

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "РОССИЙСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КОЭН ИВАН АЛЕКСАНДРОВИЧ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЖИРОВЫХ
АУТОТРАНСПЛАНТАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ
МЕХАНИЧЕСКОЙ ЛИПОСАКЦИИ

3.1.16. Пластическая хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,
доцент Мантурова Наталья Евгеньевна

Москва, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ СРАВНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДИК ЛИПОСАКЦИИ ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 История традиционной липосакции.....	12
1.2 Липоаспирация и аутоадипотрансплантация	21
1.3 Внешние факторы, влияющие на свойства липоаспирата	23
1.3.1 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора оптимальной анатомической области для липоаспирации.....	24
1.3.2 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора процедуры липоаспирации и давления.....	26
1.3.3 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора метода центрифугирования.....	29
1.3.4 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от вида аспирационной канюли	31
1.3.5 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора влажной или сухой аспирации.....	33
1.4 Индивидуальные факторы пациента, влияющие на свойства липоаспирата ...	34
1.4.1 Влияние возраста на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани	35
1.4.2 Влияние пола на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани	36
1.4.3 Влияние менопаузального статуса и уровня эстрогенов на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани	37
1.4.4 Влияние индекса массы тела на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани.....	38
1.4.5 Влияние сахарного диабета на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани.....	40
1.5 Влияние противоопухолевой терапии на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани.....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
2.1 Дизайн исследования	43
2.2 Процедура липосакции	45
2.3 Выделение стромально-васкулярной фракции	50

2.4 Культивирование стволовых клеток жировой ткани	51
2.5 Статистическая обработка данных.....	51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ.....	53
3.1 Характеристика пациентов.....	53
3.2 Сравнительная характеристика различных методов липосакции.....	55
3.3 Количественные характеристики стромально-васкулярной фракции и стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции.....	65
3.4 Жизнеспособность стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции	67
3.5 Иммунофенотип стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции	68
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	82
ВЫВОДЫ	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	99
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	100

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Процедура липосакции является одной из самых частых эстетических операций, проводимых как в Российской Федерации, так и во всем мире, уступая первое место только операциям по увлечению груди [80]. Липосакция – не только способ удаление избыточных жировых отложений и коррекции контуров тела, но и способ получения трансплантата из жировой ткани. Для уменьшения степени травматичности липосакции, улучшения результатов и снижения количества осложнений на данный момент разработано множество методов забора жировой ткани – механические липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция), ультразвуковая липосакция, лазерная липосакция, водоструйная липосакция, радиочастотная липосакция и пр. [11, 14]. При этом механические методы липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция) являются не только более распространенными, но и всегда входят в состав других методов как окончательный этап сбора жировых клеток.

В современной пластической хирургии процедуру липосакции все чаще и чаще стала совмещать с последующим использованием компонентов липоаспирата для трансплантации, то есть с последующим липофилингом.

Богатая на клеточные элементы жировая ткань после забора чаще всего подвергается ферментативному расщеплению с использованием коллагеназы, реже используются неферментативные методы (центрифугирование, вибрационное разделение).

После ферментативной обработки и центрифугирования жировой ткани в пробирке образуются три слоя. Интерес для клинической практики представляют средний и нижний слои липоаспирата. Средний слой представлен в основном адипоцитами – жировыми клетками, с которыми связывают эффект увеличения объёма тканей при липофилинге. В нижнем слое скапливается стромально-васкулярная фракция (СВФ), состоящая из стволовых клеток жировой ткани

(СКЖТ), перицитов, эндотелиальных клеток, эритроцитов, фибробластов, гладкомышечных клеток сосудов, гемопоэтических клеток и разнообразных клеток иммунной системы [2, 4, 46, 136].

Учитывая широкие возможности применения стволовых клеток в медицине и относительную «простоту» их получения из жировой ткани, в регенеративной медицине стали активно применяться методы липосакции для дальнейшего выделения стволовых клеток и клеточной терапии. Жировая ткань стала важным источником стволовых клеток взрослого организма и находит свое применение не только при коррекции контуров тела, но и в регенеративных целях как в пластической хирургии, так и в смежных специальностях [4, 6, 7, 13].

На жизнеспособность и функции стволовых клеток могут оказывать влияние как сами методы получения жировой ткани, так и множество индивидуальных факторов пациента, таких как возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), наличие хронических заболеваний, а также свойства донорской области [3, 5, 37, 63, 65, 127, 131].

В ряде исследований сообщалось о возможном негативном влиянии на количество стволовых клеток и характеристики СКЖТ высоких значений отрицательного давления при использовании аппаратного метода сбора жировой ткани. Mojallal и др. получили существенно большее количество СКЖТ из жировой ткани, собранной при более низком отрицательном давлении (-350 мм рт. ст.), чем при высоком отрицательном давлении (-700 мм рт. ст.) [117]. Chen и др. сообщили о более чем двухкратном увеличении количества клеток в СВФ, выделенной из жировой ткани, собранной при низком отрицательном давлении (-225 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.), чем в СВФ из жировой ткани, полученной при высоком отрицательном давлении (-410 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.). Сообщалось и о более быстром росте клеток и большей секреции ряда факторов роста в клетках, полученных при более низком отрицательном давлении в начальных пассажах [36]. Другие же исследователи не обнаруживают существенных различий ни в жизнеспособности адипоцитов, ни в количестве мезенхимальных стволовых клеток в жировой ткани, полученной при различных отрицательных давлениях

[35, 100]. К примеру, в исследованиях Charles-de-Sá и др. указано, что при отрицательном давлении -350 мм рт. ст. и -750 мм рт. ст. количество СКЖТ не отличалось в образцах собранных у 15 пациентов из одной анатомической области [35]. Также согласно Charles-de-Sá и др. отмечалось отсутствие различий в количестве и жизнеспособности адипоцитов, что представляется нелогичным, так как влияние высокого отрицательного давления на адипоциты достаточно хорошо изучено и имеет строго отрицательную корреляцию [35, 119, 124]. Эти противоречивые данные могут быть обусловлены высокой погрешностью измерений или ошибкой в методологии исследований и требуют дополнительной проверки.

Таким образом, можно сказать, что влияние величины отрицательного давления на жировой трансплантат и тем более на СКЖТ изучено недостаточно.

Как уже было сказано, для последующего липофилинга большое значение имеет число адипоцитов в липоаспирате, которое определяет объёмный эффект липофилинга, а также активность СВФ жировой ткани, которая связана с положительным регенераторным действием липофилинга. В связи с этим стоит выделить 2 группы операций с применением аутотрансплантации жировой ткани: операции с использованием больших объёмов липоаспирата (больше 200 мл) – с целью коррекции контуров тела за счет объёмного эффекта липофилинга и операции с использованием малого объёма липоаспирата (до 200 мл) – с целью не столько увеличения объёма тканей, сколько достижения регенераторного эффекта СКЖТ. Несмотря на существование разных целей применения жировых трансплантатов после липосакции, в современных источниках мало внимания уделяется изучению различий между методами липосакции в контексте последующего использования липоаспирата. Не описаны оптимальные методы липосакции для малых и больших объёмов липоаспирата.

В зарубежной литературе можно встретить отдельные сравнения липоаспирата, полученного различными методами липосакции после операций, выполненных у разных пациентов по принципу один пациент – один метод липосакции, но ни в одном исследовании не упоминается сравнение липоаспирата,

полученного несколькими методами липосакции у одного пациента. Использование же различных методов липосакции у одного пациента позволяет избежать искажений, связанных с индивидуальными анатомическими и физиологическими особенностями каждого конкретного человека, что принципиально важно, когда речь идет об устойчивости адипоцитов и активности СКЖТ.

Таким образом, основным недостатком современной методологии сравнения различных видов липосакции является попытка сравнения липоасpirата, полученного разными методами от разных пациентов, что усложняет интерпретацию результатов ввиду различий в анатомии и физиологии жировой ткани у разных пациентов.

Исходя из вышесказанного были сформулированы цели и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Улучшить результаты хирургических вмешательств с использованием аутологических жировых трансплантатов путем сравнительной оценки биологических свойств липоасpirата, полученного при различных видах механической липосакции.

Задачи исследования

1. Изучить влияние вибрационной, шприцевой и классической липосакции на жизнеспособность и культуральные свойства СКЖТ.
2. Изучить влияние вибрационной, шприцевой и классической липосакции на количественные характеристики СВФ и СКЖТ.
3. Изучить иммунофенотипические свойства СКЖТ в липоасpirате, полученном при вибрационной, шприцевой и классической липосакции.
4. Изучить влияние величины отрицательного давления при классической липосакции на жизнеспособность, количественные и иммунофенотипические характеристики СКЖТ.

5. Сравнить длительность проведения липоаспирации различными методами механической липосакции.

Научная новизна исследования

Впервые изучено влияние распространенных методов механической липосакции и величины отрицательного давления на культуральные свойства СКЖТ исходя из принципа применения различных методов липосакции у одного пациента. Для решения поставленных задач был построен оригинальный дизайн исследования, благодаря которому удалось избежать влияния индивидуальных соматических факторов пациента, способных исказить результаты исследования. По результатам исследования впервые были сформулированы рекомендации относительно применения различных методов механической липосакции в зависимости от дальнейших целей трансплантации жировой ткани.

Положения, выносимые на защиту

1. Выживаемость СКЖТ после культивирования является одинаково высокой вне зависимости от выбранного способа механической липосакции.
2. Выбор того или иного метода механической липосакции оказывает незначительное влияние на иммунофенотипические характеристики СКЖТ.
3. Шприцевая липосакция позволяет получать большее количество СКЖТ в липоаспирате по сравнению с классической липосакцией с высоким отрицательным давлением.
4. Высокое отрицательное давление (-750 мм рт.ст.) при классической липосакции не оказывает негативного влияния на жизнеспособность, количественные и иммунофенотипические характеристики СКЖТ по сравнению с низким отрицательным давлением (-250 мм рт. ст.).
5. Наиболее эффективным методом механической липосакции с точки зрения длительности операции является вибрационная липосакция.

Теоретическая и практическая значимость

По результатам исследования определены оптимальные методы механической липоаспирации с целью дальнейшего липофилинга или использования СВФ и СКЖТ в целях регенеративной медицины.

Метод вибрационной липосакции при больших объёмах липоаспирации с целью дальнейшего липофилинга или без него является более предпочтительным по сравнению с классическим методом, так как сокращает время операции.

При проведении липоаспирации малых объёмов жировой ткани (до 200 мл) с целью использования регенераторного потенциала СКЖТ метод шприцевой липосакции является оптимальным, так как он приводит к большему выходу стволовых клеток, не требует использования дорогостоящего оборудования, а различия в длительности процедур липосакции при малых объёмах незначительны и компенсируются необходимостью предоперационной подготовки высокотехнологичного оборудования для других видов механической липосакции.

Отсутствие различий в иммунофенотипических и культуральных свойствах трансплантатов, полученных при различных методиках механической липосакции, изученных в данной работе, дает возможность использовать любой из указанных методов для научных и практических целей без риска внесения искажений на этапе липосакции.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор пациентов и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне проспективного когортного исследования с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Протокол № 181 от 28 января 2019г.

Апробация работы

Основные положения и материалы диссертации были обсуждены на II Международном конгрессе "Мультидисциплинарная эстетическая медицина".

Апробация работы состоялась на заседании кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова 6 июня 2022 года.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в участии на всех этапах проведения научно-практического исследования, включая непосредственное участие в диагностическом и лечебном процессе, в сборе, систематизации и статистической обработке полученных результатов, написании диссертации и автореферата. Автору принадлежит определяющая роль в постановке цели и задач исследования, интерпретации результатов, формулировании и обосновании выводов и практических рекомендаций.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.16. Пластическая хирургия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследований включены в учебные материалы кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий

РНИМУ им. Н.И. Пирогова для теоретической и практической подготовки врачей, ординаторов и аспирантов.

Практические рекомендации используются в работе отделений пластической хирургии «Института пластической хирургии и косметологии» г. Москва, клиник пластической хирургии «Галактика» г. Москва и г. Санкт-Петербург.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 научные работы, из них 3 в рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК и рекомендованных для публикации материалов диссертационных исследований.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и указателя использованной литературы.

Текст диссертационного исследования проиллюстрирован 20 таблицами и 23 рисунками. Список литературы содержит 17 отечественных и 167 зарубежных источников.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ СРАВНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДИК ЛИПОСАКЦИИ ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 История традиционной липосакции

Первая известная попытка изменения контуров тела была предпринята французским хирургом Charles Dujarier в 1921 г. Пациенткой стала французская танцовщица и модель, стремившаяся избавиться от избытка жировых отложений в области бедер и голеней. Жировая ткань удалялась из широкого доступа с помощью маточной кюретки. К сожалению, оперативное вмешательство осложнилось повреждением бедренной артерии, что привело к развитию гангрены с последующей ампутацией нижней конечности. Трагический исход операции привел к негативному отношению медицинского сообщества к подобным процедурам, оценившего их в качестве опасных и даже жизнеугрожающих, тем самым «похоронив» идею прямого удаления жировых отложений на следующие сорок лет [15, 59].

С 1964 г. немецкий пластический хирург Joseph Schrudde начал применять новый инвазивный метод удаления подкожных жировых отложений в области нижних конечностей, при котором маточная кюретка использовалась из небольшого разреза. Впервые он опубликовал данные об этом методе в 1972 г., а в 1984 г. доложил о 250 подобных операциях, при которых наблюдалось малое количество послеоперационных осложнений, основными из которых были серомы и всего 3 случая развития локальных инфекций. До середины 1970-х этот метод вошел в практику сразу нескольких известных хирургов, среди которых были Kesselring и Meyer [10, 89]. Они в 1976 г. используя большую обоюдоострую кюретку, присоединенную к маломощному аспиратору, проводили удаление жировой ткани, предварительно отсепарированную от глубоких слоев ножницами. Подобная «острая» техника давала возможность работать

преимущественно в зонах со скудным кровоснабжением, ее применение было ограничена областями с сильной васкуляризацией [88].

В 1975 г. отец и сын Arpad и Giorgio Fischer, будучи пластическими хирургами, разработали современную технику липосакции. Они стали первыми, кто предложил для проведения липосакции тупоконечную полую канюлю, присоединенную к отсосу, совместно с перекрестной техникой выполнения из нескольких доступов. Внедренной ими метод с использованием тупоконечной канюли позволял достигать более предсказуемых и качественных эстетических результатов с меньшим количеством осложнений. Arpad и Giorgio Fischer применяли свой метод только для липосакции области наружных бедер [58].

Два парижских хирурга – Yves-Gérard Illouz и Pierre Fournier модифицировали и популяризировали технику Fischer. В 1977 г. Illouz усовершенствовал инструментарий для проведения липосакции и расширил область его применения на все тело. Для снижения риска травматизацию нервов, лимфатических и кровеносных сосудов он предложил использовать тупоконечные канюли меньшего диаметра. Внедрив в свою работу канюли трёх различных диаметров, он менял их в зависимости от области, в которой предстояло проводить липосакцию. Большие (10 мм) – для боков, наружных бедер и ягодиц, средние – для коленей, лодыжек, и живота, и маленькие – для лица.

Для достижения меньшей травматичности операций и уменьшения риска кровотечений Yves-Gérard Illouz постепенно разработал «влажную» технику липосакции («wet-technique», англ.), основанную на введении физиологического раствора в жировую ткань, что позволяло выполнять гидродиссекцию тканей перед липосакцией.

Введение гидродиссекции в практику позволяло сохранить от травматизации нервно-мышечные пучки, а также увеличить общую толщину жировой ткани преимущественно за счет ее глубокого слоя. Эта техника упрощала липоаспирацию именно глубокого слоя жировой ткани, при этом поверхностный слой оставался интактным [77].

Pierre Fournier, также работавший в Париже, изначально придерживался «сухой» техники липосакции, при которой никакой инфильтрации тканей растворами не проводилось. Основная цель, которую он преследовал – достижение более прецизионных результатов лечения. Однако накопленный опыт заставил его оставить «сухую» технику и перейти на инфильтрацию жировой ткани раствором с лидокаином для уменьшения интра- и послеоперационной кровоточивости. Кроме того, он строго придерживался идеи о необходимости послеоперационной компрессии для поддержки прооперированных областей с целью недопущения искажения контуров тела.

Много путешествуя, доктор Fournier проводил обучение этой технике хирургов со всего мира, вдохновляя все большее число своих последователей к проведению липосакции в соответствии с новыми принципами [62]. Более того, с 80-х годов в самой Франции устраивались образовательные семинары, которые посетили множество хирургов, что позволило этой технике распространиться по планете. Использование при липосакции тупоконечной канюли стало общепринятой методикой, и в 1982 г. было создано «Американское общество липосакции», объединив пластических хирургов США и всего мира. Общество занималось разработкой учебных рекомендаций, а с 1984 г. процедура липосакции вошла в программы подготовки резидентов пластических хирургов и дерматологов [76, 123].

С самого начала липосакция в основном проводилась под общей анестезией. В 80-х годах врачи-дерматологи, которым в США разрешалось проводить липосакцию, были крайне заинтересованы в проведении этой операции не только амбулаторно, но и под местной анестезией. С тех пор в практику стала входить комбинация легкой предоперационной седации с местной лидокаиновой анестезией. Но возможности применения данной комбинации были ограничены максимальными рекомендованными дозами местного анестетика, и операция была показана только для небольших областей.

В 1987 Jeffrey Alan Klein, врач-дерматолог из Калифорнии, первый сообщил об эффективности и безопасности использования обильно разведенного местного

анестетика в больших объемах, что позволило проводить липосакцию под местной анестезией, не прибегая при этом к общей анестезии или седации. Jeffrey Klein ввел в клиническую практику хирургов раствор, состоящий из 0,05% лидокаина, 1:1000000 эpineфрина и 10 мл бикарбоната натрия на 1 литр физиологического раствора, который стал применяться для инфильтрации тканей перед липосакцией [92]. Он также показал, что та же доза лидокаина, разбавленная в большом объеме жидкости, позволяет достичь хорошего уровня анестезии даже в больших по площади областях, не приводя к эффектам системной токсичности лидокаина. Кроме этого, наличие эpineфрина вызывает вазоконстрикцию, крайне важную для снижения кровоточивости, которая была одной из главных проблем липосакции до находки доктора Klein [93, 94].

Несколько позже Patrick Lillis в своих работах покажет, что туменесцентная техника Klein дает значительное снижение кровопотери, даже при липосакции более 3 литров раствора, а плазменная абсорбция лидокаина остается минимальной, если вводятся растворы с низкой концентрацией, как и в работах доктора Klein [105]. Дополнительно проведение липосакции без общей анестезии имеет свои преимущества, такие как уменьшение длительности госпитализации, снижение цены и рисков анестезии.

Основной недостаток туменесцентной техники заключается в том, что этап инфильтрации занимает большое количество времени. К другому недостатку метода можно отнести необходимость работать канюлей с меньшим диаметром, для профилактики более выраженного болевого синдрома у пациентов, что требует значительно большего времени для удаления жировой ткани, по сравнению с операциями, проводимыми под общей анестезией [113].

Изначально липосакция была разработана как процедура, основанная на свойствах физического вакуума, создающегося благодаря работе вакуумного отсоса. В 1988 г. Luiz Toledo, хирург из Бразилии, предложил использовать для липосакции одноразовые шприцы разных размеров. Основным преимуществом шприцевой липосакции является свобода движения хирурга вокруг операционного стола, а также четкое представление об объемах вводимого

инфильтрационного раствора и объёмах удаляемой жировой ткани в каждой зоне липосакции. Luiz Toledo также предложил рисовать «карту тела» пациента перед операцией. В его технике операционная сестра записывает точное количество введенного раствора и забранного липоасpirата для сохранения максимальной симметричности контуров тела при проведении операции [160].

Основным преимуществом шприцевой липосакции является точность в подсчетах забранной жировой ткани вместе с возможностью вводить аспират тем же самым шприцом. Вакуумный насос делает процедуру липосакции более удобной и менее трудоемкой для хирурга, особенно в случаях липосакции большого объёма. Поэтому вакуумная липосакция обычно выбирается в ситуациях, где на первом месте стоит количество удаленной жировой ткани, а не ее топография, симметрия и точное распределение [102].

С момента изобретения вакуумной липосакции предпринималось несколько попыток улучшить свойства вакуумного насоса. На сегодняшний день большинство вакуумных насосов имеют в своей конструкции два цилиндрических поршня. Некоторые отсосы оснащены специальными охлаждающими вентиляторами, чтобы обеспечить непрерывную работу поршней, которые иногда задействованы часами.

В англоязычной литературе традиционная липосакция получила аббревиатуру SAL (suction-assisted liposuction), что указывает на основную действующую силу – отрицательное давление.

Начиная с 1990-х гг. началась эра модификации классической липосакции и появления специальных устройств для ее проведения. Так были разработаны ультразвуковая липосакция (UAL – ultrasound-assisted liposuction), вибрационная липосакция (PAL – power-assisted liposuction), лазерная липосакция (LAL – laser-assisted liposuction), водоструйная липосакция (WAL – water-assisted liposuction), радиочастотная липосакция (RFAL – radiofrequency-assisted liposuction), а также различные неинвазивные методы липолиза, которые к липосакциям напрямую отнести нельзя [12].

В 1992 году впервые в истории пластической хирургии была предложена ультразвуковая липосакция. Ее предложил Michele Zocchi, итальянский пластический хирург, как альтернативу классическому методу. Существенный вклад в развитие этого вида липосакции оказал Nicolò Scuderi [1, 183].

Техника, предложенная Michele Zocchi, состоит из двух этапов. Первый этап – этап ультразвукового липолиза при помощи специального ультразвукового зонда, второй этап – сама липоаспирация. Электрическая энергия преобразуется в механическую энергию колебания зонда с частотой 16 кГц. Колебания зонда создают звуковую волну с зоной отрицательного давления, которая вызывает кавитацию и фрагментацию клеток.

Согласно представлениям доктора Zocchi ультразвуковая липосакция должна была облегчить выполнение операции и сохранить неповрежденными нервно-сосудистые структуры, которые могут быть разрушены обычной канюлей в классической технике. По его мнению, ультразвуковая липосакция имеет явные преимущества над традиционной и характеризуется: селективным разрушением тканей с сохранением окружающих структур, имеющих более высокую плотность; удалением «жидкой части» жировой ткани (жирных кислот) с сохранением оболочек адипоцитов и межклеточных структур для создания ровной поверхности кожи; сокращением кожи вследствие стимуляции дермы ультразвуковой энергией; коррекцией целлюлита; меньшим приложением физических усилий хирургом благодаря предварительной дезинтеграции жировой ткани ультразвуком [99].

Метод ультразвуковой липосакции сначала распространился в странах Южной Америки и Европы несмотря на то, что на ранних этапах своего развития в литературе сообщалось о большом количестве осложнений: некрозов, ожогов и сером, что несколько замедлило распространение в других странах [146].

Rohrich и др. показали значительно большую концентрацию адипоцитарных ферментов в липоаспирате после проведения ультразвуковой липосакции по сравнению с традиционной, что свидетельствует о большей степени повреждения клеточных мембран в результате воздействия ультразвука [141].

Сторонники ультразвуковой липосакции заявляют о благоприятных эффектах ультразвукового воздействия при липосакции, которыми являются кавитация пузырьков воздуха в тумесцентном растворе, струи которых разделяют жировые клетки и СКЖТ (ADSC – adipose derived stem-cells), тем самым избегая их повреждения, что увеличивает потенциальную жизнеспособность трансплантатов для липофилинга [150].

Данное заявление представляется весьма противоречивым, поскольку кавитация не может быть избирательной и с большой долей вероятности будет повреждать и адипоциты, и СКЖТ.

Также сторонники ультразвуковой техники считают, что кавитация адипоцитов перед аспирацией уменьшает кровопотерю и продолжительность операции, приводит к меньшей выраженности послеоперационного отека тканей, уменьшая чувство дискомфорта у пациентов. В защиту метода они приводят аргументы, показывающие улучшение результатов контурирования в областях с преобладанием фиброзных структур, таких как поверхность грудной клетки и спины [114].

Хотя мнения относительно продолжительности операции и меньшей выраженности послеоперационного отека разнятся, в ряде исследований показано, что ультразвуковая липосакция особенно эффективна в случаях вторичной липосакции, а также в областях богатых фиброзной тканью, таких как бока у мужчин и поверхность грудной клетки [29].

В настоящее время в мире представлены аппараты для ультразвуковой липосакции третьего поколения, например, VASER™ (Solta Medical, Hayward, CA, USA), позволяющие осуществлять более значимую фрагментацию адипоцитов при меньшей мощности благодаря режимам прерывистой подачи энергии в противовес непрерывной [82].

Критики ультразвуковой липосакции заявляют, что техника является дорогостоящей, требует больших по длине разрезов и несет в себе риск термических ожогов, если проведена недостаточная предварительная инфильтрация тканей [78]. С другой стороны, тумесцентная инфильтрация

занимает больше времени, требует большего введения анестетиков по сравнению с влажной и супервлажной техниками.

В истоках лазер-опосредованного липолиза лежат исследования влияния лазера на жировую ткань, проведенных David Apfelberg в 1992 году [22]. Под его руководством группа исследователей использовала твердотельный лазер размещенный внутри липосакционной канюли. В качестве активной среды был использован алюмоиттриевый гранат («YAG», $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$), легированный ионами неодима (Nd) [23].

Начиная с 1990-х годов многие крупные производители медицинского оборудования стали предлагать свои версии лазеров для липосакции. На сегодняшний день они представлены в двух основных вариантах: лазеры с одновременной традиционной механической аспирацией и лазеры с последовательным воздействием лазера и последующим этапом аспирации.

Лазеры с разной длиной волны по-разному влияют на тканевые структуры, такие как коллаген, жир, сосуды, гемоглобин и воду [90]. Наиболее часто применяются следующие лазеры: лазер на иттрий-алюминиевом гранате с неодимом (Nd:YAG) с длиной волны 1,064 нм, лазер на иттрий-алюминиевом гранате с неодимом с длиной волн 1,064/1,320 нм и диодный лазер с длиной волны 980 нм. Лазер Nd:YAG 1,064 нм является наиболее изученным и безопасным [178].

В недавних исследованиях лазер-опосредованная липосакция показала хорошие результаты в лечении липодистрофий. Лазерный пучок, напрямую воздействуя на жировую ткань, повреждает оболочки адипоцитов, что приводит к выходу жирных кислот во внеклеточное пространство. Кроме цитолитического эффекта на адипоциты лазер влияет на ремоделирование имеющегося коллагена, стимулирует коллагеногенез и реорганизацию сетчатого слоя дермы [168].

К недостаткам лазерной липосакции относят потенциальный риск термической травмы, высокую стоимость оборудования, увеличение длительности операции и потенциальное повреждение жировых клеток и других компонентов липоаспирата. В то время как первые сравнительные клинические исследования показали незначительные различия между результатами классической и лазерной

липосакции, лазерную липосакцию связывают с потенциальными преимуществами благодаря ее селективной способности воздействовать на ткани при изменении длины волны лазерного пучка [23].

Стремление хирургов уменьшить явления физической усталости в процессе проведения липосакции привело в 1998 году к разработке и регистрации специального устройства, способного передавать волны вибрации на липосакционную канюлю. Липосакционная канюля, подсоединенная к отсосу, вставлялась в рукоятку, соединенную с емкостями, наполненные сжатым азотом или воздухом. Канюля совершала реципрокные движения с частотой 2000-4000 раз в минуту и длиной хода в 2 мм. Скорость движения канюли регулировалась хирургом. Первое поколение аппаратов PAL было представлено громоздкими и шумными устройствами. К счастью, вскоре появилось и второе поколение, ставшее полностью электрическим и исключавшее использование сжатых газов, а значит шум и громоздкость оборудования [60].

