

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

На правах рукописи

Орлова Юлия Михайловна

Оптимизация липофилинга лица с целью улучшения приживления жирового
аутоотрансплантата

3.1.16 - пластическая хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

заслуженный врач РФ, д.м.н., проф. Мантурова Наталья Евгеньевна

Москва — 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Жировая ткань: происхождение, структура и функции.....	17
1.1.1 Гомеостаз жировой ткани.....	20
1.1.2 Описание и свойства стволовых клеток жировой ткани.....	21
1.1.3 Факторы, влияющие на биологические свойства мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани.....	23
1.2 Липофилинг лица.....	26
1.2.1 Применение липофилинга при инволютивных изменениях.....	28
1.2.2 Применение липофилинга для коррекции рубцовых изменений.....	32
1.2.3 Проблемы применения липофилинга: резорбция аутожира, отсутствие стандартизированного протокола введения.....	35
1.3 Использование стромально-васкулярной фракции жировой ткани в пластической хирургии	41
1.4 Альтернативные методы улучшения результатов липофилинга и обоснование выбора использования стромально-васкулярной фракции.....	47
ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1 Материалы клинического исследования.....	49
2.2 Методы клинического исследования.....	50
2.2.1 Фотографический метод обследования и 3D моделирование с фильтрами.....	54
2.2.2 Метод оценки рубцов и рубцовых деформаций.....	56
2.2.3 Вычисление объема жирового аутоотрансплантата для введения при эстетической коррекции лица.....	60
2.2.4 УЗИ кожи и мягких тканей.....	64

2.2.5 Лабораторные исследования.....	65
2.3 Процедура липофилинга и получение стромально-васкулярной фракции.....	70
2.4 Гистологическое исследование образцов жировой ткани.....	75
2.5 Протокол проведения клинического исследования.....	76
2.6 Статистическая обработка результатов исследования.....	77
 ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	80
3.1 Сравнительный анализ эффективности традиционной техники липофилинга и липофилинга с СВФ.....	83
3.2 Гистологическое исследование образцов собственной жировой ткани и жирового аутооттрансплантата с СВФ.....	91
3.3 Изменение показателей качества кожи после липофилинга в обеих группах	93
3.4 Анализ приживления жирового аутооттрансплантата в зависимости от анатомических зон.....	96
3.5 Клинические примеры применения разработанного алгоритма	
3.5.1 Эстетическая коррекция инволютивных изменений лица - липофилинг с использованием СВФ	103
3.5.2 Эстетическая коррекция инволютивных изменений лица - липофилинг без использования СВФ.....	109
3.5.3 Коррекция рубцовой деформации лица с помощью липофилинга с применением СВФ.....	115
3.5.4 Коррекция рубцовой деформации лица с помощью липофилинга без применения СВФ.....	122
 ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	129
ВЫВОДЫ.....	138
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	141
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	145

ВВЕДЕНИЕ

Основная цель эстетической и реконструктивной хирургии - восстанавливать контур кожного покрова и мягких тканей при врожденных и посттравматических дефектах, инволютивных изменениях, обеспечивая функциональность и удовлетворительный внешний вид. Для достижения этих целей уже существует много методик, но поиск новых путей лечения не останавливается и сейчас: появляются новые способы пластики местными тканями, аугментационные техники, методы аутотрансплантации тканей и имплантации синтетических материалов. Одной из наиболее широко используемых на сегодняшний день аугментационных методик является липофилинг. Липофилинг представляет собой технику переноса собственной жировой ткани из одной части тела в другую, широко применяемую в реконструктивной и эстетической хирургии ввиду относительной предсказуемости, безопасности, низкой трудоемкости процедуры, низкого уровня осложнений [1].

В реконструктивной хирургии лица липофилинг используется для лечения посттравматических дефектов, коррекции атрофических рубцов и рубцовых деформаций с недостатком объема мягких тканей. Из-за быстрой резорбции жировой ткани в зоне рубцов и выраженного фиброза липофилинг, как правило, проводится в 2 и более этапов. Ввиду необходимости использования большого количества жирового аутотрансплантата происходит травматизация обширной поверхности подкожно-жирового слоя. Для снижения морбидности донорских зон пациентам проводится физиотерапевтическая реабилитация, однако данные методы не дают удовлетворительного результата, так как действие оказывается только на поверхностные слои кожи. В результате пациент остается с деформирующими рубцами, снижающими его качество жизни, а иногда и функциональность пораженных областей. Решение проблемы быстрой резорбции жирового аутографта могло бы улучшить результаты лечения данной группы пациентов [2,3].

В эстетической хирургии лица липофилинг применяется для коррекции инволютивных изменений: атрофии кожи и мягких тканей (связочного аппарата, апоневротической системы и жировой ткани). Методы хирургического вмешательства, используемые для устранения инволютивных изменений основываются на манипуляциях с тремя слоями лицевой области: кожа, подкожная жировая ткань, поверхностная мышечно-апоневротическая система (ПМАС). Фиксация ПМАС в новом положении и создание прочной опорной конструкции, иссечение избытков кожи способны значительно «подтянуть» лицо, обеспечивая лифтинг кожи и мягких тканей лица по вертикальному и латеральному векторам. Однако данный метод не позволяет скорректировать атрофию жирового слоя. Добиться восстановления лицевого контура, придать пропорциональную форму мягким тканям лица возможно только с помощью аугментационных техник, для чего широко используется липофилинг. Как правило, одной процедуры липофилинга оказывается недостаточно из-за высокой резорбции жирового аутографта, варьирующего от 30 до 70% в разных зонах лица [2,5]. Быстрая резорбция жирового аутоотрансплантата снижает удовлетворенность пациента результатами лечения. Хирургу сложно предсказать степень приживления аутоотрансплантата на дооперационном этапе и спрогнозировать результат лечения. Отсутствие стандартизированных методик обработки жировой ткани и техник введения с целью повышения приживаемости жирового аутографта является актуальной проблемой использования липофилинга в эстетической хирургии лица.

Таким образом, аутоотрансплантация жировой ткани является зарекомендовавшим себя методом коррекции инволютивной атрофии жировой ткани лица и рубцовых деформаций, однако до сих пор не решен вопрос резорбции жировой ткани после трансплантации, что вызывает неудовлетворенность результатом операции и обуславливает необходимость повторных коррекций. Есть несколько причин резорбции жирового аутографта. Во-первых, при одномоментном введении слишком большого количества жирового аутографта образование новых сосудов не способно полностью обеспечить кровоснабжение аутоотрансплантата, что ведет к частичному некрозу

пересаженной жировой ткани. Во-вторых, для приживания аутооттрансплантата необходима оптимальная обработка жировой ткани с сохранением жизнеспособного клеточного состава. В-третьих, введение жирового аутографта должно проводиться согласно принципам приживания аутооттрансплантата, а также с учетом строения конкретной анатомической зоны лица.

Помимо резорбции жирового аутооттрансплантата есть ряд проблем, стоящих перед пластическим хирургом, использующим метод липофилинга:

1. Асимметрия в зоне введения. Причинами асимметрии могут являться некорректный расчет объема аутооттрансплантата, неравномерная резорбция жирового аутооттрансплантата, миграция аутографта через фасциальные пространства, локальная гиперплазия пересаженной жировой ткани.
2. Образование рубцовой деформации в местах взятия жировой ткани. При наличии больших по объему дефектов и из-за повышенной резорбции жира пациентам требуется проведение нескольких процедур липофилинга. Наличие рубцов в зоне предыдущего взятия жировой ткани не позволяет хирургу повторно проводить вмешательство в данной области, так как это чревато образованием грубых втянутых рубцов и деформаций контура.
3. Необходимость проведения нескольких этапов липофилинга сопровождается снижением качества жизни пациента.

Решение данных проблем представляется возможным при определении стандартизированного протокола планирования липофилинга, оптимизации техники обработки и введения жирового аутографта. Протокол позволит рассчитывать необходимый объем жирового аутографта для его адекватного кровоснабжения в реципиентной области, а также для обеспечения симметрии зон введения и удовлетворительного эстетического результата; проводить обработку полученной жировой ткани, основанную на достоверном сохранении оптимального для приживания количества жизнеспособных клеток; выполнять введение жирового аутографта согласно анатомическим зонам лица с применением техники, обеспечивающей наилучшее кровоснабжение и

распределение аутооттрансплантата и предотвращающей его миграцию. Удовлетворительное приживание жирового аутооттрансплантата позволит избежать проведения нескольких процедур липофилинга, а значит снизит риск образования рубцовых деформаций в зоне взятия жировой ткани. Предсказуемость и контролируемость процедуры значительно повысит удовлетворенность результатом лечения.

СТЕПЕНЬ НАУЧНОЙ ПРОРАБОТАННОСТИ ТЕМЫ

Вышеописанные проблемы липофилинга активно изучаются во всем мире. Особое внимание уделяется вопросу приживания аутооттрансплантата для решения проблемы резорбции аутографта. На данный момент нет стандартизированного протокола планирования липофилинга и определения конкретного объема жирового аутографта для индивидуального случая. В литературе описано множество техник обработки и введения жирового аутографта, однако «золотым стандартом» все еще остается протокол Колемана 1997 года [21]. Все больше сообщений появляется по использованию клеточных технологий при обработке жировой ткани с целью улучшения приживания аутографта [24-30]. Клеточные технологии позволяют сделать процедуру более предсказуемой: использование собственных клеток пациента сопровождается минимальными рисками осложнений. Много исследований посвящены улучшению приживания жирового аутооттрансплантата с помощью аутологичной плазмы и факторов роста, однако полученные результаты противоречивы, нет достоверного статистического анализа в исследованиях и объективных методов оценки результата [24-26], неизвестны также отдаленные последствия применения высокоактивных веществ. На сегодняшний день использование стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ) - один из наиболее распространенных методов клеточного «обогащения» ввиду простоты получения прямо в операционной и непосредственного введения одновременно с жировым аутографтом. СВФ представляет собой минимально манипулируемый клеточный продукт (согласно Федеральному закону "О биомедицинских клеточных

продуктах" от 23.06.2016 N 180-ФЗ), состоящий из популяции клеток, полученных в результате механической обработки жировой ткани, отделенной от зрелых адипоцитов с помощью дифференциального центрифугирования. Популяция клеток включает в себя эндотелиальные клетки крови, стволовые клетки жировой ткани, предшественники эндотелиальных клеток, Т-клеток, В-клеток, тучные клетки и макрофаги. Гетерогенность фракции способствует мультинаправленному действию популяции клеток - репарации, регенерации адипоцитов, неоангиогенез, модуляция воспалительных реакций, антифибротический эффект.

По результатам исследований, посвященных оценке эффективности СВФ с липофилингом при операциях на лице, продемонстрировано положительное влияние клеточной фракции на приживание жирового аутотрансплантата (в среднем, процент сохранения объема жирового трансплантата с добавлением СВФ и без него составляли 63% против 39% соответственно) [29-31]. Однако в этих научных работах не упоминается влияние типа клеток и их биологических свойств на клиническую эффективность. К примеру, Gentile P., Cervelli V., Schendel S.A. и Saaki G.H. [30-32] определили положительную корреляцию послеоперационных изменений толщины подкожно-жировой клетчатки (ПЖК) и количества клеток в образце СВФ, но не изучали состав и свойства фракции. G.Rigotti, N.F.Gontijo-de-Amorim [28] выявили типы клеток в вводимом образце СВФ с помощью иммунофенотипирования, но не проводили оценку пролиферативного потенциала клеток - показателя регенеративной способности фракции. Таким образом, приводятся данные об эффективности применения СВФ для улучшения приживания жирового аутотрансплантата, но нет понимания, какие именно элементы фракции и в каком соотношении обеспечивают данный эффект.

Актуальность нашего исследования заключается в оценке эффективности СВФ в приживлении жирового аутотрансплантата, определении типа клеток, влияющих на приживание жирового аутотрансплантата, выявлении основных факторов, влияющих на биологические свойства клеток СВФ.

Таким образом, в данной работе стоит задача оптимизировать протокол комбинированного хирургического лечения пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лица с помощью липофилинга с использованием СВФ для достижения удовлетворительных функциональных и эстетических результатов, повышения эффективности лечения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Улучшить результаты липофилинга при лечении пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лица путем внедрения методов предоперационного планирования и применения клеточного продукта жировой ткани стромально-васкулярной фракции.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Оценить эффективность метода 3D компьютерного моделирования лица для планирования объема липофилинга при коррекции рубцовых деформаций.
2. Провести сравнительную оценку метода 3D компьютерного сканирования для показателей поверхностной васкуляризации, пигментации и объемных изменений кожи и мягких тканей лица до и после липофилинга.
3. Разработать и внедрить метод расчета индивидуального объема жирового аутоотрансплантата для проведения липофилинга при коррекции инволютивных изменений лица.
4. Оценить результативность приживления жирового аутоотрансплантата в зависимости от анатомической зоны введения.
5. Определить влияние клеточного продукта стромально-васкулярной фракции на структуру жирового аутоотрансплантата.
6. Оценить влияние клеточного продукта стромально-васкулярной фракции на приживление жирового аутоотрансплантата.

7. Оценить влияние клеточного продукта стромально-васкулярной фракции на качество кожи (толщина кожи, показатели пигментации, поверхностной васкуляризации).

8. Выявить основные факторы, влияющие на приживание жирового аутоотрансплантата.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Предложены методы проведения предоперационного планирования липофилинга лица при коррекции рубцовых деформаций и инволютивных изменений: внедренные методы расчета индивидуального объема жирового аутоотрансплантата показали свою эффективность в достижении оптимального приживания аутожира и эстетически гармоничного результата.

2. Продемонстрировано улучшение приживания аутожира при выполнении липофилинга лица с использованием клеточного продукта стромально-васкулярной фракции (СВФ) по сравнению с традиционным методом липофилинга: сохранность объема жирового аутоотрансплантата с СВФ была больше на 28%. Данный результат позволяет найти пути решения проблемы резорбции аутожира и избежать необходимости проведения многократных повторных процедур липофилинга.

3. Показана зависимость параметров качества кожи после проведения липофилинга лица от возраста пациента путем 3D компьютерного сканирования: изменение пигментации и васкуляризации до и после липофилинга в среднем составила -13,7 у пациентов после 55 лет, изменение пигментации и васкуляризации в среднем -3,075 - у пациентов до 55 лет. С учетом данных результатов становится необходимым скорректировать комплексный подход в лечении инволютивных изменений лица: оценивать состояние как кожи, так и мягких тканей, формировать индивидуальную программу лечения, предлагать альтернативные варианты коррекции в случаях разнонаправленного действия аутожира.

4. Выявлена и исследована комбинация факторов, влияющих на приживление жирового аутотрансплантата, установлена их взаимосвязь: пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток (МСК) жировой ткани, индекс массы тела (ИМТ) и процент жира пациента. Пролиферативный потенциал МСК влияет на приживление жирового аутотрансплантата, общее количество жизнеспособных клеток не оказывает влияния. Существенно влияет на пролиферативный потенциал МСК ИМТ и процент жира пациента: избыточная масса тела отрицательно сказывается на регенеративном потенциале МСК, что в дальнейшем снижает вероятность успешного приживления аутожира при проведении липофилинга. Зная данные особенности влияния параметров пациента на приживление аутожира, становится возможным корректировать схему лечения для достижения высокой степени приживления.

5. На основании внедренных методов обследования предложен алгоритм ведения пациентов для выполнения липофилинга лица, включающий в себя предоперационное планирование и оценку динамических изменений в послеоперационном периоде. Четкое протоколирование и комплексный подход в лечении позволяют объективно оценить результат проведенного вмешательства и достичь высокой степени удовлетворенности результатом лечения.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Теоретическая значимость исследования заключается в раскрытии проблем резорбции жирового аутотрансплантата, углубленном анализе эндогенных и экзогенных причин, влияющих на приживление пересаженной жировой ткани. В работе проведен сравнительный анализ предшествующих научных исследований и предложен собственный метод решения описанных проблем: усовершенствование протокола липофилинга с предоперационным расчетом объема жирового аутотрансплантата и использование клеточного продукта СВФ

для улучшения приживления аутожира. Внедрение в клиническую практику усовершенствованного протокола предоперационного планирования и комбинированного хирургического лечения в сочетании с липофилингом с использованием клеточного продукта СВФ у пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лица повысит эффективность результатов лечения и качества жизни пациентов. Работа имеет большое практическое значение, так как позволяет определить причины резорбции жирового аутооттрансплантата, оптимизировать и улучшить процедуру липофилинга лица.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Решение локального этического комитета РНИМУ им.Н.И.Пирогова о проведении данного клинического исследования №181 от 28 января 2019г.

Дизайн исследования составлен в соответствии с принципами доказательной медицины.

Научная работа проводилась с использованием 3 методов исследования: теоретического, экспериментального (лабораторный этап) и собственно клинического исследования. С помощью теоретического метода исследования проведен литературный анализ научных работ по актуальной теме, определены проблемы аутооттрансплантации жировой ткани и возможные пути их решения, выполнена систематизация значительного объема информации и составлены задачи данного научного исследования. Экспериментальный метод включал в себя лабораторное исследование стромально-васкулярной фракции жировой ткани, оценку общего количества клеток, их биологических свойств, пролиферативного потенциала. Затем в рамках клинического исследования была проведена сравнительная оценка эффективности путей решения проблемы резорбции аутожира, а именно использование клеточного продукта жировой ткани СВФ, вычисление объема жирового аутооттрансплантата в каждом индивидуальном случае, составление алгоритма лечения пациента. Для изучения влияния СВФ на приживление аутожира было выполнено УЗ-исследование оценки толщины кожи

и подкожно-жировой клетчатки, проведено гистологическое исследование структуры жирового аутотрансплантата с СВФ, проведен детальный лабораторный анализ клеточной фракции каждого пациента (подсчет общего количества клеток, определение их пролиферативного потенциала), а также методом статистического анализа изучено влияние индекса массы тела пациента и процента жировой ткани на свойства СВФ. Расчет объема жирового аутотрансплантата при предоперационном планировании проводился с помощью компьютерного моделирования и по новому разработанному методу индивидуального расчета согласно объему фигуры треугольной призмы. В ходе исследования изучено также влияние анатомической зоны лица на приживление аутожира с помощью УЗ-доплер исследования. Для оценки результатов лечения также применялись распространенные методы исследования – фотодокументирование, антропометрия, стандартные клинические методы исследования (сбор анамнеза, физикальный осмотр и т.д.).

Объектом исследования являлись 60 пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лица. Всем пациентам проведено оперативное вмешательство, включающее липофилинг лица как один из этапов или как основной вид лечения. На основании полученных данных разработаны алгоритмы выполнения процедуры липофилинга, оптимизирован протокол планирования и проведения операции.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Определение эндогенных и экзогенных факторов, влияющих на приживление жирового аутотрансплантата, позволяет с учетом индивидуальных особенностей пациента улучшить результаты липофилинга лица.
2. Применение алгоритма предоперационного планирования процедуры липофилинга у пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми

деформациями лица повышает эффективность процедуры и улучшает результаты лечения.

3. Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани с липофилингом лица улучшает приживление аутографта и не вызывает отдаленных побочных эффектов.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты научно-исследовательской работы используются в отделении пластической хирургии Института пластической хирургии и косметологии, в учебном процессе кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий РНИМУ им.Н.И.Пирогова.

ЛИЧНОЕ УЧАСТИЕ

Автором лично проведено обследование 60 пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лицевой области, непосредственное участие в хирургическом лечении с самостоятельным проведением этапа липофилинга с использованием СВФ. Автором разработаны методики оценки объемов дефицита/деформации мягких тканей, объемов жировой ткани, необходимых для восполнения, объемов клеточной популяции для обогащения конкретного объема аутографта. Разработаны алгоритмы планирования процедуры липофилинга. Проведена систематизация и статистическая обработка полученных данных. При участии и лично автором была проведена подготовка основных публикаций по теме выполненной научно-исследовательской работы.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

3 статьи в журнале «Пластическая хирургия и эстетическая медицина», входящим в перечень ВАК и библиографическую базу данных Scopus.

3 публикации тезисов в сборниках научных конференций.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного объема клинического материала. В работе использованы современные методы исследования, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Практические рекомендации проверены в работе Института пластической хирургии и косметологии города Москвы.

АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертация доложена, обсуждена и одобрена на заседании кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий РНИМУ им.Н.И.Пирогова 25 марта 2022 года (выписка протокола заседания №8).

Материалы диссертации доложены на:

1. VIII Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи: материалы конгресса, г.Москва, 28-30 мая 2020.
2. Научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в дерматовенерологии и косметологии»: материалы конференции, г.Москва, 19 сентября 2020.
3. II Международной научной конференции «Современные тенденции исследований в области пластической хирургии и эстетической медицины», г.Москва, 8-9 апреля 2021.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа изложена на 163 страницах машинописного текста, иллюстрирована 57 рисунками, содержит 22 таблиц. Диссертация состоит из

введения, обзора литературы, материалов и методов клинических исследований, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка используемой литературы. Список литературы включает 193 источника (20 отечественных и 173 иностранных).

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 ЖИРОВАЯ ТКАНЬ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

Жировая ткань организма имеет мезодермальное происхождение за исключением жировой ткани челюстно-лицевой области, образующейся из клеток нервного гребня. Жировая ткань самообновляется в течение всей жизни человека [34,35].

Жировая ткань состоит из адипоцитов (клеток, накапливающих жир) и стромы: мезенхимальных стволовых клеток (клеток-предшественников, которые дают начало новым адипоцитам), клеток наружной стенки сосудов (перicytes и сосудистые гладкомышечные клетки), клеток эндотелия. Белая жировая ткань (БЖТ) депонирует энергию (в виде триацилглицеридов), обеспечивает эндокринное взаимодействие (продуцирует гормоны лептин, эстроген, резистин, ФНО-альфа), влияет на чувствительность к инсулину [20,36-40]

Подкожная белая жировая ткань способна реагировать на эндогенные и экзогенные стимулы: морбидное ожирение, старение организма, гормональный дисбаланс, нарушения питания, низкая физическая активность и ряд других внешних факторов вызывают потерю адаптивности жировой ткани и способствуют развитию метаболических нарушений [20,41]. Дисрегуляция продукции одного из гормонов жировой ткани (лептина, адипонектина или резистина) способна привести к системной метаболической дисфункции.

Такая эндокринная активность клеток жировой ткани способна изменяться под действием микроокружения: в исследовании Satoor 2011г. трансплантация образцов висцерального депо жировой ткани в подкожную область изменило экспрессию генов висцеральной жировой ткани в сторону таковых подкожного слоя [42].

Еще одной важной функцией адипоцитов является продукция свободных жирных кислот (ЖК) в процессе гидролиза триглицеридов [43]. Дермальные адипоциты являются локальным источником жирных кислот в коже [44]

Дефекты в переносчиках ЖК могут привести к нарушениям функции кожного барьера и ихтиозу. Недавние исследования Zhang 2021г. показывают влияние жирных кислот, секретируемых дермальными адипоцитами, на регуляцию экстрацеллюлярного матрикса дермальных фибробластов.

Влияние адипоцитов на жизнедеятельность фибробластов в процессе заживления раны неоднократно продемонстрирована в исследованиях. Адипоциты начинают заселять рану во время пролиферативной фазы заживления, одновременно с активацией и миграцией фибробластов [45,46].

Фармакологическое ингибирование адипогенеза в эксперименте *in vivo* нарушает миграцию фибробластов. *In vitro* миграция фибробластов значительно усиливается в присутствии адипогенной среды, что позволяет предположить, что факторы, секретируемые адипоцитами, имеют решающее значение для активации фибробластов при раневом процессе. Дезорганизация функции фибробластов приводила к снижению формированию экстрацеллюлярного матрикса и нестабильности раны. При этом влияние адипоцитов распространяется только на фибробласты: при фармакологически ингибированном адипогенезе не наблюдалось нарушения реэпителизации, реваскуляризации и активации иммунных клеток [10,46].

Одной из причин, объясняющих влияние адипоцитов на фибробласты, является эндокринное действие лептина. Исследование Wetzler 2011г. показало процесс заживления раны у мышей с ингибированием гена лептина. Наблюдалось воспаление в ткани (подтверждено присутствие нейтрофилов и макрофагов, изменения уровня цитокинов) во время поздних фаз заживления раны [47], более низкие уровни фактора роста кератиноцитов (KGF) и сниженный уровень фактора роста фибробластов (FGF). Введение лептина восстанавливало нарушенную реэпителизацию и ускорило заживление ран у мышей, что возможно, произошло под влиянием регуляции инфильтрации иммунных клеток во время воспалительной фазы заживления ран. Кроме этого, введение антилептиновых антител в раны кожного покрова снижает функцию фибробластов во время заживления [48].

Паракринный эффект в жировой ткани оказывает и адипонектин. Адипонектин способен регулировать рост и дифференцировку клеточной линии человеческих кератиноцитов, возможно, посредством регуляции трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), что позволяет предположить, что адипонектин может активизироваться во время заживления ран [49]. Известно, что адипонектин регулирует экспрессию нескольких цитокинов, которые посредством определенного сигнального пути экстрацеллюлярной киназы (ERK) могут модулировать пролиферацию и миграцию кератиноцитов. Данное влияние происходит за счет наличия рецепторов адипонектина на дермальных клетках [50].

Влияние адипокинов (лептина, адипонектина, резистина) на иммунные клетки может распространяться не только в пределах дермы. Есть научные данные, позволяющие предположить участие жировой ткани в адаптивном иммунном ответе. Помимо продукции провоспалительных цитокинов IL-6 и ФНО, адипоциты секретируют молекулы, связанные с врожденным иммунитетом - надсемейство C1q TNF-родственных белков. Преадипоциты могут трансформироваться в макрофагоподобные клетки посредством наличия широкого спектра Toll-подобных рецепторов. [51,52].

Воздействие на иммунные клетки, фибробласты, кератиноциты, регуляция чувствительности к инсулину делает жировую ткань важной для жизнедеятельности организма системой. При повреждении жировой ткани, в том числе при проведении оперативных вмешательств, нарушается функционирование данной системы. Для обеспечения полноценной активности необходима способность клеток системы динамически сохранять свою структуру и функции. Поддержание внутреннего баланса происходит за счет процесса гомеостаза.

1.1.1 Гомеостаз жировой ткани

Гомеостаз - это процесс саморегуляции ткани, способность открытой системы сохранять постоянство своего внутреннего состояния посредством скоординированных реакций, направленных на поддержание динамического равновесия.

Гомеостаз и самообновление клеток происходит благодаря наличию постоянного источника стволовых или прогениторных клеток. Как правило, эти клетки находятся в нише - пространстве с собственной микросредой, обеспечивающей регуляцию перехода стволовых клеток в фазы пролиферации и дифференциации. Есть две линии стволовых клеток, отвечающие за образование новых адипоцитов: первая линия обеспечивает адипогенез на стадии органогенеза, вторая линия - во взрослом организме для поддержания гомеостаза. Исследования жизненного цикла и обновления адипоцитов показывают, что предшественники жировых клеток (стволовые клетки жировой ткани - СКЖТ) постоянно снабжают ткани новыми адипоцитами в течение всей жизни организма [15,53]. Адипоциты постоянно обновляются, их количество в организме увеличивается приблизительно на 9% в год [35]. Было показано, что именно прогениторные клетки в периваскулярной нише сосудов жировой ткани поддерживают образование новых адипоцитов. [54,58,59]. Ингибирование данных клеток продемонстрировало неспособность образовывать новые зрелые адипоциты в условиях гомеостаза, приводило к нарушению жизнедеятельности клеток жировой ткани и снижению чувствительности к глюкозе [54]. Кроме этого, перициты также оказывают влияние на образование новых адипоцитов. Согласно Tang 2008 г. трансплантация перицитов, выделенных из жировых депо, способствовала восстановлению жировых депо у реципиентов. При трансплантации перицитов из других областей такого эффекта не наблюдалось. Эти исследования подтверждают, что стволовые клетки жировой ткани используются для поддержания гомеостаза жировой ткани и если гомеостаз нарушается, возникает метаболическая дисфункция.

