lasers Surg. Med. – 2024. – Vol.56, N.6. – P.564-573.
- 269.Place D., Samir P., Malireddi R., Kanneganti T. Integrated stress response restricts macrophage necroptosis // Life Sci. Alliance. – 2021. – Vol.5, N.1. – P.e202101260.
- 270.Ploumi C., Papandreou M., Tavernarakis N. The complex interplay between autophagy and cell death pathways // Biochem. J. – 2022. – Vol.479, N.1. – P.75-90.
- 271.Premi S., Han L., Mehta S., Knight J., Zhao D., Palmatier M. et al. Genomic sites hypersensitive to ultraviolet radiation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2019. – Vol.116, N.48. – P.24196-24205.
- 272.Qiang M., Dai Z. Biomarkers of UVB radiation-related senescent fibroblasts // Sci. Rep. – 2024. – Vol.14, N.1. – P.933.
- 273.Raben N., Puertollano R. TFEB and TFE3: linking lysosomes to cellular adaptation to stress // Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. – 2016. – Vol.32. – P.255-278.
- 274.Rajendra Santosh A., Ogle O., Williams D., Woodbine E. Epidemiology of oral and maxillofacial infections // Dent. Clin. North Am. – 2017. – Vol.61, N.2. – P.217-233.
- 275.Ramage G., Lappin D., Millhouse E., Malcolm J., Jose A., Yang J. et al. The epithelial cell response to health and disease associated oral biofilm models // J. Periodontal Res. – 2017. – Vol.52, N.3. – P.325-333.
- 276.Riffelmacher T., Richter F., Simon A. Autophagy dictates metabolism and differentiation of inflammatory immune cells // Autophagy. – 2017. – P.1-8.

- 277.Rius-Pérez S., Pérez S., Toledano M., Sastre J. p53 drives necroptosis via downregulation of sulfiredoxin and peroxiredoxin 3 // *Redox. Biol.* – 2022. – Vol.56. – P.102423.
- 278.Rodríguez-Espinosa T., Navarro-Pedreño J., Gómez-Lucas I., Jordán-Vidal M., Bech-Borras J., Zorpas A. Urban areas, human health and technosols for the green deal // *Environ. Geochem. Health.* 2021. – Vol.43, N.12. – P.5065-5086.
- 279.Rosa N, Speelman-Rooms F., Parys J., Bultynck G. Modulation of Ca²⁺ signaling by antiapoptotic Bcl-2 versus Bcl-xL: From molecular mechanisms to relevance for cancer cell survival // *Biochim. Biophys. Acta. Rev. Cancer.* – 2022. – Vol.1877, N.6. – P.188791.
- 280.Salibian A., Rosario A., Severo Lde A., Nguyen L., Banyard D., Toranto J. et al. Current concepts on burn wound conversion-A review of recent advances in understanding the secondary progressions of burns // *Burns.* – 2016. – Vol.42, N.5. – P.1025-1035.
- 281.Sample A., He Y. Autophagy in UV damage response // *Photochem. Photobiol.* – 2017. – Vol.93, N.4. – P.943-955.
- 282.Saraiya H. Successful management of cutaneous mucormycosis by delaying debridement // *Ann. Plast. Surg.* – 2012. – Vol.69, N.3. – P.301-306.
- 283.Schünke H., Göbel U., Dikic .I, Pasparakis M. OTULIN inhibits RIPK1-mediated keratinocyte necroptosis to prevent skin inflammation in mice // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol.12, N.1. – P.5912-5917.
- 284.Scieglinska D., Krawczyk Z., Sojka D., Gogler-Pigłowska A. Heat shock proteins in the physiology and pathophysiology of epidermal keratinocytes // *Cell. Stress Chaperones.* – 2019. – Vol.24, N.6. – P.1027-1044.
- 285.Seo J., Nam Y., Kim S., Oh D., Song J. Necroptosis molecular mechanisms: Recent findings regarding novel necroptosis regulators // *Exp. Mol. Med.* – 2021. – Vol.53, N.6. – P.1007-1017.
- 286.Serror K., Ferrero L., Boismal F., Sintès M., They M., Vianay B. et al. Evidence of inter- and intra-keloid heterogeneity through analysis of dermal fibroblasts: A new insight in deciphering keloid physiopathology // *Exp. Dermatol.* – 2023. – Vol.32, N.7. – P.1096-1107.
- 287.Seyrek K., Espe J., Reiss E., Lavrik I. The Crosstalk of Apoptotic and Non-Apoptotic Signaling in CD95 System // *Cells.* 2024. – Vol.13, N.21. – P.1814-1819.
- 288.Seyrek K., Lavrik I. Modulation of CD95-mediated signaling by post-translational modifications: towards understanding CD95 signaling networks // *Apoptosis.* – 2019. – Vol.24, N.5-6. – P.385-394.
- 289.Sharma A., Simonson T., Jondle C., Mishra B., Sharma J. Mincle-mediated neutrophil extracellular trap formation by regulation of autophagy // *J. Infect. Dis.* – 2017. – Vol.215. –