Сторонники вибрационной липосакции отмечают, что благодаря вибрации канюля PAL гораздо быстрее разрушает плотные жировые конгломераты нежели традиционный метод SAL. Кроме того, благодаря постоянному движению и вибрации канюля забивается тканями существенно реже. Многие хирурги, работающие с PAL и SAL, отмечают, что при работе с вибрационной канюлей затрачивается меньше физических усилий, а продолжительность операции при этом сокращается [61].

Недостатками данного метода считают: дополнительные расходы на оборудование, необходимость обучения персонала и вибрацию, передаваемую на руки хирурга. После появления второго поколения вибрационных аппаратов для липосакции проблема шума в операционной была решена [60].

Разработка концепции водоструйной липосакции относится к середине 2000-х годов. Первые работы по сравнению водоструйной и традиционной липосакции были проведены Antonino Araco в 2007 г. [24]. В основе метода лежит тонкая направленная канюля с наконечником в форме веера, через который осуществляется подача жидкости для инфильтрации и разобщения жировой ткани

без повреждения соседних тканей. Поршневый насос нагнетает необходимое давление в системе и инфильтрационный раствор подается через закрытую систему трубок на канюлю. Жидкость под давлением пульсирующими движениями попадает из внутренней канюли в наружную, в которой имеются отверстия разного диаметра и формы. Интенсивность потока воды и давление регулируется хирургом через специальное программное обеспечение. После инфильтрации происходит стандартная липоаспирация методами SAL. Как и ультразвуковая липосакция (UAL), водоструйная липосакция менее травматична и имеет преимущества при липосакциях большого объёма, но вместе с тем никак не влияет на сократимость кожи [9, 111].

1.2 Липоаспирация и аутоадипотрансплантация

Впервые о процедуре пересадки собственной жировой ткани сообщил на 22-м конгрессе Немецкого общества хирургов, проходившем в апреле 1893 г., один из основоположников немецкой асептики Gustav Adolf Neuber. Им была выполнена имплантация собственной жировой ткани пациента из верхней части плеча в область воронкообразного рубца на лице, сформировавшегося после излечения от костной формы туберкулеза. Получив «великолепный» косметический результат, Gustav Neuber отметил, что чем меньше фрагменты жировой ткани, тем лучше результаты приживления [122]. С этой поры методика аутоотрансплантации жировой ткани стала постепенно развиваться и получила особенно широкое распространение после появления в 80-х годах прошлого века метода липосакции [157]. Благодаря простоте выполнения процедуры липосакции жировая ткань стала легкодоступной и недорогой в использовании, дополнительным достоинством которой стало отсутствие иммуногенности при ее переносе в пределах одного организма в качестве не только филлера, но и среды, улучшающей трофику местных тканей [39].

Несмотря на то, что пересадка жировой ткани широко используется уже несколько десятилетий, одной из нерешенных проблем в этой области остается

непредсказуемая резорбция жировой ткани после ее трансплантации, которая может потребовать повторных операций и привести к неудовлетворительным результатам [98, 156]. Поэтому методологию трансплантации жировой ткани необходимо оптимизировать для минимизации потери объема и свойств трансплантата.

Полученная при липосакции жировая ткань состоит из зрелых адипоцитов, внеклеточного матрикса и СВФ. Последняя, в свою очередь, состоит из различных клеток, включая СКЖТ, перициты, эндотелиальные клетки, эритроциты, фибробласты, гладкомышечные клетки сосудов, гемопоэтические клетки и другие иммунные клетки [8].

Мезенхимальные стволовые клетки способны положительно влиять на регенерацию тканей [153, 112, 16]. Недавние исследования показали, что именно жировая ткань содержит самый высокий процент зрелых стволовых клеток в организме [30]. СКЖТ могут подвергаться мультилинейной дифференцировке [155] и могут иметь решающее значение для приживания жирового трансплантата, поскольку зрелые адипоциты, выжившие после процедур липосакции и процессинга, не будут реплицироваться и в конечном итоге погибнут, вызывая воспалительные реакции [97]. Обогащенные же СКЖТ трансплантаты, демонстрируют лучшую жизнеспособность и лучшие результаты приживания после трансплантации [97]. Этот вопрос все еще является предметом дискуссий, поскольку в других клинических исследованиях утверждается, что нет значительной разницы в выживаемости пересаженного жира между традиционной аутоадипотрансплантацией и аутоадипотрансплантацией с обогащением СВФ, и даже добавляется, что послеоперационные осложнения чаще наблюдаются в последнем случае [10]. Согласно недавнему метаанализу Laloze и др., в котором эффективность липотрансфера с обогащением СВФ (cell-assisted lipotransfer, CAL) оценивалась путем сравнения 16 исследований, выживаемость жировой ткани была значительно выше с CAL по сравнению с традиционными процедурами независимо от места инъекции (область груди или область лица), но только для небольших объемов инъекций (менее 100 мл). Тот же автор пришел к выводу, что

CAL ассоциирована с большим количеством осложнений и не уменьшает количество дополнительных операций, необходимых после первичной пересадки жировой ткани [97].

По данным многочисленных исследований, на результаты приживления жировой ткани при аутотрансплантации может влиять выбор техники и условий выполнения процедуры липоаспирации. Такие факторы, как выбор области забора жировой ткани, способа липосакции, давления при липосакции, диаметра липосакционной канюли, предварительная инфильтрация туменесцентным раствором, условий центрифугирования жировой ткани могут оказывать существенное воздействие на выживаемость и жизнеспособность клеток трансплантата [72, 103, 170, 173].

1.3 Внешние факторы, влияющие на свойства липоаспирата

Различные техники липоаспирации дают разные результаты при трансплантации жировой ткани. Как уже было сказано выше, для достижения наилучшей жизнеспособности и выживаемости клеток перед забором жировой ткани учитываются такие параметры, как:

- оптимальная донорская область;
- техника забора жировой ткани;
- диаметр канюли;
- давление, которое необходимо подвести во избежание потери жизнеспособности клеток;
- возможность введения раствора с анестетиками перед забором ткани.

1.3.1 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора оптимальной анатомической области для липоаспирации

Одним из важных факторов, потенциально влияющим на жизнеспособность и пролиферацию изолированных клеток, является анатомическая область. Поиск идеальной донорской области в целях забора жировой ткани не прекращается. В большинстве исследований область забора жировой ткани не повлияла на жизнеспособность и количественный выход адипоцитов и СКЖТ [37, 48, 86, 103, 106, 154].

Когда речь заходит о выборе области тела для проведения липоаспирации, то латеральная поясничная область, область живота, бедер и коленей являются наиболее часто выбираемыми областями для проведения липоаспирации. Li и др. сравнили эффективность жировых тканевых трансплантатов, собранных у 6 женщин из различных донорских областей (латеральная поясничная область, верхняя и нижняя области живота, наружная и внутренняя области бедер). Жировая ткань имплантировалась подкожно голым мышам, затем через 12 недель собиралась и исследовалась. Авторы не обнаружили существенных различий между трансплантатами из разных донорских областей по показателям веса, объема и гистологическим особенностям (включая их сохранность, наличие кист, воспаления, фиброза и неоваскуляризацию). Также не отличались показатели поверхностных клеточных маркеров и СВФ. Поэтому авторы предложили при выборе донорской области учитывать такие факторы, как доступность и предпочтение пациента [103].

Аналогично Ullmann и др. сообщили об отсутствии различий по весу, объему и гистологическим характеристикам, таким как васкуляризация и фиброз между жировой тканью, полученной из 3 донорских областей (область бедер, живота и молочных желез) у 48-летней женщины, жировая ткань которой была имплантирована в модель голых мышей [167].

Кроме того, Lim и др. пришли к похожему выводу, согласно которому как абдоминальный, так и неабдоминальный источники жира имели одинаковые

результаты лечения при коррекции краниофасциальной недостаточности мягких тканей у 27 пациентов с краниофасциальной макросомией ($n = 19$) и при синдроме Трейчера – Коллинза ($n = 8$) [106].

Это было также подтверждено Small и др., которые не обнаружили разницы в сохранении объема после пересадки жировой ткани, изъятый из области живота или области бедер, в ретроспективном исследовании с участием 73 пациентов, которым проводилась реконструкция молочной железы [154].

В других исследованиях не было обнаружено статистически значимых различий в объемах жировых трансплантатов [106, 154] или в жизнеспособности адипоцитов [48, 70] в зависимости от донорских областей.

С другой стороны, Padoin и др. провели исследование 25 женщин, которым проводилась липосакция в 4 и более областях. Мезенхимальные стволовые клетки были извлечены из липоаспираатов и количественно проанализированы. Результаты показали более высокую концентрацию клеток в образцах, полученных из нижней части живота и внутренней поверхности бедра, по сравнению с образцами, собранными из верхней части живота, трохантеральной области, области коленей и латеральной поясничной области [127].

В исследовании доктора Jurgens и др. сравнивали количество клеток, выделенных из областей живота и из латеральной поясничной области/области бедра, и обнаружили более высокую концентрацию СКЖТ в СВФ, полученную из области живота, но не было обнаружено значительных различий в абсолютном количестве ядродержащих клеток. Способность СКЖТ к остеогенной и хондрогенной дифференцировке не зависела от области забора [84].

Geissler и др. сообщают о более высокой жизнеспособности адипоцитов в липоаспиратах из нижней части живота по сравнению с боковыми поверхностями живота и внутренними поверхностями бёдер, что характерно только для подгруппы более молодых женщин (<45 лет) [65].

Tsekouras и др. в исследовании с участием 40 женщин-доноров показали, что жировая ткань из области наружного бедра имеет значительно более высокую концентрацию клеток СВФ по сравнению с любыми другими областями, такими

как внутренняя поверхность бедра, область живота, поясничная область и область колена. Кроме того, области внутреннего и наружного бедра содержали значительно большее количество СКЖТ по сравнению с липоасpirатами из области живота, области ягодиц и области коленей [161, 164].

Следует отметить, что Di Taranto и др. оценивали характеристики поверхностной и глубокой жировой ткани (SAT и DAT, соответственно), собранные у 16 женщин-доноров, которым проводилась первичная липосакция. Были собраны полноценные образцы кожи брюшной стенки от 3 трупов для проведения гистологического и иммуногистохимического анализа слоев подкожной жировой клетчатки. Клеточная фракция СВФ из абдоминальных липоасpirатов SAT показала более высокую жизнеспособность и более высокую экспрессию как стволовых/стромальных поверхностных антигенов эндоглина (CD105), так и васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) по сравнению с DAT из той же области липоасpirации. В целом SAT был связан с лучшими характеристиками стволовых клеток, что указывает на более предпочтительный вариант их использования в качестве донорской области [158].

Тем не менее выбор донорского участка мало влияет на результаты пересадки жировой ткани [85, 103, 127, 142, 167]. Поэтому многие авторы предлагают при выборе донорской области учитывать такие факторы, как доступность и предпочтение пациента.

1.3.2 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора процедуры липоасpirации и давления

После выбора области для получения липоасpirата следующим шагом является выбор техники липоасpirации – прямое иссечение, ручная шприцевая аспирация или аспирация при помощи устройств, нагнетающих отрицательное давление. Помимо этого, липосакция может проводиться при помощи дополнительных источников энергии: ультразвуковая липосакция (UAL – ultrasound-assisted liposuction) [34, 99, 183], вибрационная липосакция (PAL –

power-assisted liposuction) [60, 61], лазерная липосакция (LAL – laser-assisted liposuction) [22, 23, 90, 178], водоструйная липосакция (WAL – water-assisted liposuction) [24, 111], радиочастотная липосакция (RFAL – radiofrequency-assisted liposuction) [130, 179], а также различные неинвазивные методы липолиза, которые к липосакциям напрямую отнести нельзя.

Для проведения ручной аспирации требуется отрицательное давление. Несмотря на расхождения между методиками забора и рекомендуемыми величинами давления, предложенными разными авторами для получения более функциональных трансплантатов, хорошо известно, что высокое вакуумное давление при обычной липосакции более травматично для тканей, что приводит к структурным нарушениям адипоцитов.

Отрицательное давление (вакуум), которое используется во время процедуры липосакции, является важным фактором, влияющим на качество и количество собранных тканей. Lee и др. изучили влияние различных величин отрицательного давления (например, -381 мм рт. ст. и -635 мм рт. ст.) на трансплантацию жира [100].

В их исследовании *in vivo* не наблюдалось значительных различий в весе или гистологических особенностях жировых трансплантатов; более того, более высокое отрицательное давление не влияло на жизнеспособность жировых трансплантатов [100].

Аналогичным образом в исследовании Charles-De-Sá и др. не было обнаружено никаких существенных различий ни в жизнеспособности адипоцитов, ни в количестве мезенхимальных стволовых клеток в жировой ткани, полученной при различных величинах отрицательного давления [35].

Однако в ряде других исследований сообщалось о значительном влиянии отрицательного давления на характеристики клеток. Mojallal и др. получили большую клеточность трансплантата из жировой ткани, собранной при более низком отрицательном давлении (-350 мм рт. ст.), чем при более высоком отрицательном давлении (-700 мм рт. ст.) [117].

Так же Chen и др. сообщили о более чем 2-кратном увеличении количества клеток в СВФ, выделенном из жировой ткани, собранной при более низком отрицательном давлении (-225 мм рт. ст. ± 37 мм рт. ст.), чем при более высоком отрицательном давлении (-410 мм рт. ст. ± 37 мм рт. ст.) [36]. Они сообщили и о более быстром росте клеток, и о более высокой секреции некоторых факторов роста в клетках, полученных при более низком отрицательном давлении в начальных пассажах [36].

Вопрос о влиянии метода липосакции на иммунофенотипические характеристики СКЖТ в зависимости от выбранного метода липосакции изучен в одном из исследований, где Vajek и др. сравнили два метода липосакции – ручную и ультразвуковую. Сравнение проводилось по широкой панели, включающей 242 различных кластера дифференцировки (CD). В обеих сравниваемых группах СКЖТ экспрессировали характерные для них маркеры мезенхимальных стволовых клеток: CD13, CD29, CD73, CD90, CD105, CD166. Единственная статистическая разница была отмечена по маркеру CD166, экспрессия которого была выше в группе ультразвуковой липосакции. Также было выявлено отсутствие экспрессии СКЖТ нехарактерных маркеров, таких как CD11b, CD14, CD19, CD31, CD45 и HLA-DR. Авторы пришли к выводу, что выбор того или иного метода липосакции не оказывал существенного влияния на антигенный профиль культивируемых СКЖТ, поскольку не было выявлено существенных различий по характерным для этих клеток CD [27].

В 2013 году Международное общество клеточной терапии (ISCT) и Международная федерация по научным исследованиям и терапии жировой тканью (IFATS) опубликовали совместное заявление о минимальных критериях, определяющих иммунофенотипические характеристики СКЖТ, полученных из жировой ткани при проведении проточной цитометрии. К первично стабильно положительным маркерам, экспрессирующимся в СКЖТ на значениях более 80%, отнесены CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105. К первично отрицательным маркерам, экспрессирующимся в СКЖТ на значениях менее 2%, отнесены CD31, CD45, CD235a, а к первично нестабильным, экспрессирующимся на различных

уровнях, – CD34. Однако представленные критерии не должны рассматриваться в качестве отраслевых стандартов или нормативных определений и носят только рекомендательный характер [32].

1.3.3 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора метода центрифугирования

Существует множество исследований, в которых сообщается о различных настройках метода центрифугирования (Таблица 1) [25, 38, 55, 73, 96, 135, 137, 156].

Некоторые исследования показывают, что более высокие центробежные силы приводят к повреждению жировых клеток и к их низкой жизнеспособности, в то время как очень низкие центробежные силы показывают эффект, ничем не отличающийся от простого декантирования жира [55, 73, 96]. Интересным представляется одно из исследований, показавшее, что несмотря на увеличение периферических повреждений, количество жизнеспособных клеток было одинаковым в группах с 500 и 1300 об/мин *in vitro*; результаты *in vivo* продемонстрировали, что 1300 об/мин не оказали влияние на реабсорбцию через 12 месяцев [55].

Ряд исследований аналогичным образом не показали влияния центрифугирования на жизнеспособность адипоцитов. Так Pulsfort и др. не нашли значительных гистологических изменений жизнеспособности адипоцитов, центрифугированных по-разному, а также сопутствующих апоптотических изменений [78, 142]. Сравнение подобных исследований затруднено из-за отсутствия стандартизации центробежной силы, продолжительности и скорости. Кроме того, некоторые единицы настроек были указаны в оборотах в минуту, тогда как другие были представлены в виде перегрузок; не всегда было возможно выполнить сравнение данных вариантов, поскольку разные центрифужные аппараты также могли иметь разную длину радиуса, что могло повлиять на результат расчета.

Таблица 1 – Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора метода центрифугирования

Автор	Rpm или g	Время	Результат
Coleman, 1998	3,000 rpm	3 min	Липоаспират клинически жизнеспособен
Rigotti, 2007	2,700 rpm	15 min	Интактные адипоциты, очень редко
Kurita, 2008	400 g, 700 g, 1,200 g, 3,000 g, 4,200 g	3 min	Центрифугирование при более чем 3000 g значительно повреждает СКЖТ
Ferraro, 2011	Декантация 500 rpm 1,300 rpm 3,000 rpm	10 min 10 min 5 min 3 min	Большая деструкция адипоцитов при 1300 и 3000 об./мин.
Pulsfort, 2011	1,000 rpm, 1,500 rpm, 3,000 rpm, 5,000 rpm, 7,500 rpm, 10,000 rpm, 15,000 rpm	5 min	Ускорение центрифугирования не влияет на жизнеспособность адипоцитов
Hoareau, 2013	100 g 400 g 900 g (3,000 rpm) 1,800 g (6,000 rpm)	1 s, 1 min 1 min 1 min, 3 min 10 min	Центрифугирование 900 g, 1800 g вредно для жировой ткани по сравнению центрифугированием 100 g, 400 g
Asilian, 2014	3,400 rpm	1 min	Нет разницы в клиническом исходе по сравнению с фильтрацией / промывкой

Некоторые исследования показывают, что более высокие центробежные силы приводят к повреждению жировых клеток и к их низкой жизнеспособности, в то время как очень низкие центробежные силы показывают эффект, ничем не отличающийся от простого декантирования жира [55, 73, 96]. Интересным представляется одно из исследований, показавшее, что несмотря на увеличение периферических повреждений, количество жизнеспособных клеток было одинаковым в группах с 500 и 1300 об/мин *in vitro*; результаты *in vivo* продемонстрировали, что 1300 об/мин не оказали влияние на реабсорбцию через 12 месяцев [55].

Ряд исследований аналогичным образом не показали влияния центрифугирования на жизнеспособность адипоцитов. Так Pulsfort и др. не нашли значительных гистологических изменений жизнеспособности адипоцитов, центрифугированных по-разному, а также сопутствующих апоптотических изменений [78, 142]. Сравнение подобных исследований затруднено из-за отсутствия стандартизации центробежной силы, продолжительности и скорости. Кроме того, некоторые единицы настроек были указаны в оборотах в минуту, тогда как другие были представлены в виде перегрузок; не всегда было возможно выполнить сравнение данных вариантов, поскольку разные центрифужные аппараты также могли иметь разную длину радиуса, что могло повлиять на результат расчета.

1.3.4 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от вида аспирационной канюли

Характеристики канюли, используемой для забора жировой ткани, прежде всего зависят от ее диаметра и количества отверстий, что влияет на успех проведения процедур по пересадке жировой ткани. Campbell и др. сообщают о наличии обратной связи между повреждением клеток и диаметром инструмента, используемого для извлечения жира [34]. Мультиперфорированные канюли помогают снизить давление на каждом из отверстий, уменьшая повреждения в

собранных образцах [72]. Trivisonno и др. сравнили канюли диаметром 2 мм и 3 мм, обе с длиной 170 мм и с закругленным наконечником. Канюля 2 мм имела 5 круглых спирально расположенных отверстий, каждое из которых имело диаметр 1 мм, а канюля 3 мм имела с одной стороны отверстие размером 3×9 мм. Канюля диаметром в 2 мм одновременно облегчала забор жировой ткани из более поверхностных и сильно васкуляризированных слоев, а также уменьшала дискомфорт и травматизацию тканей пациента. Кроме того, эта 2-мм канюля позволила изолировать большее количество СКЖТ и имела больший потенциал для формирования капиллярных структур, чем 3-мм канюля. Тем не менее жизнеспособность, морфология и пролиферативная активность СКЖТ между двумя канюлями существенно не отличались [162]. Alharbi и др. сравнивали 2-мм канюлю с четырьмя 0,6-мм калиброванными отверстиями и тупым наконечником с обычной 3-мм канюлей с одним отверстием, причем в первом случае отмечалась значительно более высокая жизнеспособность и миграция разрозненных СКЖТ [20]. Однако Rubino и др. пришли к выводу, что жир, собранный с помощью 3-мм канюли, обладает большей плотностью адипоцитов, чем жир, собранный с помощью 2-мм канюли [144]. Erdim и др. показали увеличение жизнеспособности трансплантатов у 10 пациенток, у которых во время липосакции использовалась 6-мм канюля, по сравнению с трансплантатами, когда использовалась 4-мм и 2-мм канюля [49]. В проспективном исследовании Özsoy и др. сделан вывод о том, что при использовании канюли диаметром 4 мм получено большее количество жизнеспособных адипоцитов по сравнению с канюлями диаметром 2 и 3 мм [64, 91, 126].

Несмотря на то что по вопросу об оптимальном размере канюли до сих пор нет единого мнения, считается общепризнанным, что она должна быть достаточно большой, чтобы избежать сдвиговых нагрузок и сохранить адипоциты и клетки СВФ [126].

1.3.5 Жизнеспособность липотрансплантатов в зависимости от выбора влажной или сухой аспирации

Существует несколько вариантов проведения липосакции в зависимости от объема предварительно вводимого в донорскую область инфильтрационного раствора. При сухой технике проводят прямую аспирацию без инъекций какого-либо препарата, и в настоящее время она считается устаревшей из-за кровопотери, которая может составлять 20-50% от объема аспирированного жира [18, 145, 156, 163]. Во влажной технике, предложенной хирургами Clayton и Netter, в область предстоящей липосакции вводится раствор (который может содержать физиологический раствор, анестетики и другие вещества), следуя соотношению объемов менее чем 1:1, в результате чего кровопотеря составляет 4-30% от объема аспирации [94, 95, 163]. Позднее в супервлажной технике, предложенной Fodor и др., это соотношение инфильтрата к общему объему аспирации довели до 1:1, что привело к снижению кровопотери на 1-2% от аспирированного объема [140, 167].

Введенный доктором Klein туменесцентный метод предполагает введение большого объема инфильтрата с отношением объема инфильтрата к общему объему аспиранта 2-3:1. Эта техника сопровождается сниженной кровопотерей примерно до 1% от объема аспирации и не требует общей анестезии, поэтому рассматривается как более безопасная процедура для липоаспирации больших объёмов под местной анестезией. Для обеспечения гидродиссекции и бескровного забора необходимо вводить объемную анестезию за 45 минут до аспирации [96, 145, 163].

Включение лидокаина в состав инфильтрации ассоциируется со снижением функции адипоцитов. Moore и др. находят переходные изменения липолиза и транспорта глюкозы в присутствии этого местного анестетика. Интересно, что удаление лидокаина путем промывания собранного липоасpirата, по их данным, возвращает эти параметры к норме [120]. Инфильтрация перед липосакцией может также служить средством для передачи компонентов с заданным действием

на жировую ткань, подлежащую забору. Было обнаружено, что местные анестетики с сосудосуживающими средствами или без них не оказывают значительного влияния на долгосрочную выживаемость трансплантированного жира, что противоречит гипотезе, предложенной Moore и др., которая предполагает, что лидокаин подавляет рост адипоцитов [120, 170]. Agostini и др. подтвердили, что гистоморфометрические характеристики (такие как профиль поперечного сечения, цитоплазматический обод, соединительная ткань, основное вещество, вакуоли, цитоплазматическое набухание/разрушение, апоптоз или некроз) и жизнеспособность клеток существенно не различались между сухой и влажной липосакцией [18].

1.4 Индивидуальные факторы пациента, влияющие на свойства липоаспирата

На результаты приживления жировой ткани при аутотрансплантации может влиять не только выбор техники и условий выполнения процедуры липоаспирации, но и индивидуальные факторы пациента, такие как возраст, пол, ИМТ, менопаузальный статус, выбор донорской области для трансплантации, наличие хронических заболеваний и пр.

Основу для изучения влияния индивидуальных факторов пациентов на жизнеспособность трансплантированных жировых клеток заложил Линдон Пер. В 1956 году он предложил «теорию жизнеспособности» жировых клеток отметив, что их выживаемость в аутотрансплантате жировой ткани зависит от общего количества пересаженных жизнеспособных клеток. Также он отмечал, что у тучных людей выживаемость пересаженных жировых клеток меньше, чем у не тучных и рекомендовал перед процедурой аутотрансплантации таким пациентам соблюдать диету, предполагая, что эта мера позволит улучшить выживаемость клеток трансплантата и избежать проведение повторных операций.

К настоящему времени накоплено большое количество противоречивых данных, которые свидетельствуют о возможности влияния индивидуальных факторов пациента на пролиферативную активность, жизнеспособность

адипоцитов и СКЖТ при проведении липосакции для последующей аутотрансплантации жировой ткани. Целью текущей работы стала критическая оценка этих данных.

1.4.1 Влияние возраста на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

Количество исследований, изучавших вопрос о влиянии возрастного фактора на жизнеспособность адипоцитов, клеток СВФ и СКЖТ составляет более двух десятков. Выводы их противоречивы, но большинство из них свидетельствуют об отсутствии какого-либо влияния возрастного фактора на эффективность забора адипоцитов и СКЖТ [26, 54, 65, 68, 69, 86, 118, 127, 147, 174, 175]. Интересно отметить, что по мере снижения объема изучаемой выборки количество статей, свидетельствующих об отрицательном влиянии возраста на эффективность забора СКЖТ, возрастает [21, 37, 66, 70, 109]. Тем не менее в исследованиях последних лет, основанных на изучении экспрессии генов старения, было показано, что с возрастом количество ядродержащих клеток значительно падает, а пролиферативный потенциал СКЖТ и их способность к дифференцировке значительно сокращается [21, 37].

Так, Madonna и др. провели сравнение свойств СКЖТ, полученных из области передней брюшной стенки между пациентами "молодого" ($n = 18$, 40-54 года) и "пожилого" ($n = 22$, 66-92 года) возраста, и сообщили о существенном падении эффективности выделения СКЖТ, а также о снижении ангиогенной способности СКЖТ с увеличением возраста [109]. Хотя Zhu и др. не обнаружили существенного влияния возраста на адипогенный потенциал СКЖТ, они сообщили о том, что с возрастом остеогенный потенциал СКЖТ значительно снижался [182]. О снижении остеогенного потенциала СКЖТ по мере взросления человека свидетельствуют и ряд других исследований [50, 66]. Подобная возрастная зависимость наблюдалась и на животных моделях [43, 45].

Исследования СКЖТ, полученных от возрастных пациентов, свидетельствуют о снижении их пролиферативного потенциала и стабильности, что ограничивает их широкое применение в клинической практике [128, 148]. Более того, СКЖТ характеризуются значительным снижением продукции теломеразы и укорочением теломер. Вместе с тем они сохраняют способность к пролиферации *in vitro*, хотя эта способность и ограничена во времени [37, 95, 180]. Таким образом, основываясь только на лабораторных данных, можно прийти к выводу о предпочтительности проведения аутотрансплантации жировой ткани людям в более молодой возрастной группе.

Однако в условиях увеличения средней продолжительности жизни населения процедуры по трансплантации жировой ткани, учитывая ее омолаживающие и регенеративные эффекты, становятся все более востребованы. В большинстве опубликованных работ количество пациентов старческого возраста, включенных в исследования, было минимальным. Действительно возможно, что выживаемость адипоцитов и СКЖТ с возрастом снижается, и этот эффект будет обнаружен по мере увеличения выборок с включением возрастных пациентов. Но тот факт, что эффективность забора СКЖТ выглядит относительно стабильным в разных возрастных группах, весьма обнадеживает. Тем более в реальной клинической практике аутотрансплантацию жировой ткани можно проводить столько раз, сколько необходимо. А применение технологий криоконсервации жировой ткани позволяет надеяться на улучшение результатов аутотрансплантации жировой ткани у возрастных пациентов.