СКЖТ играют важную роль в сохранении жирового трансплантата из-за их иммуномодулирующих, ангиогенных и мультипотентных свойств [10,15,19,20,55]. СКЖТ регулируют локальное и системное окружение путем иммуномодуляции посредством прямого межклеточного взаимодействия и секреции многочисленных цитокинов и хемокинов [56].

1.1.2 Описание и свойства стволовых клеток жировой ткани

Популяция СКЖТ была впервые выделена из жировой ткани крысы Rodbell et al. в 1960-х [57]. Эти клетки были также обнаружены в жировой ткани человека с мультипотентными признаками [58]. В 2013 году Международное общество по применению технологий в изучении жировой ткани (International Fat Applied Technology Society) достигло консенсуса в отношении минимальных фенотипических критериев для определения популяции стромальных / стволовых клеток из жировой ткани (СКЖТ) [59]. В настоящее время широко признано, что СКЖТ должны характеризоваться положительной экспрессией поверхностных маркеров, кластера дифференцировки 39 (CD39), CD44, CD73, CD90 и CD105 и отсутствием CD45 и CD31. СКЖТ считаются основными регуляторами в жировой ткани.

Согласно решению Международного общества технологий применения ЖТ (International Fat Applied Technology Society; 2004), стволовыми клетками ЖТ (СКЖТ) принято называть содержащиеся в ней МСК [59,60].

СКЖТ, как и стволовые клетки вообще, представляют собой не- (или мало-) дифференцированные клетки, способные к самообновлению и образованию нескольких типов дифференцированных потомков [61-63].

Это гетерогенная популяция негемопоетических клеток-предшественников, происходящих из мезодермального ростка, способных к самообновлению и мультипотентной дифференцировке (в направлении остеобластов, хондроцитов, адипоцитов, васкулярных эндотелиальных клеток [64]. В отличие от эмбриональных стволовых клеток, образующихся на начальной стадии

формирования организма (стадии бластоцисты), МСК появляются на более поздних стадиях. Они присутствуют в каждой ткани постнатального организма [58-60], локализуются преимущественно в периваскулярной зоне в специфических нишах, регулирующих их функционирование [65].

МСК секретируют широкий спектр про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов роста и простагландинов [66-68]. Следует отметить, что хотя МСК жировой ткани (СКЖТ) способны дифференцироваться в нескольких направлениях, в данной ткани этот процесс идет в адипо- и ангиогенном направлениях, за счет чего и поддерживаются в ней адипо- и ангиогенез [69].

Таким образом, СКЖТ оказывают существенное влияние на репаративные процессы в зоне трансплантации, а именно:

- осуществляют неоангиогенез за счет дифференцировки СКЖТ в эндотелиальные клетки, активации эндотелиальных прогениторных клеток и продукции широкого спектра проангиогенных факторов (FGF, HGF, VEGF, IGF-I, TGF β , GM-CSF, SDF-1, IL-6, -8, -17, NGF, TIMP-1 и TIMP-2, ангиогенин, ангиопоэтин-1), благодаря которым наблюдается выраженная активация процессов васкуляризации в области их присутствия [69, 70-72];

- осуществляют регенерацию адипоцитов за счет своей антиапоптической активности (факторы роста VEGF, GM-CSF, TGF-бетта, IGF-I, гликопротеин Stanniocalcin-1) и дифференцировки в адипоциты [68, 73, 74];

- влияют на модуляцию местных воспалительных реакций и оказывают иммуномодулирующий эффект за счет продукции факторов роста/цитоктинов (энзим indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), простагландин PGE-2, факторы роста TGF-бетта и HGF, человеческий лейкоцитарный антиген HLA-G5) [68,74,75];

- оказывают антифибротический эффект (факторы роста HGF и bFGF) [76,1,3].

Нескольких независимых исследовательских групп пришли к выводу о том, что предшественники жировых клеток находятся в стромальной сосудистой фракции (СВФ) БЖТ [77].

1.1.3 Факторы, влияющие на биологические свойства мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани

На биологические свойства жировой ткани оказывают влияние эндогенные и экзогенные факторы. К эндогенным относится место депонирования жировой ткани. По результатам нескольких исследований [78,102,103] в образцах жировой ткани внутренней и наружной поверхности бедра наблюдалось значительно большее количество СКЖТ по сравнению с образцами, взятыми с брюшной стенки, талии и внутренней поверхности колена ($p < 0,05$). Жизнеспособность клеток СВФ (диапазон 94-95%) и СКЖТ (диапазон 93,12-96,14%) была на высоком уровне без существенных различий между донорскими областями [78].

Эндогенные факторы включают в себя индивидуальные параметры пациента. На биологические свойства МСК влияют : возраст, индекс массы тела (ИМТ), гормональный статус, наличие онкологического заболевания и проведенного химиотерапевтического лечения в анамнезе [79]. Согласно анализу научных работ с 1959 по 2016гг не доказано уменьшение количества стволовых клеток жировой ткани с возрастом, но наблюдаются значительные изменения воспалительного характера: увеличивается циркуляция провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкин-6 (IL-6) [80]. На этом фоне функции стволовых клеток снижаются, адипоциты увеличиваются в размерах, но при этом клетки испытывают недостаток в фосфопротеинах перилипина, в норме обнаруживаемых на поверхности клетки и предотвращающих гидролизацию триацилглицеролов липазами [81]. Из-за этой нехватки клеточные мембраны становятся хрупкими, что ведет к разрушению клеток липазами, нарастает воспалительная реакция в ткани, усиливается инфильтрация моноцитами и макрофагами [82]. С возрастом происходят

гормональные изменения: снижение уровня эстрогена приводит к повышению липолитической активности, увеличению диаметра адипоцитов, оксидативного стресса и воспаления [83].

На функции и свойства МСК также оказывают действие стероидные гормоны. В условиях острого стресса глюкокортикостероиды (ГК) выделяют энергию, восстанавливая гомеостатическое состояние посредством ограничения выработки кортикотрофин-рилизинг-гормона и адренокортикотропного гормона. Хронический стресс приводит к повышению базовых уровней глюкокортикостероидов, что нарушает метаболический гомеостаз, что проявляется в виде высокого уровня глюкозы в крови, гиперинсулинемии и резистентности к инсулину [84]. Хронические стрессовые состояния могут приводить к дисрегуляции метаболизма липидов через чрезмерный липолиз, усилению липогенеза и увеличению дифференцировки преадипоцитов. ГК являются липогенными в висцеральных жировых депо и липолитическими в подкожных жировых депо. Эти тканеспецифические эффекты могут изменяться под действием режима питания или избытка других гормонов, к примеру инсулина [85]. Хронический эмоциональный стресс вызывает пониженные суточные ритмы кортизола и повышенные уровни ГК в вечернее время [86, 87].

Среди гормонов, кроме глюкокортикостероидов и эстрогенов, жизнедеятельность жировой ткани способен изменять мелатонин. Мелатониновые рецепторы встречаются на поверхности адипоцитов. Однако на сегодняшний день получены противоречивые результаты. С одной стороны, совместное культивирование адипоцитов с мелатонином и инсулином *in vitro* вызывает увеличение общего количества жировых клеток на 120%. Такое влияние обусловлено воздействием мелатонина на инсулиновые рецепторы фосфорилирования, которые в свою очередь стимулируют инсулин-опосредованную экспрессию лептина [88]. С другой стороны, на животных моделях дополнительный прием мелатонина способствовал потере массы тела (висцеральной и подкожной жировой ткани) в среднем на 5%. В ряде других исследований эффект мелатонина на массу тела не наблюдался [89].

Еще одним эндогенным фактором, значительно воздействующим на свойства МСК жировой ткани, является ожирение. Ожирение изменяет биологию СКЖТ, фенотип, свойства и функции локального иммунитета [81]. В самом крупном на сегодняшний день исследовании van Harmelan et al. [91] с 30 женщинами с ИМТ больше 30 было показано значительное сокращение количества и жизнеспособности зрелых адипоцитов на 1 грамм жировой ткани и сниженная способность к дифференциации стволовых клеток жировой ткани, их способность формировать колонии. Объясняется этот механизм следующим образом: начальная фаза ожирения характеризуется накоплением провоспалительных иммунных клеток - нейтрофилов, макрофагов, NK-клеток - и снижением лимфоидных клеток 2 типа, эозинофилов. Уже спустя несколько дней после начала высококалорийной диеты жировую ткань начинают инфильтрировать нейтрофилы [92]. Нейтрофилы выделяют протеолитический фермент эластазу, которая способствует нарушению чувствительности к инсулину [93]. Макрофаги инфильтрируют жировую ткань позже, но их количество затем достигает 40% всех стромально-васкулярных клеток [94, 95]. Считается, что триггерами инфильтрации макрофагами является гибель увеличенных в размерах адипоцитов и повышенные уровни выделенных ими липидов. [96, 97]. Более поздняя фаза ожирения характеризуется массивной инфильтрацией Т-клеток, В-клеток и тучных клеток [98]. Было неоднократно показано, что при ожирении повышен уровень фактора некроза опухоли альфа (TNF α) [99]. Помимо этого в жировых клетках были замечены изменения в теломеразной активности и длине теломер ДНК, что предположительно способствует сниженной способности к самообновлению и раннему апоптозу жировых клеток. В исследовании Mitterberger [100] при анализе регенеративного потенциала СКЖТ пациентов в нормальном весе и имевших ожирение в анамнезе, отмечается уменьшение повреждения ДНК и восстановление репаративных свойств [101]. Не наблюдается различий в структуре и функциональности СКЖТ у мужчин и женщин [102-105].

Таким образом, индивидуальные параметры пациента и его состояние здоровья способны значительно повлиять на биологические свойства МСК жировой ткани. Кроме этого, жизнедеятельность СКЖТ зависит от экзогенных

факторов, к которым относится взятие жировой ткани (липосакция), обработка полученного липоаспирата и техника введения.

1.2 ЛИПОФИЛИНГ ЛИЦА

Использование липофилинга лица с целью устранения аномалий объема и контура лицевой области становится все более популярным во всем мире как в эстетической, так и реконструктивной хирургии [16,106]. Например, согласно данным Международного сообщества пластических хирургов (ISAPS) в 2017 году в мире было выполнено более 600 тысяч процедур липофилинга лица только для коррекции инволютивных изменений лица, что в десятки раз меньше частоты применения липофилинга лица для коррекции рубцовых деформаций [107].

Благодаря своей пластичной структуре жировой аутографт может использоваться для восполнения объема при эстетической коррекции, а также при лечении рубцовых деформаций, затрагивающих подкожно-жировую клетчатку. Липофилинг имеет ряд преимуществ по сравнению с другими синтетическими наполнителями мягких тканей:

1. Воздействие на глубокие слои реципиентной области - МСК жировой ткани оказывают патогенетическое действие на скомпрометированное кровоснабжение, дезорганизованные процессы регенерации во всех слоях, а не только поверхностных, как при консервативных методах лечения
2. Улучшение процессов регенерации и восполнение недостатка объема мягких тканей происходит одновременно с помощью одной процедуры
3. Более долговечный результат - пересаженный жировой аутографт приживается в реципиентном месте за счет неоангиогенеза, обеспечивающего рост новых сосудов и адекватное питание трансплантата, и мезенхимальных стромальных клеток, ответственных за адипогенез и модуляцию воспалительного ответа в зоне введения

4. Не вызывает аллергической реакции и реакции отторжения инородного тела (риск значительно выше при использовании синтетических имплантов) - собственные клетки содержат идентичные комплексы гистосовместимости, поэтому не могут вызывать иммунный ответ

5. Пластичность материала - при соответствующей обработке аутологичная жировая ткань (макрожир, микрожир, наножир, СВФ) может быть введена как в глубокие слои для восполнения объема и моделирования рубцовой ткани (контрактуры), так и для коррекции поверхностных дефектов (на уровне дермы).

6. Простота выполнения процедуры и наличие широкого спектра показаний - липофилинг лица может выполняться в любом возрасте при наличии достаточной толщины подкожно-жировой клетчатки для получения аутоотрансплантата. Низкая морбидность данной процедуры подразумевает отсутствие разрезов: для введения жирового аутографта нужно несколько проколов 1,5 мм. Операция проводится под местной или внутривенной анестезией и не требует длительной реабилитации.

Липофиллинг лица имеет множество показаний, включая омоложение, [17,18,108] коррекцию контуров лицевой области, вторичную коррекцию после травмы или онкологической резекции, [109] врожденные аномалии развития мягких тканей [110-112]. Аутоотрансплантация жировой ткани также улучшает восстановление кожного покрова и объема мягких тканей после воздействия лучевой терапии [113].

В нашем исследовании оптимизации метода липофилинга включены две группы пациентов: пациенты для эстетической коррекции лица и пациенты для лечения рубцовых деформаций. Поэтому рассмотрим более подробно показания для использования жировой аутоотрансплантации именно для данных областей применения.

1.2.1 Применение липофилинга при инволютивных изменениях лица

Жировая ткань лицевой области представлена практически в каждой анатомической зоне. Основная часть жировых компартментов находится в средней трети лица. Малярное возвышение, которое является определяющим проекцию средней зоны лица, состоит из 3 жировых пакетов: медиального, срединного и латерального. Именно эти структуры обеспечивают молодость лица, правильный изгиб линии Оджи, являющейся символом привлекательности. Жировые пакеты орбитальной области делятся на 3 части: пакет, расположенный непосредственно вокруг верхней границы орбиты, ограниченный орбитальной связкой; нижний подкожный жировой пакет книзу от тарсальной пластинки; латеральный подкожный жировой пакет, нижней границей которого является перегородка верхнего отдела щеки и верхней - нижняя височная связка. Большая скуловая мышца прикреплена к этому компартменту связками. Отдельный жировой пакет находится в проекции носогубной складки. Присутствуют также жировые компартменты на лбу: центральный, срединный и латеральный височно-щечный. Глубокие жировые пакеты включают в себя подглазничный, ретроглазничный, щечный. Жировая ткань расположена не только подкожно, но и между мышечными волокнами, как например, вокруг мышцы поднимающей угол рта и под мышцей поднимающей губу, что предположительно обеспечивает снижение трения при движениях мышц.

Так как жировая ткань представлена практически во всех зонах лица, то при инволютивных изменениях атрофия жировой ткани проявляется повсеместно: уменьшение проекции средней зоны, уменьшение малярного возвышения, уменьшение контура нижней челюсти, углубление носогубной складки, носослезной борозды [5,14,17,18,114]. Существует ряд причин атрофии жировых пакетов лица. Во-первых, при возрастных изменениях наблюдается снижение ангиогенеза [5,115], наблюдается ряд изменений в артериальном русле: появляется извитость сосудов, накапливаются коллагеновые волокна в средней оболочке сосуда, происходит эктазия сосудов. Особенно уязвимыми при старении

становятся щечная и околоушно-жевательная области, где зафиксирована наименьшая относительная плотность сосудов артериального русла (согласно исследованию Chang 2001). Во-вторых, при старении организма ниши стволовых клеток опустошаются, а другие типы клеток (адипоциты, иммунные клетки, эндотелиальные клетки) теряют способность к пролиферации и подвергаются апоптозу или некрозу. Гибель адипоцитов сопровождается разрушением клеточных мембран, выделением жирных кислот, секрецией большого количества провоспалительных цитокинов, что усугубляет функционирование жировой ткани. Поддержание гомеостаза становится затруднительным, СКЖТ теряют способность к самообновлению и дифференциации в адипоциты. В-третьих, в жировой ткани со старением организма начинают накапливаться «стареющие» клетки («senescent»). «Стареющие» клетки представляют собой поврежденные в процессе стрессового воздействия клетки, временно останавливающие свой клеточный цикл. Эти клетки вызывают атрофию жировой ткани, снижают адипогенез [116]. Таким образом, при коррекции инволютивной атрофии жировой ткани лица требуется не только восполнить объем мягких тканей, но и воздействовать на клеточные механизмы старения.

Ввиду того, что клетки жировой ткани оказывают влияние на клетки кожи, инволютивные изменения происходят последовательно как в слоях жировой ткани, так и в дерме и эпидермисе [117]. Изменения кожи сопровождаются уменьшением толщины эпидермиса, его атрофией, уменьшением площади капиллярной сети, что приводит к снижению эластичности кожи, птозу тканей лица и углублению морщин. [5,118] Пролиферация кератиноцитов, фибробластов и эндотелиальных клеток снижается, что приводит к дефектной реэпителизации, сниженному синтезу коллагена и сокращенной реваскуляризации [5,119;120].

Снижение уровня липидов в роговом слое вызывает снижение функции эпидермального барьера, что приводит к увеличению проницаемости кожи и излишней потере воды [121]. Вероятно, что за снижение уровня липидов ответственны дермальные адипоциты как локальный источник липидов. Учитывая, что клетки предшественники адипоцитов могут способствовать росту волос [122], предполагается, что снижение адипогенеза опосредует прекращение

жизненного цикла волосяных фолликулов. Как становится понятно, механизм атрофии кожи и мягких тканей лица при инволютивных изменениях мультифакторный [123-125]. Основными составляющими инволютивных изменений тканей лица являются: уменьшение объема мягких тканей лица, снижение ангиогенеза, снижение адипогенеза, снижение синтеза коллагена и нарушение самообновления клеток кожи. Метод коррекции возрастных изменений с помощью липофилинга способен действовать на клеточном уровне: благодаря биологическим свойствам СКЖТ оказывается эффект на ангиогенез, адипогенез, активность фибробластов, антиапоптотический эффект способствует снижению гибели адипоцитов. Восполнение объема при инволютивной атрофии жировых пакетов - основная функция липофилинга лица.

Основной зоной для коррекции атрофии жировой ткани лица является средняя треть - область между линией, проходящей через латеральный и медиальный кантусы глаза, и линией, проходящей через угол рта и мочку уха. Для операций по омоложению лица в этой области адресуются нижнее веко, носослезная борозда, малярная область. Помимо частичной резорбции кости в этой области [126] наблюдается также смещение и атрофия малярного жирового пакета. Данное дегенеративное изменение может происходить независимо по времени от изменения объема других зон лица и может быть изолированным признаком старения лица. Смещение малярного жирового пакета происходит из прескуловой области в подскуловую [14,127]. При этом образуется негативный вектор в зоне перехода нижнего века на подглазничную область, непропорционально увеличивается длина нижнего века. Недостаток объема и опоры в этой зоне формирует носослезную борозду, псевдогрыжевое выпячивание жировых мешков через септальную перегородку глаза, углубление носогубных складок, а при значительных изменениях - опущение углов рта и формирование «брылей». Таким образом, аугментация средней трети лица является важным компонентом при комплексном омоложении лица, улучшает результаты хирургической коррекции периорбитальной области и нижней трети лица. Аугментация средней трети лица с помощью липофилинга проводится согласно анатомическим зонам и с учетом расположения в них пакетов жировой ткани

[14,18]. Введение жирового аутоотрансплантата осуществляется в глубокие и поверхностные слои жировой ткани с учетом утвержденной техники (приказ Федеральной Службы №2011/252 от 22.08.2011) и согласно принципам приживления аутоотрансплантата.

Эстетическая хирургия лица требует высоко персонализированного подхода. Липофилинг лица избавил от необходимости глубокой диссекции в средней трети лица, поскольку инволютивные изменения в этих тканях могут быть скорректированы путем введения жира. Липофилинг в глубоких слоях средней трети лица восполняет потерю мягких тканей и улучшает упругость кожи. Наблюдения Lambros указывают на то, что потеря объема мягких тканей является основным фактором возрастных изменений и птоза мягких тканей лица [128]. Gerrerosantos был одним из первых, кто начал выполнять липофилинг одновременно с ритидэктомией. Cohen, Tonnard и Verpaele уже представили работы по использованию СВФ для улучшения регенерации кожи при комплексных омолаживающих операциях на лице [129]. В России проводились исследования с использованием СВФ не только в пластической хирургии [3,10,19], но и других областях медицины, например в травматологии и ортопедии, и отмечают положительный результат [6,11-13].

По данным литературы, среднее количество жира, используемое для липофилинга лица с одномоментной ритидэктомией, составляет 25 мл (диапазон 13-70 мл), однако на данный момент не представлено метода вычисления точных объемов для конкретного пациента. В нашей научной работе будет подробно рассматриваться данная проблема и будет предложен метод по вычислению точного объема жирового аутоотрансплантата для конкретного пациента.

1.2.2 Применение липофилинга для коррекции рубцовых изменений лица

Рубцовые деформации формируются из-за нарушенного процесса заживления раны. В норме процесс заживления раны занимает 2-3 недели. Однако в случае с реконструктивными пациентами (имеющие в анамнезе инфицированные раны, объемные онкологические резекции, глубокие ожоги) заживление раны более продолжительное и осложняется формированием гипертрофических деформирующих рубцов. В осложненных ранах происходит нарушение регуляции процесса заживления, что влечет за собой избыточную продукцию провоспалительных цитокинов и компонентов экстрацеллюлярного матрикса: ИЛ-8, ИЛ-18, ФНО-альфа, каспаза 1, КФА (киназа фокальной адгезии) и других. [130] Гистологически такие рубцы отличаются от нормотрофических: утолщенный эпидермис, увеличенная пролиферация кератиноцитов, утолщенная дерма за счет избыточного количества фибробластов и миофибробластов, дезорганизация коллагеновых волокон [131]. Рубцовая ткань не способна к ангиогенезу ввиду наличия в тканях плотных фиброзных тяжей (при разрезе ткани не кровоточат). По данным исследований количество сосудов в зоне рубца в 3 раза ниже, чем в интактной коже [9]. Начиная с 30 дня после повреждения в рубцовой ткани значительно повышается фибротический индекс, коррелирующий с состоянием экстрацеллюлярного матрикса. На 60 день после повреждения не наблюдаются признаки митоза, общее количество клеток значительно уменьшается, снижается уровень васкуляризации и провоспалительный индекс. На 90 день рубцовая ткань состоит из плотных волокон коллагена 1 типа, разница в слоях дермы практически отсутствует. Безусловно, данные признаки не являются благоприятствующими для формирования здоровой ткани [132]. Поэтому чтобы улучшить внешний вид рубца и устранить дефект тканей пластические хирурги обращаются к липофилингу - для восстановления слоя функциональной ткани и улучшения микроциркуляции благодаря свойствам

СКЖТ. Многие авторы после проведения липофилинга рубцов и рубцовых деформаций отмечают уменьшение толщины слоя дермы, менее плотные и более организованные волокна коллагена, утолщение эпидермально-дермального перехода [133, 134]. В основе данных положительных изменений лежит механизм перехода миофибробластов в адипоциты, а также биологические свойства МСК: ангиогенез, адипогенез, антифибротический и антиапоптотический эффекты.

Как известно, фибробласты играют ключевую роль в процессе заживления раны, при чем на всех 3 этапах (воспаления, пролиферации, ремоделирования) [135]. В дерме присутствуют две линии фибробластов: верхняя сопряжена с волосяными фолликулами, нижняя - синтезирует ЭЦМ (экстрацеллюлярный матрикс) и сопряжена с адипоцитами [136]. Именно нижняя линия ответственна за процесс заживления раны, подтверждением чему является тот факт, что рубцовая ткань, как правило, лишена волосяных фолликулов и богата ЭЦМ. Адипоциты также играют важную роль в организации линий фибробластов - во время процесса заживления на 21-24 сутки после завершения своей основной функции обеспечения сокращения раны миофибробласты начинают трансформироваться в адипоциты [137]. Подтверждением данного перехода служат данные о скорости прохождения акустической волны в зоне рубца: на 3ей неделе после повреждения в нормотрофическом рубце скорость волны увеличивается на 14% по сравнению с показателями здоровой кожи, в то время как при гипертрофическом типе рубца скорость волны увеличивается на 85% ($p < 0,05$) [8]. Для успешного совершения перехода миофибробластов в ткани должно быть соответствующее микроокружение и правильная молекулярная регуляция, к примеру наличие таких белков как BMP4, молекул активации SMAD1/5/8 фосфорилирования и др. [138] Если среда оказывается неблагоприятной для трансформации, миофибробласты, насыщенные коллагеновыми волокнами и имеющие повышенную секрецию профибротических цитокинов, остаются в ране, вызывая патологическое рубцевание, что может в дальнейшем выражаться в формировании гипертрофических и келоидных рубцов. Таким образом, при введении аутологичной жировой ткани в зону рубца восстанавливается правильное микроокружение для завершения перехода миофибробластов в адипоциты, что

служит благоприятствующим фактором для формирования нормотрофического рубца. Также важную роль в эффекте липофилинга на рубцовую ткань играют стволовые клетки жировой ткани. Как уже описано ранее, именно они ответственны за гомеостаз жировой ткани, и благодаря их эффектам обеспечивается паракринное действие на ткани при липофилинге. СКЖТ способны выделять ряд факторов роста для заживления ран в качестве ответа на повреждение, происходящим еще на этапе липосакции: ФРФ-бета (фактор роста фибробластов бета), ФНО-бета, эпидермальный фактор роста, ТФР (тромбоцитраный фактор роста), ЭСФР (эндотелиальный сосудистый фактор роста) [139]. Продуцируемый СКЖТ фактор роста гепатоцитов способен ингибировать избыточную продукцию коллагена, ведущую к образованию гипертрофических рубцов [140]. Ил-10, противовоспалительный цитокин, выделяемый СКЖТ, способен регулировать баланс цитокинов в ране [141].

Вышеописанные эффекты СКЖТ и липофилинга объясняют широкое использование процедуры для лечения посттравматических (в том числе после проведенных ранее оперативных вмешательств) и послеожоговых рубцовых деформаций. У пациентов, имеющих реконструктивные операции в анамнезе, как правило, ткани уже скомпрометированы (в результате онкологического лечения, термических/химических воздействий), есть недостаток и атрофия мягких тканей, кровоснабжение поврежденных областей и прилежащих тканей нарушено. Поэтому применение методик пластики местными тканями, микрохирургической аутоотрансплантации несет в себе риски развития новых рубцовых деформаций в донорских и реципиентных зонах, формирование асимметрии, появление различий в цвете и структуре кожи (при использовании свободных лоскутов и лоскутов на сосудистой ножке), что снижает качество жизни пациентов. Образовавшиеся после хирургического лечения рубцовые деформации корректируют либо физиотерапевтическими методами, способные повлиять только на поверхностные слои кожи, либо с помощью липофилинга. Липофилинг оказывает воздействие на поверхностные и глубокие слои: восполняется недостаток объема тканей, улучшается ангиогенез и стимулируется ремоделирование рубца. Актуальность использования липофилинга для

коррекции рубцовых деформаций подтверждается статистическими данными: в базе PubMed в период с 2010 по 2017гг зарегистрировано более 2000 статей на тему использования липофилинга для лечения рубцовых деформаций различной этиологии, хронических ран (язв) и алопеции. Данный метод широко используется и при лечении послеожоговых рубцов - найдено более 200 статей (клинические случаи и рандомизированные исследования). В большинстве исследований по коррекции рубцовых деформация различной этиологии получены весьма положительные результаты лечения - улучшение структуры кожи, цвета (совместимость с окружающими здоровыми тканями), восстановление объема пораженной области. К примеру, липофилинг в сочетании с чрескожной апоневротомией эффективен для лечения контрактуры Дюпюитрена с восстановлением эластичной подкожной жировой ткани, более здоровым внешним видом кожи ладоней и, что наиболее важно, хорошим функциональным результатом у большинства пациентов. [142] Согласно последнему метанализу 2020г [143] 89,3% пациентов и 90,5% пластических хирургов удовлетворены результатами липофилинга рубцовых деформаций (наблюдение в течение 2 лет). По данным опроса, пациенты отмечают уменьшение болевого синдрома, уменьшение чувства стянутости кожи в зоне рубца, улучшение функциональности данной зоны, улучшение внешнего вида.