N.7. – P.1040-1048.

290. Shi J., Xiao H., Li J., Zhang J., Li Y., Zhang J. et al. Wild-type p53-modulated autophagy and autophagic fibroblast apoptosis inhibit hypertrophic scar formation // *Lab. Invest.* – 2018. – Vol.98, N.11. – P.1423-1437.
291. Shi Y., Lin H., Cao J., Cui C. Botulinum toxin type A attenuates apoptosis in human dermal microvascular endothelial cells exposed to an In Vitro model of ischemia/reperfusion injury // *Transplant. Proc.* – 2019. – Vol.51, N.3. – P.966-971.
292. Shih C., Lee J., Chen H., Lin Y., Chen H., Lin Y. et al. Comparison of changes in mitochondrial bioenergetics between keratinocytes in human external auditory canal skin and cholesteatomas from normoxia to hypoxia // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol.8, N.1. – P.125-134.
293. Shin J., Roh S., Lee N., Yang K. Ischemic necrosis of upper lip, and all fingers and toes after norepinephrine use // *J. Craniofac. Surg.* – 2016. – Vol.27, N.2. – P.453-445.
294. Shlomovitz I., Erlich Z., Arad G., Edry-Botzer L., Zargarian S., Cohen H. et al. Proteomic analysis of necroptotic extracellular vesicles // *Cell. Death Dis.* – 2021. – Vol.12, N.11. – P.1059.
295. Silver F., Kelkar N., Deshmukh T. Molecular basis for mechanical properties of ECMs: Proposed role of fibrillar collagen and proteoglycans in tissue biomechanics // *Biomolecules.* – 2021. – Vol.11, N.7. – P.1018-1026.
296. Simula L., Corrado M., Accordi B., Di Rita A., Nazio F., Antonucci Y. et al. JNK1 and ERK1/2 modulate lymphocyte homeostasis via BIM and DRP1 upon AICD induction // *Cell. Death. Differ.* – 2020. – Vol.27, N.10. – P.2749-2767.
297. Sipietier F., Cappe B., Leray A., De Schutter E., Bridelance J., Hulpiau P. et al. Characteristic ERK1/2 signaling dynamics distinguishes necroptosis from apoptosis // *iScience.* – 2021. – Vol.24, N.9. – P.103074.
298. Sluchanko N., Tugaeva K., Gushchin I., Remeeva A., Kovalev K., Cooley R. Crystal structure of human 14-3-3 ζ complexed with the noncanonical phosphopeptide from proapoptotic BAD // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2021. – Vol.583. – P.100-105.
299. Song X., Narzt M., Nagelreiter I., Hohensinner P., Terlecki-Zaniewicz L., Tschachler E. et al. Autophagy deficient keratinocytes display increased DNA damage, senescence and aberrant lipid composition after oxidative stress in vitro and in vivo // *Redox. Biol.* – 2017. – Vol.11. – P.219-230.
300. Speir M., Djajawi T., Conos S., Tye H., Lawlor K. Targeting RIP kinases in chronic inflammatory disease // *Biomolecules.* – 2021. – Vol.11, N.5. – P.646-651.
301. Sun J., Liu Y., Liu Y., Ho C., Tsai Y., Wen D. et al. Salvianolic acid B protects against UVB-