1.4.2 Влияние пола на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

Немногочисленные исследования о влиянии принадлежности к полу на численность и пролиферацию СКЖТ человека *in vitro* не выявили каких-либо значимых различий [54, 67, 69, 86]. Faustini и др. изучили жировую ткань 37 мужчин и 88 женщин и сообщили, что лучшей донорской зоной среди мужчин с

точки зрения забора СКЖТ является передняя брюшная стенка [54]. Aksu и др. изучили жировую ткань кожно-жирового лоскута, удаленного в ходе абдоминопластики у трех мужчин и трех женщин, и сообщили, что СКЖТ у мужчин обладают более эффективной остеогенной дифференцировкой по сравнению с женщинами [19].

1.4.3 Влияние менопаузального статуса и уровня эстрогенов на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

Существует небольшое количество данных о влиянии менопаузального статуса и концентрации эстрогенов в крови у женщин на жизнеспособность адипоцитов и СКЖТ. Так, Geissler и др. обнаружили повышение жизнеспособности адипоцитов, выделенных из инфраумбиликальной области у женщин младше 45 лет по сравнению с женщинами более старшего возраста. Полученные отличия могут объясняться различной концентрацией эстрогенов в крови в этих подгруппах, однако информация о гормональном статусе пациентов исследователями собрана не была [65].

Основным регулятором обмена жировой ткани является циркулирующий эстроген, который осуществляет свое действие преимущественно через рецепторы ER- α и ER- β . Распределение этих рецепторов на адипоцитах между различными депо жировой ткани варьирует, что может обуславливать локальные особенности в передаче сигнала от эстрогенов [138]. Снижение концентрации эстрогенов, например, у женщин в постменопаузе или у мышей с удаленными яичниками было связано с увеличением диаметра адипоцитов и усилением процессов липолиза, воспаления и окислительного стресса [33]. Добавление же 17 β -эстрадиола к СКЖТ на мышинной модели было связано со значительным улучшением выживаемости жирового трансплантата и его адипогенной дифференцировкой за счет снижения апоптотических явлений [107, 181]. В исследовании на мышах Bills и др. изучали влияние циркулирующих эстрогенов на результаты трансплантации жировой ткани. Они показали, что в контрольной

группе по сравнению с мышами с удаленными яичниками, аутооттрансплантированная жировая ткань имела более высокую капиллярную плотность и экспрессию проангиогенных факторов. Однако через 45 дней после трансплантации эти различия нивелировались, что может свидетельствовать о меньшей роли эстрогенов при трансфере жировой ткани [31].

1.4.4 Влияние индекса массы тела на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

Значительное количество исследований обнаружили влияние увеличения ИМТ на жизнеспособность и функцию адипоцитов [17, 26, 63, 68, 79, 131, 132, 143]. Van Harmelen и др. в одном из крупных исследований ($n = 189$) получили данные об отрицательной корреляции ИМТ с количеством адипоцитов и стромальных клеток на грамм жировой ткани. Способность СКЖТ к дифференцировке с увеличением значения ИМТ также была снижена [68].

В ряде исследований *in vitro* были показаны аналогичные результаты, свидетельствующие, что с увеличением ИМТ снижалась пролиферативная и дифференцировочная активность адипоцитов [26, 63, 68, 79, 131]. При этом отмечается отрицательная корреляция ИМТ с количеством клеток СВФ или СКЖТ [44, 83, 171]. Frazier и др. сообщают, что у людей с ожирением функции СКЖТ были снижены на ранних стадиях адипогенного и остеогенного развития, что коррелировало с их способностью образовывать колонии *in vitro* и оказалось обратно пропорциональным ИМТ [63]. Pérez и др. наряду со снижением способности к дифференцировке и миграции СКЖТ к проявлению ангиогенных и пролиферативных свойств у тучных людей отмечали изменения активности теломеразы и длины теломер ДНК, что свидетельствовало о снижении способности СКЖТ к самообновлению и вело к их раннему апоптозу [132, 143].

Тем не менее в ряде исследований ученые так и не обнаружили значимых связей между ИМТ и жизнеспособностью адипоцитов, СКЖТ [54, 65, 86, 118, 127, 174, 175]. В проспективном исследовании Mojallal и др. после разделения

пациенток на две группы (ИМТ ≤ 25 кг/м² или >25 кг/м²) не было обнаружено статистически значимой корреляции между ИМТ и показателями пролиферации [118]. Аналогично Faustini и др. проанализировали данные 125 испытуемых, стратифицированных по полу, и не обнаружили связи между увеличением ИМТ и количеством СКЖТ [54].

В исследовании Kawagishi-Hotta и др., в которое вошло 260 человек, также не было обнаружено корреляций между ИМТ, выходом клеток СВФ или изменений пролиферативного и дифференцировочного потенциала СКЖТ. В этом исследовании значение ИМТ варьировало от 15,7 кг/м² до 43,1 кг/м² (медиана 22,7 кг/м²), а большинство пациентов (64%) имели нормальную массу тела ($18,5 \leq \text{ИМТ} < 25$ кг/м²) [86].

При ожирении отмечается увеличение концентрации провоспалительных цитокинов в крови, таких как TNF α и IL-6 [121]. Увеличение высвобождения цитокинов TNF α и IL-6 из СКЖТ приводит к активации провоспалительного процесса в соседних клетках, что препятствует адипогенезу и способствует липолизу жировых клеток. Более высокая экспрессия провоспалительных белков, может оказывать влияние на выживаемость и функциональные свойства адипоцитов в донорских областях [131].

В некоторых исследованиях было показано, что абсолютный выход клеток-предшественников на грамм жировой ткани при повышении ИМТ был снижен, что можно объяснить исходным увеличением адипоцитов в размерах [53, 71]. Значительное увеличение ИМТ, особенно >30 кг/м², отрицательно влияет на функциональные характеристики СКЖТ. Возможно, этим и объясняются отрицательные результаты исследований, где в качестве разделяющей границы ИМТ взят показатель 25 кг/м², который мог оказаться слишком низким для выявления эффекта влияния ИМТ на количественные и функциональные показатели СКЖТ.

Тем не менее опубликованные данные свидетельствуют о возможности использования жировой ткани в качестве стабильного и богатого источника СКЖТ в различных возрастных группах и при различных значениях ИМТ. Для

группы пациентов с повышенным ИМТ вместе с мероприятиями по снижению веса может быть актуальным обогащение трансплантатов за счет добавления СКЖТ.

1.4.5 Влияние сахарного диабета на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

При сахарном диабете отмечается значительное снижение способности СКЖТ к дифференцировке и ап-регуляции генов, участвующих в воспалительных и апоптотических процессах [159]. Harris и др. сообщают о тенденции к снижению количества выделяемых СКЖТ у больных сахарным диабетом ($n = 18$), которая не являлась статистически значимой [69].

В исследованиях на животных Ferrer-Lorente и др. анализировали экспрессию генов в подкожной жировой ткани у крыс с сахарным диабетом в сравнении с контрольной группой. В подкожной жировой клетчатке у крыс с сахарным диабетом отмечалось снижение активности маркеров плюрипотентности и дифференцировки, а также ангиогенного потенциала [56]. Другие исследователи также подтверждают неблагоприятное влияние сахарного диабета на функцию СКЖТ [69, 83, 159].

В двух проведенных исследованиях было показано, что клеточный состав жировой ткани очень чувствителен к хронической гипергликемии при сахарном диабете 2-го типа, что подтверждается наличием воспалительной реакции жировой ткани. Воспалительная реакция жировой ткани характеризуется инфильтрацией воспалительными клетками, повышенной выработкой цитокинов и индуцированной системной инсулинорезистентностью [116, 149]. Было обнаружено, что избыточное потребление калорий приводит к повышенному окислительному стрессу в жировой ткани мышечной, страдающих сахарным диабетом 2-го типа, и стимулирует изменения, характерные для процессов старения клеток, таких как повышение активности связанных со старением галактозидаз, экспрессии p53 и продукции провоспалительных цитокинов.

Таким образом, для выявления влияния наличия сахарного диабета на функциональные характеристики СКЖТ необходимо проведение дополнительных исследований.

1.5 Влияние противоопухолевой терапии на жизнеспособность и функции стволовых клеток жировой ткани

С каждым годом все больше пациентов со злокачественными новообразованиями излечиваются или длительно живут благодаря прогрессу противоопухолевой терапии. Одни пациенты со злокачественными новообразованиями области головы и шеи, молочной железы, мягких тканей после завершения радикального лечения нуждаются в проведении реконструктивных и пластических операций, другие проводят трансфер жировой ткани исходя из эстетических соображений. Поэтому изучение влияния противоопухолевой терапии на функцию адипоцитов и СКЖТ в этой группе заслуживает отдельного упоминания.

Исследование на мышах, проведенное Poglio и др., показало, что при тотальном облучении тела жировая ткань может подвергаться серьезным повреждениям и приводит как к значительному снижению количества СКЖТ, так и к снижению их пролиферирующей активности [134]. Назначение иммуносупрессивной терапии, в частности, антилимфоцитарной терапии алемтузумабом и такролимусом с целью деплеции лимфоцитов после тканевой трансплантации, дозозависимо снижает как жизнеспособность, так и пролиферативную активность СКЖТ [165]. В опытах *in vitro* при воздействии на СКЖТ человека возрастающих доз тамоксифена – селективного модулятора рецепторов эстрогена, применяемого для лечения рака молочной железы, наблюдается апоптоз, подавление пролиферации и дифференцировки СКЖТ в дозо- и времязависимом виде [133]. Однако с другой стороны, применение Liang и др. наиболее широко используемых химиотерапевтических препаратов, таких как цисплатин,

камптотецин и винкристин не оказало значительного влияния на СКЖТ *in vitro* [104].

Проведение лучевой терапии отрицательно влияет на СКЖТ, несмотря на их высокую устойчивость к лучевому воздействию, что может обуславливать необходимость трансфера жировой ткани из необлученных областей [134, 152]. Перенос жировой ткани в области, подвергшиеся лучевому воздействию, осложняется тем, что в этих областях складывается неблагоприятная для выживания трансплантата среда вследствие формирования условий гипоксии и наличия хронического воспаления. Кроме этого, стволовые клетки в облученной области рекрутируют миофибробластоподобные клетки, способствуя, в свою очередь, развитию фиброза [52]. Однако при трансплантации жировой ткани, СКЖТ модулируют процессы воспаления и снижают явления фиброза, тем самым реализуя нормализующую роль в регенерации местных тканей [42, 129, 137].

Для лечения гормонозависимого рака молочной железы женщины годами принимают ингибиторы ароматазы с целью снижения концентрации эстрогенов в организме для профилактики рецидивов заболевания. Учитывая, что тамоксифен оказывает негативное воздействие на СКЖТ, возможно временное прекращение их приема при проведении трансплантации жировой ткани.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Дизайн исследования

В проспективное клинико-лабораторное исследование были включены 36 женщин без хронических заболеваний. У всех женщин проводился забор жировой ткани последовательно из 4-х различных областей нижних и верхних заднебоковых отделов поясницы с обеих сторон. Таким образом, общее количество образцов липоаспирата для сравнения составило 144 единицы сравнения (Рисунок 1).

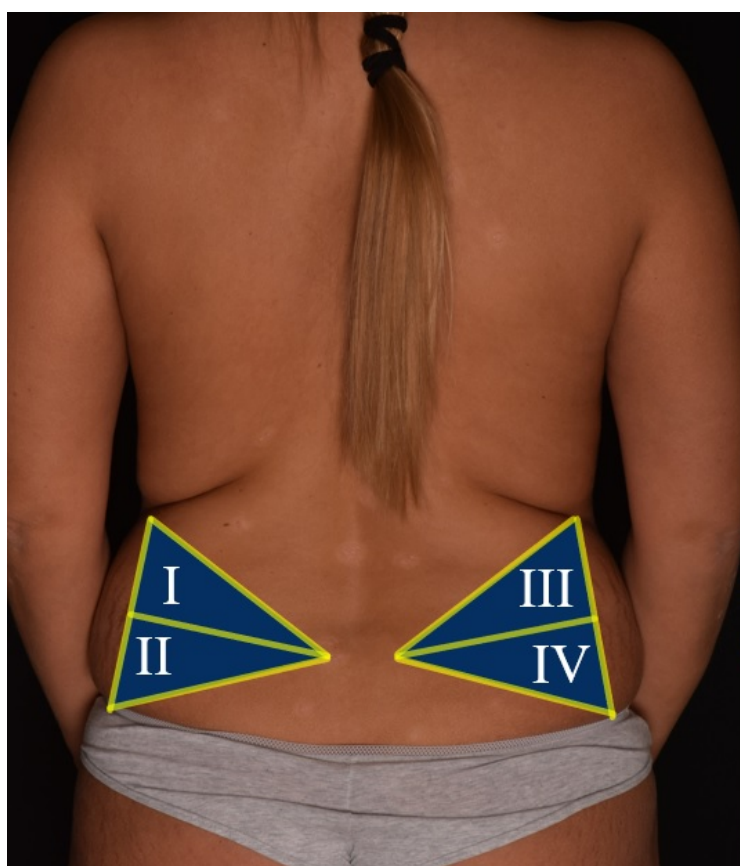


Рисунок 1 – Области липосакции

При этом для получения жировой ткани в каждой отдельной области применялся только один из 4-х способов механической липосакции: 1) класси-

ческая липосакция при низком отрицательном давлении - 250 мм рт. ст. (low-SAL – suction-assisted liposuction low negative pressure); 2) классическая липосакция при высоком отрицательном давлении - 750 мм рт. ст. (high-SAL – suction-assisted liposuction high negative pressure); 3) шприцевая липосакция (SYR – syringe liposuction); 4) вибрационная липосакция (PAL – power-assisted liposuction) (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Разметка областей липосакции

Перед началом исследования выбор соответствия области и способа проведения липосакции для каждой из участниц устанавливался случайным образом, следуя процедуре рандомизации, реализованной в программе

«STATISTICA 12.0» [StatSoft, Inc., 2014]. Введение процедуры рандомизации было направлено на исключение возможного влияния анатомической области сбора материала на результаты текущего исследования.

2.2 Процедура липосакции

Липосакцию проводили с соблюдением правил асептики и антисептики в условиях общей анестезии после предварительной инфильтрации раствором Кляйна (1 л физиологического раствора, 1 мл адреналина 1:1000, 10 мл лидокаина 10%) тупой канюлей 3 мм типа Mercedes, прибегая к супервлажной технике (Рисунок 3). Время экспозиции составляло 30-40 мин для каждой области.



Рисунок 3 – Процедура инфильтрации тканей

Инфильтрация и дальнейшая липосакция проводилась через 4 прокола кожи в типичных местах длиной не более 0,5-0,6 см (Рисунок 4).

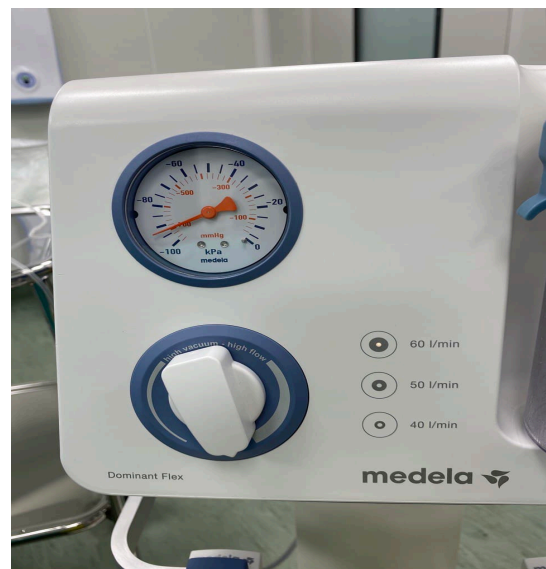


Рисунок 4 – Нанесение прокола кожи

Для проведения классической и вибрационной липосакции использовался аппарат Medela Dominant Flex, который позволял устанавливать постоянное отрицательное давление на показателях -250 мм рт. ст. и -750 мм рт. ст. (Рисунок 5).



а



б

Рисунок 5 (а, б) – Аппарат для проведения классической и вибрационной липосакции Medela Dominant Flex

Жировую ткань в технике классической липосакции собирали с помощью тупой канюли для PAL Liposculptor типа MicroAire Tri-Port II с 3 отверстиями и внутренним диаметром 4 мм (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Тупая канюля PAL Liposculptor типа MicroAire Tri-Port II

Для забора жировой ткани с помощью вибрационной липосакции использовали аппарат PAL Liposculptor компании MicroAire с электрическим манипулятором с длиной хода возвратно-поступательного движения канюли 2 мм и частотой ходов 4000/мин в режиме 100% мощности (Рисунки 7, 8).



Рисунок 7 – Манипулятор PAL Liposculptor типа MicroAire



Рисунок 8 – Аппарат PAL Liposculptor компании MicroAire

При проведении шприцевой липосакции использовали тупую канюлю длиной 250 мм и диаметром 2,5 мм с 14 отверстиями диаметром 1,5 мм, подсоединенную к шприцу B. Braun Original Perfusor 50 мл через порт Luer-lock с поршнем, фиксированным зажимом на 2 см выше отметки «50 cc» для создания отрицательного давления (Рисунки 9, 10). Согласно литературным данным, максимальное давление, создаваемое в таком шприце, достигает 350-400 мм рт. ст. и со временем уменьшается почти до 0 мм рт. ст. [139].



Рисунок 9 – Шприц B. Braun Original Perfusor объемом 50 мл



Рисунок 10 – Процедура шприцевой липосакции через порт Luer-lock с поршнем

По достижении изымаемого объема жировой ткани в каждой области равного 50 мл липоаспират, полученный при всех видах липосакции, доставлялся в лабораторию без дополнительной обработки или отмывания (Рисунок 11).

Отсчет длительности сбора липоаспирата одним из четырех методов липосакции начинали с момента погружения канюли или шприца в жировую ткань и заканчивали при достижении собираемой жировой ткани объема равного 50 мл. Временной интервал между началом сбора и его окончанием определяли с точностью до одной секунды с помощью программной видеофиксации.

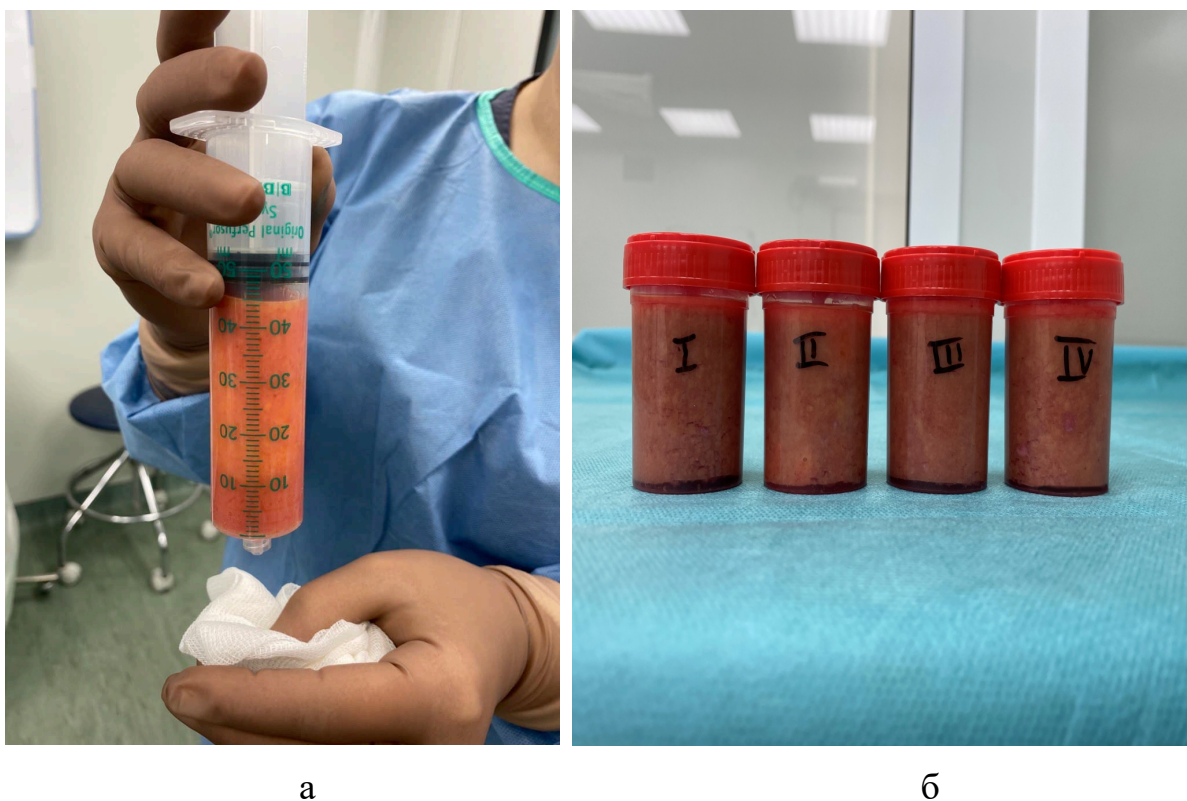


Рисунок 11 (а, б) – Собранный аспират жировой ткани

2.3 Выделение стромально-васкулярной фракции

Липоаспират перемещали в центрифужные пробирки на 50 мл. Для удаления детрита и клеток крови липоаспират промывали стерильным фосфатно-солевым буфером (PBS). Затем обрабатывали раствором 0,075% коллагеназы I типа (Sigma) в PBS в течение 30 мин при 37°C и постоянном перемешивании. Коллагеназу инактивировали равным объемом DMEM, 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) и центрифугировали в течение 10 мин. Осадок клеток ресуспендировали в DMEM и 10% FBS, пропускали через фильтр с размером ячеек 100 мкм для удаления остатков [51]. Фильтрат центрифугировали и высевали в обычные флаконы для культивирования тканей в среде DMEM (Gibco), 10% FBS, дополненной 100 ед./мл пенициллином, 100 мкг/мл стрептомицином и рекомбинантным человеческим фактором роста фибробластов

(FGF2; 10 нг/мл; Gen Script). Клетки культивировали до тех пор, пока конфлюентность не достигала 70–80%, затем клетки пассировали.

2.4 Культивирование стволовых клеток жировой ткани

Выделенные клетки после пассажа 1 высевали в 12-луночные полистирольные планшеты для культивирования тканей в среде DMEM, 10 % FBS с добавлением 10 нг/мл FGF2 в течение 7 дней. Клетки культивировали при температуре 37°C в атмосфере увлажненного воздуха с 5% CO₂. На 7 день 2-го пассажа клетки промывали PBS и инкубировали с раствором трипсин-ЭДТА (Sigma-Aldrich) в течение 4 минут при 37°C. Далее раствор трипсин-ЭДТА подавляли FBS и ресуспендировали. Количество, жизнеспособность отделившихся клеток в каждой лунке измеряли с использованием анализатора жизнеспособности клеток Vi-CELL XR (Beckman Coulter). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью теста исключения трипанового синего.

Проточная цитометрия проводилась с использованием FACscan (BD Biosciences). Клетки после культивирования на 2-ом пассаже собирали и инкубировали в течение 30 минут в буфере для проточной цитометрии, содержащем моноклональные антитела, конъюгированные с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC) к следующим антигенам: CD31, CD34, CD44, CD45, CD59, CD105, CD146; конъюгированные с PE к следующим антигенам: CD13, CD29, CD73, CD90.

При выборе антигенной панели руководствовались рекомендациями Международного общества клеточной терапии (ISCT) и Международной федерации по научным исследованиям и терапии жировой тканью (IFATS) [32].

2.5 Статистическая обработка данных

Для обработки данных применялись методы описательной статистики. Для определения средних величин, стандартного отклонения, медиан, интерквартиль-

ного интервала использовался программный статистический пакет “StatSoft, Inc. STATISTICA, v 12.0” (StatSoft, 2014). Для определения 95% доверительных интервалов медианы (ДИ) использовалась программа “Довинт v.1.0” [7]. Проверку на нормальность распределения проводили с помощью метода Шапиро-Уилка. Сравнение показателей двух независимых признаков в выборках проводили с помощью непараметрического метода Манна-Уитни. При множественных сравнениях применяли непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при достижении значения величины p менее 0,05. Для поправки величины p при проведении процедуры множественных сравнений воспользовались методом Холма-Бонферрони [74].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

3.1 Характеристика пациентов

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил $34,2 \pm 4,3$ года (Таблица 2, рисунок 12), а среднее значение ИМТ было равно $25,7 \pm 2,4$ кг/м² (Таблица 3, рисунок 13). Минимальный и максимальный возраст составили 23 и 42 года. Возраст пациентов соответствует нормальному распределению ($p > 0,05$).

Таблица 2 – Возрастные характеристики пациентов

Количество пациентов	Среднее, лет	Медиана, лет	Минимум, лет	Максимум, лет	Стандартное отклонение, лет
36	34,2	34	23	42	4,3

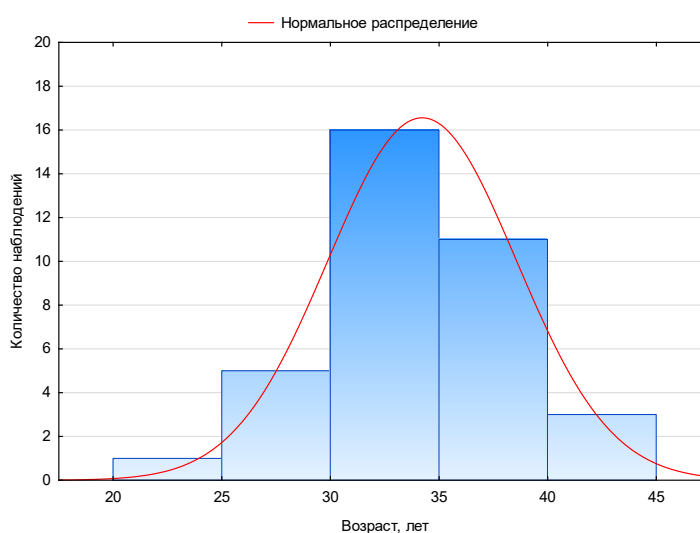


Рисунок 12 – Распределение пациентов по возрасту

Таблица 3 – Индекс массы тела пациентов

Количество пациентов	Среднее, ИМТ, кг/м ²	Медиана, ИМТ, кг/м ²	Минимум, ИМТ, кг/м ²	Максимум, ИМТ, кг/м ²	Стандартное отклонение, ИМТ, кг/м ²
36	25,7	25,9	20,3	29,7	2,4

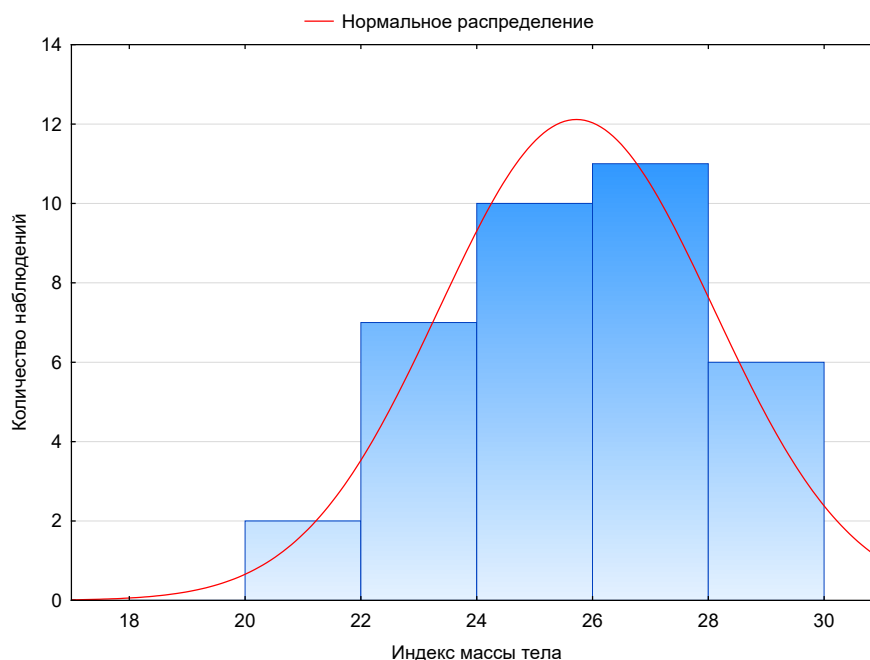


Рисунок 13 – График распределения пациентов по индексу массы тела

Минимальный и максимальный ИМТ пациентов в нашем исследовании составили 20,3 кг/м² и 29,7 кг/м² соответственно. Полученные значения ИМТ позволяют сделать вывод, что все пациенты входили в категорию лиц с нормальным ИМТ (от 18,5 кг/м² до 25 кг/м²) и предожирением (от 25 кг/м² до 30 кг/м²). Пациенты с ожирением в исследовании не участвовали. ИМТ пациентов соответствует нормальному распределению ($p > 0,05$).