1.2.3 Проблемы применения липофилинга: резорбция аутожира, отсутствие стандартизированного протокола введения.

При очевидных преимуществах и широте применения липоаутографтов существует проблема значительной резорбции пересаженного аутожира. По данным исследований процент резорбции аутожира при операциях на лице колеблется от 30 до 70% в течение года после операции [144]. Причинами резорбции могут быть травмирующий метод забора жировой ткани (липосакции), способ обработки липоасpirата, слои введения (отсутствие благоприятных условий для приживания в реципиентной зоне), объем введения (введение

слишком большого количества аутографта отрицательно сказывается на его приживлении и вызывает некроз части аутотрансплантата), индивидуальные параметры пациента (повышенный воспалительный профиль жировой ткани у пациентов с ожирением). Сложно выделить среди этих причин доминирующую, мы склонны считать все факторы влияющими на приживление аутотрансплантата.

В литературе представлены две основные гипотезы механизма резорбции. Первая теория получила название «теория выживания трансплантата», впервые описанная Peeg и соавторами [145]. Согласно данной теории, аутотрансплантат жира сохраняет жизнеспособность за счет имбибиции до тех пор, пока не произойдет неоваскуляризация на месте реципиента. Этой гипотезы придерживаются те авторы, которые выступают за атравматическую обработку жира при трансплантации жира для обеспечения максимальной жизнеспособности перед введением.

На сегодняшний день все большую популярность приобретает «теория замены трансплантата». В 2012 году ее представил Eto с соавторами по результатам своего масштабного исследования на мышах *in vivo*. Ученые вывели теорию трех-зональной выживаемости. Паховые жировые пакеты мышей были иссечены и трансплантированы в область кожи головы, помечены красителем и затем исследованы через 0, 1, 2, 3, 5, 7 и 14 дней. Наблюдалось три отдельных зоны от периферии к центру трансплантата: «живая» область (жизнеспособные адипоциты), регенерирующая область (погибшие адипоциты, жизнеспособные стромальные клетки жировой ткани, замещение погибших адипоцитов новыми клетками) и область некроза (погибшие адипоциты и стромальные клетки жировой ткани) [145]. На основе этих данных сделан вывод о том, что в процессе переноса жировой ткани выживает очень мало адипоцитов и их объем восполняется дифференцированными СКЖТ из жирового аутографта. Эти результаты были затем подтверждены в исследовании Fu [146], где показано участие донорских клеток стромальной сосудистой фракции в адипогенезе и ангиогенезе.

Таким образом, становится понятным, что клеточный состав аутооттрансплантата во многом определяет успешность процедуры. Сохранность клеточного состава жировой ткани обеспечивается щадящей техникой липосакции и последующей адекватной обработкой для сохранения и поддержания жизнеспособности клеток. На данный момент «золотым стандартом» липофилинга является протокол Колемана 1997 года, однако обработка жировой ткани согласно этому методу также несет потери клеточного состава жировой ткани. В мире представлено много модификаций метода Колемана, начиная от изменений в параметрах липосакции (показатели давления, состава раствора и тп), вариабельности параметров центрифугирования (или его отсутствия), добавления биологически активных веществ. При любой обработке жировой ткани следует помнить, что с липоаспиратом нужно обращаться не как с синтетическим наполнителем (например, гиалуроновой кислоты), а как с живой функционирующей тканью, которая состоит из нескольких типов клеток с разным уровнем резистентности и адаптивности. Особенно важно при обработке жировой ткани сохранять наибольшее количество МСК, так как именно этот тип клеток играет ключевую роль в гомеостазе жировой ткани, следовательно оказывают положительное влияние на жировой аутооттрансплантат и его успешное приживание.

Анализ влияния экзогенных факторов (обработка аутожира и техника введения) на жизнеспособность клеток жировой ткани.

На данный момент используются 4 типа обработка жировой ткани: декантирование, фильтрование, промывание, центрифугирование. Иногда эти этапы следуют друг за другом, в ряде случаев проводятся по отдельности. Минимальная обработка липоасpirата должна обязательно проводиться, чтобы избавиться от разрушенных в ходе липосакции адипоцитов, клеток крови, волокон коллагена, так как при введении в реципиентную область клеточный дебрис может вызвать реактивное воспаление тканей. Воспаление тканей в свою очередь

негативно повлияет на приживание аутографта. Суть обработки аутожира заключается в разделении слоев жировой ткани и жидкости, избавлении от содержания инфильтрационного раствора в липоаспирате и осаждение клеток крови. Как правило, используют метод обработки жировой ткани, предложенный Колеманом: центрифугирование 3000 оборотов в минуту. [147]. Принято считать, что центрифугирование улучшает результат липофилинга, так как происходит удаление повреждающих жировую ткань компонентов: клеток крови, клеточного дебриса и туменесцентного раствора [148; 149]. Есть ряд сообщений, где приводится мнение о том, что центрифугирование повреждает адипоциты и оказывает неблагоприятное воздействие на приживание жировой ткани [150]. Действительно, количество зрелых адипоцитов уменьшается после центрифугирования, происходит повреждение их клеточных мембран, но количество СВФ и СКЖТ после центрифугирования увеличивается, и если количество МСК является оптимальным для данного объема аутожира, трансплантат может сохранить свой объем дольше [151]. По данным исследований жировой аутографт, полученный в результате центрифугирования, имел значительно большую плотность сосудов по сравнению с образцом без центрифугирования.

Определение объема введения аутожира и техника введения

До сих пор определение количества необходимого объема жирового аутооттрансплантата для конкретного пациента остается интуитивным. Часто присутствует проблема недостатка жировой ткани для аутооттрансплантации, что часто встречается у пациентов эктоморфной конституции. После первичного взятия жировой ткани у пациента в донорской зоне образуется рубцовая ткань, что в дальнейшем не позволяет проводить повторную липосакцию в этой области, есть риск формирования грубых втяжений кожи из-за соединительнотканых спаек у пациентов с недостаточным развитием подкожного жирового слоя. Знание определенного количества жирового аутооттрансплантата позволило бы сократить объем донорской зоны и предотвратить избыточное рубцевание. Преимуществом

определения точного объема жирового графта является также сокращение времени, требуемого для липосакции, продолжительности операции и общей анестезии пациента.

Данные проблемы показывают значимость и актуальность определения необходимого объема жира для введения. Поэтому в ходе данного исследования мы разработали свой метод определения объема требуемого жирового трансплантата для введения в среднюю зону лица (коррекция области малярного возвышения).

На данный момент есть много публикаций, посвященных субъективному определению усредненных значений объема жира для введения в различные области лица (по собственному опыту авторов), но учитывая различные типы старения лица (И.Кольгуненко 1974 г), этнические и анатомические особенности, приходится отходить от этих средних значений и эмпирически определять требуемые объемы введения [152-154]. На данный момент также описаны инструментальные методики, позволяющие оценить объем дефекта мягких тканей лица посредством МРТ и 3хмерного моделирования [4]. С помощью компьютерного моделирования вычисляется объем интересующей зоны по формуле определения объема фигуры, которая больше всего подходит к форме данного дефекта (треугольник, трапеция и тд), и затем добавляется 30% от этого объема для устранения погрешности из-за резорбции жира. Такой метод достаточно точен, но не подходит для коррекции возрастных изменений, так как не учитывает гармоничных пропорций молодого лица, а также малоприменим в клинической практике ввиду избыточной нагрузки для диагностического отдела стационара, длительности процедуры, дороговизны исследования. Возникает необходимость в методике, позволяющей в предоперационном периоде неинвазивно, быстро и точно оценить недостающий объем средней трети лица для аугментации. Мы предлагаем метод определения количества жирового аутоотрансплантата согласно типу атрофии средней зоны с последующим вычислением объема зоны атрофии. Применение данного метода легко выполнимо, не требует дополнительных инструментальных исследований, занимает не более 15 минут, что позволяет сделать измерения прямо во время

предоперационной разметки. Метод измерения приведен в главе «материалы и методы».

Техника введения жирового аутографта утверждена приказом Федеральной Службы №2011/252 от 22.08.2011. Введение должно осуществляться исключительно в слои жировой ткани для наилучшего приживления. В случае липофилинга лица введения проводится в поверхностные и глубокие жировые пакеты, при инволютивных изменениях требуется проведение коррекции средней зоны лица - малярной области. Техника введения ретроградная, тоннельная, расстояние между трассами 2 мм. Применение болюсной техники нужно избегать по причине невозможности равномерного питания аутооттрансплантата, а именно недостатка кровоснабжения в центральной его части, в связи с чем происходит некроз данной области. Опустошение этого болюса вследствие некроза приводит к фиброзу, что в результате может вызвать рубцовую деформацию в эстетически важной зоне, что будет проявляться в виде бугров и западений и вызовет неудовлетворенность пациента.

После введения жирового аутографта также не следует массажировать данную область ввиду риска миграции трансплантата. При массаже может произойти расщепление слоя пересаженной жировой ткани, и часть его может некротизироваться, что вызовет неравномерность кожного покрова этой области.

Анализ литературных данных о влиянии экзогенных факторов на жизнеспособность клеток жировой ткани позволил сделать следующие выводы: техника получения жировой ткани должна быть наименее травматичной, предпочтительнее использование шприцевого метода; важное значение для качества липоасpirата имеет слой взятия жировой ткани (рекомендуется проводить липосакцию поверхностного подкожного слоя); центрифугирование вызывает гибель зрелых адипоцитов, но активизирует СКЖТ; необходимо тщательно отделять фракции жировой ткани, жидкости и масла после центрифугирования для избежания попадания клеточного дебриса в аутожир для введения; приживление аутооттрансплантата зависит от оптимального количества жирового аутографта в зоне введения; техника введения должна быть аккуратной и щадящей, с соблюдением принципов, обеспечивающих адекватное

кровоснабжение пересаженной жировой ткани. Систематизация эффектов экзогенных факторов на жизнеспособность пересаженной жировой ткани позволит хирургу скорректировать свой алгоритм действий для достижения наилучшего результата. Однако влияние эндогенных факторов остается неизменным, и необходимо прибегать к новым методам решения проблемы резорбции жирового аутографта. Одним из таких решений является оптимизация липофилинга и использование различных видов клеточных продуктов жировой ткани, основанных на проценте содержащихся в них СКЖТ и степени обработки жировой ткани.

1.3 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПЛАСТИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ

Стромально-васкулярная фракция (СВФ) является гетерогенной популяцией клеток, имеющие различные биологические свойства. Состав СВФ включает в себя эндотелиальные клетки крови, стволовые клетки жировой ткани, предшественники эндотелиальных клеток, Т-клеток, В-клеток, тучные клетки и макрофаги. Гетерогенность фракции с одной стороны способствует мультинаправленному действию, с другой стороны - порождает ряд вопросов по безопасности такого продукта и механизму действия. Также наличие иммунных клеток абсолютно исключает возможность аллогенной трансплантации [1,2,3].

После центрифугирования жировая ткань может быть разделена на два слоя в зависимости от плотности: плавающая фракция, содержащая липидные белые адипоциты и СВФ - стромально-васкулярная фракция [155]. Внутри СВФ находятся клетки, которые при культивировании в адипогенной среде могут образовывать клетки, содержащие липидные капли, имеющие сходство с адипоцитами и экспрессирующие маркеры адипоцитов [156]. Используя метод проточной цитометрии, идентифицирована популяция клеток СВФ, которые экспрессируют несколько поверхностных маркеров и генов стволовых клеток,

таких как Sca1 +, CD24 +, CD29 +, CD34 + и PDFGR / +, и которые могут эктопически подвергаться адипогенезу [53].

Выделение стромально-васкулярной фракции

СВФ может быть выделен путем ферментативной и неферментативной (механической) диссоциации. Ферментативный способ получения более затратный, финансово и по времени, поэтому часто выполняется в автоматизированной системе.

Ферментативный протокол получения СВФ включает в себя промывание липоаспирата до чистых вод, обработку коллагеназой, многократного центрифугирования. В основе - расщепление соединительнотканых спаек и экстрацеллюлярного матрикса ферментом и высвобождение стромальных клеток, заключенных в этих спайках. Следует понимать, что использование ксеногенных компонентов (коллагеназа) может представлять определенные риски и проблемы безопасности ввиду воздействия инфекционных агентов и индукции ответных иммунных реакций организма [157]. Использование автоматизированной системы при ферментативном получении СВФ способствует повышению безопасности процедуры, тщательному очищению конечного продукта от ксеногенных веществ, предотвращению попадания инфекционных агентов, а также уменьшает длительность процедуры выделения.

Механический метод получения СВФ является более предсказуемым и контролируемым. Суть метода заключается в механическом разрушении соединительнотканых спаек между дольками жировой ткани, что производится двойным центрифугированием и эмульгированием. Адипоциты, будучи достаточно хрупкими и чувствительными к механическому воздействию и ишемии клеткам, в большинстве своем погибают после такой обработки. Однако расположенные в соединительнотканых спайках стромальные клетки устойчивы к таким повреждениям и могут давать начало новым адипоцитам. [3]. В основе

лежит воздействие на ЖТ механической силы, например с помощью вибрационного шейкера [55, 158, 159].

Для получения СВФ используют различные устройства, или девайсы, действие которых отличается по ряду параметров, таких как способ выделения СВФ, тип и концентрация используемого фермента, тип механического воздействия, условия центрифугирования, методы лизиса эритроцитов, количество выделяемых клеток, длительность клеточного процессинга и др. [158,160,161].

Большинство устройств рассчитано на получение из 1 мл липоаспирата в среднем от 500 тыс. до 1 млн ядросодержащих клеток с жизнеспособностью более 80% и содержанием СКЖТ в выделенной фракции от 1 до 15%. Время, затрачиваемое на выделение СВФ, составляет от 15 до 120 мин. [55,161]. Использование ферментов, в частности коллагеназы, приводит к более интенсивному расщеплению внеклеточного матрикса ЖТ, а значит, к изоляции значительно большего количества ядросодержащих клеток, чем при применении неферментативного способа (до 1,3 млн кл./мл жира и до 240 тыс. кл/мл соответственно). Показано, что СКЖТ и перициты локализуются преимущественно вокруг малых и среднего размера сосудов ЖТ, однако в процессе механического воздействия (в отличие от ферментативного) большинство этих сосудов остаются в нерасщепленных фрагментах соединительной ткани и элиминируются в ходе процессинга СВФ [64,162-164]. Следовательно, выделенная неферментативным путем СВФ будет отличаться значительно меньшим содержанием стволовых/прогениторных клеток [55]. Вместе с тем у механического способа выделения СВФ есть и свои преимущества: нет необходимости в ферментах, использование которых, как полагают, чревато риском негативного воздействия на ткани; значительно более низкая стоимость продукта; меньшее время, затрачиваемое на получение СВФ (около 15 мин., в то время как при ферментативном способе - 30-120 мин.) [55].

Из механических способов представляет интерес способ, разработанный P.Tonnard и соавт. (2013 г.) [165], получивший название “nanofat”, основанный на

механическом перемешивании липоасpirата до эмульгированного состояния с последующей фильтрацией. “Nanofat” представляет собой жировую эмульсию (не содержащую адипоциты) и СВФ, которую можно выделить из данной эмульсии посредством центрифугирования. В данном случае высок процент МСК жировой ткани, однако также происходит значительное разрушение зрелых адипоцитов, клеточный дебрис которых может стать причиной воспаления тканей [76].

Следует учитывать, что на состав СВФ может оказывать влияние целый ряд факторов, таких как возраст пациента, методы выделения, фильтрации и другие особенности клеточного процессинга, вследствие чего получаемые образцы СВФ могут сильно различаться. Поэтому очень важна стандартизация получаемого препарата, которая позволит добиться оптимального соотношения между клеточными популяциями, входящими в состав СВФ, а, соответственно, и высокой клинической эффективности.

Применение стромально-васкулярной фракции в пластической хирургии

По данным всемирной базы данных клинических исследований [ClinicalTrial.gov](https://clinicaltrials.gov) на сегодняшний день зарегистрировано 127 исследований с использованием СВФ по лечению остеоартрита, ревматоидного артрита, алопеции, последствий инфаркта миокарда, системного склероза, рассеянного склероза, последствий черепно-лицевой травмы, хронических незаживающих ран, келоидных рубцов, фасциальной атрофии. 7 из этих исследований проходят на территории РФ.[2, 6, 143, 166-168]

В пластической хирургии СВФ привлекает внимание ввиду ее политаргетности и многокомпонентности. Действие различных типов клеток в ее составе способно вызывать реакции, приводящие к регенерации тканей. Данные свойства могут помочь найти решение актуальной проблеме резорбции жирового аутоотрансплантата при эстетических и реконструктивных операциях, а также исследовать вопрос улучшения регенерации тканей в послеоперационном периоде.

Первое применение СВФ из адипоцитов для эстетической коррекции лица было выполнено Коэном и Холмсом в 2003 году у 8 пациентов, [169] хотя за год до этого уже доктор Llull применил обогащенный СВФ аутожир для лечения пациента с деформацией руки и верхней конечности. Зарегистрирован случай одного пациента, у которого через 6 лет после трансплантации жира с СВФ, удовлетворительное качество кожи по-прежнему было очевидно в области носогубных складок и радиальных морщин губ. Коулман в своих работах отметил улучшение состояния рубцов и текстуры кожи и пигментации у пациентов, перенесших традиционную трансплантацию жира с использованием его методики. В исследованиях Mojallal [170] на мышах отмечается индукция преобразований эпителиальных и дермальных клеток при взаимодействии СВФ с дермальными тканями реципиента. Более недавнее исследование, проведенное группой Риготти, показало в биопсиях у пациентов, имеющих жировые трансплантаты, обогащенные механически диссоциированными клетками СВФ, некоторое уменьшение признаков старения в эластиновых и коллагеновых волокнах с элементами регенерации ткани в период от 1 до 3 месяцев после подкожного введения аутожира. [169]

Эффективность применения СВФ для улучшения качества кожи показали ученые из Ирана [171]. По результатам введения аутологичной СВФ (доза 2×10^7) с помощью иглы 18 gauge пациенткам в возрасте от 36 до 58 лет эластичность и плотность кожи у испытуемых значительно улучшились. Не было никаких изменений в плотности эпидермиса по результатам сканирования, но было замечено значительное увеличение плотности дермы, а также ее толщины с обогащением в сосудистом русле гиподермы. Оценка сканера Visioface показала небольшие изменения в оценке морщин. Было обнаружено, что эндотелиальные клетки и мезенхимальные предшественники из СВФ слегка изменяют архитектуру кожи, но не было явных фенотипических изменений в носогубных складках.

По результатам научных работ, посвященных оценке эффективности СВФ с липофиллингом при операциях на лице, в подавляющем большинстве исследований продемонстрировано положительное влияние клеточной фракции на приживание жирового аутоотрансплантата (в среднем, процент сохранения

объема жирового трансплантата с добавлением СВФ и без него составляли 63% против 39% соответственно) [27-29]. Однако в этих научных работах не упоминается влияние типа клеток и их биологических свойств на клиническую эффективность. К примеру, Gentile P., Cervelli V., Schendel S.A. и Saaki G.H. [29-31] определили положительную корреляцию послеоперационных изменений толщины подкожно-жировой клетчатки (ПЖК) и количества клеток в образце СВФ, но не изучали состав и свойства фракции. G.Rigotti, N.F.Gontijo-de-Amorim [33] выявили типы клеток в вводимом образце СВФ с помощью иммунофенотипирования, но не проводили оценку пролиферативного потенциала клеток - показателя регенеративной способности фракции. Таким образом, приводятся данные об эффективности применения СВФ для улучшения приживления жирового ауотрансплантата, но нет понимания, какие именно элементы фракции и в каком соотношении обеспечивают данный эффект. К сожалению, также не хватает объективных данных оценки приживления аутожира в исследованиях, где авторы утверждают об отсутствии эффекта СВФ на степень сохранность ауотрансплантата. Как правило, проводилась субъективная оценка без использования инструментальных обследований, таких как УЗ-исследование, КТ или МРТ. Актуальность нашего исследования заключается в определении типа клеток, влияющих на приживление жирового ауотрансплантата, оценке влияния биологических свойств клеток СВФ на устойчивость послеоперационного результата, выявлении основных факторов, влияющих на биологические свойства клеток СВФ.

1.4 АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ УЛУЧШЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛИПОФИЛИНГА И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ

Хирургии и ученые всегда пытались улучшить процессы приживления аутожира в послеоперационном периоде. Разработка клеточных продуктов предоставляет широкие возможности для этого, однако стоит упомянуть и сравнить уже известные физиотерапевтические методы с новой технологией.

Стандартные и давно известные физиотерапевтические методы улучшения микроциркуляции для сохранения аутожира также широко применяются в клинике. Например, улучшение микроциркуляции при применении ударно-волновой терапии ESWT. Высокоэнергетическая ESWT значительно увеличивает параметры кожной микроциркуляции сразу после нанесения, что приводит к более высокому насыщению тканей кислородом, венозному наполнению и скорости кровотока, что предполагает более высокую перфузию тканей. Данный метод может ускорить реабилитацию пациентов после операции, однако массаж зон липофилинга нежелателен ввиду риска миграции и некроза аутожира. К тому же данная терапия требует постоянного посещения пациентом медучреждения, а также обязательна регулярность выполнения этой процедуры. Параметры использования пока неясны, более того в определенных случаях он может вызвать снижение перфузии тканей, что может повлечь за собой нежелательные последствия, особенно у пациентов с уже имевшимся скомпрометированным кровоснабжением [7,172]

Еще один перспективный метод реабилитации и улучшение микроциркуляции после операции это применение ангиогенных факторов. Образование новых и поддержание функциональности старых капилляров зависят непосредственно от уровня ангиогенеза, то есть от генетически запрограммированных уровней ангиогенных факторов роста (АФР). При старении наблюдается снижение уровня таких факторов, параллельно уменьшается

плотность капилляров. Была даже сформулирована «теория ангиогенеза старения» как определяющего фактора этого процесса. [173] Было показано, что рекомбинантные ангиогенные факторы вызывают образование новых капилляров в ишемических тканях в течение нескольких дней, как это наблюдалось в многочисленных исследованиях на животных [174]. Но недостаток данного метода на сегодняшний день заключается в необъективной оценке клинической пользы любой про-ангиогенезной терапии, к примеру ощущение увеличенной физической силы или замечание более четкой памяти - отмечают меньше случаев запоздалого вспоминания имен или фактов. В настоящее время единственным объективным измерением увеличения плотности капилляров является гистологическое исследование биопсии мышинового материала или аутопсийного материала. Данных по плотности капилляров, визуализируемая под ногтями, на коже предплечья или в конъюнктиве, пока еще недостаточно, чтобы оценить какое-либо небольшое улучшение во время терапевтического испытания. Более того, если сравнить данный метод терапии с применением СВФ, то для улучшения реабилитационного периода важна не только микроциркуляция, но также улучшение качества кожи, ее упругости, объема - это многофакторный процесс, требующий не одного пути воздействия. Так СВФ, имея в своем составе не только ангиогенные факторы, но и иммунные клетки, фибробласты, СКЖТ, которые имеют способность дифференцироваться в любую клеточную линию, является перспективным субстратом для дальнейших исследований.

Таким образом, нам представляется целесообразным и перспективным изучить и оценить эффективность применения стромальной васкулярной фракции жировой ткани. Данный метод отличается легкостью забора и быстротой подготовки к аппликации, минимальным контактом с реагентами, гетерогенным клеточным составом, который обеспечивает стимуляцию как эпидермальных и дермальных клеток, так и способен инициировать неоангиогенез.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациентов

Общее количество пациентов - 60.

Дизайн исследования - проспективное нерандомизированное контролируемое когортное.

В исследовании участвовали женщины, от 32 до 76 лет, без тяжелых сопутствующих заболеваний, не получающих постоянную/плановую медикаментозную терапию, со стабильным весом во время исследования. Пациенты в исследовании имели мезо- и эндоморфную конституцию, с достаточно развитым подкожным жировым слоем (определенный по щипковому тесту). У всех пациентов проводили измерения массы тела (кг) взвешиванием, определение индекса массы тела (ИМТ) по формуле масса (кг)/ рост² (м²), процент жира по методу вычисления окружностей частей тела (Hodgdon и Beckett) (табл.1).

Таблица 1. Общая характеристика пациентов в основной и контрольной группах.

Показатель, среднее значение и среднее отклонение	Возраст, лет	Вес, кг	ИМТ	Процент жира
Группа СВФ +	46 ± 11	67 ± 7	25 ± 2	26 ± 2
Группа СВФ -	45 ± 9	66 ± 7	24 ± 2	25 ± 2
	p=0,789	p=0.582	p=0.658	p=0.058

Характеристика групп исследования

Пациентам проводился липофиллинг как самостоятельная процедура, так и в сочетании с эстетическими и реконструктивными операциями на лице.

Сформированы 2 группы пациентов: первая группа - основная - включала пациентов, которым выполнялась операция на лице вместе с липофилингом с добавлением СВФ - 30 человек. Вторая группа пациентов - контрольная - включала пациентов, которым выполнялась операция на лице вместе с липофилингом без СВФ - 30 человек.

Критериями включения в исследования являлись (согласно ФС No2011/252 от 22.08.2011): приобретенные деформации лица и тела разной этиологии: посттравматические, послеродовые, связанные с дефицитом объема мягких тканей, старческая атрофия лица (старческий эластоз) (код по МКБ-10, класс XII – болезни кожи и подкожной клетчатки, код L57.4) – западение носогубной, слёзной борозд и т.д., атрофические поражения кожи (код по МКБ-10, класс XII- болезни кожи и подкожной клетчатки, код L 90.5 - рубцовые состояния и фиброз кожи; L90.6, L90.8; L 90.9 – атрофические полосы, атрофические изменения кожи); локальная послеоперационная недостаточность жировой ткани: изменение контуров, деформации.

Критериями исключения из исследования являлись наличие планов на снижение веса в ближайший год и наличие состояний/заболеваний из списка, утвержденного приказом Федеральной Службы (ФС No2011/252 от 22.08.2011).

Пациент подтверждал свое согласие на устранение данного эстетического недостатка с помощью хирургического вмешательства и участие в данном научном исследовании подписью в договоре, информированном согласии.