- induced skin aging via activation of NRF2 // *Phytomedicine*. – 2024. – Vol.130. – P.155676.
- 302.Suzuki Y., Lehrer R. NAD(P)H oxidase activity in human neutrophils stimulated by phorbol myristate acetate // *J. Clin. Invest.* – 1980. – Vol.66, N.6. – P.1409-1418.
- 303.Szarka A., Kapuy O., Lőrincz T., Bánhegyi G. Vitamin C and cell death // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2021. – Vol.34, N.11. – P.831-844.
- 304.Tai M., Chen J., Chen J., Shen X., Ni J. Endoplasmic reticulum stress in skin aging induced by UVB // *Exp. Dermatol.* – 2024. - Vol.33, N.1. – P.e14956.
- 305.Takahashi Y., San T., Manik M., Morshed S., Ushimaru T. The greatwall kinase Rim15 promotes microautophagy and microlipophagy under the control of TORC1 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2025. – Vol.752. – P.151468.
- 306.Takaya K., Kishi K. Regulation of ENPP5, a senescence-associated secretory phenotype factor, prevents skin aging // *Biogerontology*. – 2024. – Vol.25, N.3. – P.529-542.
- 307.Tang Z., Tong X., Huang J., Liu L., Wang D., Yang S. Research progress of keratinocyte-programmed cell death in UV-induced skin photodamage // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2021. – Vol.37, N.5. – P.442-448.
- 308.Tao Y., Xu Y., Shen M., Feng X., Wu Y., Wu Y., Shen L., Wang Y. The neuroprotection of cerebrolysin after spontaneous intracerebral hemorrhage through regulates necroptosis via Akt/GSK3 β signaling pathway // *Acta Cir. Bras.* – 2021. – Vol.36, N.10. – P.e361002.
- 309.Tawada C., Kanoh H., Nakamura M., Mizutani Y., Fujisawa T., Banno Y., Seishima M. Interferon- γ decreases ceramides with long-chain fatty acids: possible involvement in atopic dermatitis and psoriasis // *J. Invest. Dermatol.* – 2014. – Vol.134. – P.712–718.
- 310.Tian R., Li Y., Yao X. PGRN suppresses inflammation and promotes autophagy in keratinocytes through the Wnt/ β -Catenin signaling pathway // *Inflammation*. – 2016. – Vol.39, N.4. – P.1387-1394.
- 311.Tu H., Tang Y., Zhang J., Cheng L., Joo D., Zhao X., Lin X. Linear ubiquitination of RIPK1 on Lys612 regulates systemic inflammation via preventing cell death // *J. Immunol.* – 2021. – Vol.207, N.2. – P.602-612.
- 312.van der Meulen T., Harmsen H., Bootsma H. Spijkervet F., Kroese F., Vissink A. The microbiome-systemic diseases connection // *Oral. Dis.* – 2016. – Vol.22, N.8. – P.719-734.
- 313.Vdovenko D., Balbi C., Di Silvestre D., Passignani G., Puspitasari Y., Zarak-Crnkovic M. et al. Microvesicles released from activated CD4+T cells alter microvascular endothelial cell function // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2022. – Vol.52, N.6. – P.e13769.
- 314.Vescarelli E., Pilloni A., Dominici F., Pontecorvi P., Angeloni A., Polimeni A. et al. Autophagy activation is required for myofibroblast differentiation during healing of oral