3.2 Сравнительная характеристика различных методов липосакции

Средняя длительность вибрационной липосакции объёма жировой ткани 50 мл, составила $76 \pm 13,7$ секунд (Таблица 4, рисунки 14, 15). Длительность проведения вибрационной липосакции соответствует графику нормального распределения ($p > 0,05$).

Таблица 4 – Длительность проведения вибрационной липосакции

Количество пациентов	Среднее, сек.	Медиана, сек.	Минимум, сек.	Максимум, сек.
36	76	78	45	103

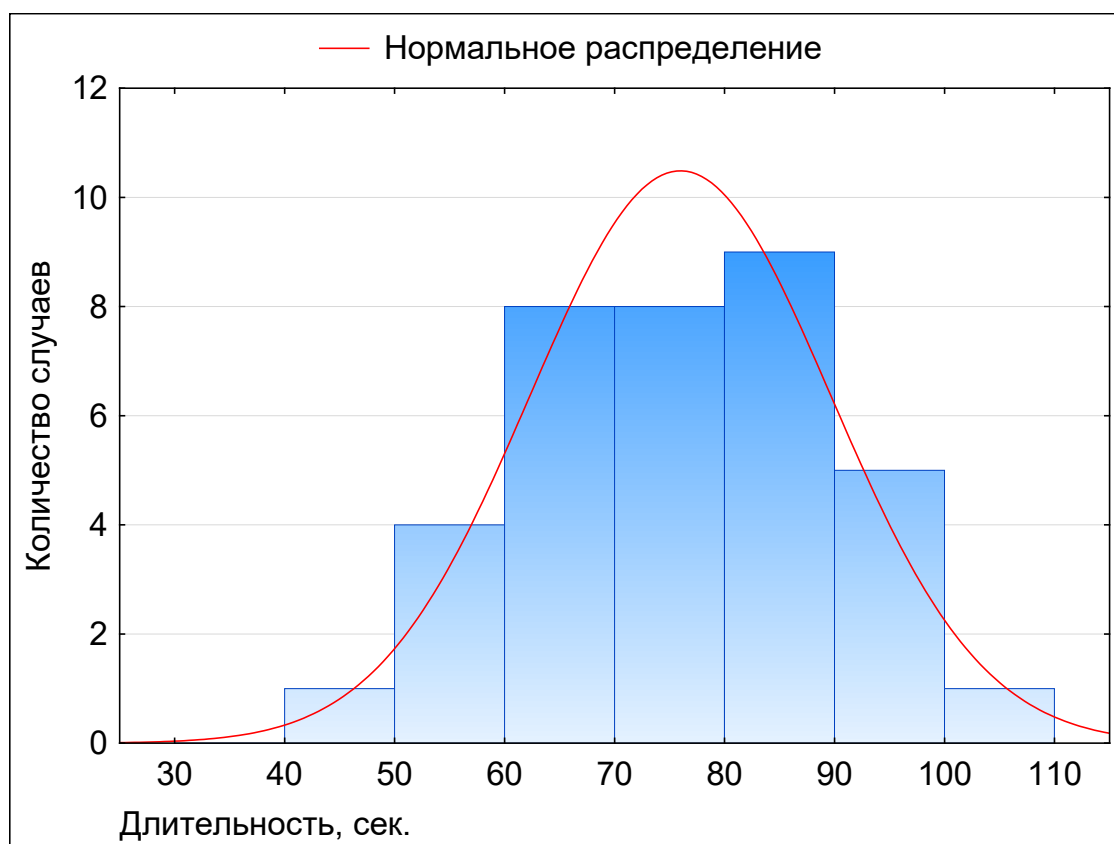


Рисунок 14 – Распределение длительности проведения вибрационной липосакции

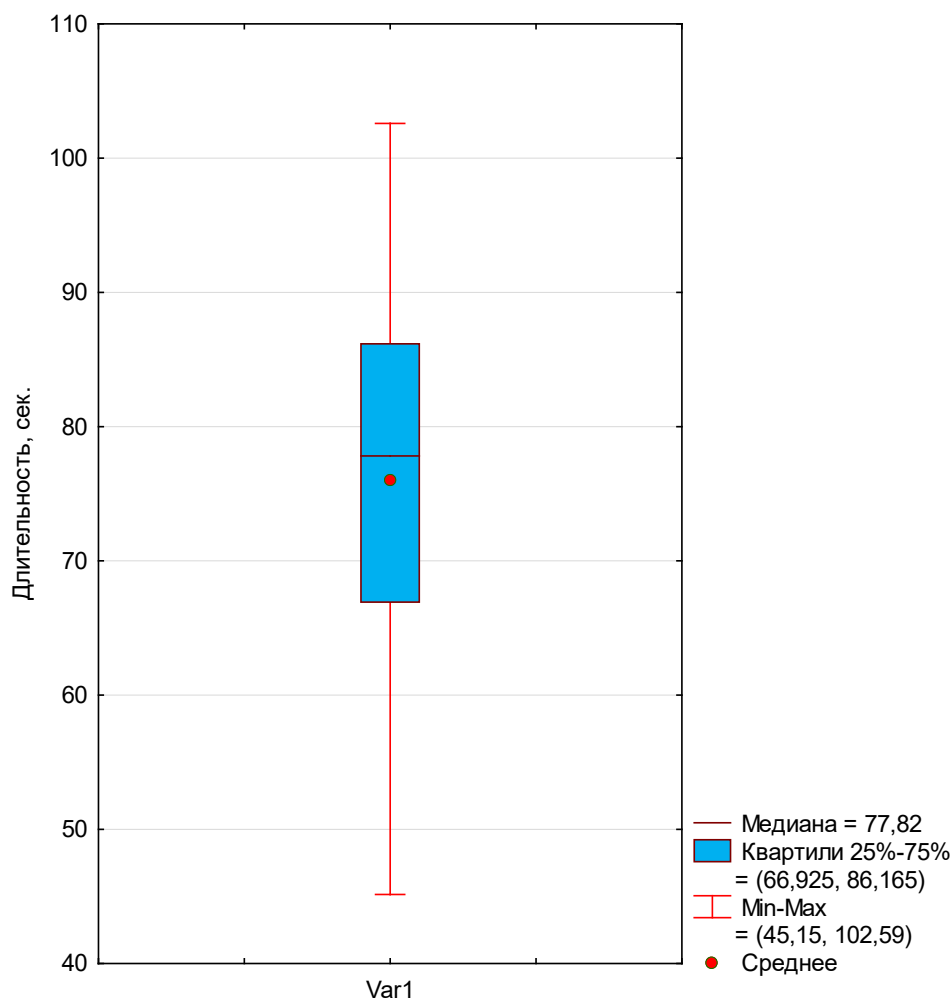


Рисунок 15 – Длительность проведения вибрационной липосакции

Разброс между максимальным и минимальным значением (103 и 45 секунд) подтверждает литературные данные о наличии различий в строении и физических свойствах жировой ткани у разных пациентов.

Медиана длительности проведения классической липосакции при высоком отрицательном давлении составила 87 сек (78-97 сек) с минимумом и максимум значения 55 и 127 сек соответственно (Таблица 5, рисунки 16, 17).

Таблица 5 – Длительность проведения классической липосакции при высоком отрицательном давлении

Количество случаев, ед.	Среднее, сек.	Медиана, сек.	Минимум, сек.	Максимум, сек.
36	88,2	87	55	127

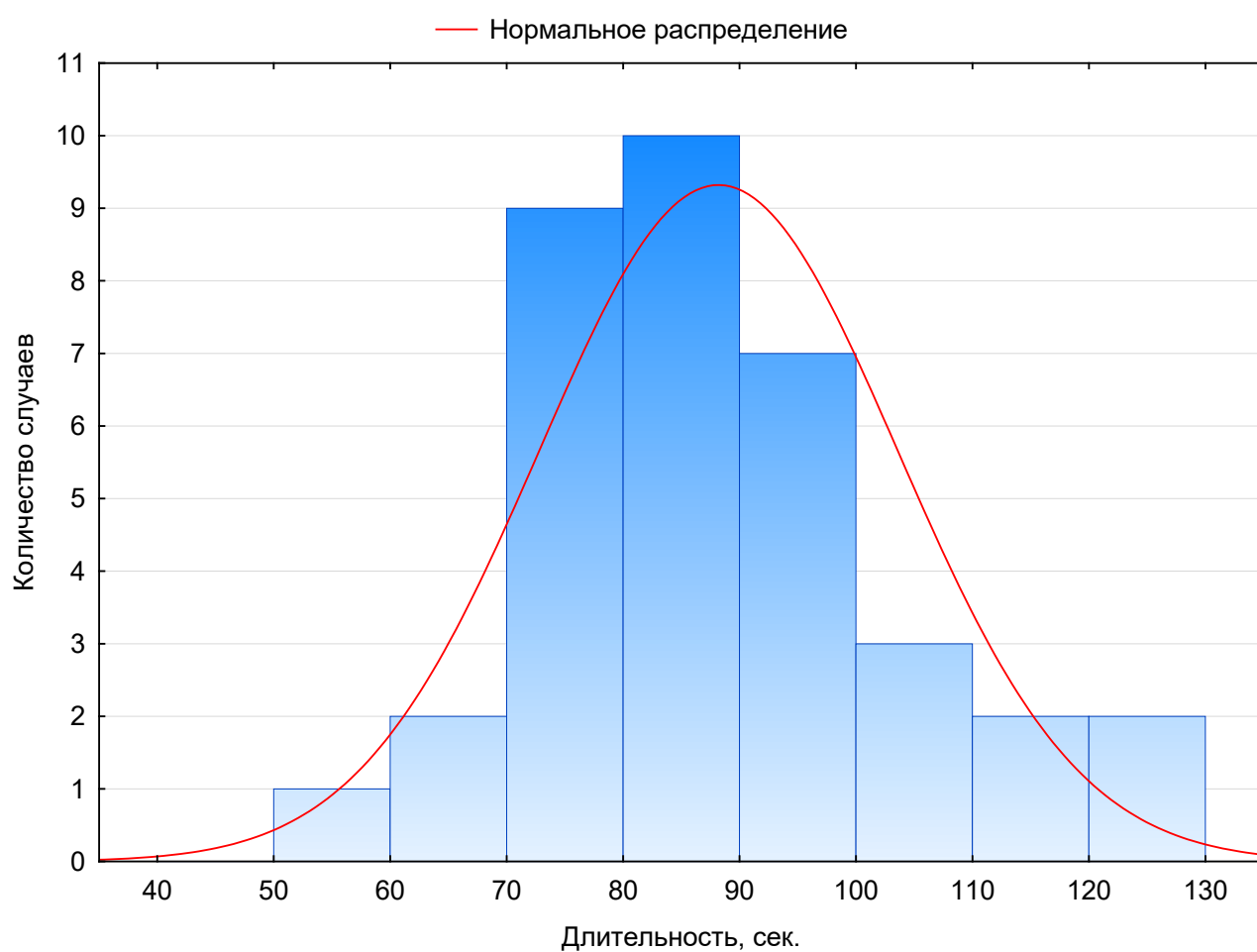


Рисунок 16 – Распределение длительности классической липосакции при высоком отрицательном давлении

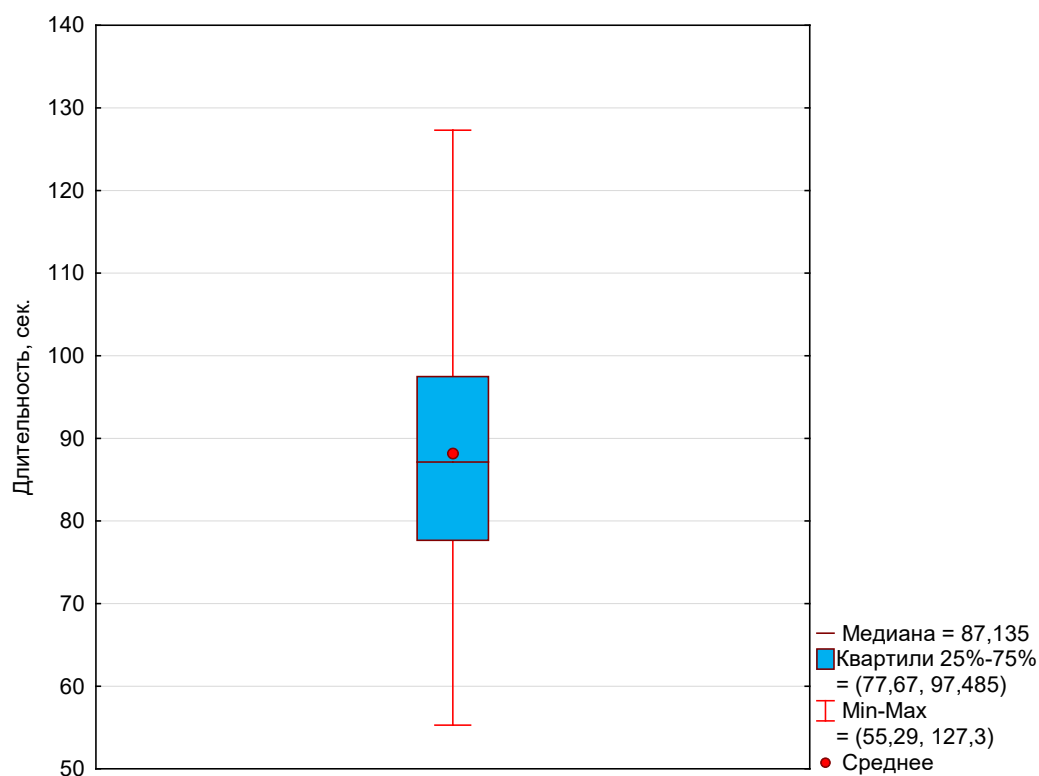


Рисунок 17 – Длительность проведения классической липосакции при высоком отрицательном давлении

Средняя длительность классической липосакции с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.) была $88,2 \pm 15,4$ секунды, что в среднем на 16% дольше, чем при проведении вибрационной липосакции с таким же отрицательным давлением, из чего можно предположить, что при проведении липосакции большого объема длительность операции может быть значительно сокращена благодаря применению вибрационного метода.

Длительность проведения классической липосакции с высоким отрицательным давлением соответствует графику нормального распределения ($p > 0,05$).

Медиана длительности проведения классической липосакции при низком отрицательном давлении составила 110 сек (98-123 сек) с минимальным и максимальным значениями 70 и 156 сек соответственно (Таблица 6, рисунки 18, 19).

Средняя длительность классической липосакции при низком отрицательном давлении (-250 мм рт. ст.) составила $111,9 \pm 20,7$ секунд, что на 27% больше

средней длительности классической липосакции при высоком отрицательном давлении (-750 мм. рт. ст.) и на 47% больше средней длительности вибрационной липосакции. Длительность проведения классической липосакции с низким отрицательным давлением соответствует графику нормального распределения ($p > 0,05$).

Таблица 6 – Длительность проведения классической липосакции при низком отрицательном давлении

Количество пациентов	Среднее, сек.	Медиана, сек.	Минимум, сек.	Максимум, сек.
36	111,9	110	70	156

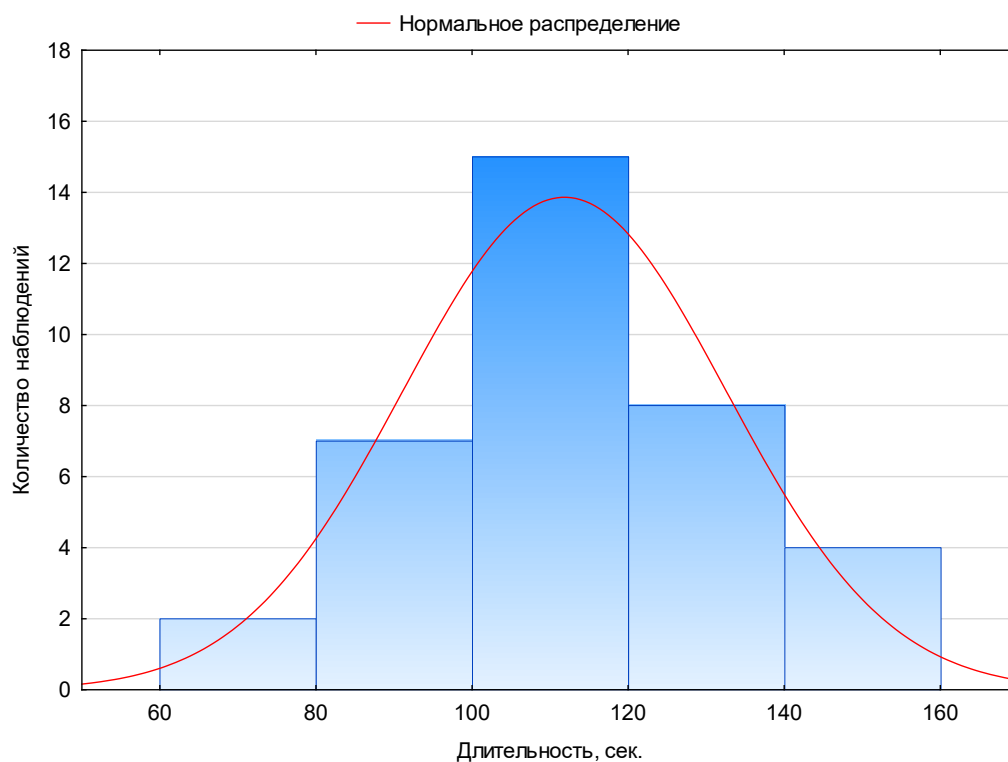


Рисунок 18 – Распределение длительности классической липосакции при низком отрицательном давлении

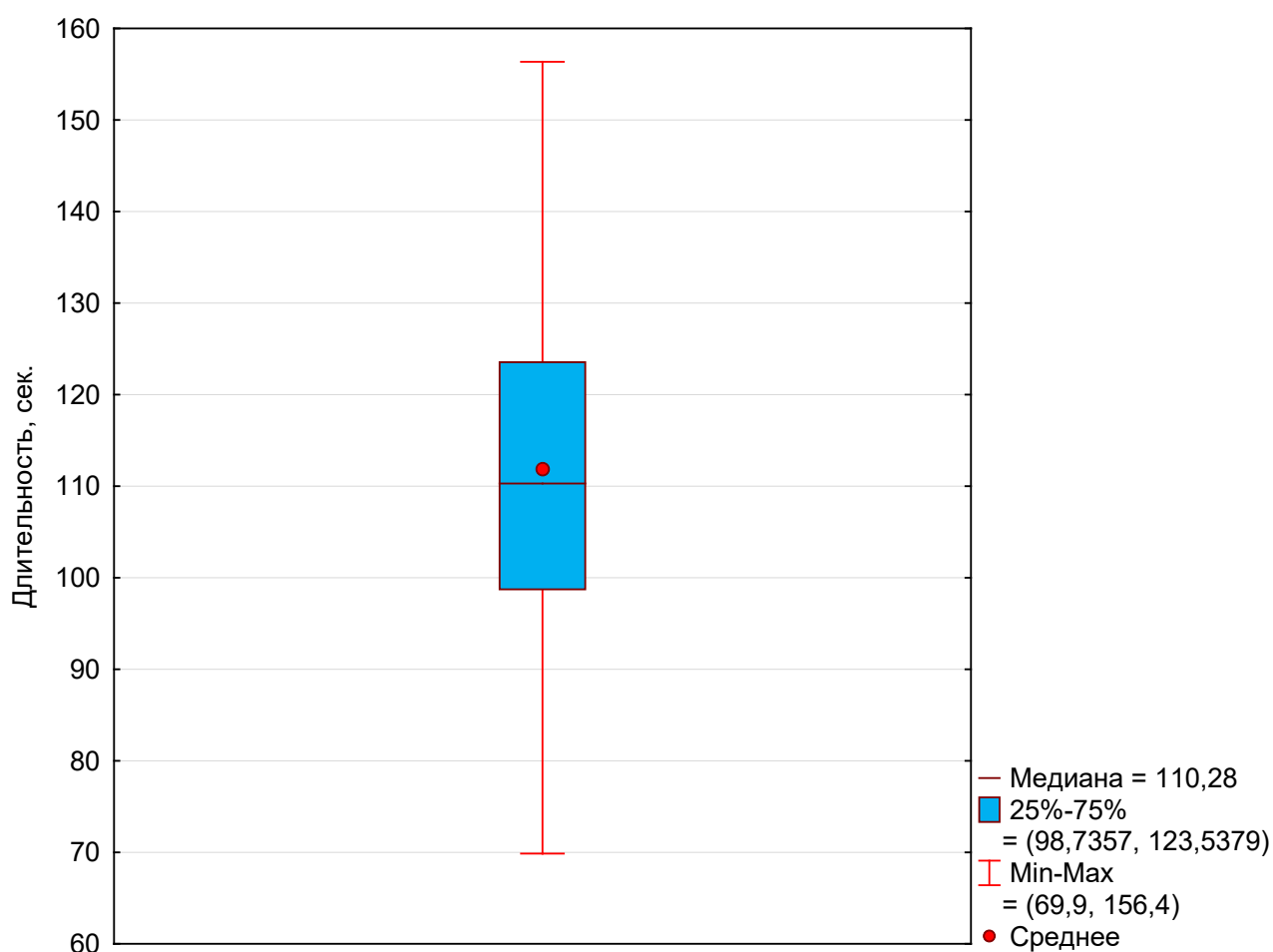


Рисунок 19 – Длительность проведения классической липосакции при низком отрицательном давлении

Длительность и разброс значений классической липосакции при низком отрицательном давлении ожидаемо больше соответствующих параметров других аппаратных методов с большим отрицательным давлением.

Медиана длительности проведения шприцевой липосакции составила 313 сек (265-349 сек) с минимальным и максимальным значениями 174 и 544 секунды соответственно (Таблица 7, рисунки 20, 21).

Средняя длительность шприцевой липосакции – $314,5 \pm 73,5$ секунд, значимо превышала длительность липосакции при помощи аппаратных методов, в среднем в 3-4 раза. Длительность проведения шприцевой липосакции соответствует графику нормального распределения ($p > 0,05$). Отсутствие наблюдений в столбце

400-450 секунд связано с относительно малым числом наблюдений и не имеет научного значения.

Таблица 7 – Длительность проведения шприцевой липосакции

Количество пациентов	Среднее, сек.	Медиана, сек.	Минимум, с сек.	Максимум, сек.
36	314,5	313	174	544

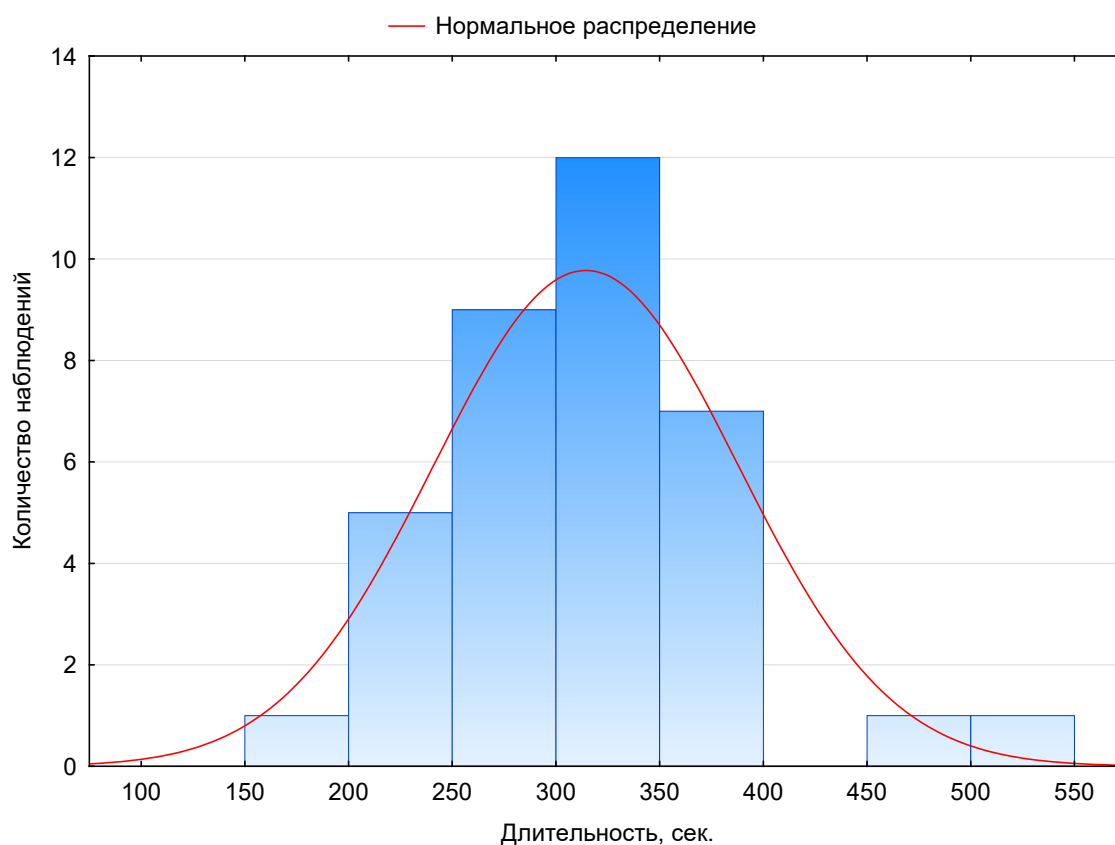


Рисунок 20 – Распределение длительности проведения шприцевой липосакции

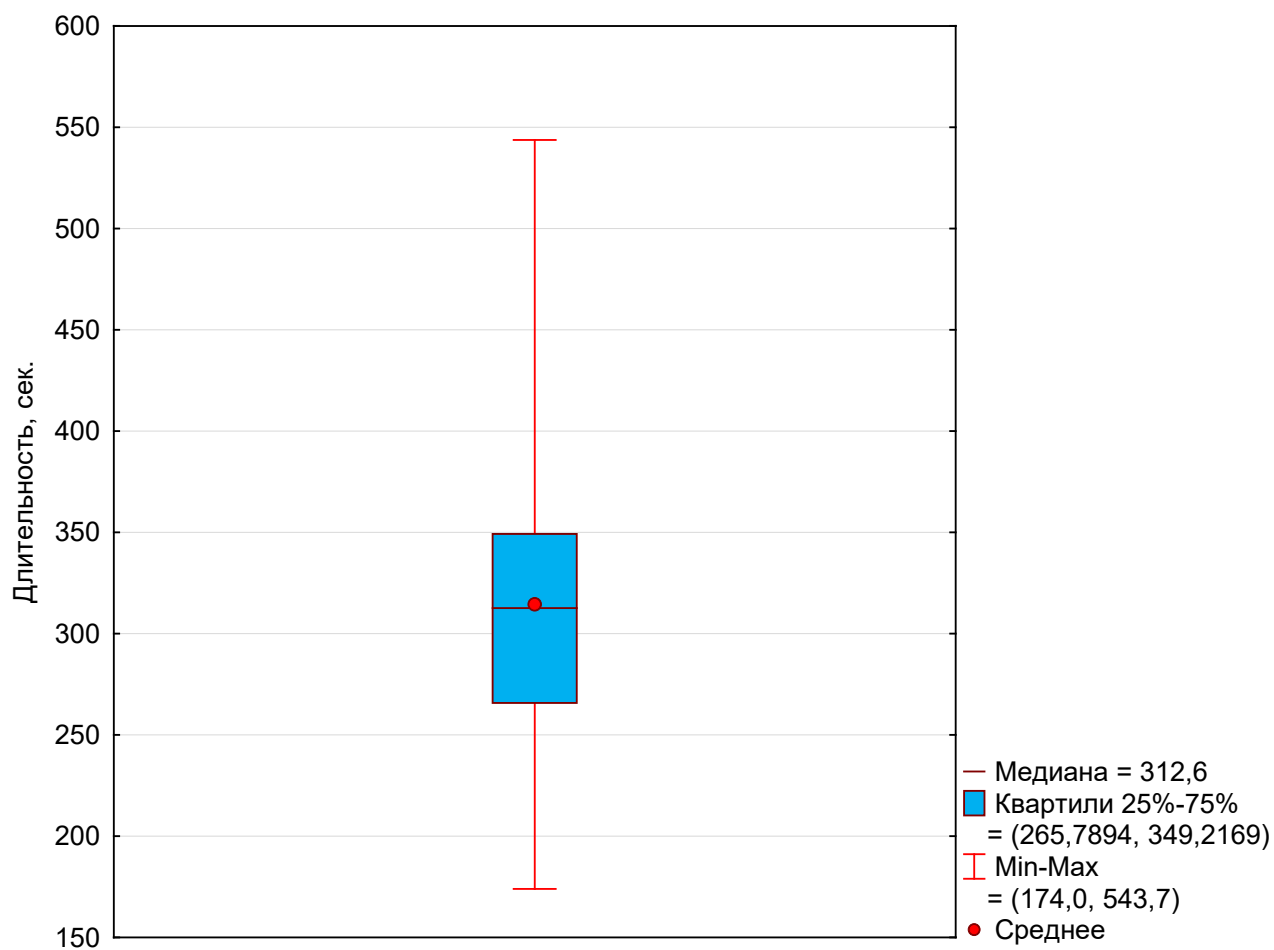


Рисунок 21 – Длительность проведения шприцевой липосакции

Значительно большая длительность шприцевой липосакции соответствует физическим законам гидродинамики, согласно которым объёмная скорость движения жидкости по трубе прямо пропорциональна разнице давления на концах трубы и радиусу сечения трубы. Шприцевая липосакция отличалась от аппаратных методов непостоянством отрицательного давления, со временем падающего до нуля, и меньшим диаметром канюли (4 мм для аппаратных методов и 2,5 мм для шприцевой липосакции).