2.2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предоперационное обследование

Все пациенты с инволютивными изменениями лица и рубцовыми деформациями кожи и мягких тканей челюстно-лицевой области поступали в плановом порядке. На каждого пациента оформлена индивидуальная медицинская карта в соответствии с приказом Минздрава России от 15.12.2014 N 834н. В медицинской карте указывались данные физикального осмотра, инструментальных исследований, консультаций специалистов, анамнеза

заболевания (в том числе проведение ранее хирургических вмешательств и косметологических процедур), общего статуса, локального статуса и плана лечения. Во время физикального осмотра проводились измерения массы тела (кг) простым взвешиванием, определение индекса массы тела (ИМТ) (табл. 2) по формуле $\text{масса (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2)$, процент жира по методу вычисления окружностей частей тела (Hodgdon и Beckett).

Таблица 2. Интерпретация результатов измерения ИМТ

Дефицит массы тела	ИМТ < 18.5
Нормальная масса тела	ИМТ 18.5 - 24.9
Избыточная масса тела	ИМТ 25- 29.9
Ожирение	ИМТ $\geq$ 30

Порядок измерения процента жира для женщин:

1. Рост (без обуви)
2. Вес (утром, натощак, без одежды, после посещения туалета)
3. Талия (на уровне минимальной ширины брюшной стенки)
4. Шея (горизонтально под перстневидным хрящом)
5. Бёдра (наибольшая окружность вокруг бёдер)

Формула для вычисления процента жира у женщин:

$$\% \text{ Ж и р} = 49.5 / (1.29579 - 0.35004 (\log(\text{Талия} + \text{Бёдра} - \text{Шея})) + 0.22100(\log(\text{Рост}))) - 450$$

Таблица 3. Интерпретация результатов расчета процента жира

Процент жира в организме	
Уровень жира в организме	женщины
Существенный жир	10-12%
Спортсмены	14-20%
Средний	21-24%
Приемлемый	25-31%
Тучный	$\geq$ 32%

Предоперационный скрининг

Для подготовки к операции пациенты проходили диагностические обследования, которые включали: общий и биохимический анализ крови, коагулограмму, определение группы крови, резус-фактора, исследование крови на гепатит В, С, ВИЧ, RW, общий анализ мочи, рентгенографию органов грудной клетки (или КТ ОГК), ЭКГ, УЗИ вен нижних конечности (консультация флеболога при наличии патологии), консультация офтальмолога при наличии патологии периорбитальной области (в том числе синдром сухого глаза), консультация терапевта и анестезиолога непосредственно перед операцией.

Планирование операции

Каждому пациенту подбирался оптимальный план лечения с учетом объема атрофии мягких тканей (или рубцовой деформации), состояния кожи и общего состояния пациента. Для планирования вмешательства использовали фотодокументирование, 3D моделирование с определением недостатка объема тканей, поверхностной васкуляризации, пигментации кожи, УЗИ кожи и мягких тканей лица (определение толщины кожи и подкожно-жировой клетчатки). Данные исследования также проводились в послеоперационном периоде на сроках 3 и 6 месяцев. При внешнем осмотре и анализе 3D компьютерных моделей лица фиксировались данные по типу старения лица (мелкоморщинистый, деформационный, комбинированный тип по И.Кольгуненко 1974г.), оценка симметрии лица, состоянию кожи (цвет, структура), наличие рубцовых изменений и их оценке (согласно Федеральным клиническим рекомендациям: объем, глубина поражения, характер рубца - атрофический/гипертрофический/келоидный). С помощью пальпации зоны введения жирового аутоотрансплантата определяли эластичность тканей (щипковый тест) и мобильность между подкожными слоями. Далее оценивали адекватность развития подкожного жирового слоя для липосакции: толщина слоя, наличие рубцовых деформаций (кожи и подлежащих слоев), проведение ранее в данной области хирургических вмешательств, наличие острых/хронических воспалительных процессов кожи и мягких тканей. Наиболее предпочтительными зонами (по количеству стромальных

клеток, а значит прогностически с более высоким процентом приживления аутоотрансплантата) являются область нижней трети передней брюшной стенки и внутренняя поверхность бедер. Выбирали зоны для липосакции согласно данному критерию и пожеланием пациентов.

При коррекции инволютивных изменений лица следующим этапом проводили измерение объема атрофии по разработанной нами формуле вычисления объема треугольной призмы ($V = 1/2 L \times W \times H$) - фигуры, соответствующей по форме области малярного возвышения - основного компонента комплексного омоложения лица. Измерения проводились без дополнительного диагностического инструментария, только с помощью измерительной ленты и маркера по выведенному нами алгоритму.

Оценка эффективности применения СВФ проводилась по сравнению клиническим и лабораторным данным в обеих группах.

Клинические исследования:

1. Анализ кожи с помощью системы визуализации LifeViz Quantificare (создание 3D модели для сравнения объема жирового трансплантата в течение времени, динамической оценки качества кожи, пигментации, поверхностной васкуляризации)
2. УЗИ кожи и подкожной клетчатки (измерение толщины кожи и подкожно-жировой клетчатки до и после процедуры - через 3 и 6 месяцев)

Лабораторные исследования включали в себя определение характеристик СВФ:

1. определение количества ядродержащих клеток во введенном образце (подсчет в камере Горяева)
2. определение жизнеспособности клеток (подсчет в камере Горяева с окраской трипановым синим)
3. определение клеточного состава СВФ (проточная цитофлуориметрия)

4. оценка пролиферативного потенциала стволовых клеток жировой ткани (определение времени удвоения популяции при культивировании на пассажах 3,6,9)

2.2.1 Фотографический метод обследования и компьютерное 3D моделирование с фильтрами

Фотодокументирование является актуальным методом исследования для наглядной оценки состояния пациента и анализа результатов лечения (представлен на рис.1). Фотографирование всех пациентов проводилось в следующих проекциях: анфас, полупрофиль слева и справа, профиль слева и справа, отдельно зоны рубцовых деформаций, отдельно периорбитальная область у пациентов, планирующих верхнюю блефаропластику. Выполняли фотодокументирование на этапах до операции, на сроках 3 и 6 месяцев после операции. Использовалась цифровая фотокамера Canon EOS Mark II с объективом EW-83N 105 mm. В процессе фотографирования пациент располагается на стуле на расстоянии 1,5 м от объектива, со студийным неимпульсивным светом, автоматическим балансом белого, на сером фоне.



Рис. 1 Пример фотодокументирования пациента Н. с диагнозом атрофия кожи и мягких тканей средней и нижней трети лица на этапах до липофилинга средней зоны лица (А) и после операции (Б) через 3 месяца.

Для 3D компьютерного моделирования использовали систему визуализации LifeViz (Quantificare, Франция) с камерой Nikon D3300. Фото выполняли в 4 определенных позициях с фиксацией точки фокусировки:

- 1 точка - фиксация на кончик носа
- 2 точка - 2 см от угла рта латерально справа
- 3 точка - 2 см от угла рта латерально слева
- 4 точка - в проекции подъязычной кости по средней линии шеи

С помощью компьютерной программы LifeViz App оценивали недостаток объема мягких тканей лица (фильтр рельефа), структуру кожи (представлен на рис. 2).



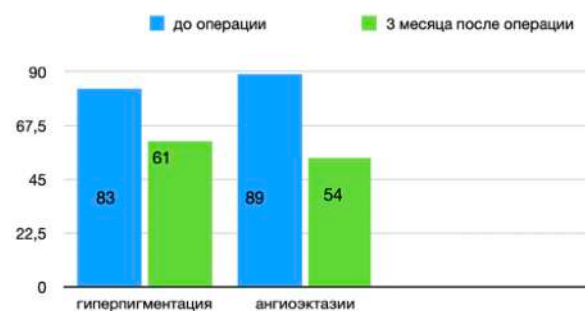
А



Б



В



Г

Рис. 2 Пример оценки динамических изменений кожи и мягких тканей с помощью 3D компьютерного сканирования у пациента до и после проведения операции верхней блефаропластики и липофилинга средней зоны лица на сроке 3 месяца после операции : А - поверхностной васкуляризации (красный фильтр), Б - уровня пигментации кожи (коричневый фильтр), В - объема атрофии мягких

тканей (фильтр рельефа), Г - количественные изменения структурных единиц показателей пигментации и васкуляризации.

2.2.2 Метод оценки рубцов и рубцовых деформаций

У пациентов с рубцами и рубцовыми деформациями дополнительно проводили оценку дефекта согласно Федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению пациентов с рубцовыми поражениями кожи, утвержденными на собрании «Ассоциации челюстно - лицевых хирургов и хирургов - стоматологов» 21 апреля 2014 (табл. 4).

Таблица 4. Оценка дефекта согласно Федеральным клиническим рекомендациям

Характеристика рубца	Критерии оценки
Рубец Рубцовая деформация	✓ массив / конгломерат / тяж ✓ западение / уплощение / углубление / втянутость
По клинико-морфологической разновидности	✓ атрофические ✓ гипертрофические ✓ келоидные ✓ нормотрофические
Возраст рубца	✓ незрелый (до 3-х месяцев) ✓ умеренно зрелый (3-12 месяцев) ✓ зрелый (1 год и более)
Отношение рубца к силовым линиям	✓ совпадают полностью ✓ совпадают частично ✓ не совпадают
Размеры	✓ длина ✓ ширина

Поверхность рубца	✓ гладкая ✓ неровная ✓ блестящая ✓ матовая
<i>Поверхность незрелых рубцов</i>	<i>гладкая и блестящая</i>
<i>Поверхность зрелых рубцов</i>	<i>неровная, бугристая, матовая</i>
Уровень поверхности рубца по отношению у окружающим тканям	✓ ниже ✓ на уровне ✓ выше
Конфигурация - отражает его очертания	✓ линейная ✓ округлая ✓ неправильная ✓ дугообразная ✓ зигзагообразная ✓ неправильной формы ✓ L-образной формы ✓ сетчатая ✓ концентрическая ✓ фигурные ✓ перепончатая ✓ звездчатая ✓ веерообразная ✓ рубцовые тяжи и рубцовые массивы: плоские и бугристые покрывающие значительную поверхность лица
Очерченность (контур) <i>отражает границы по отношению к окружающим тканям.</i>	✓ выражена ✓ не выражена

Цвет зрелого рубца	✓ розовый ✓ багрово-красный ✓ цианотичный ✓ белесоватый ✓ темный, пигментированный
Консистенция	✓ Мягкая/эластичная ✓ Плотная ✓ Упругая
Размер рубцов / диаметр основания (длина, ширина, высота)	✓ <i>малые</i> (до 1 см) ✓ <i>средние</i> (в пределах 1-2 см) ✓ <i>крупные</i> (в пределах 2 - 4,5 см) ✓ <i>обширные</i> (более 4,5 - 5 см)
Способность рубца к самостоятельному росту	✓ отсутствует ✓ присутствует: слабая, умеренная, значительная
Подвижность тканей	зависит от глубины поражения: ✓ в пределах кожи – выраженная ✓ кожа и подкожная клетчатка – умеренная ✓ кожа, подкожная клетчатка и мышцы – слабо выраженная ✓ все слои ткани вовлечены – подвижность отсутствует
Локальная чувствительность	✓ сниженная ✓ нормальная ✓ повышенная ✓ болевая
Субъективные ощущения в зоне рубца	✓ отсутствуют ✓ присутствуют: неприятные, болевые

Состояние окружающих тканей	✓ изменена ✓ не изменена
Влияние рубца на окружающих тканей	✓ не влияют ✓ влияют: незначительно, умеренно, значительно
Изменения кожи в области рубца	✓ гипопигментация ✓ гиперпигментация ✓ телеангиэктазии ✓ нарушение чувствительности ✓ эрозия, язва ✓ кератоз ✓ хроническое воспаление
Нарушение макрорельефа тканей в зоне рубца	✓ отсутствуют ✓ присутствуют: статические, динамические
Н а р у ш е н и е м и к р о р е л ь е ф а поверхности рубца и окружающих его тканей	✓ выражены ✓ невыражены
Локализация	✓ открытые участки тела: лицо, руки, грудь ✓ умеренно открытые зоны: живот, спина, бедра, стопа, ладонная поверхность кисти ✓ скрытые участки тела: естественные складки кожи, за козелком и на задней поверхности ушной раковины, волосистая часть головы, подмышечные впадины, лобок

Эстетическая значимость	✓ эстетически приемлемые ✓ и эстетически неприемлемые
-------------------------	--

2.2.3 Вычисление объема жирового аутоотрансплантата для введения при эстетической коррекции лица

Методика вычисления объема жирового аутоотрансплантата

Описанные Terino 5 анатомических зон малярной области применимы на сегодняшний день как для аугментации имплантатами, так и аутологичным биоматериалом. Мы модифицировали данные зоны для использования при планировании процедуры липофилинга средней зоны (представлен на рис. 3).

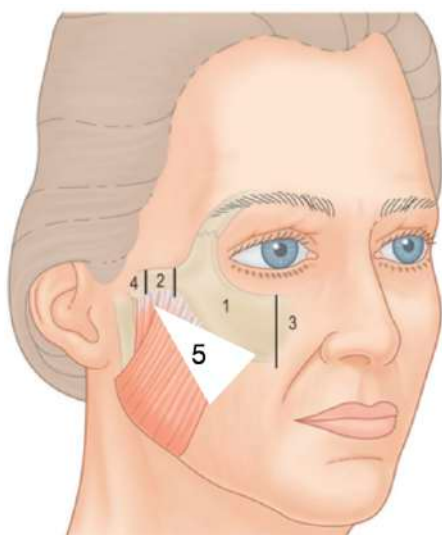


Рис. 3 Зоны малярной области лица по модификации Terino

Зона 1 - самая крупная зона, расположенная в проекции 2/3 скуловой кости. Увеличение данной зоны является первостепенным и представляет собой опору для последующей аугментации соседних областей. Липофилинг данной зоны проводится наднадкостнично.

Зона 2 - занимает медиальную часть скуловой дуги. Увеличение данной зоны показано для создания акцента при недостаточном объеме данной области, но в большинстве случаев рекомендуется оставлять данную зону нетронутой.

Совместное увеличение зон 1 и 2 показано для пациентов с узким и удлинненным типом лица, так как значительно увеличивает межскуловое расстояние и визуально расширяет среднюю треть лица.

Зона 3 - область, лежащая между подглазничным отверстием и носовой костью. Аугментация этой зоны также нежелательна, так как придает лицу неестественную форму.

Зона 4 - занимает латеральную часть скуловой дуги. Увеличение данной зоны также не рекомендуется.

Зона 5 - область субмаллярного треугольника - основная зона для увеличения средней трети лица. Границы этой зоны проходят по нижнему краю скуловой кости, передней поверхности жевательной мышцы и медиально - по носогубной складке, не доходя до нее 1-1,5 см. Нижняя граница должна быть не ниже линии, проведенной от угла рта к срединной точке зоны 2. Как правило, аугментация 5 зоны проводится совместно с зоной 1.

Таким образом, зонами для аугментации с помощью липофилинга остаются только зоны 1 и 5. При ранних признаках старения, когда наблюдается тип «усталого» лица, пролабируют грыжи орбитальной области, показана аугментация только 1 зоны. При более выраженном старении лица, когда присутствует негативный вектор нижнего века, углубление носогубной складки, формирование носослезной борозды, требуется аугментировать зоны 1 и 5 (представлен на рис. 4).



А

Б

Рис. 4 Примеры раннего старения лица (а) и позднего (б)

Как правило, к пластическому хирургу пациенты чаще всего обращаются именно с выраженными признаками старения лица, когда требуется выполнение высокой мобилизации ПМАС совместно с аугментационными техниками. Поэтому мы предлагаем объединить зоны 1 и 5 для простоты вычисления необходимого объема жировой ткани для аугментации.

Стоит отметить, что данный метод применим только при определенной обработке жировой ткани: центрифугировании и декантировании. Следует максимально избавиться от туменесцентного раствора для избежания ошибок в вычислении объема из-за дополнительной жидкости. Рекомендуем изначально вводить объем туменесцентного раствора, исходя из соотношения 1:1 к объему необходимой для процедуры жировой ткани. Центрифугирование позволит разделить слои жировой ткани и жидкостного компонента, а также выделить стромальные клетки, заключенные в соединительнотканых спайках между дольками жировой ткани.

Итак, зоны 1 и 5 образуют область треугольной формы - зона М. Малярная область - трехмерная структура, поэтому в этом треугольнике также обозначена точка наибольшего выступа - это будет высота трехмерной фигуры призмы, в основании которой лежит треугольник. Затем вычисляется объем треугольной призмы с учетом погрешности резорбции 30%. Для вычисления необходимого объема липоасpirата добавляется еще 50% (соотношение объема туменесцентного раствора для инфильтрации к планируемому объему жирового аутоотрансплантата). У каждого пациента зона М будет иметь индивидуальные значения, которые определяются по соответствующим линиям (модификация методов Hinderer и Silver):

1 линия - вершина треугольника проходит через линию, идущую через середину расстояния между основанием носа и верхней губой. Данная линия важна, чтобы определить нижнюю границу аугментации, избежать избыточного наполнения и не создать эффект «полных щек».

2 - линия через медиальный кантус параллельно носогубной складке. Эта линия важна для избежания аугментации 3 зоны по Tegino, которая придаст неестественный вид лицу пациента.

3 - линия Фракнфорта проходит через нижний край орбиты, наружный слуховой проход.

4 - линия через латеральный кантус, проходящая перпендикулярно 1 и 3 линиям и являющаяся биссектрисой угла вершины треугольника

5 - линия зеркальная линии 2

Вычисляется объем треугольной призмы по формуле - $V = 1/2 L \times W \times H$, где L - линия от вершины треугольника к его основанию (высота треугольника), W - длина основания треугольника, H - высота треугольной призмы. Для вычисления длины L нужно провести линию из вершины треугольника к основанию - биссектрису. Середина этой линии и будет точкой максимальной проекции, к которой мы стремимся - точкой выступа малярной области. H - показывает то, насколько ниже находится нынешняя точка максимальной проекции малярного возвышения по отношению к обозначенной нами (представлен на рис. 5).

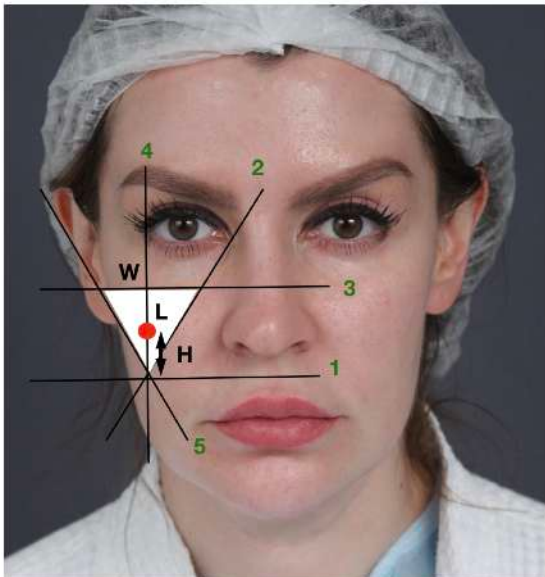


Рис. 5 Схема объемной треугольной призмы по соответствующим линиям.

2.2.4 УЗИ кожи и мягких тканей

УЗИ кожи и мягких тканей проводили для оценки толщины кожи и подкожно-жировой клетчатки на этапах до и после операции на сроках 3 и 6 месяцев. Оценивали стабильность послеоперационного результата липофилинга в динамике посредством измерения толщины подкожно-жирового слоя на сроках 3 и 6 месяцев после операции (представлен на рис. 6). УЗ исследование проводилось на аппарате LOGIQ S8 XDclear 2.0+ Ultrasound System с использованием датчика линейного сканирования L15-7io/10 Гц. Проводился анализ структуры жировой ткани, распределению жировой ткани (гомогенность), наличие в зоне введения фибротических изменений, некроза, наличие жировых кист.



Рис. 6 Пример оценки толщины кожи и подкожно-жировой клетчатки на этапах до операции и через 6 месяцев после операции.

Для УЗИ кожи и ПЖК выбраны определенные антропометрические показатели (точки из научного исследования Грищенко С.В., модифицированные по актуальным требованиям данной работы) - пример оценки толщины кожи и

подкожно-жировой клетчатки на этапах до операции и через 6 месяцев после операции представлен на рисунке 7:

1 точка - 2,5 см от крыла носа на линии, соединяющей основание крыла носа и козелок ушной раковины;

2 точка - 2,5 см от латерального угла глаза на линии, соединяющей нижний край орбиты на уровне латерального угла глаза и верхнюю границу наружного слухового прохода;

3 точка - 2,5 см от угла рта на линии, соединяющей угол рта и козелок ушной раковины.

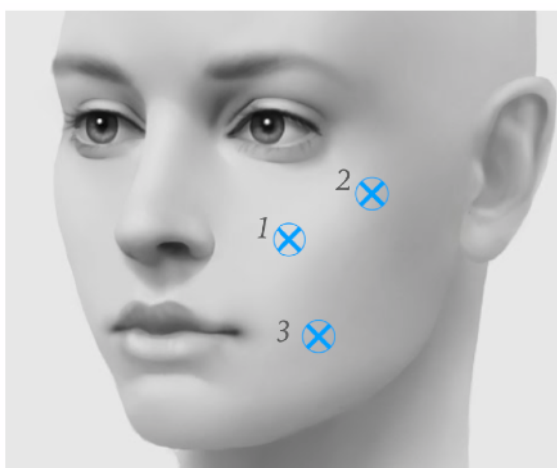


Рис. 7 Контрольные точки для измерения по УЗИ.

2.2.5 Лабораторные исследования

Анализ вводимого образца СВФ

1. определение количества ядродержащих клеток во введенном образце (подсчет в камере Горяева)
2. определение жизнеспособности клеток (подсчет в камере Горяева с окраской трипановым синим)
3. определение клеточного состава СВФ (проточная цитофлоуметрия)

4. оценка пролиферативного потенциала стволовых клеток жировой ткани (определение времени удвоения популяции при культивировании на пассажах 3,6,9)

Определение общего количества клеток СВФ и оценка жизнеспособности этих клеток

1 мл образца вводимого СВФ каждого пациента анализировали по количеству ядродержащих и жизнеспособных клеток - выполняли подсчет клеток в счетной камере Горяева с окраской трипановым синим (маркер мертвых клеток и тканей).

Счётная камера Горяева (представлен на рис. 8) представляет собой толстую стеклянную пластину с углублениями в центре размером 1х10 мм.

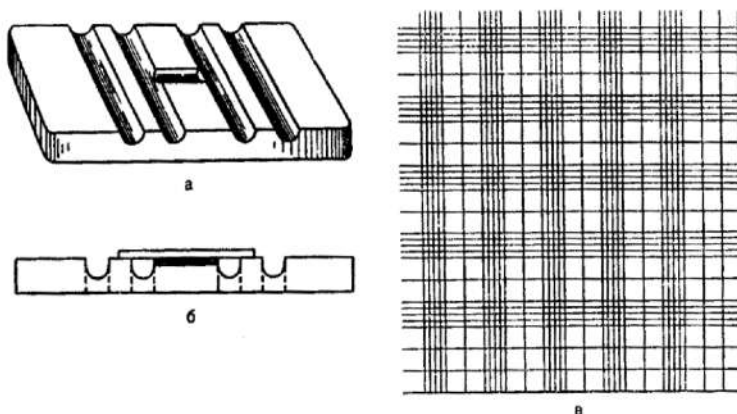


Рис. 8 Схематичное изображение камеры Горяева

Для исключения ошибок подсчёта клеток, связанных с их нахождением на границах квадратов, применяют правило Егорова: клетки считают внутри квадрата и на его верхней и левой границах.

Подсчёт производят по формуле: $N \text{ клеток СВФ} = A \cdot 4000 \cdot 200 \cdot 10^6 / 80$

где N - количество клеток СВФ в 1 мл образца; A - сумма клеток в 5-ти больших квадратах (80-ти малых); 4000 - множитель, приводящий к объёму образца 1 мкл (объём малого квадрата 1/4000 мкл); 200 - разведение образца; 80 - число малых квадратов; 10^3 - количество мкл в одном мл. (представлен на рис. 9)

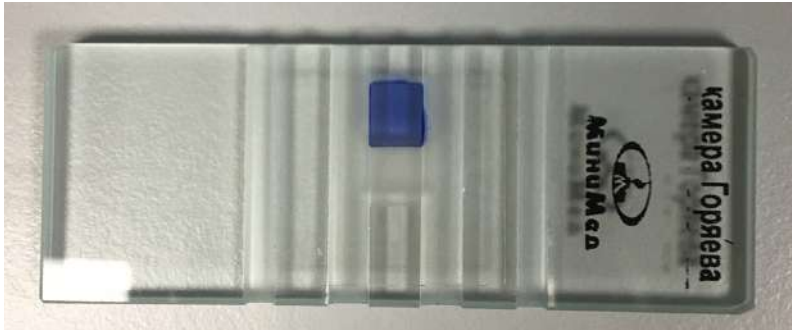


Рис. 9 Камера Горяева с образцом окрашенных трипановым синим клеток.

Оценка пролиферативного потенциала стволовых клеток жировой ткани (определение времени удвоения популяции при культивировании на пассажах 3,6,9)

Оставшийся объем клеток фракции высевали на флаконы с культуральной средой (DMEM (англ. Dulbecco's Modified Eagle Medium - модифицированная по способу Дульбекко среда Игла) с L-глутамином, 10% FBS (англ. fetal bovine serum - эмбриональная бычья сыворотка), 1% раствор антибиотика (гентамицин+стрептомицин).

Клетки культивировали в течение 10 дней, 3 последовательных пассажа анализировались через каждые 3 дня (представлен на рис. 10, 11).



Рис. 10 Культивация клеточной культуры в ламинаре: стерильные культуральные флаконы Т-75 (2 шт.), культуральная среда DMEM, в пробирках: 10% FBS, 1% раствор антибиотика; автоматические механические пипетки Eppendorf Research plus с диапазоном дозирования 10-1000 мкл, наконечники с фильтром стерильные.



Рис. 11 Хранение клеточной культуры в инкубаторе: температура 37°C в условиях абсолютной влажности и 5% CO₂ в воздухе.

В каждом 3 пассаже культуры клеток производился подсчет количества клеток в камере Горяева, проводилась оценка жизнеспособности клеток (окраска трипановым синим - оценка целостности клеточной мембраны), вычисление пролиферативного роста клеточной популяции с помощью микроскопа Zeiss Observer.Z1 (представлен на рис. 12). Рост клеточной популяции рассчитывали по формуле определения времени удвоения популяции PDT (population doubling time):

Время удвоения популяции (PDT): $PDT = (t_2 - t_1) / 3,32 \cdot (\log n_2 - \log n_1)$,

где $(t_2 - t_1)$ — время (h) между пассажами; n_2, n_1 — количество клеток на каждом пассаже.



Рис. 12 Микроскоп Zeiss Observer.Z1 для визуализации клеточной культуры

Определение клеточного состава СВФ (проточная цитофлуориметрия)

Определение поверхностных маркеров клеток (определение типов клеток) в образце СВФ проводили посредством системы проточной цитометрии Accuri C6 (FACscan BD Biosciences) на 2 пассаже клеток. Клетки промывали PBS (англ. phosphate buffered saline - натрий-фосфатный буфер) и затем инкубировали с трипсин-EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) при 37°C в течение 4 минут. После этого в клеточную взвесь добавляли среду с FBS и центрифугировали (5

мин, 300 g). После удаления супернатанта клетки ресуспендировали в PBS с 0,5% (вес / объем) BSA (англ. bovine serum albumin - альбумин бычий сывороточный Sigma-Aldrich). Клетки поровну разделены на аликвоты (250 000 клеток / аликвота). Отдельно добавлены в аликвоты конъюгированные моноклональные антитела против CD105, CD45 (Exbio Praha), CD34 (Invitrogen), CD90 (BD Biosciences), CD31 (BioLegend). Затем аликвоты инкубированы с антителами при 4 ° C в темноте 30 минут. Окрашенные клетки промывали 3 раза PBS с 0,5% (вес / объем) BSA. Использовалась панель моноклональных антител, конъюгированных с флуоресцеинизотиоцианатом, к следующим антигенам: CD13, CD14, CD16, CD31, CD34, CD44, CD45, CD49d, CD56, CD62e, CD71, CD90, CD104, CD105 и CD106.