- mucosa // J. Clin. Periodontol. – 2017. – Vol.44, N.10. – P.1039-1050.
- 315.Vikram A., Patel S., Singh A., Pathania D., Ray R., Upadhyay A., Dwivedi A. Natural autophagy activators: A promising strategy for combating photoaging // *Phytomedicine*. – 2024. – Vol.132. – P.155508.
 - 316.Vind A., Wu Z., Firdaus M., Snieckute G., Toh G., Jessen M. et al. The ribotoxic stress response drives acute inflammation, cell death, and epidermal thickening in UV-irradiated skin in vivo // *Mol. Cell*. – 2024. – Vol.S1097, N.24. – P.00884.
 - 317.Voss P., Vargas Soto G., Schmelzeisen R., Izumi K., Stricker A., Bittermann G. et al. Sinusitis and oroantral fistula in patients with bisphosphonate-associated necrosis of the maxilla // *Head Face Med*. – 2016. – Vol.12. – P.3-10.
 - 318.Vringer E., Heilig R., Riley J., Black A., Cloix C., Skalka G. et al. Mitochondrial outer membrane integrity regulates a ubiquitin-dependent and NF- κ B-mediated inflammatory response // *EMBO J*. – 2024. – Vol.43, N.6. – P.904-930.
 - 319.Wall A., Bueno E., Pomahac B., Treister N. Intraoral features and considerations in face transplantation / *Oral. Dis*. – 2016. – Vol.22, N.2. – P.93-103.
 - 320.Walter A., Stocks M., Akova E., Gauglitz G., Hartmann D., Aszodi A. et al. Keloids are transcriptionally distinct from normal and hypertrophic scars // *Eur. J. Dermatol*. – 2023. – Vol.33, N.6. – P.604-611.
 - 321.Wang J., Fort C., Hom D. Location propensity for keloids in the head and neck // *Facial. Plast. Surg. Aesthet. Med*. – 2021. – Vol.23, N.1. – P.59-64.
 - 322.Wang J., Kaplan N., Wang S., Yang W., Wang L., He C., Peng H. Autophagy plays a positive role in induction of epidermal proliferation // *FASEB J*. – 2020. – Vol.34, N.8. – P.10657-10667.
 - 323.Wang J., Liu H., Wu X., Shi C., Li W., Yuan Y. et al. Induction of apoptosis in SGC-7901 cells by iridium (III) complexes via endoplasmic reticulum stress-mitochondrial dysfunction pathway // *J. Biol. Inorg. Chem*. – 2022. – Vol.27, N.4-5. – P.455-469.
 - 324.Wang L., Xie Z., Wu M., Chen Y., Wang X., Li X., Liu F. The role of taurine through endoplasmic reticulum in physiology and pathology // *Biochem. Pharmacol*. – 2024. – Vol.226. -P.116386.
 - 325.Wang M., Charareh P., Lei X., Zhong J. Autophagy: multiple mechanisms to protect skin from ultraviolet radiation-driven photoaging // *Oxid. Med. Cell. Longev*. – 2019. – Vol.2019. – P.8135985.
 - 326.Wang Q., Su Y., Li Y., Zhang Y., Yang S., Wang J., Li H. Atorvastatin alleviates renal ischemia-reperfusion injury in rats by promoting M1-M2 transition // *Mol. Med. Rep*. – 2017.

– Vol.15, N.2. – P.798-804.