Проведенный анализ показал, что зафиксированные нами значения переменных в большинстве случаев не отвечали нормальному распределению из-за большого их разброса и несовпадения средней величины с медианой. Поэтому в дальнейшем для проведения анализа мы прибегли к методам непараметрической статистики.

Сравнение средней длительности различных методов механической липосакции показало, что наиболее эффективной с точки зрения временных затрат оказалась вибрационная липосакция. На втором и третьем местах – классическая липосакция с высоким отрицательным давлением и классическая липосакция с низким отрицательным давлением соответственно (Таблицы 8, 9, рисунок 22).

Таблица 8 – Сводная таблица длительности различных способов механической липосакции

Вид липосакции	Количество пациентов	Среднее, сек.	Медиана, сек.	Минимум, сек.	Максимум, сек.	Стандартное отклонение, сек.
PAL	36	76,0	78	45	103	13,7
High-SAL	36	88,2	87	55	127	15,4
Low-SAL	36	111,9	110	70	156	20,7
SYR	36	314,5	313	174	544	73,5

Таблица 9 – Межгрупповое сравнение по длительности липосакции в зависимости от способа механической липосакции

Вид липосакции	Low-SAL			
Low-SAL	-	High-SAL		
High-SAL	p< 0,05	-	SYR	
SYR	p< 0,05	p< 0,05	-	PAL
PAL	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	-

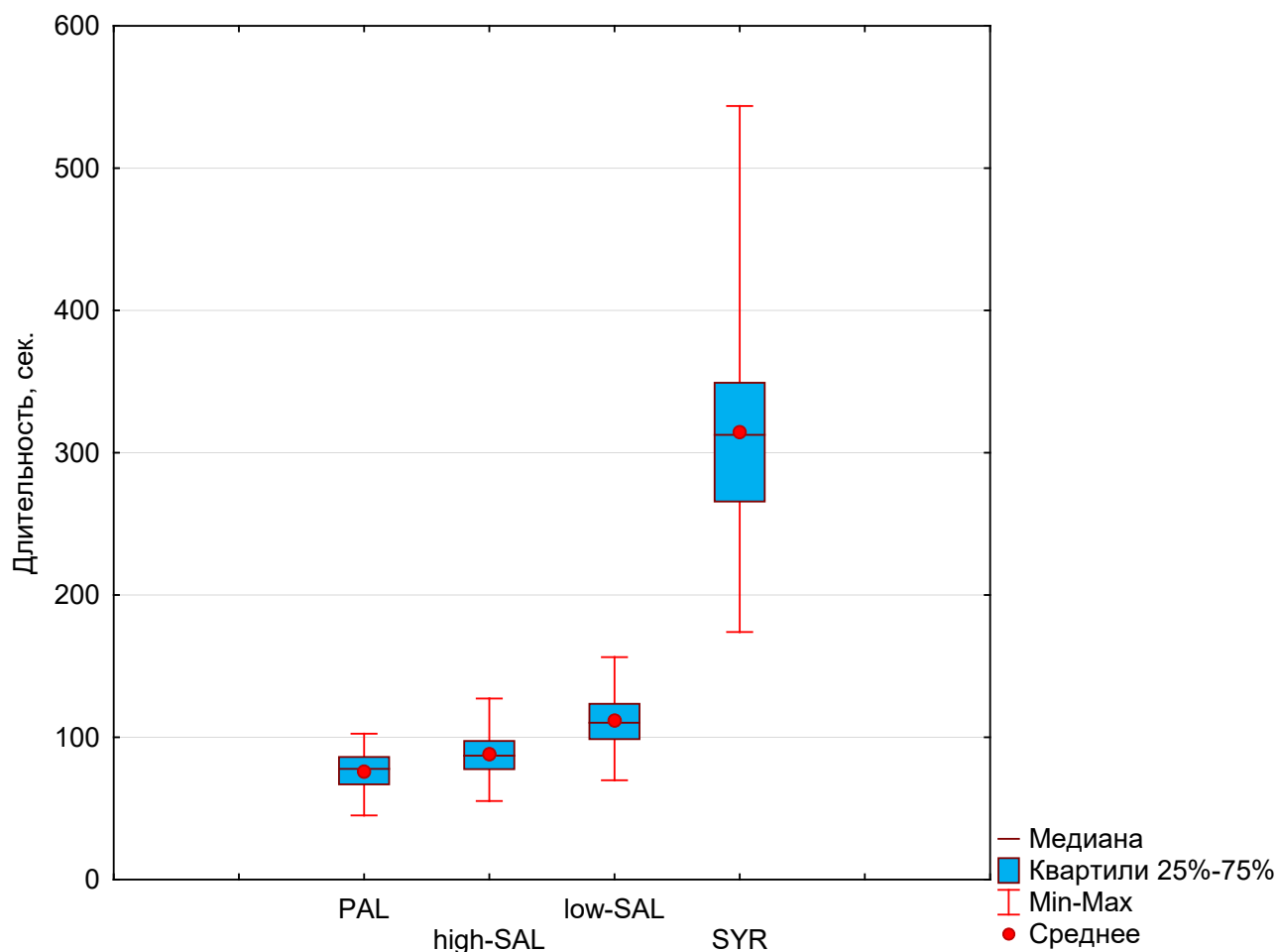


Рисунок 22 – Сравнение длительности различных способов механической липосакции

Классическая липосакция и вибрационная липосакция требуют в среднем в 3-4 раза меньше времени при равных объемах аспирации, чем шприцевая липосакция, что соответствует разнице в давлении и диаметре канюль.

Межгрупповое сравнение длительности различных видов механической липосакции показало значимые статистические различия между всеми группами.

3.3 Количественные характеристики стромально-васкулярной фракции и стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции

Количество СКЖТ варьировало в достаточно широких пределах – от 0,098 x 10⁶/мл до 1,134 x 10⁶/мл (Таблица 10). Однако средние значения, медианы и ДИ медианы не отличались значительно друг от друга при различных видах механической липосакции, хотя в целом и были более высокими при SYR и PAL.

Таблица 10 – Количество стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

Вид липосакции	Среднее, *10 ⁶ /мл	Стандартное отклонение, *10 ⁶ /мл	Медиана, *10 ⁶ /мл	95%ДИ, *10 ⁶ /мл	Минимум, *10 ⁶ /мл	Максимум, *10 ⁶ /мл
Low-SAL	0,383	0,186	0,371	0,28; 0,44	0,098	1,020
High-SAL	0,333	0,142	0,329	0,26; 0,38	0,110	0,764
SYR	0,443	0,197	0,400	0,37; 0,43	0,193	1,134
PAL	0,431	0,185	0,392	0,33; 0,46	0,103	0,971

Исключением явилась high-SAL, которая по сравнению с остальными видами механической липосакции показала более низкие значения выхода СКЖТ после культивирования на единицу объема и достигла статистически значимых различий по сравнению со шприцевой липосакцией (Таблица 11, рисунок 23).

Таблица 11 – Межгрупповое сравнение по количеству стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

Вид липосакции	Low-SAL			
Low-SAL	-	High-SAL		
High-SAL	$p > 0,05$	-	SYR	
SYR	$p > 0,05$	$p < 0,05$	-	PAL
PAL	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	-

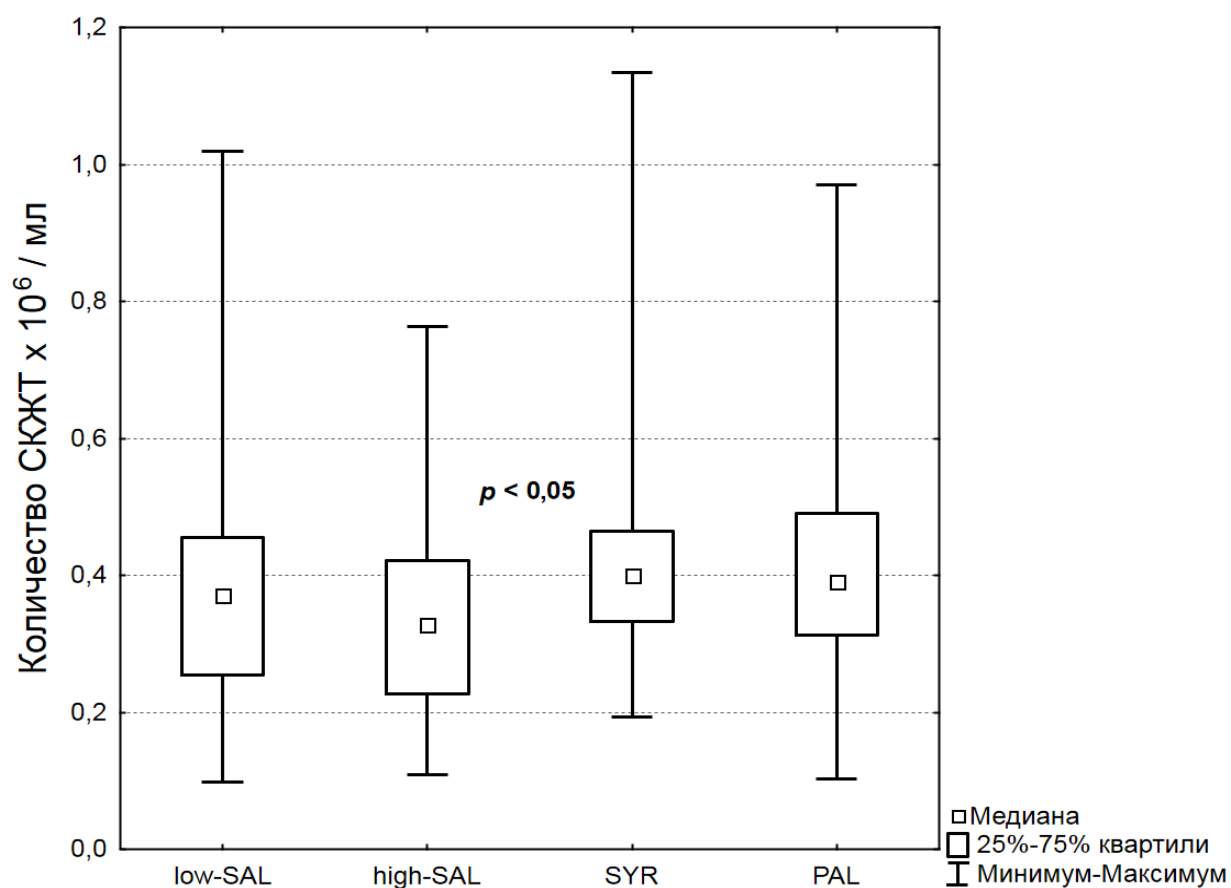


Рисунок 23 – Сравнение количества стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

Среднее количество стволовых клеток в липоаспирате при шприцевой липосакции было в среднем на 33% больше, чем при классической липосакции с высоким отрицательным давлением.

При межгрупповом анализе количества СКЖТ, полученных разными видами механической липосакции, статистически значимо было установлено различие между группой классической липосакции с высоким отрицательным давлением и группой шприцевой липосакции.

Статистически значимые различия в количестве СКЖТ между группой классической липосакции с высоким отрицательным давлением и группой шприцевой липосакции скорее всего обусловлены меньшим диаметром канюли для шприцевой липосакции, большим количеством отверстий и непостоянным давлением, что соответствует данным некоторых литературных источников. Более высокие параметры у вибрационной липосакции также могут быть объяснены ее механической природой, но все же кажутся завышенными.

3.4 Жизнеспособность стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции

Была проведена оценка жизнеспособности СКЖТ при помощи анализатора Vi-CELL XR (Beckman Coulter) (Таблица 12).

Таблица 12 – Жизнеспособность стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

Вид липосакции	Среднее значение (%)	Медиана (%)	25% - 75% квантили
Low-SAL	94,0	94,6	91,9 - 96,5
High-SAL	92,7	93,3	90,3 - 95,2
SYR	94,1	94,3	93,7 - 95,9
PAL	93,5	93,3	91,9 - 96,3

Оценка жизнеспособности показала, что выживаемость СКЖТ после культивирования оставалась одинаково высокой вне зависимости от способа липосакции и достигала значений, превышающих 90%. Выраженных различий между группами обнаружено не было.

3.5 Иммунофенотип стволовых клеток жировой ткани в зависимости от выбора способа механической липосакции

В нашем исследовании было проведено иммунофенотипирование с антигенами: CD31, CD34, CD44, CD45, CD59, CD105, CD146, CD13, CD29, CD73, CD90 (Таблицы 13, 14).

Таблица 13 – Иммунофенотипические маркеры с высоким уровнем экспрессии

Антиген	Low-SAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	High-SAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	SYR, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	PAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %
CD13	97,9 $\pm$ 2,2	96,4 $\pm$ 3,8	98,9 $\pm$ 1,6	96,7 $\pm$ 2,8
CD29	97,8 $\pm$ 2,1	98,2 $\pm$ 1,5	97,8 $\pm$ 1,3	97,4 $\pm$ 2,7
CD44	98,6 $\pm$ 1,0	98 $\pm$ 2,2	99 $\pm$ 0,6	97,9 $\pm$ 2,6
CD59	98,4 $\pm$ 1,2	97,6 $\pm$ 2,4	98,3 $\pm$ 1,0	98,5 $\pm$ 1,2
CD73	97,8 $\pm$ 1,4	97,1 $\pm$ 2,1	97,6 $\pm$ 1,6	98,4 $\pm$ 1,2
CD90	98,2 $\pm$ 1,2	97,9 $\pm$ 1,4	97,2 $\pm$ 1,8	98,4 $\pm$ 1,3
CD105	85,2 $\pm$ 11,1	89,8 $\pm$ 6,2	93,2 $\pm$ 5,1	92,8 $\pm$ 5,0

Как и мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, СКЖТ экспрессировали на своей поверхности CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 и

CD105. Экспрессия этих маркеров была очень высока, и существенных различий в их экспрессии в зависимости от способа липосакции обнаружено не было.

Таблица 14 – Иммунофенотипические маркеры с низким уровнем экспрессии

Антиген	Low-SAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	High-SAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	SYR, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %	PAL, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %
CD31	0,47 $\pm$ 0,5	1,1 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 0,8
CD34	1,2 $\pm$ 0,8	1,2 $\pm$ 0,7	1,5 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 1,1
CD45	4,8 $\pm$ 2,1	6 $\pm$ 2,0	4,5 $\pm$ 2,2	4,5 $\pm$ 2,2
CD146	18,8 $\pm$ 13,7	15,6 $\pm$ 13,3	13,2 $\pm$ 7,8	9,8 $\pm$ 6,2

Экспрессия маркеров гемопоэза CD34, CD45 была очень низка, и различий в их экспрессии в зависимости от способа липосакции обнаружено не было. Иммунофенотипические различия обнаруживаются только для маркера CD31. Была выявлена вариабельность экспрессии CD146 в пределах от 9,8% до 18,8%.

В таблицах 15, 16, 17, 18, 19, 20 приведен межгрупповой анализ экспрессии иммунофенотипических маркеров липоаспирата, полученного разными методами липосакции.

Таблица 15 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров
 липоаспирата, полученного при классической липосакции с высоким и низким
 отрицательным давлением

Антиген	Low-SAL, Медиана (%) 25% - 75% квантили	High-SAL, Медиана (%) 25% - 75% квантили	Величина p
CD13	98,4 97,2-99,6	97,6 94,3-99,5	> 0,05
CD29	98,6 97,9-99,3	98,6 97,8-99,2	> 0,05
CD44	98,8 98,3-99,1	98,7 98,2-99,5	> 0,05
CD59	98,9 98,4-99,5	98,7 97,5-99,3	> 0,05
CD73	97,8 96,9-99,0	97,5 96,1-98,9	> 0,05
CD90	98,3 97,2-99,3	98,1 97,1-98,9	> 0,05
CD105	88,3 78,7-94,3	91,9 84,3-94,6	> 0,05
CD31	0,3 0,2-0,4	0,7 0,4-1,3	< 0,05
CD34	0,9 0,6-1,4	1,2 0,6-1,8	> 0,05
CD45	4,5 3,0-6,5	6,3 4,5-7,1	> 0,05
CD146	15,8 7,3-30,6	13,8 3,7-19,3	> 0,05

Таблица 16 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров
липоасpirата, полученного при классической липосакции с низким
отрицательным давлением и шприцевой липосакции

Антиген	Low-SAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	SYR, Медиана (%) 25% - 75% кватили	Величина p
CD13	98,4 97,2-99,6	99,3 98,2-100	> 0,05
CD29	98,6 97,9-99,3	97,9 96,9-99,1	> 0,05
CD44	98,8 98,3-99,1	99,1 98,7-99,5	> 0,05
CD59	98,9 98,4-99,5	98,8 97,5-99,2	> 0,05
CD73	97,8 96,9-99,0	97,8 96,5-98,7	> 0,05
CD90	98,3 97,2-99,3	97,4 96,1-98,7	> 0,05
CD105	88,3 78,7-94,3	94,8 91,3-96,0	< 0,05
CD31	0,3 0,2-0,4	0,9 0,6-1,5	< 0,05
CD34	0,9 0,6-1,4	1,1 0,5-1,7	> 0,05
CD45	4,5 3,0-6,5	4,8 2,6-5,8	> 0,05
CD146	15,8 7,3-30,6	15,6 4,5-19,4	> 0,05

Таблица 17 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров
липоасpirата, полученного при классической липосакции с низким
отрицательным давлением и вибрационной липосакции

Антиген	Low-SAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	PAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	Величина p
CD13	98,4 97,2-99,6	97,6 95,1-98,6	> 0,05
CD29	98,6 97,9-99,3	98,7 97,8-99,3	> 0,05
CD44	98,8 98,3-99,1	98,9 98,2-99,5	> 0,05
CD59	98,9 98,4-99,5	99,0 97,4-99,5	> 0,05
CD73	97,8 96,9-99,0	98,7 97,5-99,4	> 0,05
CD90	98,3 97,2-99,3	98,7 97,5-99,4	> 0,05
CD105	88,3 78,7-94,3	95,9 93,7-98,5	< 0,05
CD31	0,3 0,2-0,4	1,0 0,6-1,3	< 0,05
CD34	0,9 0,6-1,4	1,1 0,6-1,4	> 0,05
CD45	4,5 3,0-6,5	4,1 2,9-6,4	> 0,05
CD146	15,8 7,3-30,6	8,3 5,3-13,6	> 0,05

Таблица 18 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров
 липоасpirата, полученного при классической липосакции с высоким
 отрицательным давлением и шприцевой липосакции

Антиген	High-SAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	SYR, Медиана (%) 25% - 75% кватили	Величина p
CD13	97,6 94,3-99,5	99,3 98,2-100	< 0,05
CD29	98,6 97,8-99,2	97,9 96,9-99,1	> 0,05
CD44	98,7 98,2-99,5	99,1 98,7-99,5	> 0,05
CD59	98,7 97,5-99,3	98,8 97,5-99,2	> 0,05
CD73	97,5 96,1-98,9	97,8 96,5-98,7	> 0,05
CD90	98,1 97,1-98,9	97,4 96,1-98,7	> 0,05
CD105	91,9 84,3-94,6	94,8 91,3-96,0	< 0,05
CD31	0,7 0,4-1,3	0,9 0,6-1,5	> 0,05
CD34	1,2 0,6-1,8	1,1 0,5-1,7	> 0,05
CD45	6,3 4,5-7,1	4,8 2,6-5,8	< 0,05
CD146	13,8 3,7-19,3	15,6 4,5-19,4	> 0,05

Таблица 19 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров
 липоасpirата, полученного при классической липосакции с высоким
 отрицательным давлением и вибрационной липосакции

Антиген	High-SAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	PAL, Медиана (%) 25% - 75% кватили	Величина p
CD13	97,6 94,3-99,5	97,6 95,1-98,6	> 0,05
CD29	98,6 97,8-99,2	98,7 97,8-99,3	> 0,05
CD44	98,7 98,2-99,5	98,9 98,2-99,5	> 0,05
CD59	98,7 97,5-99,3	99,0 97,4-99,5	> 0,05
CD73	97,5 96,1-98,9	98,7 97,5-99,4	< 0,05
CD90	98,1 97,1-98,9	98,7 97,5-99,4	> 0,05
CD105	91,9 84,3-94,6	95,9 93,7-98,5	< 0,05
CD31	0,7 0,4-1,3	1,0 0,6-1,3	> 0,05
CD34	1,2 0,6-1,8	1,1 0,6-1,4	> 0,05
CD45	6,3 4,5-7,1	4,1 2,9-6,4	< 0,05
CD146	13,8 3,7-19,3	8,3 5,3-13,6	> 0,05

Таблица 20 – Межгрупповой анализ иммунофенотипических маркеров липоасpirата, полученного при шприцевой и вибрационной липосакции

Антиген	SYR, Медиана (%) 25% - 75% квантили	PAL, Медиана (%) 25% - 75% квантили	Величина p
CD13	99,3 98,2-100	97,6 95,1-98,6	< 0,05
CD29	97,9 96,9-99,1	98,7 97,8-99,3	> 0,05
CD44	99,1 98,7-99,5	98,9 98,2-99,5	> 0,05
CD59	98,8 97,5-99,2	99,0 97,4-99,5	> 0,05
CD73	97,8 96,5-98,7	98,7 97,5-99,4	> 0,05
CD90	97,4 96,1-98,7	98,7 97,5-99,4	> 0,05
CD105	94,8 91,3-96,0	95,9 93,7-98,5	> 0,05
CD31	0,9 0,6-1,5	1,0 0,6-1,3	> 0,05
CD34	1,1 0,5-1,7	1,1 0,6-1,4	> 0,05
CD45	4,8 2,6-5,8	4,1 2,9-6,4	> 0,05
CD146	15,6 4,5-19,4	8,3 5,3-13,6	> 0,05

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании мы провели сравнительный анализ влияния на культуральные свойства СКЖТ различных видов липосакций – вибрационной, шприцевой, классической липосакции при низком давлении (-250 мм рт. ст.) и классической липосакции при высоком отрицательном давлении (-750 мм рт. ст.). Оценка жизнеспособности показала, что выживаемость СКЖТ после культивирования оставалась одинаково высокой вне зависимости от способа липосакции и достигала значений, превышающих 90%. Для PAL полученный показатель выживаемости СКЖТ на 7 день 2-го пассажа оказался, кажется, завышенным. Однако в исследовании Barzelay и др. более низкий показатель выживаемости, возможно, был достигнут из-за короткой длительности культивирования [28]. Для других способов механической липосакции достигнутые показатели выживаемости СКЖТ были ожидаемо высокие. В исследовании Travnickova и др. низкое или высокое отрицательное давление не оказало влияния на выживаемость СКЖТ [161] так же, как и на их количество. К такому же выводу пришли Kesk и др., сравнивая PAL с ручной липосакцией [87].

В целом количество СКЖТ в нашем исследовании варьировало в относительно широких пределах – от $0,098 \times 10^6/\text{мл}$ до $1,134 \times 10^6/\text{мл}$ и при межгрупповом анализе статистически значимо не различалось, за исключением группы сравнения SYR и high-SAL. В исследовании Aust и др. количество клеток СКЖТ при low-SAL составило 404 тыс./мкл, что близко к их количеству в нашем исследовании [26]. Количество СКЖТ при low-SAL увеличивалось до 1,2 млн к 9-му пассажу, тогда как при PAL до 2,4 млн [26].

СКЖТ в нашем исследовании вне зависимости от способа липосакции к 2-му пассажу высоко экспрессировали на своей поверхности CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 и CD105 и практически не экспрессировали маркеры гемопоэтических клеток – CD31, CD34, CD45. Barzelay и др., сравнивая иммунофенотипические характеристики культуры СКЖТ, полученные после PAL

и резекции жировой ткани, отмечали экспрессию CD90+, CD105+, CD73+, CD45–, характерную для всех мезенхимальных стволовых клеток [28].

Практически всегда при культивировании СКЖТ отмечаются высокие уровни экспрессии CD105, CD90, CD73 и CD29 ($> 80\%$) и низкий уровень экспрессии гемопоэтических маркеров CD45, CD31 и CD33 ($\leq 2\%$) или их полное отсутствие [115]. Даже несмотря на то, что в исследовании Chen и др. высокое отрицательное давление оказывало отрицательное влияние на количественные характеристики СКЖТ, различий в экспрессии CD-маркеров по сравнению с low-SAL не было [36].

Обнаруженная нами переменная экспрессия CD146 на СКЖТ в пределах 9,8-18,8% подтверждается исследованием Lee и др., наблюдавших похожую переменность экспрессии CD146 при культивировании СКЖТ, что может служить признаком присутствия перицитов. Однако при увеличении количества пассажей процент CD146-положительных СКЖТ существенно снижался [101].

Аутологичная жировая трансплантация все чаще используется в качестве филлера в больших объёмах. Основным препятствием для массового клинического использования этого способа является отсутствие стандартизированных рекомендаций на этапах забора, обработки и имплантации [176]. Действительно, многие авторы признают, что общепринятой методики пересадки жира не существует [125, 157].