Среди них стандартные маркеры стромальных клеток жировой ткани: CD105 (эндоглин, мембранный гликопротеин, часть рецепторного комплекса TGF- β , контролирующего клеточную пролиферацию и дифференцировку), CD90 (Thy-1, тимоцитов антиген , надсемейство иммуноглобулинов). Также оценивались CD31 (молекула адгезии-1 тромбоцитов к эндотелиальным клеткам, PECAM-1) и маркеры гемопоэтических клеток CD34 и CD45.

2.3 ПРОЦЕДУРА ЛИПОФИЛИНГА И ПОЛУЧЕНИЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ

Выбор донорских зон пациента обусловлен наибольшим содержанием в них жизнеспособных стромальных клеток - внутренняя поверхность бедер и колен и передняя брюшная стенка ниже пупка. [150,158] Взятие аутологичной жировой ткани производилось шприцевым методом по протоколу Coleman S.R. 1991г (10 мл шприц) с использованием тупой канюли (Byron Medical Inc., США) диаметром 3 мм (представлен на рис. 13) .



Рис. 13 Липосакция внутренней поверхности бедра для дальнейшего проведения липофилинга

Объем требуемого жира для эстетической коррекции средней трети лица вычислялся по разработанному нами методу, описанному выше. Для группы пациентов СВФ+ мы дополнительно забирали аналогичное количество жировой ткани для получения клеточной фракции.

После анестезии кожи (Sol. Naropini 0,75% — 2 мл) в донорских зонах выполнен прокол кожи до 3 мм помощью скальпеля N11 в точках ввода канюли. При помощи тупоконечной универсальной канюли Coleman (диаметр 1 мм, длина 9 см) и шприца 10 мл проводилась инфильтрация донорской зоны физиологическим раствором с 0,25 мл адреналина с одновременным созданием микротуннелей. Расчёт объема введенной жидкости измерялся в соотношении 1 мл на каждый забираемый 1 мл жировой ткани. Экспозиция 7 минут. Забор жировой ткани проводился универсальной тупоконечной канюлей для липоаспирации с двумя отверстиями в дистальной части (диаметр 3 мм, длина 15 см) шприцами 10 мл при отрицательном давлении не выше 2 см³.

Средний объем взятого жира составлял 100-150 мл (представлен на рис. 14). Соотношение собственно жирового трансплантата и липоасpirата для получения СВФ - 1:1.



Рис. 14 Полученный бескровный липоаспират по методу Колемана

Первым этапом обработки всего липоаспирата было декантирование и 2х-кратное промывание. Таким образом, для введения использовался промытый и декантированный жир без дальнейшей обработки, а для получения СВФ жир центрифугировался (3000 об/мин течение 1 минуты), подвергался эмульгации и еще раз центрифугировался (1200 об/мин течение 5 минут) по нашему модифицированному протоколу (представлен на рис. 16).

Шприцы 10 мл с липоаспиратом для получения СВФ закрывали заглушками Luer-Lok (Tulip, США) и удаляли поршень. Каждый шприц помещался в индивидуальный рукав центрального ротора центрифуги, расположение сбалансированно. После первого центрифугирования (3000 об/мин течение 1 минуты) липоаспират расслаивается: верхний слой — “масляный”, слой разрушенных адипоцитов и вакуолей жира, средний слой — собственно жировая ткань (частично разрушенные дольки и соединительнотканые спайки), нижний слой - инфильтрационный раствор с форменными элементами (представлен на рис. 15).



Рис. 15 Разделенный на фракции липоаспират после первого центрифугирования

Затем «масляный» и нижний слой удаляются, оставшаяся жировая ткань помещается в 2 шприца, соединенных переходником Luer-Lok (Tulip, США) 1,4 мм. Происходит эмульгирование жира 30 раз - измельчение для разрушения соединительнотканых спаек, в которых собственно заключены стромальные клетки. После 30 раз измельчения полученная эмульсия переносится в пробирки 12 мл, смешивается с физиологическим раствором (в соотношении 1:1) и центрифугируется второй раз (1200 об/мин течение 5 минут).

В результате обработки получаем 2 слоя: верхний - собственно жировая эмульсия, средний - надосадочная жидкость с оставшимися форменными элементами, нижний - плотный конгломерат на дне пробирки (представлен на рис. 16). Удаляем верхний и средний слой, в нижнем слое остается СВФ. Далее добавляем к конгломерату необходимое для соотношения с объемом живого аутоотрансплантата физиологический раствор, ресуспендируем. 1 мл раствора СВФ отправляется в лабораторию для дальнейшего исследования.

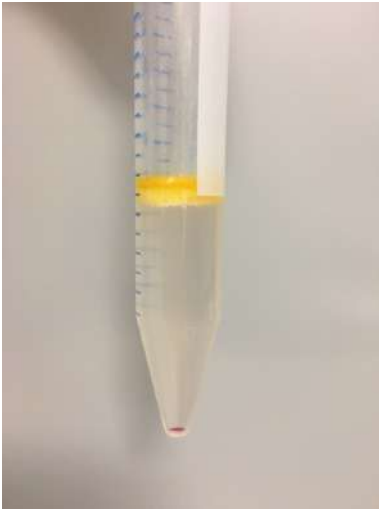


Рис. 16 Полученный СВФ после 2х этапного центрифугирования

Полученный СВФ смешивался с основным объемом жирового аутографта.

Жировой аутоотрансплантат вводился в подкожный слой равномерно в разных плоскостях тоннельной техникой с помощью канюль нескольких видов Coleman (Mentor, США):

1. Канюля для введения Tulip SL 1.6
2. Канюля для введения Tulip 1.5 мм
3. Конусная V-образная канюля для введения в зону рубцовой деформации COL-V 07-2000

Введение осуществлялось исключительно в слои жировой ткани: подкожный слой ввиду оптимальной толщины данного слоя и сохранной ангиоархитектоники и в слой глубоких жировых пакетов (с учетом индивидуальных потребностей пациента). Введение аутоотрансплантата проводилось без гиперкоррекции (представлен на рис. 17).



Рис. 17 Введение аутожира в среднюю зону лица

2.4 ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Гистологическое исследование образцов жировой ткани проводили непосредственно после биопсии зоны введения аутожира у пациентов, в плане лечения которых проводился первым этапом липофилинг средней и нижней зон лица, а вторым этапом - высокая мобилизация ПМАС. Биопсия проводилась во время второго этапа лечения. Материал помещали в 10%-й раствор нейтрального формалина на 72 часа, после чего в течение 4 часов образцы ткани промывали в проточной воде. После стандартной гистологической проводки с использованием абсолютного изопропанола (Изопреп, Биовитрум) образцы тканей заливали в парафин («Гистомикс», Биовитрум). Из полученных блоков изготавливали серийные и полусерийные срезы на микротоме Microm 5 мкм. Для выявления специфических процессов образования, препараты окрашивали по Маллори (Биовитрум, Россия).

Морфометрическое исследование. Для количественной оценки состояния жировой ткани с помощью морфометрической программы MegaMorph12 (Гистолаб, Россия) и мультипиксельного анализа с расчетом площади объектов определяли парциальное содержание соединительной ткани, жировой ткани и плотность сосудов.

2.5 ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках данной научно-исследовательской работы был разработан индивидуальный протокол для ведения пациента во время клинического исследования (представлен на рис. 18).

К протоколам прилагаются фото и фотомоделирование пациентов до и после проведения процедур.

 АО «Институт пластической хирургии и косметологии» 107096, г. Москва, ул. Озимова, д. 27 ИНН 770698635 / КПП 770801001 ОГРН 1097746198578 Тел. +7(495)775-61-02 «__» _____ 20__ г. № _____ Протокол ведения пациента в рамках клинического исследования «Оценка эффективности применения стромально-васкулярной фракции липоасpirата при операциях на лице» Пациент (ФИО): _____ Операция: _____ Протокол операции: _____ _____ _____ Выполнил: _____ Точки осмотра: 1, 3, 6 месяцев УЗИ кожи и мягких тканей лица: _____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____ _____ Выполнил: _____ Лабораторная диагностика Исследования клеточной фракции - СВФ Взятие материала 3 мл липоасpirата во время операции, выделение из данного липоасpirата СВФ и проведение исследований в лаборатории. Подсчет количества ядерсодержащих клеток (в камере Горяева) и оценка жизнеспособности СВФ (окраска трипановым синим): _____ _____ _____ _____ _____ Выполнил: _____ Протокол цитофлуориметрии: панель антител CD31, CD34, CD45, CD90, CD144, CD146, CD73, CD105 _____ _____ _____	_____ Выполнил: _____ Оценка пролиферативного потенциала мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (выделенные из СВФ): Время удвоения популяции (PDT): $PDT = (t2 - t1) / 3,32 \cdot (\log n2 - \log n1)$, где $(t2 - t1)$ — время (h) между пассажами; $n2, n1$ — количество клеток на каждом пассаже. _____ _____ _____ Выполнил: _____
---	--	---

Рис. 18 Протокол клинического исследования

2.6 СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для расчетов использовалось программное обеспечение IBM SPSS Statistics
26. Был проведен анализ пациентов двух групп:

- Основная группа – 30 пациентов;
- Контрольная группа – 30 пациентов.

I этап исследования. Исследование показателей толщины кожи и ПЖК целевой группы. Аналогичные методы применялись при исследовании показателей толщины кожи и ПЖК контрольной группы.

Были проанализированы данные целевой группы (30 пациентов) на 3-х этапах лечения: 1 этап (до операции), 2 этап (3 месяца после операции), 3 этап (6 месяцев после операции).

Произведена проверка гипотез о нормальности распределения. Для анализа данных использовались стандартные методы дисперсионного анализа (ANOVA).

Вычислялось среднее значение каждого показателя M и sd – стандартное отклонение. Вычислялись средние значения и стандартное отклонения для абсолютных значений показателей на каждом этапе. Анализировались изменения показателей на каждом этапе по отношению к предыдущему, а также результат на последнем этапе по сравнению со значениями до операции. Изменения считались в процентах по отношению к значениям до операции. Вычислялись средние значения и стандартное отклонение.

Для проверки достоверности изменений на этапах лечения использовался парный тест Стьюдента с двумя хвостами. Предварительно проверялась гипотеза нормальности распределения простым графическим способом построения гистограмм. Этот подход применим для указанного количества пациентов (30 пациентов в группе).

Принимались следующие уровни достоверности изменений на этапах операции: * - $P < 0.05$ (достоверность $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – недостоверные отличия ($P > 0.05$).

II этап исследования. Исследование клеточной фракции в целевой группе.

На данном этапе так же применялись методы дисперсионного анализа (ANOVA). Вычислялось среднее значение и стандартное отклонение для процента ядер.

Стандартная ошибка среднего значения вычислялась по формуле $S/\sqrt{n}$, где S – стандартное отклонение, n – количество пациентов.

III этап исследования. Корреляция показателей клеточной фракции с изменениями на этапах операции. Аналогичные методы применялись при исследовании связи между показателями потенциала мезенхимальных стволовых клеток и изменениями на этапах операции.

Применялся корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Пирсона. Качественная характеристика силы связи показателей использовалась шкала Чеддока:

Корреляция	Качественная характеристика силы связи
0,1 - 0,3	Слабая
0,3 - 0,5	Умеренная
0,5 - 0,7	Заметная
0,7 - 0,9	Высокая
0,9 - 0,99	Весьма высокая

Коэффициент линейной корреляции, исчисленный по выборочным данным, является случайной величиной. Полученный из выборки коэффициент корреляции r является оценкой коэффициента корреляции ρ в генеральной совокупности. С уменьшением числа наблюдений надежность коэффициента корреляции падает. Оценка существенности (значимости) линейного коэффициента корреляции основана на сопоставлении значения r с его средней квадратической ошибкой.

Для достоверности P-Value наличия линейной связи (корреляции) принимались следующие уровни достоверности: * - $P < 0.05$ (достоверность $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – недостоверные отличия ($P > 0.05$).

IV этап исследования. Исследование различий в целевой и контрольной группе.

Исследовались изменения спустя 3 месяца после операции и проверялась гипотеза о равенстве математических ожиданий (средних значений) показателей целевой и контрольной группы (нулевая гипотеза). Для проверки использовался двухвыборочный критерий Стьюдента для независимых выборок. Такой подход применим для указанного количества пациентов (30 пациентов в группе).

V этап исследования. Исследование связи индекса массы тела (ИМТ), процента жира и регенеративного (пролиферативного) потенциала.

Для анализа данных использовались стандартные методы дисперсионного анализа (ANOVA).

Для показателей возраста, веса, ИМТ, процент жира строилась корреляционная матрица.

Корреляционная матрица – это квадратная таблица, на пересечении соответствующих строк и столбцов которой располагаются корреляционные коэффициенты. Применялся корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Пирсона, описанный выше (III этап исследования).

Визуализация полученных результатов

Для визуализации полученных результатов использовались следующие виды графиков:

- столбчатые диаграммы – для сравнения показателей на этапах операции,
- линейный график и график рассеяния или точечная диаграмма – для визуализации корреляции.

ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациентов обеих групп

При клиническом обследовании пациентов основной (целевой) и контрольной групп с инволютивными изменениями лица в 23% случаев (14 пациентов) поставлен диагноз атрофия мягких тканей средней трети лица. St.localis: раннее появление брылей, опущение углов рта, атрофия кожи и мягких тканей средней трети лица. Эластичность кожи снижена, присутствует мелкая морщинистость («гусиные» лапки, марионеточные морщины), углублены носогубные складки. Данные признаки соответствуют ранним признакам старения лица, и в таком случае показано проведение липофилинга средней зоны лица. В результате выполнения данного вмешательства восполнился объем средней трети лица (согласно методу измерения индивидуального объема аутоотрансплантата), улучшен контур и пропорции лица, разглажены носогубные складки, углы рта приподняты.

В 21,6% случаев (13 пациентов) у пациентов основной и контрольной групп наблюдалось изменение конфигурации верхних век с негативным вектором нижних век. Поставлен диагноз атрофия кожи верхних век, атрофия мягких тканей средней трети лица. Эластичность кожи снижена, присутствует мелкая морщинистость («гусиные» лапки, марионеточные морщины), избытки кожи верхних век, углублены носогубные складки. В данном случае показано проведение верхней блефаропластики, липофилинг средней трети лица. В результате устранены избытки кожи верхних век, сформирована складка верхнего века, восполнен объем средней трети лица, вектор нижнего века изменен в положительное направление.

В 36,7% случаев (22 пациента) у пациентов основной и контрольной групп отмечалось изменение конфигурации средней и нижней трети лица, атрофия мягких тканей средней трети лица, появление брылей, опущение углов рта. Эластичность кожи снижена, присутствует мелкая морщинистость («гусиные»

лапки, марионеточные морщины). Поставлен диагноз атрофия кожи и мягких тканей средней и нижней трети лица. В таких случаях проведена высокая мобилизация ПМАС, липофилинг средней трети лица. В результате получен ровный контур нижней челюсти, устранены избытки кожи нижней трети («брыли»), восполнен объем средней трети лица, разглажены носогубные складки, углы рта приподняты.

В 18,3% случаев (11 пациентов) у пациентов основной и контрольной групп поставлен диагноз рубцовая деформация лица. В этой группе пациентов изменения носили индивидуальный характер, в зависимости от локализации рубца, его давности, размера, степени деформации окружающих тканей. Во всех случаях наблюдалась асимметрия лица и потеря формы ввиду атрофии мягких тканей зоны рубцовой деформации. Затруднена подвижность тканей в этих зонах, снижена эластичность. Пациентам показано выполнение ригототомии и липофилинга рубцовой деформации. В результате восполнена форма рубцовой деформации, восстановлен контур мягких тканей, улучшилось качество рубца (снижение пигментации, размягчение текстуры рубца), повышение эластичности и подвижности кожи.

Данные по общей характеристике пациентов приведены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5. Распределение диагнозов среди основной и контрольной групп.

Диагноз	Группа СВФ+	Группа СВФ-
Атрофия мягких тканей средней трети лица	7	7
Атрофия кожи верхних век, атрофия мягких тканей средней трети лица	6	7
Атрофия кожи и мягких тканей средней и нижней трети лица	12	10
Рубцовая деформация лица	5	6

Таблица 6. Распределение оперативных вмешательств среди основной и контрольной групп.

Тип операции	Группа СВФ+	Группа СВФ-
Верхняя блефаропластика + липофилинг	6	7
Мобилизация ПМАС + липофилинг	12	10
Липофилинг средней зоны лица	7	7
Риготтомия + липофилинг рубцовой деформации	5	6

Средний объем введенного аутожира у пациентов основной группы составил 18-28 мл, у пациентов контрольной группы - 22-32 мл. У 1 пациента (3%) в основной группе с диагнозом рубцовая деформация средней трети лица и подбородочной области (вследствие проведенного ранее ряда реконструктивных операций) отмечено появление осложнения после проведения липофилинга зон рубцовой деформации - образование масляной кисты размером 0,2 см. Данные приведены в таблице 7.

Таблица 7. Распределение показателей общего объема введенного аутожира, процента осложнений среди основной и контрольной групп.

	Группа СВФ+	Группа СВФ-
Объем введенного аутожира, мл (среднее значение)	18-28	22-32
Техника введения	Тоннельная техника	Тоннельная техника
Осложнения, %	3	-

Таким образом, пациентам обеих групп проводился одинаковый объем операций в соответствии с поставленным диагнозом. Операции выполнялись по зарекомендовавшим себя методикам в обеих группах исследования.

3.1 Сравнительный анализ эффективности традиционной техники липофилинга и липофилинга с СВФ

По данным УЗИ кожи и мягких тканей на точках осмотра 3 и 6 месяца в группе у пациентов, которым проводилось введение жирового графта с СВФ чаще наблюдалась стабильность показателей толщины подкожно-жировой клетчатки (ПЖК), соответствующие объему жирового аутоотрансплантата. Толщина кожи в основном не подвергалась изменениям в основной и контрольной группах, были незначительные изменения в ряде случаев, что может быть вызвано рубцеванием субдермального слоя после прохождения канюли. По данным таблицы 8 видно, что изменения тканей после операции в основной группе существенные и остаются стабильными спустя 3 и 6 месяцев после операции.

Изменения ПЖК более существенные, чем изменения толщины кожи. Для кожи изменения толщины слоя составляют в среднем от 11% до 22%, для ПЖК - изменения толщины слоя от 43% до 93%. В подавляющем большинстве пациентов и показателей наблюдаются изменения в сторону увеличения толщины тканей (это демонстрируют высокие показатели уровня достоверности). В контрольной группе (таблица 9) для показателей толщины кожи изменения составляют в среднем от 10% до 19%, показатели толщины подкожно-жировой клетчатки - от 31% до 52%.

Таблица 8. Изменения толщины кожи и ПЖК до и после операции на сроках 3 и 6 месяцев в основной группе. * - $P < 0.05$ (статистическая значимость $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область			I этап (до операции), мм	2 этап (3 месяца после операции), мм	3 этап (6 месяцев после операции), мм	Изменения 3 месяца после операции, % (P-value)	Изменения спустя 6 месяцев, % (P-value)	Результат спустя 6 месяцев после операции, % **
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	$1,74 \pm 0,35$	$1,99 \pm 0,37$	$1,94 \pm 0,37$	17 ± 24 (***)	-3 ± 5 (*)	13 ± 23 (**)
		ПЖК	$5,32 \pm 1,36$	$9,84 \pm 2,73$	$9,64 \pm 2,74$	93 ± 67 (***)	-2 ± 4 (*)	89 ± 65 (***)
	Скуловая	Кожа	$1,50 \pm 0,35$	$1,80 \pm 0,40$	$1,76 \pm 0,41$	22 ± 29 (***)	-2 ± 8 (NS)	19 ± 28 (***)
		ПЖК	$4,29 \pm 1,23$	$7,32 \pm 2,30$	$7,23 \pm 2,36$	74 ± 47 (***)	-1 ± 11 (NS)	72 ± 52 (***)
	Область комиссуры рта	Кожа	$1,86 \pm 0,45$	$2,04 \pm 0,56$	$2,02 \pm 0,53$	11 ± 19 (*)	-1 ± 6 (NS)	9 ± 17 (*)
		ПЖК	$5,17 \pm 2,03$	$7,21 \pm 2,41$	$7,21 \pm 2,43$	43 ± 28 (***)	0 ± 12 (NS)	44 ± 31 (***)
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	$1,79 \pm 0,41$	$2,00 \pm 0,44$	$1,99 \pm 0,45$	14 ± 22 (**)	0 ± 13 (NS)	14 ± 32 (*)
		ПЖК	$5,41 \pm 1,30$	$9,91 \pm 2,63$	$9,92 \pm 2,56$	93 ± 68 (***)	0 ± 8 (NS)	95 ± 74 (***)
	Скуловая	Кожа	$1,47 \pm 0,34$	$1,75 \pm 0,34$	$1,73 \pm 0,36$	22 ± 27 (***)	-1 ± 7 (NS)	20 ± 27 (***)
		ПЖК	$4,37 \pm 1,22$	$7,12 \pm 2,14$	$7,38 \pm 2,37$	69 ± 52 (***)	5 ± 28 (NS)	74 ± 55 (***)
	Область комиссуры рта	Кожа	$1,86 \pm 0,44$	$2,06 \pm 0,52$	$1,98 \pm 0,51$	11 ± 16 (**)	-4 ± 8 (*)	8 ± 20 (*)
		ПЖК	$5,11 \pm 1,84$	$7,03 \pm 1,96$	$7,14 \pm 2,28$	43 ± 30 (***)	1 ± 11 (NS)	44 ± 31 (***)

Таблица 9. Изменения толщины кожи и ПЖК до и после операции на сроках 3 и 6 месяцев в контрольной группе. * - $P < 0.05$ (статистическая значимость $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область			I этап (до операц ии), мм	2 этап (3 месяца после операци и), мм	3 этап (6 месяцев после операции , мм	Изменения 3 месяца после операции, %	Изменения спустя 6 месяцев, %	Результат спустя 6 месяцев после операции % **
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	1,30 ± 0,21	1,64 ± 0,52	1,54 ± 0,47	26 ± 26 (***)	-6 ± 4 (***)	18 ± 22 (**)
		ПЖК	6,75 ± 1,44	10,67 ± 2,54	10,34 ± 2,60	58 ± 19 (***)	-4 ± 3 (***)	52 ± 20 (***)
	Скуловая	Кожа	1,22 ± 0,27	1,51 ± 0,50	1,37 ± 0,39	23 ± 27 (***)	-8 ± 10 (**)	13 ± 22 (**)
		ПЖК	5,66 ± 1,04	8,47 ± 1,57	8,04 ± 1,72	50 ± 20 (***)	-6 ± 6 (***)	42 ± 22 (***)
	Область комиссуры рта	Кожа	1,36 ± 0,33	1,62 ± 0,61	1,53 ± 0,58	18 ± 20 (***)	-6 ± 6 (***)	11 ± 19 (*)
		ПЖК	5,77 ± 0,96	7,88 ± 1,07	7,49 ± 1,10	38 ± 20 (***)	-5 ± 3 (***)	32 ± 20 (***)
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	1,31 ± 0,21	1,64 ± 0,58	1,55 ± 0,46	24 ± 30 (**)	-4 ± 5 (**)	18 ± 22 (***)
		ПЖК	6,88 ± 1,34	10,82 ± 2,35	10,49 ± 2,39	57 ± 21 (***)	-3 ± 2 (***)	52 ± 22 (***)
	Скуловая	Кожа	1,19 ± 0,14	1,52 ± 0,46	1,41 ± 0,37	29 ± 35 (***)	-6 ± 6 (***)	19 ± 29 (**)
		ПЖК	5,78 ± 0,94	8,60 ± 1,29	8,20 ± 1,34	50 ± 21 (***)	-5 ± 5 (***)	43 ± 21 (***)
	Область комиссуры рта	Кожа	1,37 ± 0,32	1,64 ± 0,64	1,53 ± 0,59	17 ± 19 (***)	-6 ± 6 (***)	10 ± 16 (*)
		ПЖК	5,83 ± 0,97	7,88 ± 1,07	7,53 ± 1,11	37 ± 20 (***)	-5 ± 3 (***)	31 ± 20 (***)

Данные демонстрируют значительный разброс, но в подавляющем большинстве наблюдаются изменения в сторону увеличения толщины тканей (это демонстрируют высокие показатели уровня достоверности). Изменения в течении 6 месяцев после операции в среднем небольшие - от 3 до 8% в сторону уменьшения толщины.

Как видно из таблицы 10 - резюмирующей показатели толщины кожи и ПЖК двух групп в процентном соотношении на точках осмотра до операции, через 3 месяца и 6 месяцев после операции, в основной группе в среднем сохранность жирового аутотрансплантата и толщины подкожно-жирового слоя составила 70%, в то время как в контрольной группе - 42 %. Изменения в толщине кожи практически не наблюдались в обеих группах.

Таблица 10. Изменения толщины ПЖК после операции суммарно на сроках 3 и 6 месяцев в двух группах, средние значения. *Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 90\%$); NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область		Изменения в основной группе, %	Изменения в контрольной группе, %	Тест Стьюдента (достоверность)
Слева	Подглазнично-щечная	89 ± 65	52 ± 20	0,01 (*)
	Скуловая	72 ± 52	42 ± 22	0,01 (*)
	Область комиссуры рта	44 ± 31	32 ± 20	0,09 (NS)
Справа	Подглазнично-щечная	95 ± 74	52 ± 22	0,01 (*)
	Скуловая	74 ± 55	43 ± 21	0,01 (*)
	Область комиссуры рта	44 ± 31	31 ± 20	0,07 (NS)

Сравнивая результаты приживления аутотрансплантата в период между точками осмотра 3 и 6 месяцев после операции можно судить об эффекте СВФ на стабильность клинического результата (таблица 11). Таким образом в основной группе в 0% случаев происходили изменения толщины кожи и подкожно-жировой клетчатки, в то время как в контрольной группе на тех же сроках исследования в 5% случаев наблюдалась отрицательная динамика. Изменения толщины кожи практически не наблюдались.

Таблица 11. Динамические изменения толщины кожи и ПЖК в период между точками осмотра 3 и 6 месяцев после операции. *Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 90\%$); NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область			Изменения в основной группе, %	Изменения в контрольной группе, %	Тест Стьюдента (достоверность)
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	-3 ± 5	-6 ± 4	0,00 (*)
		ПЖК	-2 ± 4	-4 ± 3	0,16 (NS)
	Скуловая	Кожа	-2 ± 8	-8 ± 10	0,03 (*)
		ПЖК	-1 ± 11	-6 ± 6	0,07 (*)
	Область комиссуры рта	Кожа	-1 ± 6	-6 ± 6	0,00 (*)
		ПЖК	0 ± 12	-5 ± 3	0,03 (*)
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	0 ± 13	-4 ± 5	0,12 (NS)
		ПЖК	0 ± 8	-3 ± 2	0,02 (*)
	Скуловая	Кожа	-1 ± 7	-6 ± 6	0,01 (*)
		ПЖК	5 ± 28	-5 ± 5	0,06 (*)
	Область комиссуры рта	Кожа	-4 ± 8	-6 ± 6	0,18 (NS)
		ПЖК	1 ± 11	-5 ± 3	0,01 (*)

Исследование разницы относительных изменений толщины кожи и ПЖК в исследуемой и контрольной группе показало, что толщина ПЖК меняется в сторону уменьшения толщины значительно меньше в исследуемой группе. То есть в исследуемой группе наблюдается более стабильный результат.