- 327.Wang W., Prokopec J., Zhang Y., Sukhoplyasova M., Shinglot H., Wang M. et al. Sensing plasma membrane pore formation induces chemokine production in survivors of regulated necrosis // *Dev. Cell.* – 2022. – Vol.57, N.2. – P.228-245.
- 328.Wang X., Ma J., Fu Q., Zhu L., Zhang Z., Zhang F. et al. Role of hypoxia-inducible factor-1 α in autophagic cell death in microglial cells induced by hypoxia // *Mol. Med. Rep.* – 2017. – Vol.15, N.4. – P.2097-2105.
- 329.Wang X., Tao C., Wu Q., Yuan C. Protein extract of ultraviolet-irradiated human skin keratinocytes promote the expression of mitogen-activated protein kinases, nuclear factor-kB and interferon regulatory factor-3 in Langerhans cells via Toll-like receptor 2 and 4 // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2013. – Vol.29. – P.41–48.
- 330.Wang X., Yousefi S., Simon HU. Necroptosis and neutrophil-associated disorders // *Cell. Death Dis.* – 2018. – Vol.9, N.2. – P.111-115.
- 331.Wang Y., Zhang R., Huang X., He X., Geng S., Pan S. et al. CD39 inhibitor (POM-1) enhances radiosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells by promoting apoptosis through the Bax/Bcl-2/Caspase 9/Caspase 3 pathway // *Int. Immunopharmacol.* – 2024. – Vol.142, Pt.B. – P.113242.
- 332.Wei J., Chen L., Wang D., Tang L., Xie Z., Chen W et al. Upregulation of RIP3 promotes necroptosis via a ROS-dependent NF- κ B pathway to induce chronic inflammation in HK-2 cells // *Mol. Med. Rep.* – 2021. – Vol.24, N.5. – P.783-786.
- 333.Whalen C., Verma A., Kurashima K., Carter J., Nazzal H., Jain A. Novel models for assessing and pathophysiology of hepatic ischemia-reperfusion injury mechanisms // *Medicina. (Kaunas).* – 2024. – Vol.60, N.9. – P.1507-1511.
- 334.White T., Bruns S., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics. In: Innis M., Gelfand J., Sninsky J., White T., eds. *PCR protocols. A guide to methods and applications.* San Diego, CA: Academic Press, 1990. – P.315-324.
- 335.Woessner A., Witt N., Jones J., Sander E., Quinn K. Quantification of age-related changes in the structure and mechanical function of skin with multiscale imaging // *Geroscience.* – 2024. – Vol.46, N.5. – P.4869-4882.
- 336.Woodman R., Newburger P., Anklesaria P., Erickson R., Rae J., Cohen M. et al. A new X-linked variant of chronic granulomatous disease characterized by the existence of a normal clone of respiratory burst-competent phagocytic cells // *Blood.* – 1995. – Vol.85, N.1. – P.231—241.
- 337.Woznicki J., Saini N., Flood P., Rajaram S., Lee C., Stamou P. et al. TNF- α synergises with

- IFN- γ to induce Caspase-8/JAK1/2-STAT1-dependent death of intestinal epithelial cells // *Cell. Death Dis.* – 2021. – Vol.12, N.10. – P.864-867.
- 338.Wu E., Kandalkar A., Ehrmann J., Tong A., Zhang J., Cong Q., Wu H. A structural atlas of death domain fold proteins reveals their versatile roles in biology and function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2025. – Vol.122, N.8. – P.e2426986122.
- 339.Wu S., Hu Y., Bai W., Zhao J., Huang C., Wen C. et al. Cyanidin-3-o-glucoside inhibits UVA-induced human dermal fibroblast injury by upregulating autophagy/ *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2019. – Vol.35, N.5. – P.360-368.
- 340.Xia Y., Zhang H., Wu X., Xu Y., Tan Q. Resveratrol activates autophagy and protects from UVA-induced photoaging in human skin fibroblasts and the skin of male mice by regulating the AMPK pathway/ *Biogerontology.* – 2024. – Vol.25, N.4. – P.649-664.
- 341.Xiao T., Liang J., Li M., Guo Y., Chen S., Ke Y. et al. ATG5-mediated keratinocyte ferroptosis promotes M1 polarization of macrophages to aggravate UVB-induced skin inflammation/ *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2024. – Vol.257. – P.112948.
- 342.Xu D., Zou C., Yuan J. Genetic regulation of RIPK1 and necroptosis/ *Annu. Rev. Genet.* – 2021. – Vol.55. – P.235-263.
- 343.Xu L., Zhang C., Yin H., Gong S., Wu N., Ren Z., Zhang Y. RNA modifications act as regulators of cell death/ *RNA Biol.* – 2021. – N.12. – P.2183-2193.
- 344.Xu Y., Cohen E., Johnson C., Parent C., Coulombe P. Repeated stress to the skin amplifies neutrophil infiltration in a keratin 17- and PKC α -dependent manner *PLoS. Biol.* – 2024. – Vol.22, N.8. – P.e3002779.
- 345.Xue K., Zhang G., Zhou Y., Wang K., Yao Z., Chen J. et al. Nuciferine improves random skin flap survival via TFEB-mediated activation of autophagy-lysosomal pathway // *Int. Immunopharmacol.* – 2023. – Vol.119. – P.110204.
- 346.Yang C., Lien C., Tseng Y., Tu Y., Kulczyk A., Lu Y. et al. Deciphering DED assembly mechanisms in FADD-procaspase-8-cFLIP complexes regulating apoptosis // *Nat. Commun.* 2024. – Vol.15, N.1. – P.3791-3798.
- 347.Yang Y., Wang L., Zhang H., Luo L. Mixed lineage kinase domain-like pseudokinase-mediated necroptosis aggravates periodontitis progression // *J. Mol. Med. (Berl).* – 2022. – Vol.100, N.1. – P.77-86.
- 348.Yi F., Frazzette N., Cruz A., Klebanoff C., Siegel R. Beyond cell death: new functions for TNF family cytokines in autoimmunity and tumor immunotherapy // *Trends. Mol. Med.* – 2018. – Vol.24, N.7. – P.642-653.
- 349.Yi K., Park S. Facial Thread Lifting Complications // *J. Cosmet. Dermatol.* 2025. – Vol.24,