Жир – деликатная ткань, с которой необходимо обращаться с максимальной осторожностью для поддержания ее жизнеспособности [40]. Идеальная методология пересадки аутологичного жира в последние годы находилась в центре внимания, однако при планировании исследования необходимо также учитывать факторы, связанные с пациентом. Недостатками пересадки жировой ткани являются высокая вероятность развития локальных нежелательных явлений, например, гематом или чаще всего локальных деформаций, вызванных липосакцией, а также осложнений со стороны реципиента, таких как инфекции, и хотя это маловероятно, тромбоэмболия легочной артерии, острая сердечная недостаточность или тромбоз глубоких вен. Тем не менее сообщается, что

аутологичная пересадка жировой ткани является одной из самых безопасных процедур с очень низкой смертностью [110].

Рассмотрение и сравнение представленных в литературе методов забора жировой ткани сопряжено с большими трудностями, связанными со значительными колебаниями получаемых результатов и необходимостью учитывать множество факторов для каждого из описанных методов (например, локализация, тип аспирации жира, давление, тип канюли и т.д.), что не позволяет дать однозначный ответ на вопрос, какой из методов лучше всего подходит для обеспечения максимально качественного жирового трансплантата. Кроме того, при анализе ряда способов забора жировой ткани и значений давления, применяемых для забора жировой ткани, мы пришли к выводу, что большинство исследований сосредоточено на конечных точках, таких как количество клеток *in vitro* и оценка их жизнеспособности. Однако пока не было доказано, что эти конечные точки приводят к лучшей выживаемости жирового трансплантата у человека [166].

Было обнаружено, что не только величина отрицательного давления во время липосакции и свойства донорской области, но также и различные методы сбора [81], и другие индивидуальные донорские факторы влияют на характеристики жизнеспособности, пролиферации и дифференцировки СКЖТ. Дополнительные факторы включают ИМТ, возраст, пол, интеркуррентные заболевания, такие как сахарный диабет, а также лучевую терапию и медикаментозное лечение [169].

Оптимизация методологии пересадки жира в будущем имеет максимальное значение, поскольку факторы, связанные с пациентом, в большинстве случаев неизменны, и успех может зависеть почти только от эффективных методов пересадки жира.

Липосакции как операции, применяемые для коррекции контуров тела, могут проводиться практически во всех областях тела человека, содержащих достаточное количество подкожной жировой клетчатки. В зависимости от целей операции в различных областях может проводиться липосакция, приводящая к

значительному истончению подкожно-жирового слоя, например, в целях липоскульптурирования, или липосакция может выполняться в малом объёме, например, для получения небольших объемов жировой ткани или компонентов СВФ для регенераторных или научных целей.

Для удобства дифференциации целей липосакции мы условно разделили все возможные липосакции на 2 группы: липосакции малого объёма (до 200 мл жировой ткани) и липосакции большого объёма (свыше 200 мл жировой ткани).

Граница между видами липосакции выбрана условно, но не случайно. Операции, связанные с выделением СВФ и СКЖТ как ферментативным, так и механическим методом, обычно не требуют более 200 мл липоасpirата, так как возникают сложности со своевременной качественной обработкой материала на лабораторном этапе [47].

Самые же распространённые виды операций, связанные с регенераторным эффектом липофилинга на кожу, обычно проводятся в таких областях, как лицо, шея или кисти рук, где редко применяются объёмы жировой ткани, превышающие 200 мл [39, 57, 151, 177]. Применяемые в регенеративной медицине объёмы липоасpirатов также не превышают в среднем 200 мл [75, 108, 169, 184].

Операции с липотрансфером большого объёма традиционно связывают с такими вмешательствами, как липофилинг области ягодиц и липофилинг области молочных желез, которые стали крайне распространены в пластической хирургии для коррекции дефицита объёма мягких тканей. Средний объём липофилинга в области ягодиц и в области молочных желез с каждой стороны превышает 400 мл и 200-300 мл соответственно [41, 172].

Таким образом, разделение на липоасpirации объёмом до 200 мл и свыше 200 мл отражает разделение последующих вмешательств по ожидаемому эффекту: для малых липоасpirаций (до 200 мл) ожидаемым эффектом является в основном регенераторное влияние на реципиентную зону с умеренным аугментационным эффектом, в то время как липоасpirации большого объёма

обычно нацелены исключительно на значительное увеличение объёма мягких тканей.

Как было показано в данном исследовании, высокое отрицательное давление (-750 мм рт. ст.), создаваемое вакуумным насосом аппарата для липосакции, по сравнению с низким отрицательным давлением (-250 мм рт. ст.) оказывает слабо негативный эффект на выход СКЖТ. Статистически значимым является отличие группы классической липосакции с высоким отрицательным давлением от группы шприцевой липосакции, что позволяет сделать два вывода: при липосакции малых объёмов (до 200 мл) жировой ткани с целью последующего липофилинга для увеличения выхода СКЖТ рекомендуется использовать шприцевую липосакцию; при липосакции больших объёмов (свыше 200 мл) жировой ткани с целью последующего липофилинга в силу высокой длительности шприцевой липосакции и малых различий в выходе СКЖТ, особенно учитывая доминирующее значение объёмного эффекта при больших объёмах, рекомендуется использовать вибрационную или классическую липосакцию с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.).

Высокое отрицательное давление безусловно негативно влияет на целостность адипоцитов, полученных в результате липосакции [119]. Но целостность адипоцитов, по некоторым литературным данным, не имеет существенного значения для объёмного эффекта липофилинга [119, 124]. К сожалению, количество исследований по данному вопросу недостаточно, и для более глубокого понимания фундаментальных аспектов объёмного эффекта липофилинга требуется дальнейшая проработка темы.

Глубокое понимание индивидуальных факторов, способных повлиять на жизнеспособность и характеристики жировой ткани при ее трансплантации, возможно, помогут в будущем получить потенциальную выгоду от применяемых техник обогащения жировой ткани отдельно для каждого пациента. Однако большое разнообразие техник выделения адипоцитов, способов изучения характеристик клеток жировой ткани, многообразие индивидуальных факторов

пациента, индивидуальные предпочтения в выборе учеными исследовательских инструментов затрудняют проведение качественных исследований в этой области.

Главной особенностью настоящего исследования явилось то, что впервые было изучено влияние распространенных в Российской Федерации методов механической липосакции на культуральные свойства СКЖТ исходя из единых подходов к их культивированию, оценки их количества, жизнеспособности и фенотипических особенностей. Было показано, что выбор того или иного вида механической липосакции практически не оказывает влияние на культуральные свойства СКЖТ, за исключением негативного влияния высокого отрицательного давления на выход СКЖТ при ограниченном количестве пассажей. Мы считаем, что выбор способа механической липосакции не влияет на возможность накопления и длительного хранения достаточного количества СКЖТ с целью последующего их клинического применения в тканевой инженерии. Ограничениями нашего исследования явились женский пол, молодой возраст, относительно низкий ИМТ и отсутствие хронических заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процедура липосакции является одной из самых частых эстетических операций, проводимых как в Российской Федерации, так и во всем мире, уступая первое место только операциям по увлечению груди.

Липосакция – это не только способ удаления избыточных жировых отложений и коррекции контуров тела, но и способ получения трансплантата из жировой ткани.

Для уменьшения степени травматичности липосакции, улучшения результатов и снижения количества осложнений было разработано множество методов забора жировой ткани – механические липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция), ультразвуковая липосакция, лазерная липосакция, водоструйная липосакция, радиочастотная липосакция и пр.

При этом механические методы липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция) являются не только более распространенными, но и всегда входят в состав других методов как окончательный этап забора жировых клеток.

После липосакции липоаспират пассивно или активно разделяется на 3 фракции.

Интерес для клинической практики представляют две фракции:

- Средний слой – адипоцитарный слой, с которыми связывают эффект увеличения объёма тканей при липофилинге.
- Нижний слой, в котором скапливается СВФ, с которой связывают регенеративный эффект липофилинга.

СВФ состоит из стволовых клеток, перицитов, эндотелиальных клеток, эритроцитов, фибробластов, гладкомышечных клеток сосудов, гемопоэтических клеток и разнообразных клеток иммунной системы.

Из факторов, влияющих на свойства адипоцитов и СВФ на этапе липосакции независимо от индивидуальных особенностей пациента, можно выделить следующие:

- Вид липосакции (классическая, вибрационная, шприцевая, ультразвуковая, лазерная и т.д.)
- Величина отрицательного давления
- Вид и диаметр канюли
- Техника предварительной инфильтрации тканей (сухая, влажная, супер-влажная, тумесцентная)

В нашем исследовании мы обратили внимание на первые три фактора.

В ряде исследований сообщалось о возможном негативном влиянии на количество стволовых клеток и характеристики СКЖТ высоких значений отрицательного давления при использовании аппаратного метода сбора жировой ткани. Mojallal и др. (2008 г.) получили существенно большее количество СКЖТ из жировой ткани, собранной при более низком отрицательном давлении (-350 мм рт. ст.), чем при высоком отрицательном давлении (-700 мм рт. ст.).

Chen и др. (2017 г.) сообщили о более чем двухкратном увеличении количества клеток в СВФ, выделенной из жировой ткани, собранной при низком отрицательном давлении (-225 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.), чем в СВФ из жировой ткани, полученной при высоком отрицательном давлении (-410 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.).

Другие же исследователи не обнаруживают существенных различий ни в жизнеспособности адипоцитов, ни в количестве мезенхимальных стволовых клеток в жировой ткани, полученной при различных отрицательных давлениях.

К примеру, в исследованиях Charles-de-Sá и др. (2015 г.) указано, что при отрицательном давлении -350 мм рт. ст. и -750 мм рт. ст. количество СКЖТ не отличалось в образцах, собранных у 15 пациентов из области живота.

В исследованиях Travníckova и др. (2020г.) величина отрицательного давления -200 мм рт. ст. не отличалась по своему влиянию на число СКЖТ от

отрицательного давления -700 мм рт. ст. при заборе липоасpirата из области наружной поверхности бедра, но отличалась в области живота [161].

Таким образом, в связи с наличием противоречий в результатах исследований можно сказать, что влияние величины отрицательного давления на жировой трансплантат и тем более на СКЖТ изучено недостаточно.

В зарубежной литературе можно встретить отдельные сравнения липоасpirата, полученного различными методами липосакции (шприцевой, вибрационной, классической, ультразвуковой и т.д.) после операций, выполненных у разных пациентов, по принципу один пациент – один метод липосакции, но ни в одном исследовании не упоминается сравнение липоасpirата, полученного несколькими методами липосакции у одного пациента.

Использование же различных методов липосакции у одного пациента позволяет избежать искажений, связанных с индивидуальными анатомическими и физиологическими особенностями каждого конкретного человека, что принципиально важно, когда речь идет о количестве СКЖТ и их активности. Это находит подтверждение в последнем крупном систематическом обзоре литературы, посвященном изучению различных методов ринопластики, проведенном Molitor и др. [119].

Также мало описан вопрос целей дальнейшего применения жировых трансплантатов после липосакции.

По этому принципу можно выделить 2 группы операций с применением аутоотрансплантации жировой ткани: операции с использованием больших объемов липоасpirата (больше 200 мл) с целью коррекции контуров тела за счет объемного эффекта липофилинга, и операции с использованием малого объема липоасpirата (до 200 мл) с целью не столько увеличения объема тканей, сколько достижения регенераторного эффекта СКЖТ.

Анализ современных исследований позволяет выделить следующие недостатки:

1. Существующие исследования влияния различных методов липосакции на биологические свойства липоасpirата (количество клеток на единицу объема, их

иммунофенотип, жизнеспособность и культуральные свойства) не лишены возможных искажений в связи с зависимостью от индивидуальных особенностей пациента и применения принципа сравнения «один пациент – один метод».

2. Недостаточно изучена тема влияния величины отрицательного давления на биологические свойства липоаспирата.

3. Отсутствуют сравнения методов липоаспирата в контексте его последующего применения для целей контурной пластики тела или для регенеративных целей.

Целью нашего исследования стало улучшение результатов хирургических вмешательств с использованием аутологичных жировых трансплантатов путем сравнительной оценки биологических свойств липоаспирата, полученного при различных видах механической липосакции.

Задачи были следующие: 1) Изучить влияние вибрационной, шприцевой и классической липосакции на жизнеспособность и культуральные свойства СКЖТ; 2) Изучить влияние вибрационной, шприцевой и классической липосакции на количественные характеристики СВФ и СКЖТ; 3) Изучить иммунофенотипические свойства СКЖТ в липоаспирате, полученном при вибрационной, шприцевой и классической липосакции; 4) Изучить влияние величины отрицательного давления при классической липосакции на жизнеспособность, количественные и иммунофенотипические характеристики СКЖТ; 5) Сравнить длительность проведения липоаспирации различными методами механической липосакции.

В проспективное клинико-лабораторное исследование были включены 36 женщин без хронических заболеваний в возрасте от 20 до 45 лет и ИМТ от 20,0 кг/м² до 30,0 кг/м². У всех женщин проводился забор жировой ткани последовательно из 4-х различных областей: нижних и верхних заднебоковых отделов поясницы с обеих сторон. Таким образом, общее количество образцов липоаспирата для сравнения составило 144 единицы сравнения.

Исследование проводилось на базе «Института Пластической хирургии и косметологии» г. Москва и клиники пластической хирургии «Галактика» г. Москва с февраля 2018г. по май 2021г.

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил $34,2 \pm 4,3$ года, а среднее значение ИМТ было равно $25,7 \pm 2,4$ кг/м². Минимальный и максимальный возраст составили 23 и 42 года, что говорит о том, что в нашем исследовании приняли участие женщины трудоспособного возраста, которые по критериям Всемирной Организации Здравоохранения относятся к группе молодого населения (от 18 лет до 44 лет).

Минимальный и максимальный ИМТ пациентов в нашем исследовании составили 20,3 кг/м² и 29,7 кг/м² соответственно. Полученные значения ИМТ позволяют сделать вывод, что все пациенты входили в категорию лиц с нормальным ИМТ (от 18,5 кг/м² до 25 кг/м²) и предожирением (от 25 кг/м² до 30 кг/м²). Пациенты с ожирением в исследовании не участвовали.

У всех женщин проводился забор жировой ткани последовательно из 4-х различных областей – нижних и верхних заднебоковых отделов поясницы с обеих сторон.

При этом для получения жировой ткани в каждой отдельной области применялся только один из 4-х методов:

- 1) классическая липосакция при низком отрицательном давлении - 250 мм. рт. ст.;
- 2) классическая липосакция при высоком отрицательном давлении -750 мм. рт. ст.;
- 3) шприцевая липосакция;
- 4) вибрационная липосакция при высоком отрицательном давлении -750 мм. рт. ст.

Перед началом исследования выбор соответствия области и метода проведения липосакции для каждой из участниц устанавливался случайным образом, следуя процедуре рандомизации, реализованной в программе «STATISTICA 12.0» [StatSoft, Inc., 2014]. Введение процедуры рандомизации было направлено на исключение возможного влияния зависимости

Липосакцию проводили с соблюдением правил асептики и антисептики в условиях общей анестезии после предварительной инфильтрации раствором Кляйна (1 л физиологического раствора, 1 мл адреналина 1:1000, 10 мл лидокаина 10%) тупой канюлей 3 мм типа Mercedes, прибегая к супервлажной технике. Время экспозиции составляло 30-40 мин для каждой области.

Для проведения классической и вибрационной липосакции использовался аппарат Medela Dominant Flex, который позволял устанавливать постоянное отрицательное давление на показателях -250 мм. рт. ст. и -750 мм. рт. ст.

При классической и вибрационной липосакции жировую ткань собирали с помощью тупой канюли для PAL Liposculptor типа MicroAire Tri-Port II с 3 отверстиями и внутренним диаметром 4 мм.

Для сбора жировой ткани с помощью вибрационной липосакции использовали аппарат PAL Liposculptor от компании MicroAire с электрическим манипулятором с длиной хода возвратно-поступательного движения канюли 2 мм и частотой ходов 4000/мин в режиме 100% мощности.

Вибрационная липосакция проводилась только в одной из четырех областей с отрицательным давлением -750 мм. рт. ст.

При проведении шприцевой липосакции использовали тупую канюлю длиной 250 мм и диаметром 2,5 мм с 14 отверстиями диаметром 1,5 мм, подсоединенную к шприцу B. Braun Original Perfusor 50 мл через порт Luer-lock с поршнем, фиксированным зажимом на 2 см выше отметки «50 cc» для создания отрицательного давления.

Временной интервал между началом сбора и его окончанием определяли с точностью до одной секунды с помощью программной видеофиксации. Отсчет останавливался после удаления первых 50 мл жировой ткани.

Процедура липосакции области поясицы во всех областях продолжалась вибрационным методом до достижения необходимой толщины слоя подкожной жировой клетчатки.

По достижении изымаемого объема жировой ткани в каждой области равного 50 мл, липоаспират, полученный при всех видах липосакции, доставлялся в лабораторию без дополнительной обработки или отмывания.

Липоаспират перемещали в центрифужные пробирки на 50 мл. Для удаления детрита и клеток крови липоаспират промывали стерильным PBS. Затем обрабатывали раствором 0,075% коллагеназы I типа (Sigma) в PBS в течение 30 мин при 37°C и постоянном перемешивании. Коллагеназу инактивировали равным объемом DMEM, 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) и центрифугировали в течение 10 мин. Осадок клеток ресуспендировали в DMEM и 10% FBS, пропускали через фильтр с размером ячеек 100 мкм для удаления остатков.

Фильтрат центрифугировали и высевали в обычные флаконы для культивирования тканей в среде DMEM (Gibco), 10% FBS, дополненной 100 Ед/мл пенициллином, 100 мкг/мл стрептомицином и рекомбинантным человеческим фактором роста фибробластов (FGF2; 10 нг/мл; GenScript). Клетки, обозначенные «пассаж 0», культивировали до тех пор, пока они не сливались до 70–80%, затем клетки пассировали.

Выделенные клетки после пассажа 1 высевали в 12-луночные полистирольные планшеты для культивирования тканей в среде DMEM, 10 % FBS с добавлением 10 нг/мл FGF2 в течение 7 дней.

Клетки культивировали при температуре 37°C в атмосфере увлажненного воздуха с 5% CO₂. На 7 день 2-го пассажа клетки промывали PBS и инкубировали с раствором трипсин-ЭДТА (Sigma-Aldrich) в течение 4 минут при 37°C. Далее раствор трипсин-ЭДТА подавляли FBS и ресуспендировали.

Количество, жизнеспособность отделившихся клеток в каждой лунке измеряли с использованием анализатора жизнеспособности клеток Vi-CELL XR (Beckman Coulter). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью теста исключения трипанового синего.

Проточная цитометрия проводилась с использованием FACscan (BD Biosciences,) Клетки после культивирования на 2-ом пассаже собирали и

инкубировали в течение 30 минут в буфере для проточной цитометрии, содержащем моноклональные антитела, конъюгированные с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC) к следующим антигенам: CD31, CD34, CD44, CD45, CD59, CD105, CD146; конъюгированные с PE к следующим антигенам: CD13, CD29, CD73, CD90.

Для обработки данных применялись методы описательной статистики. Для определения средних величин, стандартного отклонения, медиан, интерквартильного интервала использовался программный статистический пакет “StatSoft, Inc. STATISTICA, v 12.0” (StatSoft, 2014). Для определения 95% ДИ использовалась программа “Довинт v.1.0” [7]. Проверку на нормальность распределения проводили с помощью метода Шапиро-Уилка. Сравнение показателей двух независимых признаков в выборках проводили с помощью непараметрического метода Манна-Уитни. При множественных сравнениях применяли непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при достижении значения величины p менее 0,05. Для поправки величины p при проведении процедуры множественных сравнений воспользовались методом Холма-Бонферрони [73].

Средняя длительность вибрационной липосакции объёма жировой ткани 50 мл составила 76 секунд.

Разброс между максимальным и минимальным значениями длительности вибрационной липосакции (103 и 45 секунд) подтверждает литературные данные о наличии различий в строении и физических свойствах жировой ткани у разных пациентов.

Медиана длительности проведения классической липосакции при высоком отрицательном давлении составила 87 секунд с минимальным и максимальным значениями 55 и 127 секунд соответственно.

Средняя длительность классической липосакции с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.) была 88,2 секунды, что в среднем на 16% дольше, чем при проведении вибрационной липосакции с таким же отрицательным давлением, из чего можно предположить, что при проведении липосакции большого объема

длительность операции может быть значительно сокращена благодаря применению вибрационного метода.

Медиана длительности проведения классической липосакции при низком отрицательном давлении составила 110 сек с минимальным и максимальным значениями 70 и 156 сек соответственно.

Средняя длительность классической липосакции при низком отрицательном давлении (-250 мм рт. ст.) составила 111,9 секунд, что на 27% больше средней длительности классической липосакции при высоком отрицательном давлении (-750 мм. рт. ст.) и на 47% больше средней длительности вибрационной липосакции.

Медиана длительности проведения шприцевой липосакции составила 313 сек с минимальным и максимальным значениями 174 и 544 секунды соответственно.

Средняя длительность шприцевой липосакции значительно превышала длительность липосакции при помощи аппаратных методов, в среднем в 3-4 раза.

Значительно большая длительность шприцевой липосакции соответствует физическим законам гидродинамики, согласно которым объёмная скорость движения жидкости по трубе прямо пропорциональна разнице давления на концах трубы и радиусу сечения трубы. Шприцевая липосакция отличалась от аппаратных методов непостоянством отрицательного давления, со временем падающим до нуля, и меньшим диаметром канюли (4 мм для аппаратных методов и 2,5 мм для шприцевой липосакции).

Проведенный анализ показал, что зафиксированные нами значения переменных в большинстве случаев не отвечали нормальному распределению из-за большого их разброса и несовпадения средней величины с медианой. Поэтому в дальнейшем для проведения анализа мы прибегли к методам непараметрической статистики.

Сравнение средней длительности различных методов механической липосакции показало, что наиболее эффективной с точки зрения временных затрат оказалась вибрационная липосакция. На втором и третьем местах – классическая

липосакция с высоким отрицательным давлением и классическая липосакция с низким отрицательным давлением соответственно.

Межгрупповое сравнение длительности различных видов механической липосакции показало значимые статистические различия между всеми группами.

Количество СКЖТ варьировало в достаточно широких пределах – от $0,098 \times 10^6$ /мл до $1,134 \times 10^6$ /мл. Однако средние значения, медианы и ДИ медианы не отличались значительно друг от друга при различных видах механической липосакции, хотя в целом и были более высокими при SYR и PAL.

Исключением явилась классическая липосакция при высоком отрицательном давлении, которая по сравнению с остальными видами механической липосакции показала более низкие значения выхода СКЖТ после культивирования на единицу объема и достигла статистически значимых различий по сравнению со шприцевой липосакцией.

Среднее количество стволовых клеток в липоаспирате при шприцевой липосакции было в среднем на 33% больше, чем при классической липосакции с высоким отрицательным давлением.

Статистически значимые различия в количестве СКЖТ между группой классической липосакции с высоким отрицательным давлением и группой шприцевой липосакции скорее всего обусловлены меньшим диаметром канюли для шприцевой липосакции, большим количеством отверстий и непостоянным давлением, что соответствует данным некоторых литературных источников. Более высокие параметры у вибрационной липосакции также могут быть объяснены ее механической природой, но все же кажутся завышенными.

Оценка жизнеспособности показала, что выживаемость СКЖТ после культивирования оставалась одинаково высокой вне зависимости от способа липосакции и достигала значений, превышающих 90%. Выраженных различий между группами обнаружено не было.

В нашем исследовании было проведено иммунофенотипирование с антигенами: CD31, CD34, CD44, CD45, CD59, CD105, CD146, CD13, CD29, CD73, CD90.

Антигены позволяют дифференцировать стволовые клетки разного происхождения и делить их на группы. СКЖТ обычно экспрессируют маркеры мезенхимальных стволовых клеток и практически не экспрессируют маркеры характерные для гемопоэтических клеток.

Как и мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, СКЖТ экспрессировали на своей поверхности CD13, CD29, CD44, CD73, CD90 и CD105. Экспрессия этих маркеров была очень высока, и существенных различий в их экспрессии в зависимости от способа липосакции обнаружено не было.

Экспрессия маркеров гемопоэза в нашем исследовании CD31, CD34, CD45 была очень низка, и различий в их экспрессии в зависимости от способа липосакции также обнаружено не было. Была выявлена вариабельность экспрессии CD146 в пределах от 9,8% до 18,8%.

Таким образом, выбор того или иного метода липосакции не оказал влияние на иммунофенотипические характеристики СКЖТ, что хорошо согласуется с немногочисленными данными литературы.

Жировая ткань является деликатной и требует максимальной осторожности при обращении с ней с целью поддержания ее жизнеспособности [40]. Идеальная методология пересадки аутологичного жира подробно изучалась в последние годы. Основными недостатками пересадки жировой ткани остаются высокая вероятность развития локальных нежелательных явлений, например, гематом и локальных деформаций, вызванных липосакцией, а также осложнений со стороны реципиента, таких как инфекции и реже тромбоэмболия легочной артерии, острая сердечная недостаточность и тромбоз глубоких вен. Однако некоторые авторы сообщают, что аутологичная пересадка жировой ткани является одной из самых безопасных процедур с очень низкой смертностью [110].

Анализ представленных в литературе методов забора жировой ткани сопряжен с большими трудностями, связанными со значительными колебаниями получаемых результатов и необходимостью учитывать множество факторов для каждого из описанных методов (например, локализация, тип аспирации жира, давление, тип канюли и т.д.), что не позволяет дать однозначный ответ на вопрос,

какой из методов лучше всего подходит для обеспечения максимально качественного жирового трансплантата. Также при оценке ряда способов забора жировой ткани и значений давления, применяемых для забора жировой ткани, мы пришли к выводу, что большинство исследований сосредоточено на конечных точках, таких как количество клеток *in vitro* и оценка их жизнеспособности. Однако пока не было доказано, что эти конечные точки приводят к лучшей выживаемости жирового трансплантата у человека [166].

По данным литературы, не только величина отрицательного давления во время липосакции и свойства донорской области, но также и различные методы сбора [81] и другие индивидуальные донорские факторы влияют на характеристики жизнеспособности, пролиферации и дифференцировки СКЖТ. Дополнительные факторы включают ИМТ, возраст, пол, интеркуррентные заболевания, такие как сахарный диабет, а также лучевую терапию и медикаментозное лечение [169].

Выбор для шприцевой липосакции канюли меньшего диаметра (2,5 мм) с множественными отверстиями (14 отверстий диаметром 1,5 мм) был обусловлен предположением, по данным литературы, о большем выходе СКЖТ по сравнению с классическими дизайнами канюль для аппаратной липосакции. Так Campbell и др. сообщали о наличии обратной связи между повреждением клеток и диаметром инструмента, используемого для извлечения жира [34]. Мультиперфорированные канюли помогают снизить давление на каждом из отверстий, уменьшая повреждения в собранных образцах [72]. Trivisonno и др. сравнили канюли диаметром 2 мм и 3 мм, обе с длиной 170 мм и с закругленным наконечником. Канюля 2 мм обладала 5 круглыми спирально расположенными отверстиями, каждое из которых имело диаметр 1 мм, а канюля 3 мм имела с одной стороны отверстие размером 3×9 мм. Канюля диаметром в 2 мм одновременно облегчала забор жировой ткани из более поверхностных и сильно васкуляризированных слоев, а также уменьшала дискомфорт и травматизацию тканей пациента. Кроме того, эта 2-мм канюля позволила изолировать большее количество СКЖТ, чем 3-мм канюля. Тем не менее жизнеспособность, морфология и пролиферативная

активность СКЖТ между двумя канюлями существенно не отличались [162]. Alharbi и др. сравнивали 2-мм канюлю с четырьмя 0,6 мм калиброванными отверстиями и тупым наконечником с обычной 3-мм канюлей с одним отверстием, причем в первом случае отмечалась значительно более высокая жизнеспособность и миграция разрозненных СКЖТ [20].