Лабораторные данные

Для лабораторного анализа был взят 1 мл образца СВФ, подготовленного для введения вместе с жировым аутоотрансплантатом, каждого пациента основной группы. При проведении сравнения по количеству ядродержащих клеток у пациентов основной группы не было отмечено прямой зависимости сохранения большего объема жирового графта от большего количества ядродержащих и жизнеспособных клеток (таблица 12).

Таблица 12. Корреляция изменений толщины кожи и ПЖК и общего количества жизнеспособных клеток. Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 95\%$); NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область			Корреляция изменений на этапах после операции (спустя 3 месяца) и процента жизнеспособных клеток	P-value (достоверность)
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	0,021905	0,91 (NS)
		ПЖК	0,138845	0,46 (NS)
	Скуловая	Кожа	-0,00671	0,97 (NS)
		ПЖК	-0,07475	0,69 (NS)
	Область комиссуры рта	Кожа	-0,13451	0,48 (NS)
		ПЖК	-0,06457	0,73 (NS)
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	-0,01233	0,95 (NS)
		ПЖК	-0,11086	0,56 (NS)
	Скуловая	Кожа	-0,09435	0,62 (NS)
		ПЖК	-0,12989	0,49 (NS)
	Область комиссуры рта	Кожа	0,076371	0,69 (NS)
		ПЖК	-0,10961	0,56 (NS)

То есть мы не можем утверждать, что большее количество жизнеспособных клеток обеспечивает лучшую приживаемость жирового трансплантата. По результатам наших дальнейших исследований, и анализа выяснилось, что ключевое влияние оказывает не количество клеток, а их тип (таблица 13) и пролиферативный потенциал (время удвоения популяции) (таблица 14).

По результатам проточной цитометрии клетки образца СВФ экспрессировали маркеры, характерные для мезенхимальных стромальных клеток: CD105 / SH2 и SH3 CD13. Также наблюдалась экспрессия CD44, CD71, CD90. Не отмечалась экспрессия маркеров гематопоеза CD31, CD34, CD45 и CD14, CD 16, CD 56, CD 104. Так же отмечалась экспрессия CD49d и отсутствие CD106. Отсутствие экспрессии CD106 на клетках жировой ткани объясняется их происхождением из негематопоетической ткани. Таким образом, основной тип клеток СВФ - мезенхимальные стромальные клетки.

Таблица 13. Результаты проточной цитометрии клеток образца СВФ.

Показатель	Антитело	Процент клеток, несущих данный маркер, медиана, клетки 2 пассажа
Маркер миелоидных клеток	CD13	48,88
Маркер моноцитов	CD14	2,43
FcyRIII	CD16	2,38
PECAM	CD31	2,22
Маркер стволовых клеток	CD34	3,55
NCAM-1	CD44	16,92
Общий лейкоцитарный АГ	CD45	2,52
Интегрин альфа-4	CD49d	14,99
NCAM	CD56	2,66
Е-селектин	CD62e	2,30
Рецептор трансферрина	CD71	3,76
Thy-1	CD90	26,96
Интегрин бета-4	CD104	2,31
Эндоглин, SH2	CD105	8,39
VCAM-1	CD106	2,45
	SH3	8,95

При расчете пролиферативного потенциала мезенхимальных клеток выяснилось, что время удвоения популяции клеток отрицательно коррелирует с сохранностью объема жирового аутотрансплантата. То есть чем быстрее происходит деление клеток популяции, тем выше пролиферативный потенциал данной популяции и лучше приживление аутотрансплантата (табл. 14).

Таблица 14. Корреляция изменений толщины ПЖК и пролиферативного потенциала мезенхимальных клеток. Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 95\%$); NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Показатель, область		Корреляция изменений после операции (спустя 3 месяца) и пролиферативного потенциала	P-value (достоверность)
Слева	Подглазнично-щечная	0,59047	0,001 (**)
	Скуловая	0,573271	0,003 (**)
	Область комиссуры рта	0,429533	0,02 (*)
Справа	Подглазнично-щечная	0,394354	0,03 (*)
	Скуловая	0,556331	0,00 (*)
	Область комиссуры рта	0,456803	0,01 (*)

При этом индивидуальные особенности пациентов, такие как вес, индекс массы тела и процент жира оказывают влияние на потенциал клеток (таблица 15).

Таблица 15. Корреляция ИМТ, процента жира и пролиферативного потенциала клеток.

Корреляция	Прролиферативный потенциал МСК		Процент жизнеспособных клеток	
		P-value		P-value
ИМТ	0,58585	0,08	-0,30514	0,39
Процент жира	0,471728	0,17	-0,35041	0,32

Исследование связи пролиферативного потенциала мезенхимальных стромальных клеток и ИМТ показывает положительную заметную корреляцию по шкале Чеддока. Для процента жира - умеренную заметную корреляцию, что означает, чем меньше ИМТ или процент жира, тем выше регенеративный потенциал (меньше время удвоения клеток) мезенхимальных стромальных клеток. Исследование связи процента жизнеспособных клеток и ИМТ показывает отрицательную умеренную корреляцию, то есть чем меньше ИМТ или процент жира, тем больше процент жизнеспособных клеток.

3.2 Гистологическое исследование образцов собственной жировой ткани и жирового аутооттрансплантата с СВФ

По данным сравнения гистологических образцов (Биовитрум, Россия, аппарат микротом Microm 5 мкм представлены на рисунке 19) жировой ткани лица, пересаженной вместе с СВФ, и контрольной собственной жировой ткани лица показано, что образцы значительно отличаются друг от друга по соотношению жировой и соединительной ткани.

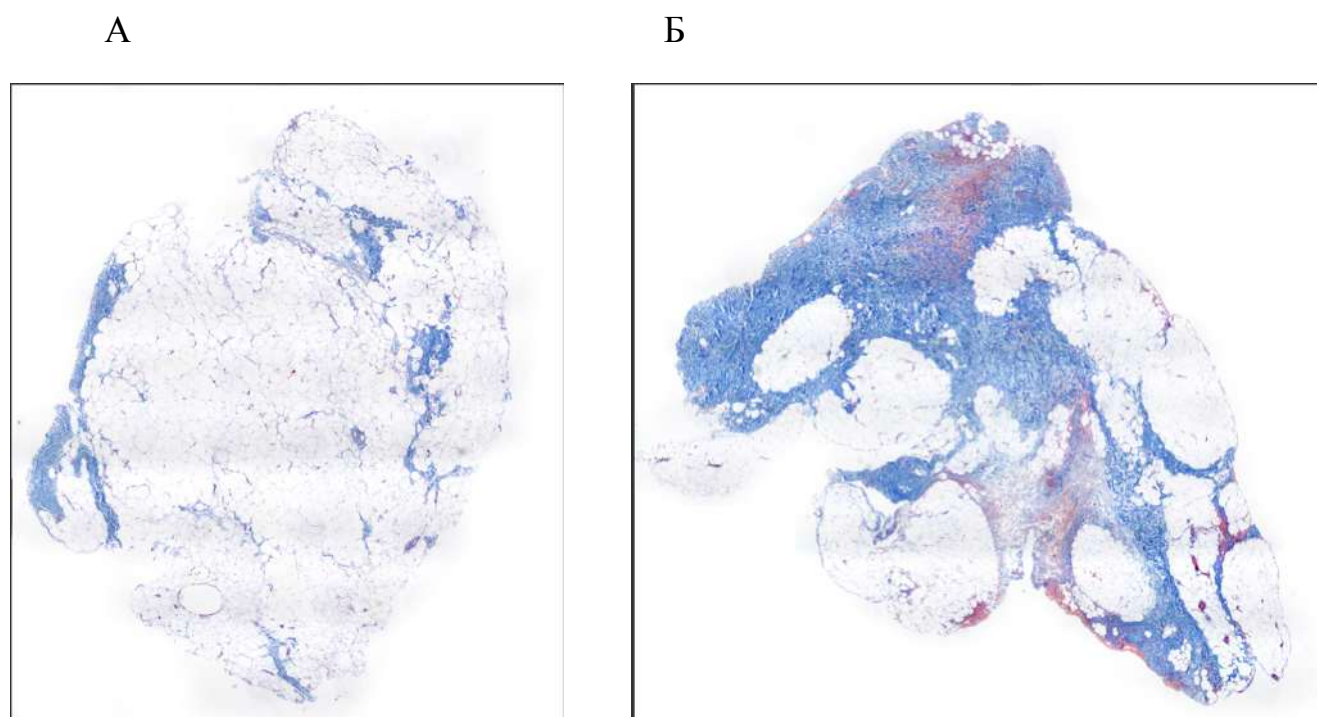


Рис. 19 Гистологические образцы пересаженной жировой ткани с СВФ (а) и собственной жировой ткани пациента (б)

При гистологическом исследовании образцов жировой ткани с маркировкой «интактная жировая ткань» было выявлено, что кусочек ткани представлен зрелой жировой тканью с выраженным разрастанием соединительной ткани в перегородках между дольками. Соединительная ткань представлена плотноволокнистой неоформленной соединительной тканью с умеренной клеточностью. В некоторых зонах обнаруживали очаговые кровоизлияния. Клеточный пул представлен преимущественно фибробластоподобными клетками.

В междольковых перегородках и вне их обнаруживали разнокалиберные зрелые сосуды капиллярного, артериального и венозного типа, иногда можно было обнаружить нервные стволы. Сосуды умеренного иногда избыточного кровенаполнения.

При морфометрическом исследовании относительная объемная доля жировой ткани составила 48,7%, относительная объемная доля соединительной ткани составила 50,3%, относительная объемная плотность сосудов составила 1%

При гистологическом исследовании образцов жировой ткани с маркировкой «жир+свф» было выявлено что, кусочек ткани представлен зрелой жировой тканью. Междольковые перегородки умеренной неравномерной толщины. Соединительная ткань представлена плотноволокнистой неоформленной соединительной тканью с умеренной клеточностью. В некоторых кусочках обнаруживали очаговые кровоизлияния. Клеточный пул представлен преимущественно фибробластоподобными клетками, также обнаруживали мелкие клетки с жировыми включениями - липобласты. В междольковых перегородках и вне их обнаруживали разнокалиберные зрелые сосуды капиллярного, артериального и венозного типа. Сосуды умеренного, иногда избыточного кровенаполнения.

При морфометрическом исследовании относительная объемная доля жировой ткани составила 90%, относительная объемная доля соединительной ткани составила 9%, относительная объемная плотность сосудов составила 1%.

3.3 Изменение показателей качества кожи после липофилинга в обеих группах

Нами также наблюдалось изменение параметров качества кожи, а именно поверхностной васкуляризации и пигментации, при этом закономерность была отмечена в обеих группах (основной и контрольной), определена корреляция изменения показателей поверхностной васкуляризации и пигментации с увеличением возраста.

Всего проанализировано 60 пациентов в возрасте от 28 до 77 лет. Средний возраст 48 лет.

По данным мировой литературы наблюдается прямая зависимость увеличения количества и интенсивности пигментных пятен кожи лица и увеличения возраста пациента. Согласно литературным данным в среднем показатели корреляции пигментации кожи лица и возраста составляли 0,45 - 0,610 (области измерения - области щек, лба) [188-191]. Результаты собственного исследования соответствуют приведенным данным коллег - увеличение пигментных пятен и ангиоэктазий прямо пропорционально увеличению возраста пациента (табл.16).

Таблица 16. Корреляция возраста и пигментации и поверхностной васкуляризации до и после операции. * - $P < 0.05$ (статистическая значимость $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Корреляция	Показатели пигментации (структурные единицы)	Поверхностная васкуляризация (структурные единицы)
Возраст	0,73 (***)	0,68 (***)

Далее мы оценивали средние значения показателей пигментации и поверхностной васкуляризации на этапах до операции и через 6 месяцев после нее (табл.17,18).

Таблица 17. Изменение пигментации. Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Пигментация до операции (структурные единицы)	Пигментация 6 месяцев после операции (структурные единицы)	Изменение (структурные единицы)
62,5 ± 16,1	57,6 ± 10,8	-4,9 ± 8,6 (***)

Данные демонстрируют значительный разброс, но в подавляющем большинстве пациентов и показателей наблюдаются изменения в сторону уменьшения показателей пигментации кожи (это демонстрируют высокие показатели уровня статистической значимости).

Аналогично с пигментацией данные демонстрируют значительный разброс, но в подавляющем большинстве пациентов и показателей наблюдаются изменения в сторону уменьшения плотности ангиоэктазий кожи (табл. 18) (это демонстрируют высокие показатели уровня статистической значимости).

Таблица 18. Изменение поверхностной васкуляризации. Принимались следующие уровни статистической значимости: * - $P < 0.05$ (значимость $> 95\%$); ** - $P < 0,001$; *** - $P < 0,0001$; NS – незначимые отличия ($P > 0.05$).

Поверхностная васкуляризация до операции (структурные единицы)	Поверхностная васкуляризация 6 месяцев после операции (структурные единицы)	Изменение (структурные единицы)
63,3 ± 14,9	55,0 ± 11,6	-8,4 ± 7,0 (***)

Затем было выявлено, что для пациентов до 55 лет показатель пигментации почти не менялись в среднем при сравнении показателей до и спустя 6 месяцев после операции. Средние изменения составили -0,45 (средние значения пигментации до операции: 55,9). Для пациентов от 55 лет и старше изменение пигментации составило в среднем -13,8 (средние значения пигментации до операции 75,55) (представлен на рис.20).

Аналогично показатели поверхностной васкуляризации отличались в двух возрастных группах: для пациентов до 55 лет плотность ангиоэктазий менялась в среднем меньше, чем для пациентов 55 лет и старше.

Для пациентов до 55 лет средние изменения поверхностной васкуляризации составили -5,7. Средние значения до операции: 57,6. Для пациентов от 55 лет и старше изменения поверхностной васкуляризации менялись значительно: в среднем -13,6. Средние значения сосудов до операции 74,8 (представлен на рис. 21).

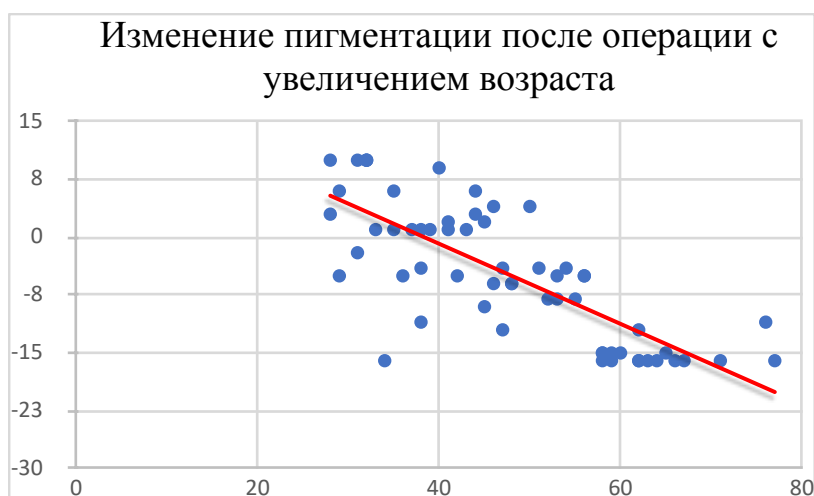


Рис.20 Корреляция изменений пигментации с возрастом. Красным изображена линия тренда.

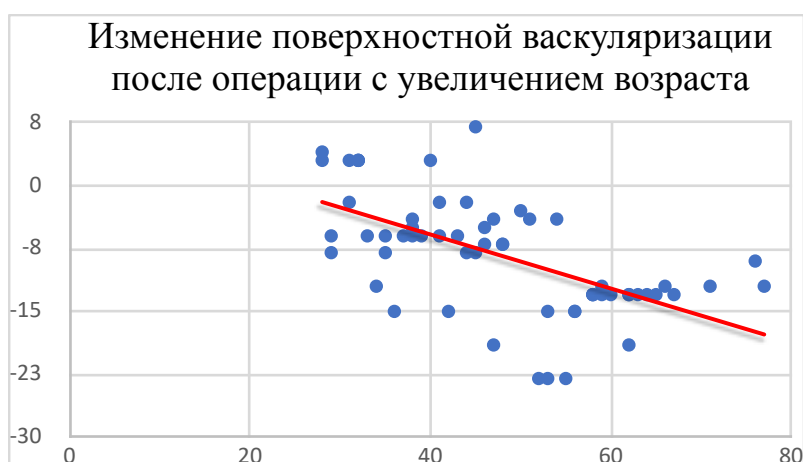


Рис.21 Корреляция изменений васкуляризации с возрастом. Красным изображена линия тренда.

3.4 Анализ приживления жирового аутотрансплантата в зависимости от анатомических зон

По полученным нами данным можно сделать вывод об эффективности применения клеточного жирового продукта с СВФ: наблюдаются статистически значимые отличия по толщине ПЖК в динамике после липофилинга основной и контрольной групп. Однако в двух группах также отмечена разница приживления аутотрансплантата в зависимости от зон лица (представлен на рис. 22,23): самые низкие показатели приживления наблюдаются в области комиссуры рта, затем в скуловой области, и самое лучшее приживление отмечалось в подглазнично-щечной области (на рисунке показатели толщины подкожно-жировой клетчатки до операции берутся за 100%).

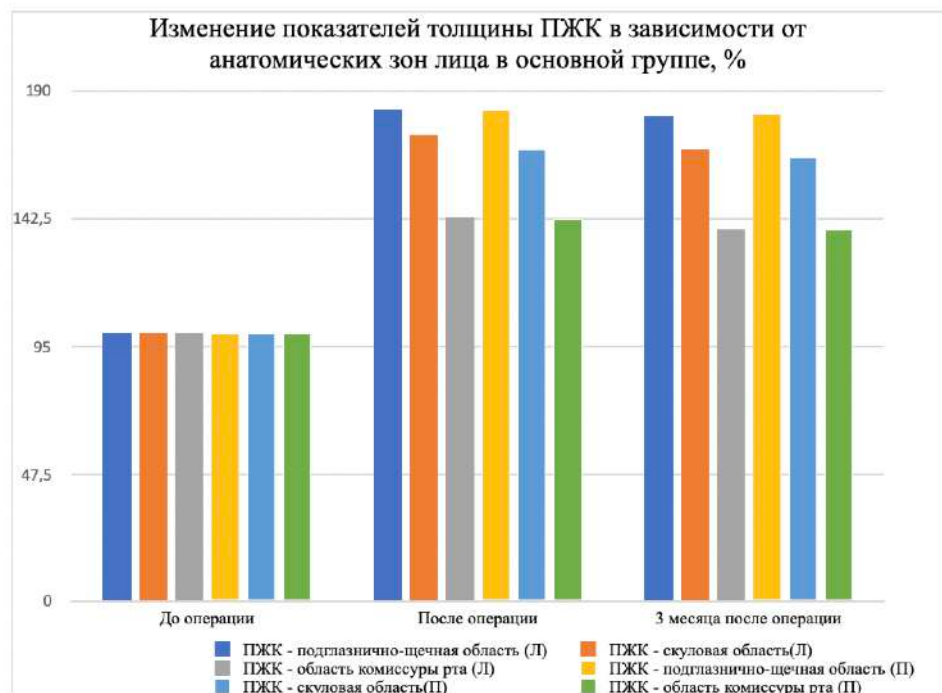


Рис. 22 Изменение показателей ПЖК в основной группе на сроке 3 месяца после операции относительно данных до операции в различных анатомических зонах лица.

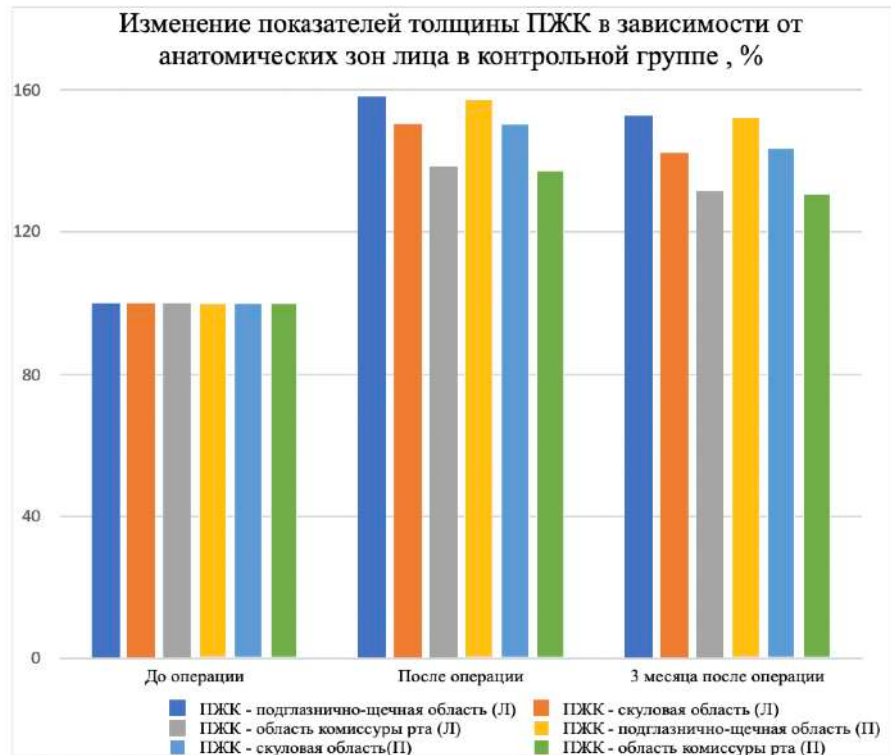


Рис. 23 Изменение показателей ПЖК в контрольной группе на сроке 3 месяца после операции относительно данных до операции в различных анатомических зонах лица.

На данный момент в литературе нет объективных данных, свидетельствующих о более высоком приживлении жирового аутоотрансплантата в определенной зоне лица. Как правило, в научных статьях приводятся субъективные данные о стабильности объема пересаженного аутографта, а именно степень удовлетворенности хирурга и пациента [27,30,152]. При инструментальных исследованиях объема жирового аутографта (КТ, МРТ) не приводится дифференциации по зонам лица, учитывается лишь средний процент резорбции жира. [4,14] Сравнительно недавнее появление и использование трехмерной визуализации в пластической хирургии помогает объективно оценивать сохранение объема жирового аутоотрансплантата, хотя в большинстве случаев трехмерная фотография используется для оценки объема только средней части лица [192,193]. Анализ сохранности жирового автографта при сравнении фотографий «до» и «после» может ввести в заблуждение из-за различий в

освещении, положении пациента, интенсивности вспышки и выражении лица. Согласно исследованию Mojallal A, основанное на результатах сравнительного фотодокументирования, наихудшее приживление жирового аутографта наблюдается в височной и периоральной областях. [170]

Мы предполагаем, что данный факт можно объяснить анатомическими особенностями и функциональными характеристиками зон лица. Чтобы доказать нашу теорию, мы изучили УЗИ-снимки зон лица с анатомической точки зрения: оценивали толщину подкожно-жирового слоя, развитость капиллярной сети, наличие в радиусе 1 см перфорантного сосуда, плотность мышечных волокон, наличие связок, расстояние от подкожного-жирового слоя до кости.

Точки измерения по УЗИ соответствуют точками измерения объема жирового аутооттрансплантата согласно протоколу исследования.

Скуловая область

Данная область ограничена сверху верхним краем скуловой дуги, нижнего края глазницы и до наружного слухового прохода, снизу – верхним краем жевательной мышцы, спереди – линией, проведенной перпендикулярно через латеральный кантус глаза. Введение липофилинга осуществлялось согласно принципам, описанным ранее в данной главе, то есть в 2/3 зоны проекции скуловой кости (зона 1 по Terino), поэтому с помощью УЗИ оцениваем именно данную область.

По данным УЗИ от поверхности к глубине наблюдаются следующие структуры (поперечное положение датчика Гц): гиперэхогенный слой кожи: достаточно объемный гиперэхогенный подкожно-жировой слой 1-2 см, гипозохогенная нижнелатеральная часть круговой мышцы глаза, размытое гиперэхогенное изображение SOOF, гипозохогенная часть отхождения от кости большой скуловой мышцы, гиперэхогенная часть надкостницы скуловой кости (представлен на рис. 24). При продольном положении датчика видны гиперэхогенные связки, идущие от круговой мышцы глаза - это соединительнотканые волокна в составе скуловой связки (истинной). Отмечается

большое количество хаотично расположенных перфорантных сосудов, проходящих под слоем кожи (представлен на рис. 25).

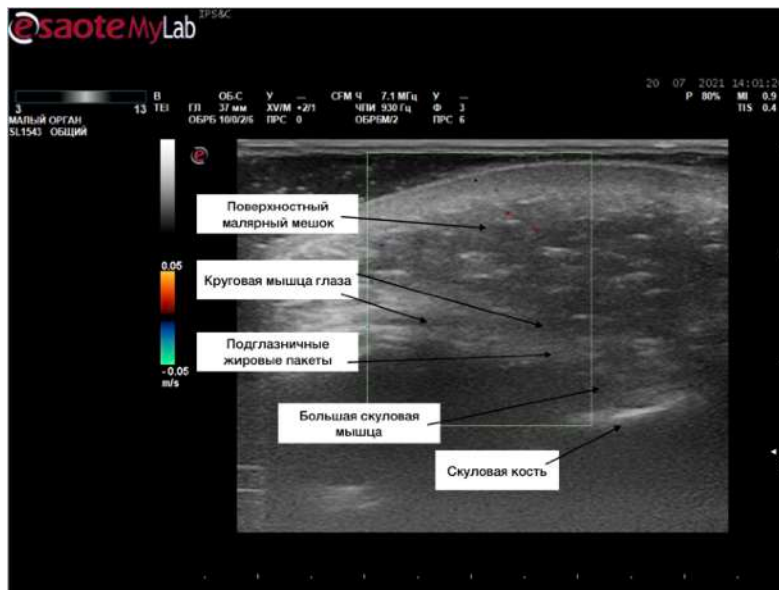


Рис. 24 Поперечный УЗИ снимок скуловой области

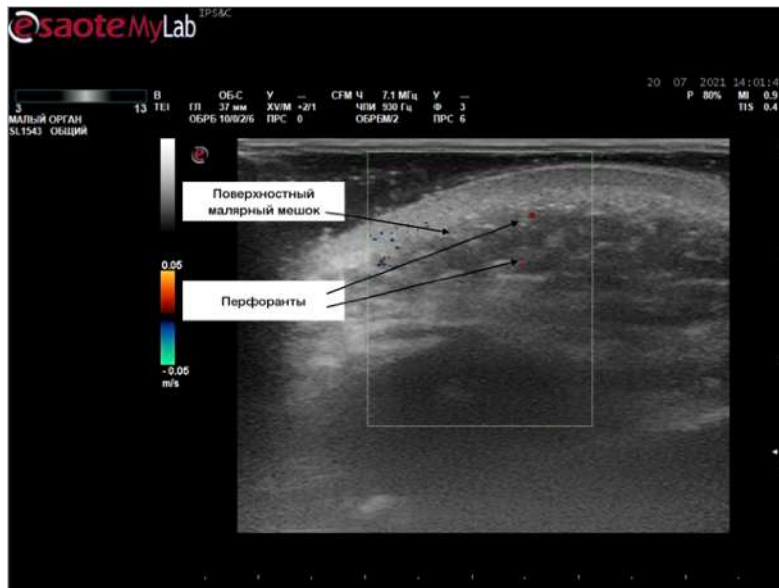


Рис. 25 Поперечный УЗИ снимок скуловой области - перфорантные сосуды скуловой области

Подглазнично-щечная область

Данная область граничит со скуловой, латеральная сторона соответствует передней границе скуловой (линии, проведенной перпендикулярно через латеральный кантус глаза), верхняя - нижний край глазницы и до боковой стенки носа, спереди - носогубная складка и снизу - линия, проведенная через передних край жевательной мышцы. Липофилинг данной зоны соответствовал введению в зону 1 и 5 по Terino.