N.1. – P.e16745.

- 350.Yong T., Zaman R., Rehman N., Tan C. Ceramides and skin health: New insights // *Exp. Dermatol.* – 2025. – Vol.34, N.2. – P.e70042.
- 351.Yoon J., Jeon H., Kim E., Kim C., Yoon J., Park B. et al. Propofol protects human keratinocytes from oxidative stress via autophagy expression // *J. Dent. Anesth. Pain. Med.* – 2017. – Vol.17, N.1. – P.21-28.
- 352.Yoon S., Kovalenko A., Bogdanov K., Wallach D. MLKL, the protein that mediates necroptosis, also regulates endosomal trafficking and extracellular vesicle generation // *Immunity.* – 2017. – Vol.47, N.1. – P.51-65.
- 353.Yu Z., Efstathiou N., Correa V., Chen X., Ishihara K., Iesato Y. et al. Receptor interacting protein 3 kinase, not 1 kinase, through MLKL- mediated necroptosis is involved in UVA-induced corneal endothelium cell death. // *Cell. Death. Discov.* – 2021. – Vol.7, N.1. – P.366-369.
- 354.Zawadzki P., Perkowski K., Padzik M., Mierzwińska-Nastalska E., Szaflik J., Conn D. et al. Examination of oral microbiota diversity in adults and older adults as an approach to prevent spread of risk factors for human infections // *Biomed. Res. Int.* – 2017. – Vol.2017. – P.8106491.
- 355.Zhan Q., Jeon J., Li Y., Huang Y., Xiong J., Wang Q. et al. CAMK2/CaMKII activates MLKL in short-term starvation to facilitate autophagic flux // *Autophagy.* – 2022. – Vol.18, N.4. – P.726-744.
- 356.Zhang G., Tian W., Deng D. Chaperone-mediated autophagy contributes to chromosomal stability by controlling TTC28 degradation / *Autophagy.* – 2025. – Vol.1-2.
- 357.Zhang J., Jin T., Aksentijevich I., Zhou Q. RIPK1-associated inborn errors of innate immunity // *Front. Immunol.* – 2021. - Vol.12. – P.676946.
- 358.Zhang J., Yu H., Man M., Hu L. Aging in the dermis: Fibroblast senescence and its significance // *Aging Cell.* – 2024. – Vol.23, N.2. – P.e14054.
- 359.Zhang R., Xue T., Shao A., Lang Y., Qin C., Zhao M. et al. Bclaf1 regulates c-FLIP expression and protects cells from TNF-induced apoptosis and tissue injury // *EMBO Rep.* – 2022. – Vol.23, N.1. – P.e52702.
- 360.Zhang Y., Liu J., Yu D., Zhu X., Liu X., Liao J. et al. The MLKL kinase-like domain dimerization is an indispensable step of mammalian MLKL activation in necroptosis signaling // *Cell. Death. Dis.* – 2021. – Vol.12, N.7. – P.638-641.
- 361.Zhao H., Kilgas S., Alam A., Eguchi S., Ma D. The role of extracellular adenosine triphosphate in ischemic organ injury // *Crit. Care. Med.* – 2016. – Vol.44, N.5. – P.1000-1012.