Оптимизация методологии пересадки жира в будущем имеет максимальное значение, поскольку факторы, связанные с пациентом, в большинстве случаев неизменны и успех может зависеть преимущественно от эффективных методов пересадки жира.

Липосакции как операции, применяемые для коррекции контуров тела, могут проводиться практически во всех областях тела человека, содержащих достаточное количество подкожной жировой клетчатки. В зависимости от целей операции в различных областях может проводиться липосакция, приводящая к значительному истончению подкожно-жирового слоя, например, в целях липоскульптурирования, или липосакция может выполняться в малом объёме, например, для получения небольших объемов жировой ткани или компонентов СВФ для регенераторных или научных целей.

Для удобства дифференциации целей липосакции мы условно разделили все возможные липосакции на 2 группы: липосакции малого объёма (до 200 мл жировой ткани) и липосакции большого объёма (свыше 200 мл жировой ткани).

Граница между видами липосакции была выбрана условно, но не случайно. Операции связанные с выделением СВФ и СКЖТ как ферментативным, так и механическим методами обычно не требуют более 200 мл липоасpirата, так как возникают сложности со своевременной качественной обработкой материала на лабораторном этапе [47].

Самые же распространённые виды операций, связанные с регенераторным эффектом липофилинга на кожу, обычно проводятся в таких областях как лицо, шея или кисти рук, где редко применяются объёмы жировой ткани, превышающие 200 мл [39, 57, 151, 177]. Применяемые в регенеративной

медицине объёмы липоаспираатов также не превышают в среднем 200 мл [75, 108, 169, 184].

Операции с липотрансфером большого объема традиционно связывают с такими вмешательствами как липофилинг области ягодиц и липофилинг области молочных желез, которые стали крайне распространены в пластической хирургии для коррекции дефицита объёма мягких тканей. Средний объем липофилинга в области ягодиц и в области молочных желез с каждой стороны превышает 400 мл и 200-300 мл соответственно [41, 172].

Таким образом, разделение на липоаспирации объёмом до 200 мл и свыше 200 мл отражает разделение последующих вмешательств по ожидаемому эффекту: для малых липоаспираций (до 200 мл) ожидаемым эффектом является в основном регенераторное влияние на реципиентную зону с умеренным аугментационным эффектом, в то время как липоаспирации большого объёма обычно нацелены исключительно на значительное увеличение объёма мягких тканей.

Как было показано в данном исследовании высокое отрицательное давление (-750 мм рт. ст.), создаваемое вакуумным насосом аппарата для липосакции по сравнению с низким отрицательным давлением (-250 мм рт. ст.) оказывает слабо негативный эффект на выход СКЖТ. Статистически значимым является отличие группы классической липосакции с высоким отрицательным давлением от группы шприцевой липосакции, что позволяет сделать два вывода: при липосакции малых объёмов (до 200 мл) жировой ткани с целью последующего липофилинга для увеличения выхода СКЖТ рекомендуется использовать шприцевую липосакцию; при больших объёмах липоаспирации (более 200 мл) с целью последующего липофилинга или без него более предпочтительным по сравнению с классическим методом является метод вибрационной липосакции, так как он сокращает длительность операции, не отличаясь при этом по своему влиянию на биологические свойства липоаспирата.

Высокое отрицательное давление безусловно негативно влияет на целостность адипоцитов, полученных в результате липосакции [119]. Но целостность

адипоцитов по некоторым литературным данным не имеет существенного значения для объёмного эффекта липофилинга [119, 124]. Этот вопрос остаётся спорным и, к сожалению, количество исследований по данному вопросу недостаточно. Для более глубокого понимания фундаментальных аспектов объёмного эффекта липофилинга требуется дальнейшая проработка темы.

Глубокое понимание индивидуальных факторов, способных повлиять на жизнеспособность и характеристики жировой ткани при ее трансплантации, возможно, помогут в будущем получить потенциальную выгоду от применяемых техник обогащения жировой ткани для каждого пациента в отдельности. Однако большое разнообразие техник выделения адипоцитов, способов изучения характеристик клеток жировой ткани, многообразие индивидуальных факторов пациента, индивидуальные предпочтения в выборе учеными исследовательских инструментов затрудняют проведение качественных исследований в этой области.

Главной особенностью настоящего исследования явилось то, что впервые было изучено влияние распространенных в Российской Федерации методов механической липосакции на культуральные свойства СКЖТ исходя из единых подходов к их культивированию, оценки их количества, жизнеспособности и фенотипических особенностей. Было показано, что выбор того или иного вида механической липосакции практически не оказывает влияния на культуральные свойства СКЖТ за исключением негативного влияния высокого отрицательного давления на выход СКЖТ при ограниченном количестве пассажей. Мы считаем, что выбор способа механической липосакции не влияет на возможность накопления и длительного хранения достаточного количества СКЖТ с целью последующего их клинического применения в тканевой инженерии. Ограничениями нашего исследования явились женский пол, молодой возраст, относительно низкий ИМТ и отсутствие хронических заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Выживаемость СКЖТ после культивирования является одинаково высокой вне зависимости от способа механической липосакции. Среднее значение выживаемости СКЖТ после культивирования достигала значений, превышающих 90%, и составила: 92,7% — для классической липосакции с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.), 93,5% — для вибрационной липосакции, 94,0% — для классической липосакции с низким отрицательным давлением (-250 мм рт. ст.), 94,1% — для шприцевой липосакции.

2. Шприцевая липосакция позволяет получать большее количество СКЖТ в липоаспирате (среднее количество — $0,443 \cdot 10^6/\text{мл}$) по сравнению с классической липосакцией с высоким отрицательным давлением (среднее количество — $0,333 \cdot 10^6/\text{мл}$).

3. Любой из указанных методов механической липосакции позволяет выделять клетки с иммунофенотипическим профилем (CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105), соответствующим СКЖТ, что позволяет использовать их для липофилинга.

4. Жизнеспособность и количественные характеристики СКЖТ в липоаспирате, полученном при классической липосакции с высоким (-750 мм рт. ст.) и низким (-250 мм рт. ст.) отрицательным давлением, являются одинаковыми. Иммунофенотипические различия обнаруживаются только для одного маркера с низким уровнем экспрессии CD31, который характерен для гемопоэтических клеток.

5. Наиболее эффективным методом ($p < 0,05$) механической липосакции с точки зрения длительности операции при отсутствии статистически значимых различий по количеству СКЖТ в липоаспирате является вибрационная липосакция.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется использовать метод вибрационной липосакции при больших объёмах липоаспирации (более 200 мл). По сравнению с классическим методом способ вибрационной липосакции сокращает длительность операции, не ухудшая биологические свойства липоасpirата.

2. При проведении липоаспирации малых объёмов жировой ткани (менее 200 мл) с целью последующего липофилинга с максимальным сохранением биологических свойств СВФ рекомендуется использовать метод шприцевой липосакции, позволяющий получать достаточный объем СКЖТ при минимально возможных экономических затратах.

3. Любой из указанных методов липосакции может быть рекомендован к использованию в практических и научных целях, так как доказано, что отсутствуют значимые различия в свойствах СКЖТ, полученных при различных методах механической липосакции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДИ – доверительный интервал

ИМТ – индекс массы тела

СВФ – стромально-васкулярная фракция

СКЖТ – стволовые клетки жировой ткани

CD – кластер дифференцировки

High-SAL (suction-assisted liposuction high negative pressure) – классическая липосакция при высоком отрицательном давлении

Low-SAL (suction-assisted liposuction low negative pressure) – классическая липосакция при низком отрицательном давлении

PAL (power-assisted liposuction) – вибрационная липосакция

PBS – фосфатно-солевой буфер

SAL (suction-assisted liposuction) – классическая липосакция

SYR (syringe liposuction) – шприцевая липосакция

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурмистрова А. В. Опыт применения ультразвуковой липосакции для коррекции избыточных жировых отложений в нижней трети лица и шеи / А. В. Бурмистрова, А. Г. Пухов // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2009. – № 1. – С. 27-31.
2. Васильев В. С. Биологическая характеристика жировой ткани / В. С. Васильев, Н. Е. Мантурова, С. А. Васильев, Ж. И. Терюшкова // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2019. – № 2. – С. 33.
3. Гатиатулина Е. Р. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани: механизм действия, перспективы и риски местного применения / Е. Р. Гатиатулина, Н. Е. Мантурова, Г. П. Димов, В. С. Васильев, Ж. И. Терюшкова // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2019. – № 2. – С. 43.
4. Казанцев И. Б. Свободная пересадка жировой ткани как способ реконструкции при деформациях губ / И. Б. Казанцев, А. И. Цуканов, В. С. Васильев // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2020. – № 3. – С. 60.
5. Кириллова К. А. Современные взгляды на аутотрансплантацию жировой ткани / К. А. Кириллова, Д. В. Мельников, А. Г. Ли, А. С. Захаренко, Р. Б. Мамедов // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2014. – Т. 3. – С. 77-88.
6. Миланов Н. О. Перспективы клинического применения стволовых клеток жировой ткани в пластической хирургии и регенеративной медицине / Н. О. Миланов, О. И. Старцева, А. Л. Истранов, Д. В. Мельников, А. С. Захаренко // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* – 2014. – Т. 5. – С. 71-74.
7. Орлова Ю. М. Оценка эффективности применения стромально-васкулярной клеточной фракции при операциях на лице / Ю. М. Орлова, Н. Е. Мантурова, Е. В. Вербо, А. Ю. Устюгов // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2021. – № 3. – С. 5.

8. Орлова Ю. М. Клеточные препараты из жировой ткани / Ю. М. Орлова, А. Ю. Устюгов, А. И. Зорина, В. Л. Зорин, А. Л. Поспелов // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. – Т. 3. – С. 62-69.
9. Плаксин С. А. Водоструйная липосакция с помощью аппарата Body-jet / С. А. Плаксин // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2010. – Т. 4. – С. 23-30.
10. Пшениснов К. П. Курс пластической хирургии: Руководство для врачей / К. П. Пшениснов. – Ярославль : Изд-во ОАО «Рыбинский дом печати», 2010. – 1075-1108 с.
11. Сидоренков Д. А. Эстетическая хирургическая контурная пластика тела: автореф. дис. ... докт. мед. наук / Д. А. Сидоренков. – Москва, 2010. – 13 с.
12. Сидоренков Д. А. Применение методов механической липосакции для удаления избытков подкожно-жировой клетчатки / Д. А. Сидоренков, Н. О. Миланов, Г. М. Суламанидзе // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2005. – № 4. – С. 35-42.
13. Старцева О. И. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: современный взгляд, актуальность и перспективы применения в пластической хирургии / О. И. Старцева, Д. В. Мельников, А. С. Захаренко, К. А. Кириллова, С. И. Иванов, Е. Д. Пищикова, Г. Э. Даштоян // Исследования и практика в медицине. – 2016. – Т. 3. – № 3. – С. 68-75.
14. Суламанидзе Г. М. Сравнительная характеристика современных методов липосакции: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г. М. Суламанидзе. – Москва, 2008. – 17 с.
15. Ханк С. У. Липосакция / С. У. Ханк, Г. Заттлер; В. А. Виссарионов ред. . – Пер. с англ. – Москва : ООО «Рид Эльсивер», 2009. – 172 с.
16. Шаробаро В. И. Комплексное лечение и профилактика рубцов различной этиологии / В. И. Шаробаро, О. П. Романец, А. А. Баева // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2016. – № 1. – С. 129-130.
17. Шихирман Э. В. Липосакция в комплексном лечении выраженного ожирения / Э. В. Шихирман, К. В. Пучков // Медицинский совет. – 2016. – № 17. –

C. 154-155.

18. Agostini T. Wet and dry techniques for structural fat graft harvesting: Histomorphometric and cell viability assessments of lipoaspirated samples / T. Agostini, D. Lazzeri, A. Pini, G. Marino, A. Li Quattrini, D. Bani, M. Dini // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2012. – Vol. 130. – № 2. – P. 331-339.
19. Aksu A. E. Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells / A. E. Aksu, J. P. Rubin, J. R. Dudas, K. G. Marra // *Annals of Plastic Surgery*. – 2008. – Vol. 60. – № 3. – P. 306-322.
20. Alharbi Z. Conventional vs. micro-fat harvesting: How fat harvesting technique affects tissue-engineering approaches using adipose tissue-derived stem/stromal cells / Z. Alharbi, C. Opländer, S. Almakadi, A. Fritz, M. Vogt, N. Pallua // *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. – 2013. – Vol. 66. – № 9. – P. 1271-1278.
21. Alt E. U. Aging alters tissue resident mesenchymal stem cell properties / E. U. Alt, C. Senst, S. N. Murthy, D. P. Slakey, C. L. Dupin, A. E. Chaffin, P. J. Kadowitz, R. Izadpanah // *Stem Cell Research*. – 2012. – Vol. 8. – № 2. – P. 215-225.
22. Apfelberg D. Laser-assisted liposuction may benefit surgeons, patients / D. Apfelberg // *Clin Laser Mon*. – 1992. – Vol. 10. – № 12. – P. 193-194.
23. Apfelberg D. B. Progress report on multicenter study of laser-assisted liposuction / D. B. Apfelberg, S. Rosenthal, J. P. Hunstad, B. Achauer, P. Bela Fodor // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 1994. – Vol. 18. – № 3. – P. 259-264.
24. Araco A. Comparison of power water - Assisted and traditional liposuction: A prospective randomized trial of postoperative pain / A. Araco, G. Gravante, F. Araco, D. Delogu, V. Cervelli // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2007. – Vol. 31. – № 3. – P. 259-265.
25. Asilian A. Comparison of fat maintenance in the face with centrifuge versus filtered and washed fat / A. Asilian, A. H. Siadat, R. Iraj // *Journal of Research in Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 19. – № 6. – P. 556-561.
26. Aust L. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates / L. Aust, B. Devlin, S. J. Foster, Y. D. C. Halvorsen, K. Hicok, T. du Laney,

- A. Sen, G. D. Willingmyre, J. M. Gimble // *Cytotherapy*. – 2004. – Vol. 6. – № 1. – P. 7-14.
27. Bajek A. Does the liposuction method influence the phenotypic characteristic of human adipose-derived stem cells? / A. Bajek, N. Gurtowska, L. Gackowska, I. Kubiszewska, M. Bodnar, A. Marszałek, R. Januszewski, J. Michalkiewicz, T. Drewa // *Bioscience Reports*. – 2015. – Vol. 35. – № 3. – P. 1-9.
 28. Barzelay A. Power-assisted liposuction versus tissue resection for the isolation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: Phenotype, senescence, and multipotency at advanced passages / A. Barzelay, R. Levy, E. Kohn et al. // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2015. – Vol. 35. – № 7. – P. 230-240.
 29. Beckenstein M. S. Ultrasound-assisted lipectomy using the solid probe: A retrospective review of 100 consecutive cases / M. S. Beckenstein, J. C. Grotting // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2000. – Vol. 105. – № 6. – P. 2161-2174.
 30. Bellini E. The science behind autologous fat grafting / E. Bellini, M. P. Grieco, E. Raposio // *Annals of Medicine and Surgery*. – 2017. – Vol. 24. – P. 65-73.
 31. Bills J. D. The role of estrogen in the modulation of autologous fat graft outcomes / J. D. Bills, C. Derderian, J. Barker, A. Lowe, L. A. Lavery, K. E. Davis // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2015. – Vol. 135. – № 1. – P. 103-113.
 32. Bourin P. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: A joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cell Banking / P. Bourin, B. A. Bunnell, L. Casteilla et al. // *Cytotherapy*. – 2013. – Vol. 15. – № 6. – P. 641-648.
 33. Brown L. M. Metabolic impact of sex hormones on obesity / L. M. Brown, L. Gent, K. Davis, D. J. Clegg // *Brain Research*. – 2010. – Vol. 1350. – P. 77-85.
 34. Campbell G. L. The Effect of Mechanical Stress on Adipocyte Morphology and Metabolism / G. L. Campbell, N. Laudenslager, J. Newman // *The American Journal of Cosmetic Surgery*. – 1987. – Vol. 4. – № 2. – P. 89-94.
 35. Charles-De-Sá L. Influence of negative pressure on the viability of adipocytes and mesenchymal stem cell, considering the device method used to harvest fat tissue /

- L. Charles-De-Sá, N. F. G. De Amorim, D. Dantas et al. // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2015. – Vol. 35. – № 3. – P. 334-344.
36. Chen Y. W. Effect of suction pressures on cell yield and functionality of the adipose-derived stromal vascular fraction / Y. W. Chen, J. R. Wang, X. Liao, S. H. Li, L. L. Xiao, B. Cheng, G. H. Xie, J. X. Song, H. W. Liu // *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. – 2017. – Vol. 70. – № 2. – P. 257-266.
37. Choudhery M. S. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation / M. S. Choudhery, M. Badowski, A. Muise, J. Pierce, D. T. Harris // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-14.
38. Coleman S. R. Structural fat grafting: More than a permanent filler / S. R. Coleman // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2006. – Vol. 118. – № 3 SUPPL. – P. 108-120.
39. Coleman S. R. Fat Grafting for Facial Filling and Regeneration / S. R. Coleman, E. B. Katzel // *Clinics in Plastic Surgery*. – 2015. – Vol. 42. – № 3. – P. 289-300.
40. Coleman S. R. Primary Breast Augmentation with Fat Grafting / S. R. Coleman, A. P. Saboeiro // *Clinics in Plastic Surgery*. – 2015. – Vol. 42. – № 3. – P. 301-306.
41. Condé-Green A. Fat Grafting for Gluteal Augmentation / A. Condé-Green, V. Kotamarti, K. T. Nini, P. D. Wey, N. K. Ahuja, M. S. Granick, E. S. Lee // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2016. – Vol. 138. – № 3. – P. 437-446.
42. Cushman M. Effect of tamoxifen on venous thrombosis risk factors in women without cancer: The Breast Cancer Prevention Trial / M. Cushman, J. P. Costantino, E. G. Bovill, D. L. Wickerham, L. Buckley, J. D. Roberts, D. N. Krag // *British Journal of Haematology*. – 2003. – Vol. 120. – № 1. – P. 109-116.
43. Deslex S. Development of a chemically defined serum-free medium for differentiation of rat adipose precursor cells / S. Deslex, R. Negrel, G. Ailhaud // *Experimental Cell Research*. – 1987. – Vol. 168. – № 1. – P. 15-30.
44. Ding D. C. Human adipose-derived stem cells cultured in keratinocyte serum free medium: Donor's age does not affect the proliferation and differentiation capacities / D. C. Ding, H. L. Chou, W. T. Hung, H. W. Liu, T. Y. Chu // *Journal of Biomedical*

Science. – 2013. – Vol. 20. – № 1. – P. 1-11.

45. Djian P. Influence of anatomic site and age on the replication and differentiation of rat adipocyte precursors in culture / P. Djian, D. A. K. Roncari, C. H. Hollenberg // *Journal of Clinical Investigation*. – 1983. – Vol. 72. – № 4. – P. 1200-1208.

46. Doornaert M. Autologous fat grafting: Latest insights / M. Doornaert, J. Colle, E. De Maere, H. Declercq, P. Blondeel // *Annals of Medicine and Surgery*. – 2019. – Vol. 37. – P. 47-53.

47. Dubois S. G. Isolation of human adipose-derived stem cells from biopsies and liposuction specimens / S. G. Dubois, E. Z. Floyd, S. Zvonic, G. Kilroy, X. Wu, S. Carling, Y. D. C. Halvorsen, E. Ravussin, J. M. Gimble // *Methods in Molecular Biology*. – 2008. – Vol. 449. – P. 69-79.

48. Durán H. Microscopic and Macroscopic Fat Embolism: Solving the Puzzle with Case Reports / H. Durán, L. Cárdenas-Camarena, J. E. Bayter-Marin, G. Ramos-Gallardo, J. A. Robles-Cervantes // *Plastic and reconstructive surgery*. – 2018. – Vol. 142. – № 4. – P. 569-577.

49. Erdim M. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study / M. Erdim, E. Tezel, A. Numanoglu, A. Sav // *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. – 2009. – Vol. 62. – № 9. – P. 1210-1214.

50. Erickson G. R. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo / G. R. Erickson, J. M. Gimble, D. M. Franklin, H. E. Rice, H. Awad, F. Guilak // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2002. – Vol. 290. – № 2. – P. 763-769.

51. Estes B. T. Isolation of adipose-derived stem cells and their induction to a chondrogenic phenotype / B. T. Estes, B. O. Diekmann, J. M. Gimble, F. Guilak // *Nature Protocols*. – 2010. – Vol. 5. – № 7. – P. 1294-1311.

52. Eto H. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: Evidence of early death and replacement of adipocytes / H. Eto, H. Kato, H. Suga, N. Aoi, K. Doi, S. Kuno, K. Yoshimura // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2012. – Vol. 129. – № 5. – P. 1081-1092.

53. Faust I. M. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity. / I. M. Faust, P. R. Johnson, J. S. Stern, J. Hirsch // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 1978. – Vol. 235. – № 3. – P. 279.
54. Faustini M. Nonexpanded mesenchymal stem cells for regenerative medicine: Yield in stromal vascular fraction from adipose tissues / M. Faustini, M. Bucco, T. Chlapanidas et al. // *Tissue Engineering - Part C: Methods*. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 1515-1521.
55. Ferraro G. A. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting / G. A. Ferraro, F. De Francesco, V. Tirino, C. Cataldo, F. Rossano, G. Nicoletti, F. D'Andrea // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2011. – Vol. 35. – № 3. – P. 341-348.
56. Ferrer-Lorente R. Systems biology approach to identify alterations in the stem cell reservoir of subcutaneous adipose tissue in a rat model of diabetes: Effects on differentiation potential and function / R. Ferrer-Lorente, M. T. Bejar, M. Tous, G. Vilahur, L. Badimon // *Diabetologia*. – 2014. – Vol. 57. – № 1. – P. 246-256.
57. Fiedler L. S. Autologous fat grafting in the face and neck: Multinational trends and knowledge of the safety, applications, and indications considering oncologic risk potential / L. S. Fiedler, D. B. Saleh, A. Mukrowsky // *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*. – 2021. – Vol. 6. – № 5. – P. 1024-1030.
58. Fischer G. Liposculpture: The “correct” history of liposuction. Part I / G. Fischer // *Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*. – 1990. – Vol. 16. – № 12. – P. 1087-1089.
59. Flynn T. C. The history of liposuction / T. C. Flynn, W. Coleman, L. Field, J. Klein, W. Hanke // *Dermatol Surg*. – 2000. – Vol. 26. – № 6. – P. 515-520.
60. Fodor P. B. Power-assisted Lipoplasty / P. B. Fodor // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2001. – Vol. 21. – № 1. – P. 90-92.
61. Fodor P. B. Power-Assisted Lipoplasty Versus traditional Suction- Assisted Lipoplasty: Comparative Evaluation and Analysis of Output Professor / P. B. Fodor // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2005. – Vol. 29. – P. 127.
62. Fournier P. F. Lipodissection in Body Sculpturing: The Dry Procedure / P. F.

Fournier, F. M. Otteni, P. F. Fournier // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1983. – Vol. 72. – № 5. – P. 598-609.

63. Frazier T. P. Body mass index affects proliferation and osteogenic differentiation of human subcutaneous adipose tissue-derived stem cells / T. P. Frazier, J. M. Gimble, J. W. Devay, H. A. Tucker, E. S. Chiu, B. G. Rowan // *BMC Cell Biology*. – 2013. – Vol. 14. – № 1. – P. 34.

64. Gause T. M. Particle size in fat graft retention: A review on the impact of harvesting technique in lipofilling surgical outcomes / T. M. Gause, R. E. Kling, W. N. Sivak, K. G. Marra, J. P. Rubin, L. E. Kokai // *Adipocyte*. – 2014. – Vol. 3. – № 4. – P. 273-279.

65. Geissler P. J. Improving fat transfer viability: The role of aging, body mass index, and harvest site / P. J. Geissler, K. Davis, J. Roostaeian, J. Unger, J. Huang, R. J. Rohrich // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2014. – Vol. 134. – № 2. – P. 227-232.

66. Girolamo L. De. Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: Their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation / L. De Girolamo, S. Lopa, E. Arrigoni, M. F. Sartori, F. W. Baruffaldi Preis, A. T. Brini // *Cytherapy*. – 2009. – Vol. 11. – № 6. – P. 793-803.

67. Harmelen V. Van. Comparison of Proliferation and Differentiation Capacity of Human Adipocyte Precursor Cells from the Omental and Subcutaneous Adipose Tissue Depot of Obese Subjects / V. Van Harmelen, K. Röhrig, H. Hauner // *Metabolism: Clinical and Experimental*. – 2004. – Vol. 53. – № 5. – P. 632-637.

68. Harmelen V. Van. Effect of BMI and age on adipose tissue cellularity and differentiation capacity in women / V. Van Harmelen, T. Skurk, K. Röhrig, Y. M. Lee, M. Halbleib, I. Aprath-Husmann, H. Hauner // *International Journal of Obesity*. – 2003. – Vol. 27. – № 8. – P. 889-895.

69. Harris L. J. Availability of adipose-derived stem cells in patients undergoing vascular surgical procedures / L. J. Harris, P. Zhang, H. Abdollahi, N. A. Tarola, C. Dimatteo, S. E. McIlhenny, T. N. Tulenko, P. J. Dimuzio // *Journal of Surgical Research*. – 2010. – Vol. 163. – № 2. – P. 105-112.

70. Hauner H. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human

- adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium / H. Hauner, G. Entenmann, M. Wabitsch, D. Gaillard, G. Ailhaud, R. Negrel, E. F. Pfeiffer // *Journal of Clinical Investigation*. – 1989. – Vol. 84. – № 5. – P. 1663-1670.
71. Hirsch J. Adipose tissue cellularity in human obesity / J. Hirsch, B. Batchelor // *Clinics in Endocrinology and Metabolism*. – 1976. – Vol. 5. – № 2. – P. 299-311.
72. Hivernaud V. Autologous Fat Grafting in the Breast: Critical Points and Technique Improvements / V. Hivernaud, B. Lefourn, J. Guicheux, P. Weiss, F. Festy, A. C. Girard, R. Roche // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2015. – Vol. 39. – № 4. – P. 547-561.
73. Hoareau L. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: A new method to improve graft efficiency / L. Hoareau, K. Bencharif, A. C. Girard, L. Gence, P. Delarue, O. Hulard, F. Festy, R. Roche // *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. – 2013. – Vol. 66. – № 5. – P. 712-719.
74. Holm S. A simple sequentially rejective multiple test procedure / S. Holm // *Scandinavian journal of statistics*. – 1979. – Vol. 6. – № 2. – P. 65-70.
75. Huayllani M. T. Adipose-Derived Stem Cells Therapy for Radiation-Induced Skin Injury / M. T. Huayllani, H. Ruiz-Garcia, D. Boczar et al. // *Annals of Plastic Surgery*. – 2021. – Vol. Publish Ah.
76. III Coleman Wi. P. The Dermatologist as a Liposuction Surgeon / Wi. P. III Coleman // *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*. – 1988. – Vol. 14. – № 10. – P. 1057-1058.
77. Illouz Y.-G. History and current concepts of lipoplasty / Y.-G. Illouz // *Clinics in Plastic Surgery*. – 1996. – Vol. 23. – № 4. – P. 721-730.
78. Illouz Y. G. Complications of liposuction / Y. G. Illouz // *Clinics in Plastic Surgery*. – 2006. – Vol. 33. – № 1. – P. 129-163.
79. Isakson P. Impaired preadipocyte differentiation in human abdominal obesity: Role of Wnt, tumor necrosis factor- α , and inflammation / P. Isakson, A. Hammarstedt, B. Gustafson, U. Smith // *Diabetes*. – 2009. – Vol. 58. – № 7. – P. 1550-1557.
80. ISAPS Global Statistics 2019. 2019. Accessed May 4, 2021 <https://www.isaps.org/wp-content/uploads/2020/12/Global-Survey-2019.pdf>.