По данным УЗИ от поверхности к глубине наблюдаются следующие структуры (поперечное положение датчика Гц): гиперэхогенный слой кожи, объемный гиперэхогенный подкожно-жировой слой 1-2 см, гипоэхогенные части малой и большой скуловых мышц. ПЖК сильно развита в данной области, поэтому другие структуры плохо различимы (представлен на рис. 26). Отмечается также прохождение перфорантных сосудов непосредственно под кожей (представлен на рис. 27).



Рис. 26 Поперечный УЗИ снимок подглазнично-щечной области

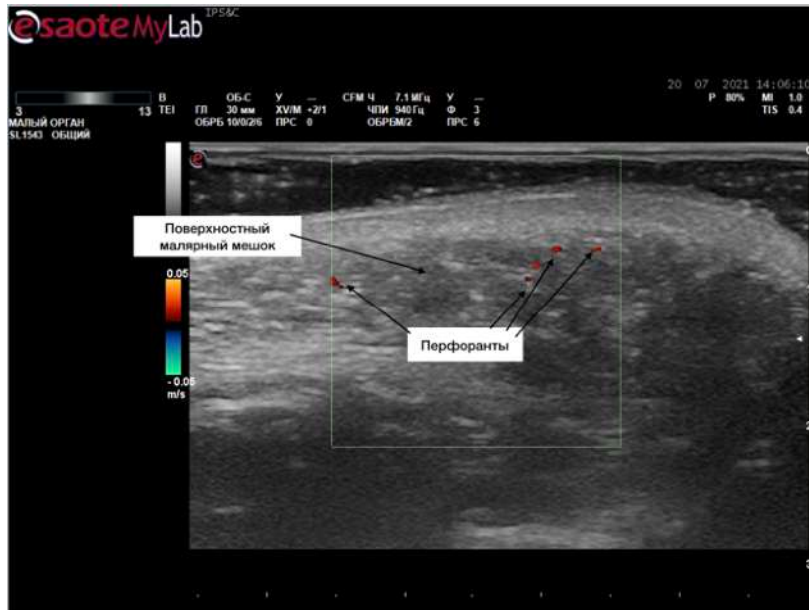


Рис. 27 Поперечный УЗИ снимок подглазнично-щечной области - перфорантные сосуды щечной области

Область комиссуры рта

Границы данной области: сверху носогубная складка, спереди - комиссура рта, нижняя - передний край мышцы, опускающей угол рта. При поперечном положении датчика наблюдаются: тонкий гиперэхогенный слой кожи, слой подкожно-жировой клетчатки толщиной 0,5-1 см, круговая мышца рта с вплетением волокон большой скуловой и щечной мышц, под щечной мышцей видно анэхогенное пространство ротовой щели с гиперэхогенной слизистой ротовой полости. Видны гиперэхогенные включения зубов верхней челюсти. Также отчетливо виден щечный жировой пакет, а также гиперэхогенная ткань под большой скуловой мышцей и над щечной мышцей (представлен на рис. 28). В подкожном слое можно идентифицировать сегмент лицевой артерии в среднем на глубине 7,5 мм от поверхности кожи на 2-2,5 см латеральнее угла рта. Перфоранты в данной области не отмечаются (представлен на рис. 29).



Рис. 28 Поперечный УЗИ снимок области комиссуры рта.



Рис. 29 Поперечный УЗИ снимок области комиссуры рта - фрагмент лицевой артерии

Таким образом, при сравнении сохранности объема аутожира в разных зонах становятся понятными преимущества подглазнично-щечной области по следующим параметрам: наибольшая толщина подкожно-жирового слоя, наличие плотной сети перфорантов, дальнейшее расположение кости и мышц к жировому

слою. Для улучшения приживления аутожира в других областях целесообразно использовать клеточный продукт СВФ в соответствии с требуемым объемом для коррекции.

3.5 Клинические примеры применения алгоритма ведения пациентов для липофилинга лица

3.5.1 Эстетическая коррекция инволютивных изменений лица - липофилинг с использованием СВФ

Пациентка Н. 52 лет обратилась с жалобами на значительное снижение эластичности кожи, опущение бровей, глубокие носогубные складки, опущение углов рта. В данном случае присутствуют признаки комбинированного старения лица: смещение жировых пакетов и связочного аппарата, деформация контура лица и мелкоморщинистое старение кожи лица, поставлен диагноз атрофия кожи и мягких тканей лица. Пациентке была предложена одномоментная коррекция дегенеративных изменений лица: височный лифтинг для лифтинга верхней трети лица и липофилинг средней зоны лица для устранения признаков старения средней и нижней трети.

Пациентка включена в данное исследование, подписав информированное согласие. Пациентке проведен физикальный осмотр, собран анамнез, сделаны необходимые измерения.

Вес = 64 кг

Рост = 168 см

ИМТ = 22,68 (норма)

Процент жира = 20% (норма)

Для планирования оперативного вмешательства (височный лифтинг, липофилинг средней зоны лица) пациентке было выполнено фотодокументирование (представлен на рис. 30), 3D моделирование, анализ

пропорций лица и расчет объема зоны атрофии малярной области - для вычисления объема жирового аутографта (представлен на рис. 31). В предоперационном периоде также проводилось УЗИ кожи и мягких тканей в 3 точках описанных ранее.



Рис. 30 Фотодокументирование до операции в 5 позициях.

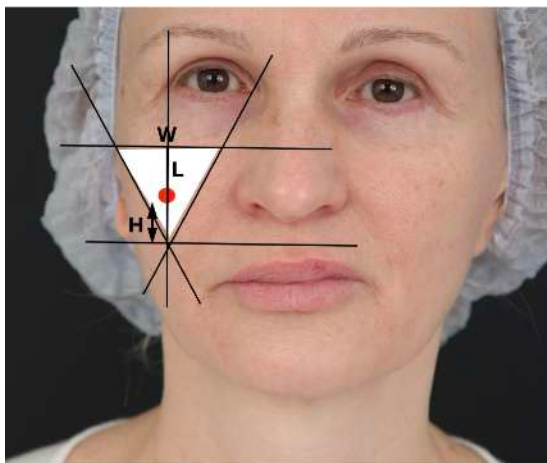


Рис. 31 Вид пациентки до операции липофилинга, разметка для вычисления объема треугольной призмы

Слева: $L = 4,5$ см, $H = 0,5$ см, $W = 5$ см Справа: $L = 4,5$ см, $H = 0,5$ см, $W = 5$ см

Вычисляем объем треугольной призмы по формуле $V = 1/2 L \times W \times H$, получаем слева: $V = 5,63$ см³, справа : $V = 5,63$ см³. Добавляем к полученному результату 30% погрешности резорбции жира, получаем: слева 7,31 см³, справа 7,31 см³. Далее добавляем 50% для вычисления объема липоасpirата: 10,695 мл с

каждой стороны. Всего потребовалось 21,93 мл жирового липоасpirата для получения жирового аутоотрансплантата для аугментации средней зоны.

Далее определяем количество стромальных клеток в данном объеме и количество необходимого СВФ для обогащения.

1. Определяем сколько стромальных клеток потребуется для данного объема жирового аутографта: $5\,000 \times V_{\text{ж}} = N\,1$

2. Вычисляем общее количество клеток в образце СВФ

3. Определяем сколько мл СВФ нужно добавить:

В данном случае получаются следующие значения:

$V = 21,93$ мл

$N\,1 = 109\,650$ тыс клеток

Общее количество клеток в образце СВФ 75 тыс клеток.

Таким образом, добавляем к жировому аутоотрансплантату 1 мл р-ра СВФ.

Далее оценивалась эффективность применения СВФ при липофилинге. 3D моделирование проводилось на стадиях до операции и через 3 и 6 месяцев после. На рисунке представлены модели сравнения результата спустя 3 месяца после липофилинга с состоянием до операции.

На рисунке динамики изменений объема мягких тканей (представлен на рис. 32) наблюдается прирост мягких тканей в средней зоне лица (желтый индикатор) на 25%.



Рис. 32 Динамика изменений объема мягких тканей

На рисунке динамики изменений поверхностной васкуляризации (представлен на рис.33) отмечается улучшение состояния кожи - уменьшение скоплений «красных точек», символизирующих расширенные поверхностные капилляры.



Рис. 33 Динамика изменений поверхностной васкуляризации

На рисунке динамики изменений пигментации кожи (представлен на рис.34) также видна значительная разница, количественные значения изменений пигментации и васкуляризации представлены на рисунке 35.



Рис. 34 Динамика изменений пигментации кожи

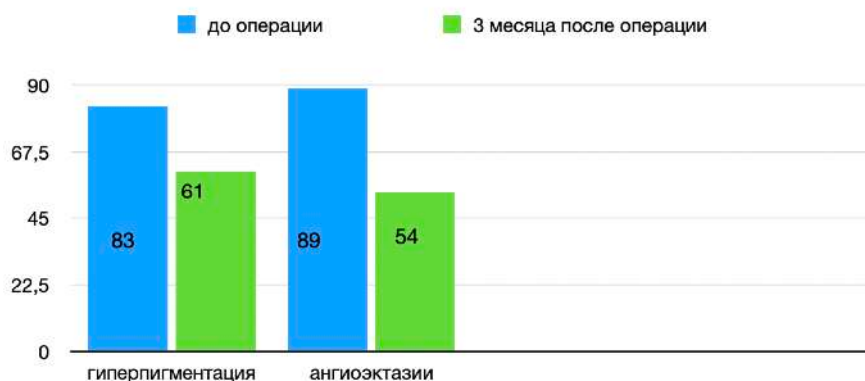


Рис. 35 Количественные значения изменений пигментации и васкуляризации

По данным УЗИ на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции выявлены следующие изменения:

Таблица 19. Количественные изменения толщины кожи и ПЖК на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции

Показатель, область			1 этап (до операции), мм	2 этап (3 месяца после операции), мм	3 этап (6 месяцев после операции), мм
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	1,72	1,8	1,78
		ПЖК	5,30	8,6	8,5
	Скуловая	Кожа	1,4	1,8	1,76
		ПЖК	4,2	6,7	6,5
	Область комиссуры рта	Кожа	1,64	1,7	1,67
		ПЖК	4,8	5,2	5,0
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	1,73	1,82	1,77
		ПЖК	5,4	8,7	8,55
	Скуловая	Кожа	1,4	1,7	1,73
		ПЖК	4,3	6,7	6,65
	Область комиссуры рта	Кожа	1,62	1,68	1,65
		ПЖК	4,9	5,3	5,0

Среднее изменение толщины ПЖК в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,2$ мм

Среднее изменение толщины кожи в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,03$ мм

Лабораторные исследования оценки эффективности СВФ:

Количество клеток общее = 75 тыс клеток

Количество жизнеспособных клеток = 68 тыс клеток

Время удвоения популяции клеток = 97ч

В результате проведения данной процедуры выполнен объем средней трети лица, заполнена малярная область, разглажены носогубные складки, углы рта приобрели приподнятое положение, пропорции средней и нижней трети гармонизированы (представлен на рис. 36). Послеоперационный период протекал без особенностей. В раннем послеоперационном периоде проводилась профилактическая антибиотикотерапия (цефтриаксон 1гр 1 раз в день внутривенно) в течение 3 дней, физиотерапия не проводилась. Компрессия зоны взятия жировой ткани. На точке осмотра 3 и 6 месяцев жировой аутоотрансплантат мягкий и эластичный при пальпации, безболезненный, пальпаторно не различим с собственной жировой тканью. Пациентка довольна результатом лечения.



Рис. 36 Вид пациентки до и после липофилинга средней зоны лица (3 месяца после операции)

3.5.2 Эстетическая коррекция инволютивных изменений лица - липофилинг без использования СВФ

Пациентка Е. 42 лет обратилась с жалобами на значительное снижение эластичности кожи век и лица, глубокие носогубные складки, опущение углов рта. В данном случае присутствуют признаки комбинированного старения лица: атрофия кожи век, смещение жировых пакетов и связочного аппарата, деформация контура лица и деформационное старение кожи лица, поставлен диагноз атрофия кожи и мягких тканей периорбитальной области и средней трети лица. Пациентке была предложена одномоментная коррекция дегенеративных изменений лица: верхняя блефаропластика и липофилинг средней зоны лица для устранения признаков старения средней и нижней трети.

Пациентка включена в данное исследование, подписав информированное согласие. Пациентке проведен физикальный осмотр, собран анамнез, сделаны необходимые измерения.

Вес = 59 кг

Рост = 164 см

ИМТ = 21,9 (норма)

Процент жира = 18% (норма)

Для планирования оперативного вмешательства (верхняя блефаропластика, липофилинг средней зоны лица) пациентке было выполнено фотодокументирование (представлен на рис. 37), 3D моделирование, анализ пропорций лица и расчет объема зоны атрофии малярной области - для вычисления объема жирового аутографта (представлен на рис. 38). В предоперационном периоде также проводилось УЗИ кожи и мягких тканей в 3 точках описанных ранее.



Рис. 37 Фотодокументирование до операции в 5 позициях.

Далее вычисляем объем необходимого для данной пациентки жирового аутоотрансплантата.

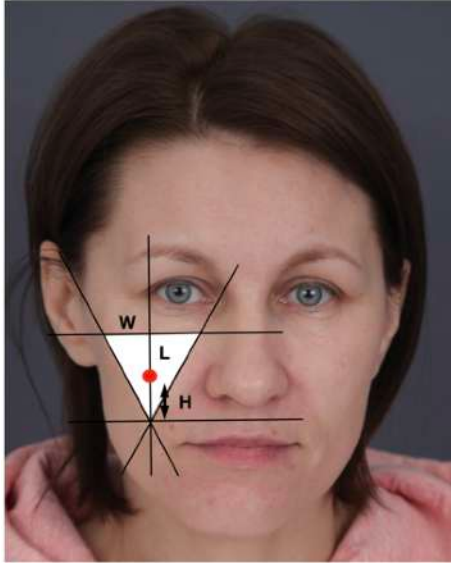


Рис. 38 Вид пациентки до операции липофилинга, разметка для вычисления объема треугольной призмы

Слева:

$L = 5,5 \text{ см}$, $H = 0,5 \text{ см}$, $W = 5 \text{ см}$

Справа:

$L = 5,5 \text{ см}$, $H = 0,5 \text{ см}$, $W = 5 \text{ см}$

Вычисляем объем треугольной призмы по формуле $V = 1/2 L \times W \times H$, получаем слева: $V = 6,875 \text{ см}^3$, справа : $V = 6,875 \text{ см}^3$. Добавляем к полученному результату 30% погрешности резорбции жира, получаем: слева $8,9375 \text{ см}^2$, справа $8,9375 \text{ см}^2$. Далее добавляем 50% для вычисления объема липоасpirата: $13,4 \text{ мл}$ с каждой стороны. Всего потребовалось $26,81 \text{ мл}$ жирового липоасpirата для получения жирового аутоотрансплантата для аугментации средней зоны.

Далее оценивалась эффективность применения СВФ при липофилинге. 3D моделирование проводилось на стадиях до операции и через 3 и 6 месяцев после. На рисунке представлены модели сравнения результата спустя 3 месяца после липофилинга с состоянием до операции.

На рисунке динамики изменений объема мягких тканей (представлен на рис. 39) наблюдается прирост мягких тканей в средней зоне лица (желтый индикатор)

на 16%. Однако прирост неодинаков справа и слева, наблюдается разница в распределении жировой ткани после трансплантации.

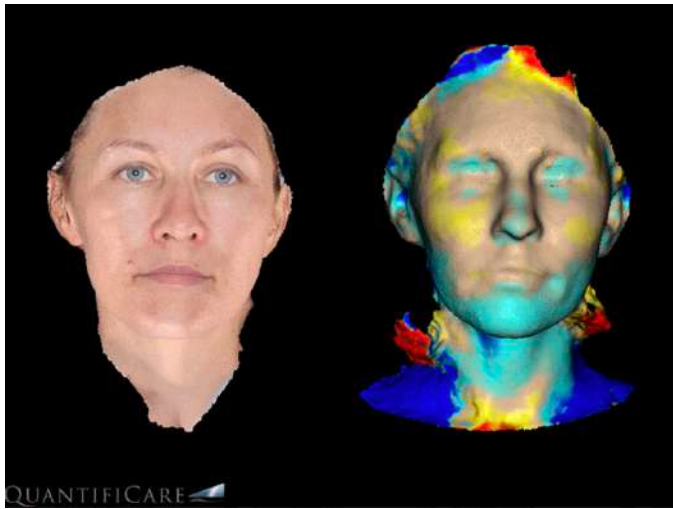


Рис. 39 Динамика изменений объема мягких тканей

На рисунке динамики изменений поверхностной васкуляризации (представлен на рис. 40) отмечается увеличение скоплений «красных точек», символизирующих расширенные поверхностные капилляры частично в средней трети лица и области над верхней губой. Такой эффект увеличения сети капилляров после проведения липофилинга отмечен у пациентов до 40 лет, что подтверждено нами статистически (результаты приведены ранее).



Рис. 40 Динамика изменений поверхностной васкуляризации

На рисунке динамики изменений пигментации кожи (представлен на рис. 41) также видна значительная разница - увеличение пигментных элементов в области проведения зоны липофилинга, количественные значения изменений пигментации и васкуляризации представлены на рисунке 42.



Рис. 41 Динамика изменений пигментации кожи

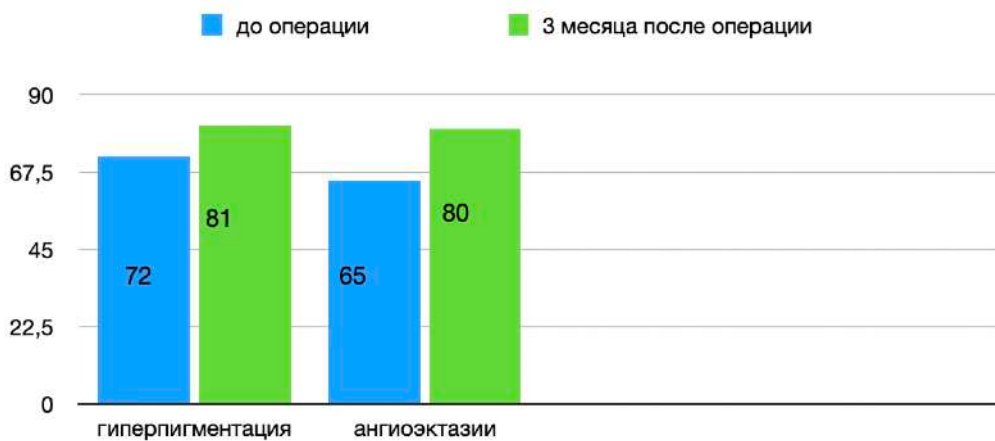


Рис.42 Количественные значения изменений пигментации и васкуляризации

По данным УЗИ на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции выявлены следующие изменения (табл. 20).

Таблица 20. Количественные изменения толщины кожи и ПЖК на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции

Показатель, область			1 этап (до операции), мм	2 этап (3 месяца после операции), мм	3 этап (6 месяцев после операции), мм
Слева	Подглазнично-щечная	Кожа	1,4	1,45	1,4
		ПЖК	5,4	8,2	7,8
	Скуловая	Кожа	1,2	1,2	1,2
		ПЖК	4,1	5,2	5,0
	Область комиссуры рта	Кожа	1,52	1,55	1,5
		ПЖК	4,4	5,3	4,5
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	1,4	1,4	1,4
		ПЖК	5,7	7,8	7,2
	Скуловая	Кожа	1,2	1,2	1,2
		ПЖК	4,0	5,0	4,7
	Область комиссуры рта	Кожа	1,5	1,5	1,5
		ПЖК	4,4	5,2	5,0

Среднее изменение толщины ПЖК в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,44$ мм

Среднее изменение толщины кожи в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,04$ мм

В результате проведения данной процедуры выполнен объем средней трети лица, заполнена малярная область, разглажены носогубные складки, углы рта приобрели приподнятое положение, пропорции средней и нижней трети гармонизированы (представлен на рис. 43). Асимметрия распределения жирового аутоотрансплантата отмечалась на точке осмотра 3 месяца, однако при физикальном осмотре не заметна. Послеоперационный период протекал без особенностей. В раннем послеоперационном периоде проводилась профилактическая антибиотикотерапия (цефтриаксон 1гр 1 раз в день внутривенно) в течение 3 дней, физиотерапия не проводилась. Компрессия зоны взятия жировой ткани. На точке осмотра 3 и 6 месяцев жировой аутоотрансплантат

мягкий и эластичный при пальпации, безболезненный, пальпаторно не различим с собственной жировой тканью. Пациентка довольна результатом лечения.



Рис. 43 Вид пациентки до и после липофилинга средней зоны лица (3 месяца после операции)

При сравнении удовлетворенности результатом лечения пациентов из основной и контрольной групп разницы не отмечено, все пациенты довольны выполненным планом лечения. Однако данные УЗИ и 3D-моделирования определяют четкие закономерности и разницу приживления и сохранности объема жирового аутооттрансплантата.

3.5.3 Коррекция рубцовой деформации лица с помощью липофилинга с применением СВФ

Пациентка К. 32 лет поступила с жалобами на наличие рубцовой деформации щечной области справа после проведения ряда реконструктивных операций по поводу миксомы нижней челюсти справа (удаление новообразования с резекцией тела и ветви нижней челюсти справа, последующая реконструкция

тела и ветви нижней челюсти с помощью малоберцового аутотрансплантата).
Поставлен диагноз: рубцовая деформация щечной области справа.

Описание местного статуса выполнено согласно клиническим рекомендациям (представлен на рис. 44): рубцовая деформация щечной области справа в виде углубления на протяжении 4 см в длину и 2 см в ширину. Кожный покров над рубцовой деформацией не изменен, изменения пигментации при внешнем осмотре отсутствуют, нет признаков острого и хронического воспалений, присутствуют незначительные неровности и нарушения микрорельефа, рубец не возвышается над поверхностью кожи. Рубцовая деформация плотной консистенции, спаяна с подлежащими тканями и скуловой костью, при пальпации в проекции скуловой кости неподвижна и не поддается измерению при щипковом тесте. Чувствительность при пальпации отсутствует. Частичная атрофия жевательных мышц.



Рис. 44 Фотодокументирование пациентки до операции в 5 позициях и прицельное фото дефекта

Определение параметров пациента для исследования

Вес = 55 кг

Рост = 162 см

ИМТ = 20,96 (норма)

Процент жира = 19% (приемлемый)

Для планирования оперативного вмешательства (липофилинг зоны дефекта - щечной области справа) пациентке было выполнено фотодокументирование, 3D моделирование, анализ пропорций лица и расчет объема зоны атрофии малярной области - для вычисления объема жирового аутографта. В предоперационном периоде также проводилось УЗИ кожи и мягких тканей в 3 точках описанных ранее.

Вычисление объема дефекта (представлен на рис. 45): с помощью компьютерного 3D моделирования выделялась зона дефекта и моделировалась до создания нужной формы, симметричной со здоровой стороной; затем программа анализировала модели исходного дефекта и созданного желаемого, и вычислялась разница. Полученный объем и является объемом зоны дефекта. В данном случае он составил 3,694 см³.

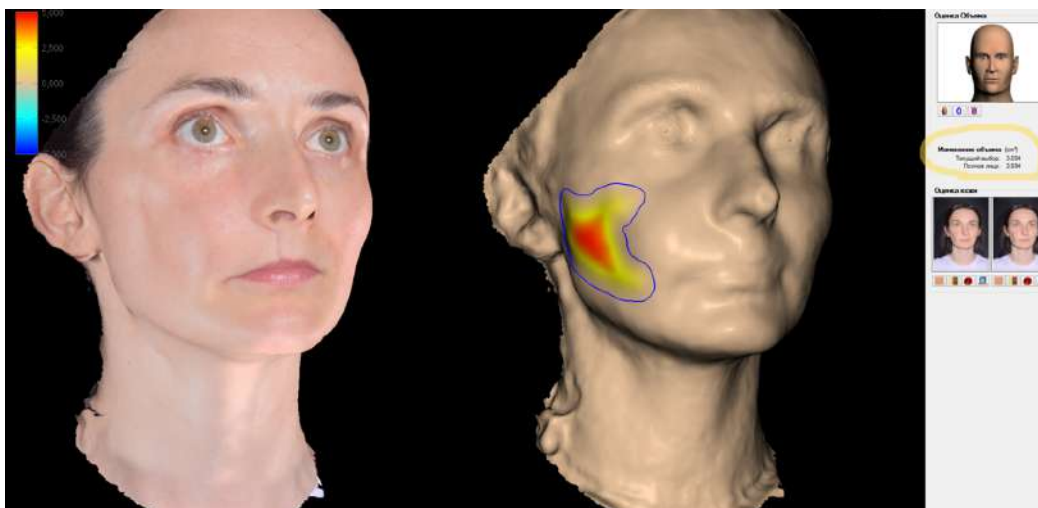


Рис. 45 Вычисление объема рубцовой деформации

Ввиду того, что реципиентная зона подвержена рубцовым изменениям, и васкуляризация трансплантата может быть нарушена, мы увеличиваем процент

резорбции жира в данном случае для вычисления необходимого объема аутоотрансплантата. Процент составит 40%.

Таким образом, объем жирового аутографта для коррекции рубцовой деформации составляет $3,694 + (3,694 \times 0,4) = 5,17$ мл.

Далее оценивалась эффективность применения СВФ при липофилинге. 3D моделирование проводилось на стадиях до операции и через 3 и 6 месяцев после. На рисунке представлены модели сравнения результата спустя 3 месяца после липофилинга с состоянием до операции.

На рисунке динамики изменений объема мягких тканей (представлен на рис. 46) наблюдается прирост мягких тканей в средней зоне лица (желтый и красный индикатор) - на 31%.