- 362.Zhao J., Zhang S., Gong Z., Mao W., Bao W., Li Q. et al., NLRP3: a key regulator of skin wound healing and macrophage-fibroblast interactions in mice // *Cell. Commun. Signal.* – 2025. – Vol.23, N.1. – P.55-71.
- 363.Zhao K., Zhang H., Yang D. SIRT1 exerts protective effects by inhibiting endoplasmic reticulum stress and NF- κ B signaling pathways // *Front. Cell. Dev. Biol.* – 2024. – Vol.12. – P.1405546.
- 364.Zhao M., Zhu P., Fujino M., Zhuang J., Guo H., Sheikh I. et al. Oxidative stress in hypoxic-ischemic encephalopathy: molecular mechanisms and therapeutic strategies // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol.17, N.12. – P.352-359.
- 365.Zhao W., Song Y., Wang Q., Han S., Li X., Cui Y. et al. Cryptotanshinone induces necroptosis through Ca²⁺ release and ROS production in vitro and in vivo // *Curr. Mol. Pharmacol.* – 2022. – Vol.15, N.7. – P.1009-1023.
- 366.Zhong Y., Zhang Z., Wang J., Xing Y., Ri M., Jin H. et al. Zinc finger protein 91 mediates necroptosis by initiating RIPK1-RIPK3-MLKL signal transduction in response to TNF receptor 1 ligation // *Toxicol. Lett.* – 2022. – Vol.356. – P.75-88.
- 367.Zhou C., Zhang X., Yang C., He Y., Zhang L. PLEKHO2 inhibits TNF α -induced cell death by suppressing RIPK1 activation // *Cell. Death. Dis.* – 2021. – Vol.12, N.8. – P.714-817.
- 368.Zhou J., Chong S., Lim A., Singh B., Sinha R., Salmon A. et al. Changes in macroautophagy, chaperone-mediated autophagy, and mitochondrial metabolism in murine skeletal and cardiac muscle during aging // *Aging. (Albany NY).* – 2017. – Vol.9, N.2. – P.583-599.
- 369.Zhou T., De Roo E., Yang H., Stranz A., Wang Q., Ginnan R. et al. MLKL and CaMKII are involved in RIPK3-mediated smooth muscle cell necroptosis // *Cells.* – 2021. – Vol.10, N.9. – P.2397-2399.
- 370.Zhou W., Lai Y., Zhu J., Xu X., Yu W., Du Z, et al. The classical apoptotic adaptor FADD regulates glycolytic capacity in acute lymphoblastic leukemia // *Int. J. Biol. Sci.* – 2022. – Vol.18, N.8. – P.3137–3155.
- 371.Zhou X., Tron V., Li G., Trotter M. Heat shock transcription factor-1 regulates heat shock protein-72 expression in human keratinocytes exposed to ultraviolet B light // *J. Invest. Dermatol.* – 1998. – Vol.111, N.2. – P.194-198.
- 372.Zhu Y., Cui H., Lv J., Li G., Li X., Ye F., Zhong L. Angiotensin II triggers RIPK3-MLKL-mediated necroptosis by activating the Fas/FasL signaling pathway in renal tubular cells // *PLoS One.* – 2020. – Vol.15, N.3. – P.e0228385.
- 373.Zhu Y., Xie J., Shi J. Rac1/ROCK-driven membrane dynamics promote natural killer cell cytotoxicity via granzyme-induced necroptosis // *BMC Biol.* – 2021. – Vol.19, N.1. – P.140-

142.

374. Zsiros V., Katz S., Dóczy N., Kiss A. Autophagy is the key process in the re-establishment of the epitheloid phenotype during mesenchymal-epithelial transition (MET) // *Exp. Cell. Res.* – 2017. – Vol.352, N.2. – P.382-392.
375. Zu R., Yu Z., Zhao J., Lu X., Liang W., Sun L. et al. Quantitative analysis of phosphoproteome in necroptosis reveals a role of TRIM28 phosphorylation in promoting necroptosis-induced cytokine production // *Cell. Death Dis.* – 2021. – Vol.12, N.11. – P.994-997.