81. Iyyanki T. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield / T. Iyyanki, J. Hubenak, J. Liu, E. I. Chang, E. K. Beahm, Q. Zhang // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2015. – Vol. 35. – № 4. – P. 467-476.
82. Jewell M. L. Clinical application of VASER-assisted lipoplasty: A pilot clinical study / M. L. Jewell, P. B. Fodor, E. B. De Souza Pinto, M. A. Al Shammari // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2002. – Vol. 22. – № 2. – P. 131-146.
83. Jung J. A. Effects of the diabetic condition on grafted fat survival: An experimental study using streptozotocin-induced diabetic rats / J. A. Jung, Y. W. Kim, Y. W. Cheon, S. R. Kang // *Archives of Plastic Surgery*. – 2014. – Vol. 41. – № 3. – P. 241-247.
84. Jurgens W. J. F. M. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: Implications for cell-based therapies / W. J. F. M. Jurgens, M. J. Oedayrajsingh-Varma, M. N. Helder, B. ZandiehDoulabi, T. E. Schouten, D. J. Kuik, M. J. P. F. Ritt, F. J. Van Milligen // *Cell and Tissue Research*. – 2008. – Vol. 332. – № 3. – P. 415-426.
85. Karastergiou K. Distinct developmental signatures of human abdominal and gluteal subcutaneous adipose tissue depots / K. Karastergiou, S. K. Fried, H. Xie, M. J. Lee, A. Divoux, M. A. Rosencrantz, R. J. Chang, S. R. Smith // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2013. – Vol. 98. – № 1. – P. 362-371.
86. Kawagishi-Hotta M. Enhancement of individual differences in proliferation and differentiation potentials of aged human adipose-derived stem cells / M. Kawagishi-Hotta, S. Hasegawa, T. Igarashi et al. // *Regenerative Therapy*. – 2017. – Vol. 6. – P. 29-40.
87. Keck M. Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: Impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration / M. Keck, J. Kober, O. Riedl, H. B. Kitzinger, S. Wolf, T. M. Stulnig, M. Zeyda, A. Gugerell // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. – 2014. – Vol. 67. – № 1. – P. 1-8.
88. Kesselring U. K. Regional fat aspiration for body contouring / U. K. Kesselring // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1983. – Vol. 72. – № 5. – P. 610-619.

89. Kesselring U. K. A suction curette for removal of excessive local deposits of subcutaneous fat / U. K. Kesselring, R. Meyer // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1978. – Vol. 62. – № 2. – P. 305-306.
90. Khoury J. G. Histologic evaluation of interstitial lipolysis comparing a 1064, 1320 and 2100 nm laser in an ex vivo model / J. G. Khoury, R. Saluja, D. Keel, S. Detwiler, M. P. Goldman // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2008. – Vol. 40. – № 6. – P. 402-406.
91. Kirkham J. C. The impact of liposuction cannula size on adipocyte viability / J. C. Kirkham, J. H. Lee, M. A. Medina, M. C. McCormack, M. A. Randolph, W. G. Austen // *Annals of Plastic Surgery*. – 2012. – Vol. 69. – № 4. – P. 479-481.
92. Klein J. A. The Tumescent Technique for Lipo-Suction Surgery / J. A. Klein // *The American Journal of Cosmetic Surgery*. – 1987. – Vol. 4. – № 4. – P. 263-267.
93. Klein J. A. Tumescent technique for local anesthesia improves safety in large volume liposuction / J. A. Klein // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1993. – Vol. 92. – № 6. – P. 1085-1098.
94. Klein J. A. Tumescent technique for regional anesthesia permits lidocaine doses of 35 mg/kg for liposuction / J. A. Klein // *J Dermatol Surg Oncol*. – 1990. – Vol. 16. – № 3. – P. 248-263.
95. Kornicka K. The Effect of Age on Osteogenic and Adipogenic Differentiation Potential of Human Adipose Derived Stromal Stem Cells (hASCs) and the Impact of Stress Factors in the Course of the Differentiation Process / K. Kornicka, K. Marycz, K. A. Tomaszewski, M. Marędziak, A. Śmieszek // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2015. – P. 1-20.
96. Kurita M. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: Optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation / M. Kurita, D. Matsumoto, T. Shigeura, K. Sato, K. Gonda, K. Harii, K. Yoshimura // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2008. – Vol. 121. – № 3. – P. 1033-1041.
97. Laloze J. Cell-assisted lipotransfer: Current concepts / J. Laloze, A. Varin, N. Bertheuil, J. L. Grolleau, C. Vaysse, B. Chaput // *Annales de Chirurgie Plastique Esthetique*. – 2017. – Vol. 62. – № 6. – P. 609-616.

98. Laloze J. Cell-assisted lipotransfer: Friend or foe in fat grafting? Systematic review and meta-analysis / J. Laloze, A. Varin, J. Gilhodes et al. // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2018. – Vol. 12. – № 2. – P. e1237-e1250.
99. Lawrence N. Ultrasonic-assisted liposuction / N. Lawrence, W. P. Coleman // *Dermatologic Clinics*. – 1999. – Vol. 17. – № 4. – P. 761-771.
100. Lee J. H. The effect of pressure and shear on autologous fat grafting / J. H. Lee, J. C. Kirkham, M. C. McCormack, A. M. Nicholls, M. A. Randolph, W. G. Austen // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2013. – Vol. 131. – № 5. – P. 1125-1136.
101. Lee N. E. Comparative characterization of mesenchymal stromal cells from multiple abdominal adipose tissues and enrichment of angiogenic ability via CD146 molecule / N. E. Lee, S. J. Kim, S. J. Yang, S. Y. Joo, H. Park, K. W. Lee, H. M. Yang, J. B. Park // *Cytotherapy*. – 2017. – Vol. 19. – № 2. – P. 170-180.
102. Lewis C. M. Comparison of the syringe and pump aspiration methods of lipoplasty / C. M. Lewis // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 1991. – Vol. 15. – № 3. – P. 203-208.
103. Li K. Selection of donor site for fat grafting and cell isolation / K. Li, J. Gao, Z. Zhang, J. Li, P. Cha, Y. Liao, G. Wang, F. Lu // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2013. – Vol. 37. – № 1. – P. 153-158.
104. Liang W. Human adipose tissue derived mesenchymal stem cells are resistant to several chemotherapeutic agents / W. Liang, H. Xia, J. Li, R. C. Zhao // *Cytotechnology*. – 2011. – Vol. 63. – № 5. – P. 523-530.
105. Lillis P. The tumescent technique for liposuction surgery / P. Lillis // *Dermatologic Clinics*. – 1990. – Vol. 8. – № 3. – P. 439-450.
106. Lim A. A. Autologous fat transplantation in the craniofacial patient: The UCLA experience / A. A. Lim, K. Fan, K. A. Allam, D. Wan, C. Tabit, E. Liao, H. K. Kawamoto, J. P. Bradley // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2012. – Vol. 23. – № 4. – P. 1061-1066.
107. Luo S. Adipose tissue-derived stem cells treated with estradiol enhance survival of autologous fat transplants / S. Luo, L. Hao, X. Li, D. Yu, Z. Diao, L. Ren, H. Xu // *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. – 2013. – Vol. 231. – № 2. – P. 101-110.

108. Lv Q. Volume Retention After Facial Fat Grafting and Relevant Factors: A Systematic Review and Meta-analysis / Q. Lv, X. Li, Y. Qi, Y. Gu, Z. Liu, G. e. Ma // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2021. – Vol. 45. – № 2. – P. 506-520.
109. Madonna R. Age-dependent impairment of number and angiogenic potential of adipose tissue-derived progenitor cells / R. Madonna, F. V. Renna, C. Cellini, R. Cotellesse, N. Picardi, F. Francomano, P. Innocenti, R. De Caterina // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2011. – Vol. 41. – № 2. – P. 126-133.
110. Maione L. Autologous Fat Graft by Needle: Analysis of Complications after 1000 Patients / L. Maione, V. Vinci, M. Klinger, F. M. Klinger, F. Caviggioli // *Annals of Plastic Surgery*. – 2015. – Vol. 74. – № 3. – P. 277-280.
111. Man D. Water Jet-Assisted Lipoplasty / D. Man, H. Meyer // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2007. – Vol. 27. – № 3. – P. 342-346.
112. Manturova N. E. Adipocytes in plastic surgery: Their role, position, potential opportunities and prospects of use / N. E. Manturova, A. S. Orlova, E. V. Silina, V. A. Stupin // *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*. – 2018. – Vol. 20. – № 4. – P. 1183-1188.
113. Markey A. C. Liposuction in cosmetic dermatology / A. C. Markey // *Clinical and Experimental Dermatology*. – 2001. – Vol. 26. – № 1. – P. 3-5.
114. Maxwell G. P. Ultrasound-assisted lipoplasty: A clinical study of 250 consecutive patients / G. P. Maxwell, M. K. Gingrass // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1998. – Vol. 101. – № 1. – P. 189-202.
115. McLeod C. On the origin and impact of mesenchymal stem cell heterogeneity: new insights and emerging tools for single cell analysis / C. McLeod, R. Mauck // *European Cells and Materials*. – 2017. – Vol. 34. – P. 217-231.
116. Minamino T. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance / T. Minamino, M. Orimo, I. Shimizu et al. // *Nature Medicine*. – 2009. – Vol. 15. – № 9. – P. 1082-1087.
117. Mojallal A. Influence of negative pressure when harvesting adipose tissue on cell yield of the stromal-vascular fraction / A. Mojallal, C. Auxenfans, C. Lequeux, F. Braye, O. Damour // *Bio-Medical Materials and Engineering*. – 2008. – Vol. 18. – № 4-

5. – P. 193-197.

118. Mojallal A. Influence of age and body mass index on the yield and proliferation capacity of Adipose-derived stem cells / A. Mojallal, C. Lequeux, C. Shipkov, A. Duclos, F. Braye, R. Rohrich, S. Brown, O. Damour // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2011. – Vol. 35. – № 6. – P. 1097-1105.

119. Molitor M. The Influence of High and Low Negative Pressure Liposuction and Various Harvesting Techniques on the Viability and Function of Harvested Cells—a Systematic Review of Animal and Human Studies / M. Molitor, M. Trávníčková, O. Měšťák, P. Christodoulou, A. Sedlář, L. Bačáková, S. Lucchina // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2021. – Vol. 45. – № 5. – P. 2379-2394.

120. Moore J. H. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine / J. H. Moore, J. W. Kolaczynski, L. M. Morales, R. V. Considine, Z. Pietrzkowski, P. F. Noto, J. F. Caro // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 1995. – Vol. 19. – № 4. – P. 335-339.

121. Morin C. L. Adipose tissue-derived tumor necrosis factor- α activity is elevated in older rats / C. L. Morin, M. J. Pagliassotti, D. Windmiller, R. H. Eckel // *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. – 1997. – Vol. 52. – № 4. – P. 190-195.

122. Neuber G. A. Fetttransplantation. Bericht über die Verhandlungen der XXII, Kongress, abgehalten vom 12. - 15. April 1893. / G. A. Neuber // *Beilage zum Centralblatt für Chirurgie*. – 1893. – P. N. 30. P. 16.

123. Newman J. Lipo-Suction Surgery : Past — Present — Future / J. Newman // *Am. J. Cosmet. Surg.* – 1984. – Vol. 1. – P. 19-20.

124. Nguyen A. Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques / A. Nguyen, K. A. Pasyk, T. N. Bouvier, C. A. Hassett, L. C. Argenta // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1990. – Vol. 85. – № 3. – P. 378-386.

125. Özkaya Ö. Long-term clinical outcomes of fat grafting by low-pressure aspiration and slow centrifugation (Lopasce technique) for different indications / Ö. Özkaya, O. Egemen, S. A. Barutça, M. Akan // *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery*. –

2013. – Vol. 47. – № 5. – P. 394-398.

126. Özsoy Z. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: A quantitative analysis / Z. Özsoy, Z. Kul, A. Bilir // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2006. – Vol. 26. – № 3. – P. 287-289.

127. Padoin A. V. Sources of processed lipoaspirate cells: Influence of donor site on cell concentration / A. V. Padoin, J. Braga-Silva, P. Martins, K. Rezende, A. R. D. R. Rezende, B. Grechi, D. Gehlen, D. C. MacHado // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2008. – Vol. 122. – № 2. – P. 614-618.

128. Pandey A. C. MicroRNA profiling reveals age-dependent differential expression of nuclear factor B and mitogen-activated protein kinase in adipose and bone marrow-derived human mesenchymal stem cells / A. C. Pandey, J. A. Semon, D. Kaushal, R. P. O'Sullivan, J. Glowacki, J. M. Gimble, B. A. Bunnell // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2011. – Vol. 2. – № 6. – P. 1-18.

129. Panettiere P. The serial free fat transfer in irradiated prosthetic breast reconstructions / P. Panettiere, L. Marchetti, D. Accorsi // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2009. – Vol. 33. – № 5. – P. 695-700.

130. Paul M. A new approach for adipose tissue treatment and body contouring using radiofrequency-assisted liposuction / M. Paul, R. S. Mulholland // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2009. – Vol. 33. – № 5. – P. 687-694.

131. Pérez L. M. Altered metabolic and stemness capacity of adipose tissue-derived stem cells from obese mouse and human / L. M. Pérez, A. Bernal, B. De Lucas, N. S. Martin, A. Mastrangelo, A. García, C. Barbas, B. G. Gálvez // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. 1-22.

132. Pérez L. M. Obese-derived ASCs show impaired migration and angiogenesis properties / L. M. Pérez, A. Bernal, N. San Martín, B. G. Gálvez // *Archives of Physiology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 119. – № 5. – P. 195-201.

133. Pike S. In vitro effects of tamoxifen on adipose-derived stem cells / S. Pike, P. Zhang, Z. Wei et al. // *Wound Repair and Regeneration*. – 2015. – Vol. 23. – № 5. – P. 728-736.

134. Poglio S. Adipose tissue sensitivity to radiation exposure / S. Poglio, S. Galvani,

- S. Bour, M. André, B. Prunet-Marcassus, L. Pénicaud, L. Casteilla, B. Cousin // *American Journal of Pathology*. – 2009. – Vol. 174. – № 1. – P. 44-53.
135. Pulsfort A. K. The effect of centrifugal forces on viability of adipocytes in centrifuged lipoaspirates / A. K. Pulsfort, T. P. Wolter, N. Pallua // *Annals of Plastic Surgery*. – 2011. – Vol. 66. – № 3. – P. 292-295.
136. Raposio E. How to isolate a ready-to-use adipose-derived stem cells pellet for clinical application. / E. Raposio, N. Bertozzi // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2017. – Vol. 21. – № 18. – P. 4252-4260.
137. Rigotti G. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells / G. Rigotti, A. Marchi, M. Galiè, G. Baroni, D. Benati, M. Krampera, A. Pasini, A. Sbarbati // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2007. – Vol. 119. – № 5. – P. 1409-1422.
138. Rodriguez-Cuenca S. Depot differences in steroid receptor expression in adipose tissue: possible role of the local steroid milieu / S. Rodriguez-Cuenca, M. Monjo, A. M. Proenza, P. Roca // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2005. – Vol. 288. – № 1. – P. 200-207.
139. Rodriguez R. L. Quantification of Negative Pressures Generated by Syringes of Different Calibers Used for Liposuction / R. L. Rodriguez, A. Condé-Green // *Plastic & Reconstructive Surgery*. – 2012. – Vol. 130. – № 2. – P. 383e-384e.
140. Rohrich R. J. The role of subcutaneous infiltration in suction-assisted lipoplasty: A review / R. J. Rohrich, S. J. Beran, P. B. Fodor // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1997. – Vol. 99. – № 2. – P. 514-526.
141. Rohrich R. J. Comparative lipoplasty analysis of in vivo-treated adipose tissue / R. J. Rohrich, D. E. Morales, J. E. Krueger, M. Ansari, O. Ochoa, J. Robinson, S. J. Beran // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2000. – Vol. 105. – № 6. – P. 2152-2158.
142. Rohrich R. J. In search of improved fat transfer viability: A quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site / R. J. Rohrich, E. S. Sorokin, S. A. Brown // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2004. – Vol. 113. – № 1. – P. 391-395.
143. Roldan M. Obesity short-circuits stemness gene network in human adipose multipotent stem cells / M. Roldan, M. Macias-Gonzalez, R. Garcia, F. J. Tinahones, M.

Martin // The FASEB Journal. – 2011. – Vol. 25. – № 12. – P. 4111-4126.

144. Rubino C. A scanning electron microscope study and statistical analysis of adipocyte morphology in lipofilling: Comparing the effects of harvesting and purification procedures with 2 different techniques / C. Rubino, V. Mazzarello, M. Faenza, A. Montella, F. Santanelli, F. Farace // Annals of Plastic Surgery. – 2015. – Vol. 74. – № 6. – P. 718-721.

145. Rusciani Scorza A. Autologous fat transfer for face rejuvenation with tumescent technique fat harvesting and saline washing: A report of 215 cases / A. Rusciani Scorza, L. Rusciani Scorza, A. Troccola, D. M. Micci, R. Rauso, G. Curinga // Dermatology. – 2012. – Vol. 224. – № 3. – P. 244-250.

146. Scheflan M. Ultrasonically assisted body contouring / M. Scheflan, H. Tazi // Aesthetic Surgery Journal. – 1996. – Vol. 16. – № 2. – P. 117-122.

147. Schipper B. M. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells / B. M. Schipper, K. G. Marra, W. Zhang, A. D. Donnenberg, J. P. Rubin // Annals of Plastic Surgery. – 2008. – Vol. 60. – № 5. – P. 538-544.

148. Sharpless N. E. How stem cells age and why this makes us grow old / N. E. Sharpless, R. A. DePinho // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2007. – Vol. 8. – № 9. – P. 703-713.

149. Shimizu I. DNA damage response and metabolic disease / I. Shimizu, Y. Yoshida, M. Suda, T. Minamino // Cell Metabolism. – 2014. – Vol. 20. – № 6. – P. 967-977.

150. Shridharani S. M. Liposuction devices: Technology update / S. M. Shridharani, J. M. Broyles, A. Matarasso // Medical Devices: Evidence and Research. – 2014. – Vol. 7. – № 1. – P. 241-251.

151. Shue S. Fat Injection: A Systematic Review of Injection Volumes by Facial Subunit / S. Shue, D. E. Kurlander, B. Guyuron // Aesthetic Plastic Surgery. – 2018. – Vol. 42. – № 5. – P. 1261-1270.

152. Shukla L. Adipose-Derived Stem Cells in Radiotherapy Injury: A New Frontier / L. Shukla, W. A. Morrison, R. Shayan // Frontiers in Surgery. – 2015. – Vol. 2. – № 1.

– P. 10-13.

153. Silina E. Mesenchymal stem cells application in wound tissue healing in old animals / E. Silina, N. Manturova, V. Stupin // *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*. – 2020. – Vol. 13. – P. 103-116.

154. Small K. Is there an ideal donor site of fat for secondary breast reconstruction? / K. Small, M. Choi, O. Petruolo, C. Lee, N. Karp // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2014. – Vol. 34. – № 4. – P. 545-550.

155. Strem B. M. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells / B. M. Strem, K. C. Hicok, M. Zhu, I. Wulur, Z. Alfonso, R. E. Schreiber, J. K. Fraser, M. H. Hedrick // *Keio Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 54. – № 3. – P. 132-141.

156. Strong A. L. The Current state of fat grafting: A review of harvesting, processing, and injection techniques / A. L. Strong, P. S. Cederna, J. P. Rubin, S. R. Coleman, B. Levi // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2015. – Vol. 136. – № 4. – P. 897-912.

157. Tabit C. J. Fat grafting versus adipose-derived stem cell therapy: Distinguishing indications, techniques, and outcomes / C. J. Tabit, G. C. Slack, K. Fan, D. C. Wan, J. P. Bradley // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 2012. – Vol. 36. – № 3. – P. 704-713.

158. Taranto G. Di. Qualitative and quantitative differences of adipose-derived stromal cells from superficial and deep subcutaneous lipoaspirates: A matter of fat / G. Di Taranto, C. Cicione, G. Visconti et al. // *Cytotherapy*. – 2015. – Vol. 17. – № 8. – P. 1076-1089.

159. Tienen F. H. J. Van. Preadipocytes of type 2 diabetes subjects display an intrinsic gene expression profile of decreased differentiation capacity / F. H. J. Van Tienen, C. J. H. Van Der Kallen, P. J. Lindsey, R. J. Wanders, M. M. Van Greevenbroek, H. J. M. Smeets // *International Journal of Obesity*. – 2011. – Vol. 35. – № 9. – P. 1154-1164.

160. Toledo L. S. Syringe liposculpture / L. S. Toledo // *Clinics in Plastic Surgery*. – 1996. – Vol. 23. – № 4. – P. 683-93.

161. Travnickova M. The Influence of Negative Pressure and of the Harvesting Site on the Characteristics of Human Adipose Tissue-Derived Stromal Cells from Lipoaspirates / M. Travnickova, J. Pajorova, J. Zarubova, N. Krocilova, M. Molitor, L. Bacakova // *Stem Cells International*. – 2020. – Vol. 2020.

162. Trivisonno A. Harvest of superficial layers of fat with a microcannula and isolation of adipose tissue-derived stromal and vascular cells / A. Trivisonno, G. Di Rocco, C. Cannistra, V. Finocchi, S. Torres Farr, M. Monti, G. Toietta // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2014. – Vol. 34. – № 4. – P. 601-613.
163. Trott S. A. Safety considerations and fluid resuscitation in liposuction: An analysis of 53 consecutive patients / S. A. Trott, S. J. Beran, R. J. Rohrich, J. M. Kenkel, W. P. Adams, K. W. Klein // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 1998. – Vol. 102. – № 6. – P. 2220-2229.
164. Tsekouras A. Comparison of the viability and yield of adipose-derived stem cells (ASCs) from different donor areas / A. Tsekouras, D. Mantas, D. I. Tsilimigras, D. Moris, M. Kontos, G. C. Zografos // *In Vivo*. – 2017. – Vol. 31. – № 6. – P. 1229-1234.
165. Tsuji W. Effects of Immunosuppressive Drugs on Viability and Susceptibility of Adipose- and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells / W. Tsuji, J. T. Schnider, M. M. McLaughlin et al. // *Frontiers in Immunology*. – 2015. – Vol. 6. – № 4. – P. 1-8.
166. Tuin A. J. What is the current optimal fat grafting processing technique? A systematic review / A. J. Tuin, P. N. Domerchie, R. H. Schepers, J. C. N. Willemsen, P. U. Dijkstra, F. K. L. Spijkervet, A. Vissink, J. Jansma // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. – 2016. – Vol. 44. – № 1. – P. 45-55.
167. Ullmann Y. Searching for the favorable donor site for fat injection: In vivo study using the nude mice model / Y. Ullmann, O. Shoshani, A. Fodor, Y. Ramon, N. Carmi, L. Eldor, A. Gilhar // *Dermatologic Surgery*. – 2005. – Vol. 31. – № 10. – P. 1304-1307.
168. Valizadeh N. Evaluation of safety and efficacy of 980-nm diode laser-assisted lipolysis versus traditional liposuction for submental rejuvenation: A randomized clinical trial / N. Valizadeh, N. Y. Jalaly, M. Zarghampour, B. Barikbin, H. R. Haghighatkah // *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. – 2016. – Vol. 18. – № 1. – P. 41-45.
169. Varghese J. Systematic review of patient factors affecting adipose stem cell viability and function: implications for regenerative therapy / J. Varghese, M. Griffin, A. Mosahebi, P. Butler // *Stem cell research & therapy*. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 45.

170. Weichman K. E. Effects of lidocaine plus epinephrine and prilocaine on autologous fat graft survival / K. E. Weichman, S. M. Warren // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2012. – Vol. 23. – № 4. – P. 1019.
171. West C. C. Prospective purification of perivascular presumptive mesenchymal stem cells from human adipose tissue: Process optimization and cell population metrics across a large cohort of diverse demographics / C. C. West, W. R. Hardy, I. R. Murray et al. // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2016. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-12.
172. Wu Y. Autologous fat transplantation for aesthetic breast augmentation: A systematic review and meta-analysis / Y. Wu, F. Hu, X. Li, G. Yin // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2021. – Vol. 41. – № 6. – P. NP402-NP429.
173. Yildiz K. Comparison of cellular alterations in fat cells harvested with laser-assisted liposuction and suction-assisted liposuction / K. Yildiz, P. N. Tasli, F. Sahin, E. Guneren // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2016. – Vol. 27. – № 3. – P. 631-635.
174. Yoshimura K. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates / K. Yoshimura, T. Shigeura, D. Matsumoto et al. // *Journal of Cellular Physiology*. – 2006. – Vol. 208. – № 1. – P. 64-76.
175. Yu G. Yield and characterization of subcutaneous human adipose-derived stem cells by flow cytometric and adipogenic mRNA analyzes / G. Yu, X. Wu, M. A. Dietrich, P. Polk, L. K. Scott, A. A. Ptitsyn, J. M. Gimble // *Cytherapy*. – 2010. – Vol. 12. – № 4. – P. 538-546.
176. Yuan Y. Spatial structural integrity is important for adipose regeneration after transplantation / Y. Yuan, S. Zhang, J. Gao, F. Lu // *Archives of Dermatological Research*. – 2015. – Vol. 307. – № 8. – P. 693-704.
177. Yun-Nan L. Micro-autologous fat transplantation for rejuvenation of the dorsal surface of the aging hand / L. Yun-Nan, H. Shu-Hung, L. Tsung-Ying, C. Chih-Kang, H. Yu-Hao, T. Hidenobu, L. Chung-Sheng, L. Sin-Daw, L. Tsai-Ming // *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. – 2018. – Vol. 71. – № 4. – P. 573-584.
178. Zelickson B. D. Discussion of laser-assisted liposuction / B. D. Zelickson, T. D. Dressel // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2009. – Vol. 41. – № 10. – P. 709-713.

179. Zelickson B. D. Histological and Ultrastructural Evaluation of the Effects of a Radiofrequency-Based Nonablative Dermal Remodeling Device: A Pilot Study / B. D. Zelickson, D. Kist, E. Bernstein, D. B. Brown, S. Ksenzenko, J. Burns, S. Kilmer, D. Mehregan, K. Pope // *Archives of Dermatology*. – 2004. – Vol. 140. – № 2. – P. 204-209.
180. Zhao Y. The effect of serial passaging on the proliferation and differentiation of bovine adipose-derived stem cells / Y. Zhao, S. D. Waldman, L. E. Flynn // *Cells Tissues Organs*. – 2012. – Vol. 195. – № 5. – P. 414-427.
181. Zhou J. 17B-Estradiol Protects Human Eyelid-Derived Adipose Stem Cells Against Cytotoxicity and Increases Transplanted Cell Survival in Spinal Cord Injury / J. Zhou, P. Lu, H. Ren et al. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2014. – Vol. 18. – № 2. – P. 326-343.
182. Zhu M. The effect of age on osteogenic, adipogenic and proliferative potential of female adipose-derived stem cells / M. Zhu, E. Kohan, J. Bradley, M. Hedrick, P. Benhaim, P. Zuk // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2009. – Vol. 3. – № 4. – P. 290-301.
183. Zocchi M. Ultrasonic liposculpturing / M. Zocchi // *Aesthetic Plastic Surgery*. – 1992. – Vol. 16. – № 4. – P. 287-298.
184. Tak Y. J. A randomized, double-blind, vehicle-controlled clinical study of hair regeneration using adipose-derived stem cell constituent extract in androgenetic alopecia / Y. J. Tak, S. Y. Lee, A. R. Cho, Y. S. Kim // *Stem Cells Translational Medicine*. – 2020. – T. 9. – № 8. – C. 839-849.