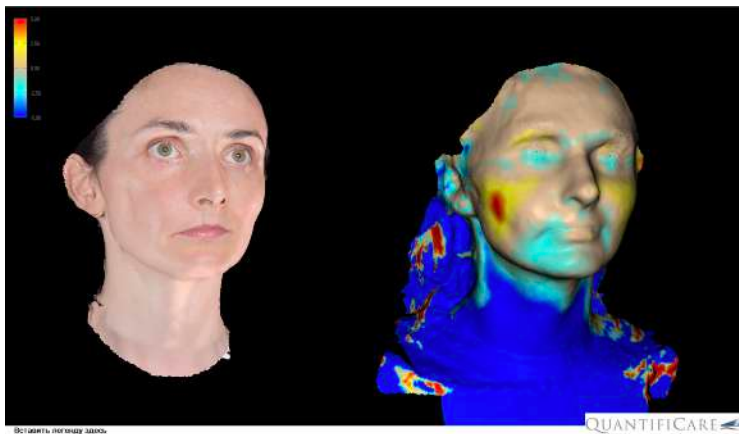


Рис. 46 Динамика изменений объема мягких тканей

На рисунке динамики изменений поверхностной васкуляризации (представлен на рис. 47) отмечается увеличение скоплений «красных точек», символизирующих расширенные поверхностные капилляры - в области липофилинга рубцовой деформации. Такой эффект увеличения сети капилляров отмечен у пациентов до 40 лет, что подтверждено нами статистически (результаты приведены ранее).

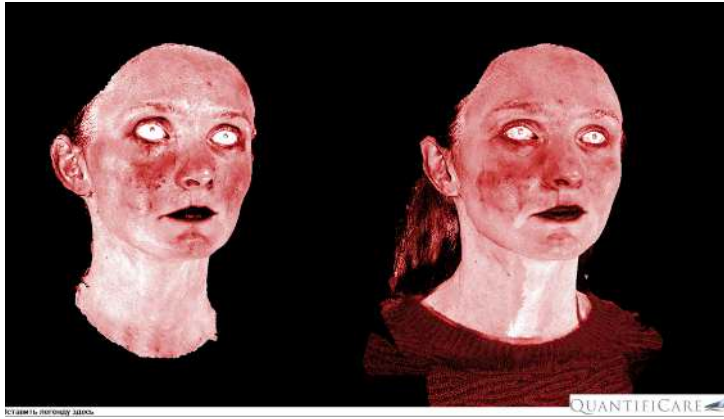


Рис. 47 Динамика изменений поверхностной васкуляризации

На рисунке динамики изменений пигментации кожи (представлен на рис. 48) также видна значительная разница - увеличение пигментных элементов в области проведения зоны липофилинга, количественные значения изменений пигментации и васкуляризации представлены на рисунке 49.



Рис. 48 Динамика изменений пигментации кожи

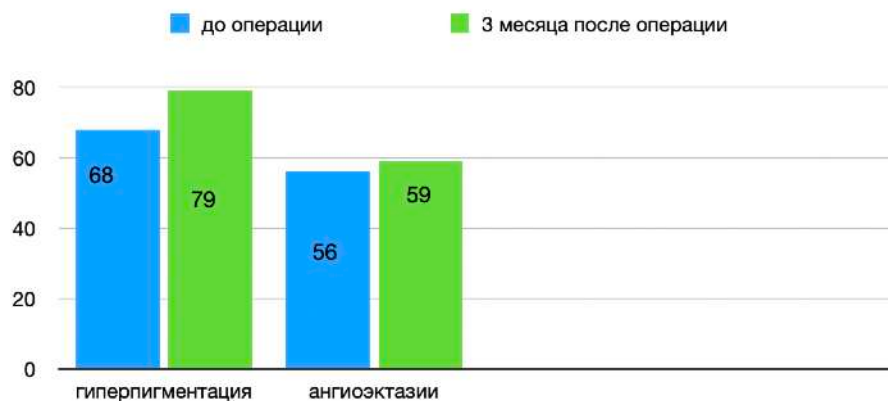


Рис.49 Количественные значения изменений пигментации и васкуляризации

По данным УЗИ на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции выявлены следующие изменения:

Таблица 21. Количественные изменения толщины кожи и ПЖК на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции

Показатель, область			1 этап (до операции), мм	2 этап (3 месяца после операции), мм	3 этап (6 месяцев после операции), мм
Справа	Подглазнично-щечная	Кожа	1,3	1,42	1,4
		ПЖК	3,2	7,3	7,2
	Скуловая	Кожа	1,2	1,2	1,2
		ПЖК	4,5	6,4	6,4
	Область комиссуры рта	Кожа	1,4	1,5	1,5
		ПЖК	4,6	5,3	4,7

Среднее изменение толщины ПЖК в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,23$ мм

Среднее изменение толщины кожи в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,01$ мм

Лабораторные исследования оценки эффективности СВФ:

Количество клеток общее = 80 тыс клеток

Количество жизнеспособных клеток ≈ 76 тыс клеток

Время удвоения популяции клеток = 79 ч

Клинически в результате проведения данной процедуры липофилинга с СВФ отмечено восполнение рубцовой деформации правой щечной области, восстановление пропорций и симметрии лица, размягчение плотных фиброзных структур в тканях окружающих рубец, повысилась эластичность кожи и мобильность тканей (представлен на рис. 50). Осложнения у данной пациентки не наблюдались. Послеоперационный период протекал без особенностей. В раннем послеоперационном периоде проводилась профилактическая антибиотикотерапия (цефтриаксон 1гр 1 раз в день внутривенно) в течение 3 дней, физиотерапия не проводилась. Компрессия зоны взятия жировой ткани. На точке осмотра 3 и 6 месяцев жировой аутоотрансплантат мягкий и эластичный при пальпации, безболезненный, пальпаторно не различим с собственной жировой тканью. Пациентка довольна результатом лечения.



Рис. 50 Вид пациентки до и после липофилинга правой щечной области лица (3 месяца после операции)

3.5.4 Коррекция рубцовой деформации лица с помощью липофилинга без применения СВФ

Пациентка К. 31 года поступила с жалобами на наличие рубцовой деформации подбородочной области вследствие получения травмы в результате ДТП. Поставлен диагноз: рубцовая деформация коммиссуры рта и подбородочной области (представлен на рис.51). Реконструктивные операции пациентке не проводились.



Рис. 51 Фотодокументирование пациентки до операции в 5 позициях и прицельное фото дефекта

Описание местного статуса выполнено согласно клиническим рекомендациям: гипертрофический рубец подбородочной области на протяжении 4 см в длину и 0,5 см в ширину. Розовый цвет рубца, кожный покров вокруг рубцовой деформации не изменен, изменения пигментации при внешнем осмотре отсутствуют, нет признаков острого и хронического воспалений, присутствуют незначительные неровности и нарушения микрорельефа, рубец возвышается над поверхностью кожи на 2 мм. Рубец плотной консистенции, спаян с подлежащими тканями (подкожно-жировой клетчаткой), при пальпации мало подвижен и не поддается измерению при щипковом тесте. Чувствительность при пальпации отсутствует.

Определение параметров пациента для исследования

Вес = 53 кг

Рост = 160 см

ИМТ = 20,7 (избыточная масса тела)

Процент жира = 17% (приемлемый)

Для планирования оперативного вмешательства (липофилинг зоны дефекта - подбородочной области) пациентке было выполнено фотодокументирование, 3D моделирование, анализ пропорций лица и расчет объема зоны атрофии - для вычисления объема жирового аутографта. В предоперационном периоде также проводилось УЗИ кожи и мягких тканей в 3 точках описанных ранее.

Вычисление объема дефекта (представлен на рис. 52): с помощью компьютерного 3D моделирования выделялась зона дефекта и моделировалась до создания нужной формы; затем программа анализировала модели исходного дефекта и созданного желаемого, и вычислялась разница. Полученный объем и является объемом зоны дефекта. В данном случае он составил — 0,93 см³.

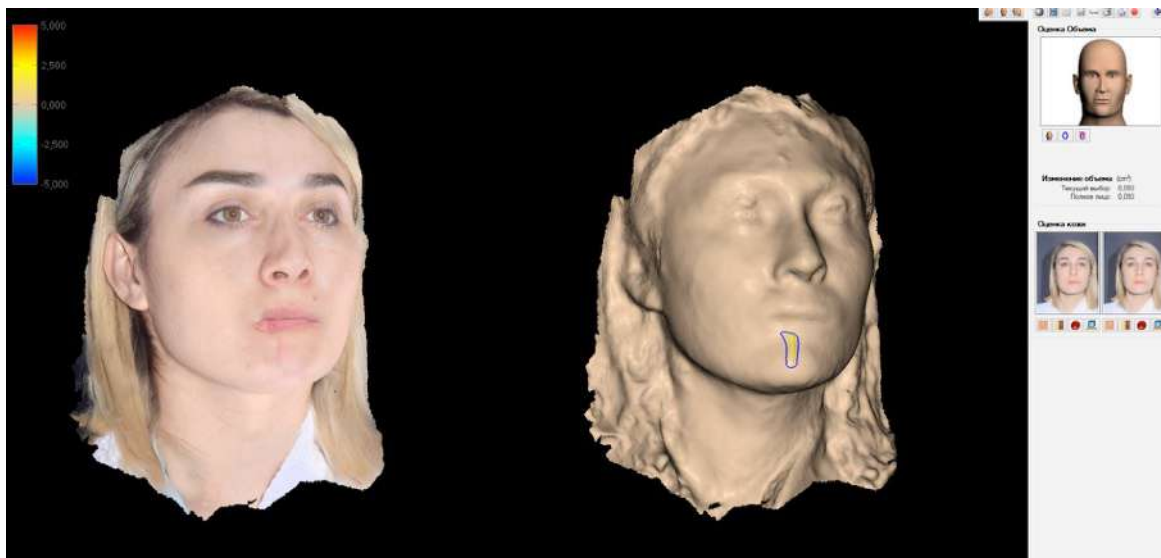


Рис. 52 Вычисление объема рубцовой деформации

Ввиду того, что реципиентная зона подвержена рубцовым изменениям, и васкуляризация трансплантата может быть нарушена, мы увеличиваем процент резорбции жира в данном случае для вычисления необходимого объема аутоотрансплантата. Процент составит 40%.

Таким образом, объем жирового аутографта для коррекции рубцовой деформации составляет $0,93 + (0,93 \times 0,4) = 1,395$ мл.

Далее оценивалась эффективность применения СВФ при липофилинге. 3D моделирование проводилось на стадиях до операции и через 3 и 6 месяцев после. На рисунке представлены модели сравнения результата спустя 3 месяца после липофилинга с состоянием до операции.

На рисунке динамики изменений объема мягких тканей (представлен на рис. 53) наблюдается уменьшение проекции мягких тканей подбородочной области (голубой индикатор) - на 6 %. Такой результат получен ввиду того, что введение жирового аутографта проходило не для восполнения объема, а для выравнивания контура подбородочка и области под нижней губы, трассы аутожира располагались в одной плоскости в виде решетки, а также были введены интрадермально в сам рубец.

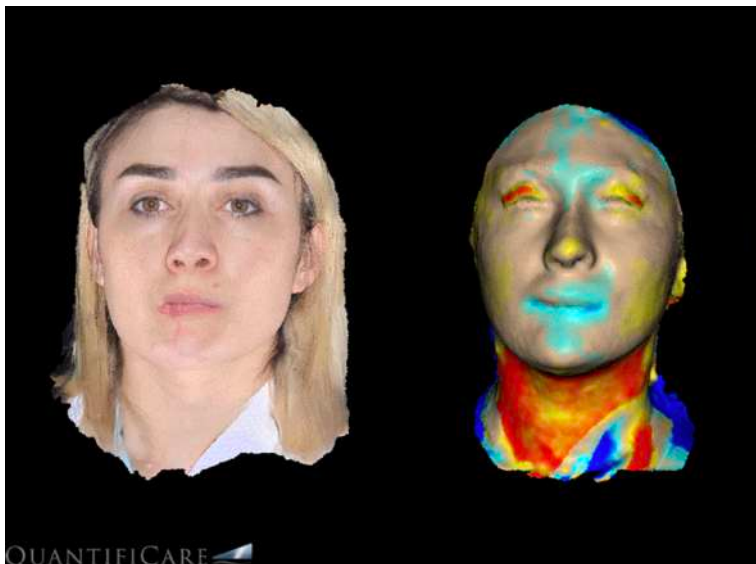


Рис. 53 Динамика изменений объема мягких тканей

На рисунке динамики изменений поверхностной васкуляризации (представлен на рис. 54) подбородочной области отмечается уменьшение скоплений «красных точек», символизирующих расширенные поверхностные капилляры - в области липофилинга рубцовой деформации.



Рис. 54 Динамика изменений поверхностной васкуляризации

На рисунке динамики изменений пигментации кожи (представлен на рис. 55) подбородочной области также видна значительная разница - уменьшение пигментных элементов в области проведения зоны липофилинга, количественные значения изменений пигментации и васкуляризации представлены на рисунке 56.



Рис. 55 Динамика изменений пигментации кожи



Рис.56 Количественные значения изменений пигментации и васкуляризации

Значения динамических изменений васкуляризации и пигментации незначительны, ввиду того, что введение аутожира происходило лишь в зону рубца подбородочной области. Однако в данной зоне введения аутографта отмечается значительное снижение пигмента и капиллярной сети.

По данным УЗИ на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции выявлены следующие изменения (табл. 22):

Таблица 22. Количественные изменения толщины кожи и ПЖК на точках осмотра 3 и 6 месяцев после операции

Показатель, область		1 этап (до операции), мм	2 этап (3 месяца после операции), мм	3 этап (6 месяцев после операции), мм
Подбородочная область	Кожа	1,4	1,6	1,5
	ПЖК	2,7	3,6	3,2

Среднее изменение толщины ПЖК в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,4$ мм

Среднее изменение толщины кожи в динамике между точками 3 и 6 месяцев у данной пациентки составило: $\pm 0,1$ мм

Клинически в результате проведения данной процедуры липофилинга с СВФ отмечено восполнение рубцовой деформации подбородочной области, восстановление пропорции лица, размягчение плотных фиброзных структур в тканях окружающих рубец, повысилась эластичность кожи и мобильность тканей (представлен на рис. 57). Осложнения у данной пациентки не наблюдались. Послеоперационный период протекал без особенностей. В раннем послеоперационном периоде проводилась профилактическая антибиотикотерапия (цефтриаксон 1гр 1 раз в день внутривенно) в течение 3 дней, физиотерапия не проводилась. Компрессия зоны взятия жировой ткани. На точке осмотра 3 и 6 месяцев жировой аутоотрансплантат мягкий и эластичный при пальпации, безболезненный, пальпаторно не различим с собственной жировой тканью. Пациентка довольна результатом лечения.



Рис.57 Вид пациентки до и после липофилинга подбородочной области (3 месяца после операции)

Таким образом, анализ отдаленных результатов (6 месяцев) проведенного лечения показывает целесообразность применения СВФ для улучшения приживления жирового аутоотрансплантата, но требуется дополнительное исследование дозозависимого эффекта клеточной фракции. Однако применение СВФ является не единственным определяющим фактором приживления аутоотрансплантата, нами также отмечена разница в сохранности объема пересаженного аутожира в зависимости от зон лица: наименьшее приживление в зоне угла рта, далее скуловая область и самое высокое приживление наблюдается в щечной области (малярная). Приживление жирового аутоотрансплантата зависит от зоны введения и ее характеристик: толщины жирового слоя, наличия перфорантных сосудов, близости к кости, наличие связок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липофилинг является универсальной процедурой, подходящей как для проведения эстетической коррекции, так и для устранения дефектов мягких тканей в случаях необходимости реконструктивных вмешательств. Данные литературы и наше исследование в полной мере продемонстрировали широту применения аутотрансплантации жировой ткани: липофилинг средней зоны лица успешно выполняется для восстановления контура лица при инволютивных изменениях в эстетически значимых зонах (воссоздание правильной конфигурации линии Оджи) и с положительным результатом проводится для восполнения объема мягких тканей при посттравматических дефектах лица разного размера. По результатам нашего исследования наблюдается не только восстановление объема мягких тканей, но и улучшение качества кожи, изменение профиля рубцовой ткани, что подтверждает мультинаправленное действие липофилинга.

На данный момент существуют определенные трудности при применении данного метода в пластической хирургии. К ним относятся непредсказуемость результата процедуры вследствие отсутствия стандартизированного протокола и резорбции жирового аутотрансплантата, процент которой варьирует в широком диапазоне в разных зонах лица. Особенности структуры и биологические свойства жировой ткани также осложняют ее использование: зрелые адипоциты являются очень хрупкими клетками, не выдерживающими условия гипоксии и механической обработки, при этом стромальные клетки жировой ткани (предшественники), наоборот, усиливают свои свойства после умеренного стресса (механическая или ферментативная обработка). При неправильной обработке и неаккуратном обращении с жировой тканью после аутотрансплантации появляются участки некроза пересаженной жировой ткани, которые в дальнейшем формируются в участки фиброза - рубцовую ткань. Такие изменения могут вызвать нарушение контура кожи, появление втянутых рубцов, бугристости кожного покрова. Избавление от таких осложнений требует хирургического

вмешательства с выполнением разрезов в эстетически важных зонах. Для избежания данных негативных последствий следует проводить липофилинг в определенных слоях жировой ткани, начиная с введения основной массы аутографта в глубокие слои и далее продолжая инъекцию более размельченного жира в поверхностные слои. На сегодняшний день разработано несколько типов продуктов жировой ткани, различающихся по размеру частиц жировой ткани, способу обработки и количеству стромальных клеток: макрожир, миллижир, наножир, стромально-васкулярная фракция (СВФ). Имеет значение и зона введения на лице: оптимальным для приживания является именно слой собственной жировой ткани ввиду благоприятной среды для формирования новых адипоцитов и капиллярной сети: собственные жировые клетки продуцируют специфические для гомеостаза элементы, баланс которых является критическим при аутотрансплантации жирового графта. Наличие развитой сосудистой сети, перфорантов в жировом слое также способствует приживлению пересаженной жировой ткани, представляя собой надежную основу для формирования собственной капиллярной сети аутографта. Следует избегать введения жира в слои мышечной ткани и вблизи мышц, где происходит повышенная резорбция пересаженной жировой ткани из-за активных мышечных движений. При расположении слоя активно работающих мышц в непосредственном контакте с жировым аутотрансплантатом высока вероятность миграции жирового аутографта и появления асимметрии при двусторонней коррекции. При введении большого количества жира в мышечный слой большая часть быстро резорбируется, а оставшаяся жировая ткань ввиду отсутствия благоприятных условий для приживания может сформировать масляные кисты и участки фиброза. Таким образом, наилучшим слоем для введения жирового аутотрансплантата является слой жировой ткани, наличие нескольких перфорантов, питающих данную область, отсутствие контакта с мышечным слоем.

Остается открытым вопрос об обработке жировой ткани и целесообразности применения различных клеточных продуктов жировой ткани. В нашем исследовании мы сравнили объем пересаженного аутотрансплантата при проведении стандартного липофилинга (по Колеману) и при использовании

клеточного продукта СВФ вместе с липофилингом. С целью решения проблемы резорбции жирового аутооттрансплантата, а также оптимизации метода липофилинга в период с 2018 по 2021гг в отделении Института пластической хирургии и косметологии, на базе кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий, нами было проведено комплексное обследование и лечение 60 пациентов с диагнозом инволютивных изменений лица (82%) и рубцовых деформаций лица различных объемов (18%). Пациенты разделены на две группы (по 30 человек в каждой), первой группе проводился стандартный липофилинг по Колеману, второй группе - СВФ вместе с липофилингом. Всем пациентам в до- и послеоперационном периодах были проведены предоперационное планирование, клинические и лабораторные обследования, хирургическое лечение и послеоперационное ведение.

Обоснование и обсуждение результатов клинического исследования

СВФ оказывает положительное влияние на толщину ПЖК, обеспечивая стабильность послеоперационного результата. Приживаемость жирового аутооттрансплантата в основной и контрольной группах составила соответственно в среднем 70% и 42%. По данным иммунофенотипирования определен преобладающий тип клеток СВФ - мезенхимальные стромальные клетки. Учитывая полученные нами данные, показывающие прямую корреляцию стабильности изменений толщины подкожно-жирового слоя и пролиферативного потенциала мезенхимальных стромальных клеток (МСК), выделенных из вводимого образца СВФ, можно сделать вывод о том, что ключевую роль в стабильности изменений толщины ПЖК сыграли именно МСК.

МСК, благодаря своим биологическим эффектам, такими как высокая дифференцирующая способность, ответственная за адипогенез и ангиогенез, модуляция воспалительных реакций, антиапоптотический эффект, могут оказывать влияние на течение воспалительной реакции, происходящей при процедуре липофилинга. При введении иглы для липофилинга и создании туннелей, по которым осуществляется аутооттрансплантация жира, происходит

механическое повреждение тканей, которые, как и любое хирургическое вмешательство, вызывает асептическое воспаление тканей. Так как подкожные мягкие ткани не подвергаются разрезу (производятся проколы иглой только на поверхности кожи), то для такого вмешательства можно ввести термин «ушиба» или контузии мягких тканей [175]. По степени тяжести ушиб можно классифицировать по трем степеням: первая степень, характеризующаяся временной потерей функции (может быть связано с отеком тканей - первая фаза воспаления; изменения обратимы); вторая степень - экхимоз, инфильтрация тканей эритроцитами (в данном случае процесс может как разрешиться в благоприятную сторону, так и привести к гибели клеток. Третья степень - необратимое повреждение, некроз клеток, вызванный ишемией ткани, что предотвращает заживление раны [176]. Таким образом, вторая стадия является критическим моментом, от которого зависит в какую сторону будет направлено заживление раны. Более того, характерные процессы, сопровождающие некроз и первую фазу воспалительной защитной реакции одинаковы: митохондриальная дисфункция и истощение АТФ (аденозинтрифосфат); потеря внутриклеточного ионного гомеостаза с осмотическим отеком и оксидативным стрессом; активация деградирующих гидролаз, включая протеазы, фосфорилазы и эндонуклеазы; и деградация белков цитоскелета с нарушением целостности цитоскелета. [177] И лишь повышенная экспрессия данных элементов способна запустить процесс некроза тканей. Как известно, СВФ представляет собой смесь клеток, среди которых эндотелиальные клетки кровеносных сосудов, предшественники эндотелиальных клеток, гладкомышечных клеток, мезенхимальные стромальные клетки, Т-клетки, В-клетки, тучные клетки и макрофаги. Таким образом, при липофиллинге предполагается синергизм действия этих типов клеток. Эндотелиальные клетки благодаря своей способности к анаэробному метаболизму, могут переносить ишемическую фазу и играть антиоксидантную роль [178]. Роль МСК в процессах повреждения заключается в уже описанных выше функциях стимулировать дифференцировку эндотелиальных клеток, модулировать местную воспалительную реакцию за счет М-2 макрофагов и способствовать ангиогенезу за счет ангиогенных факторов роста. Жировые

стромальные клетки устойчивы к ишемии, оставаясь жизнеспособными до 3 дней. МСК считаются основными регуляторами в жировой ткани. Они выполняют несколько функций, включая их высокую дифференцирующую способность, ответственную за адипогенез и ангиогенез [179]. В исследованиях показано, что МСК продуцируют гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (GCSF), TGFB, VEGF, фактор роста гепатоцитов (HGF) и фактор роста фибробластов (FGF) - то есть проявляют ангиогенные эффекты. Помимо этого клетки способны проявлять иммунорегуляторные эффекты посредством модуляции гамма-интерферона, HGF, простагландина E2 (PGE2), TGFB-1, индолеамина 2,3-диоксигеназы (IDO) и IL-10 [180]. Биологические эффекты СВФ хорошо заметны по полученным нами данным гистологического исследования, где в зоне введенного жирового аутоотрансплантата вместе с СВФ практически отсутствуют области фиброза - плотность соединительной ткани составила 9% против 50% основного и контрольного образца соответственно, и по своей структуре жировой аутоотрансплантат ничем не отличался от собственной жировой ткани.

В нашем исследовании корреляция стабильности послеоперационных изменений при использовании СВФ в жировом аутоотрансплантате показывает положительный результат в большинстве случаев, но не присутствует в 100% случаев. На результаты сравнения могут оказать влияние несколько факторов: концентрация стромальных клеток в СВФ, доза СВФ в жировом аутоотрансплантате (в настоящем исследовании оценивалось только соотношение 1:1), состояние самой жировой ткани, зависящее индивидуально от ИМТ (индекса массы тела), выбора поверхностного или глубокого депо жировой ткани для липосакции, возраста и свойств жировой ткани пациента, степени выраженности атрофических изменений кожи и мягких тканей. В нашем исследовании продемонстрирована отрицательная корреляция ИМТ с процентом жира пациента и пролиферативного потенциала мезенхимальных клеток жировой ткани из вводимого образца СВФ. Это может быть объяснено тем, что ожирение изменяет биологию МСК, свойства и функции локального иммунитета [181]. При этом образуется замкнутый круг: при ожирении нарушается функция МСК, что в свою очередь способствует развитию ожирения, происходит ремоделирование жировой

ткани, секретируются провоспалительные цитокины (TNF-, IL-6, IL-8 и MCP-1) и нарастает гипоксия [182]. Потенциал адипогенной дифференцировки снижается. [183] В случае старения организма МСК также теряют способность к самообновлению, мультипотентность снижается [184]. Таким образом, мы видим, что разница техники липофилинга не является основным фактором успешности процедуры, на клиническую эффективность также влияют характеристики пациента, свойства жировой ткани, в том числе пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток. Важно помнить, что биологический профиль клеток жировой ткани специфичен для конкретного пациента, и у пациентов аналогичного возраста с аналогичным этническим происхождением могут наблюдаться небольшие вариации, что затрудняет полное понимание причины и следствия такой разницы. Кроме того, вероятно, что мезенхимальные клетки находятся в динамическом взаимодействии с механизмами обратной связи, реагирующими в ответ на прибавку веса, действие определенных химиотерапевтических агентов, повреждение и другие эндогенные и экзогенные факторы. Также возраст и сопутствующие заболевания пациента влияют на сложность взаимодействия факторов роста, цитокинов и клеток СВФ. Наблюдается разница в структуре и строении зрелых адипоцитов: например, участки жировой ткани, расположенные ближе к волосяным фолликулам, имеют свойства, отличные от участков из более глубоких слоев под фасцией Скарпа. [185] Меньшие по размеру адипоциты связаны с макрофагами и обладают более выраженными противовоспалительными свойствами, чем адипоциты крупнее по размеру.

Анализируя данные УЗИ-исследования также можно сделать выводы о динамике интеграции пересаженной жировой ткани в ткани реципиентной зоны. У пациентов, которым выполнялся липофилинг с целью эстетической коррекции, интеграция происходила довольно быстро, уже в течение первых 3 месяцев после операции не видно отграничения пересаженной жировой ткани от реципиентной, отсутствовали фиброзные включения, аутооттрансплантат выглядел гомогенным, границы аутооттрансплантата и собственной жировой ткани не различимы. Васкуляризация наблюдается на всем протяжении аутооттрансплантата. Различий в

скорости и качестве интеграции в группах с использованием СВФ и без него не наблюдалось.

В случае с использованием липофилинга для коррекции рубцовых деформаций интеграция жирового аутоотрансплантата происходила медленнее. Введение жирового аутоотрансплантата выполнялось в область с рубцово измененными тканями, в глубокие слои, затем в поверхностные и непосредственно в зону самого рубца, интрадермально (наножир). В течение первых трех месяцев наблюдалось образование тонкой соединительнотканной капсулы вокруг пересаженного жирового аутоотрансплантата, затем на этапе осмотра 6 месяцев после операции границы аутоотрансплантата и собственной жировой ткани уже не различимы. Различий в скорости и качестве интеграции жировой ткани в группах с использованием СВФ и без него не наблюдалась. У 1 пациента из группы липофилинга с СВФ на точке осмотра 3 месяца наблюдалось осложнение - образование масляной кисты размером 0,5х0,3 см в зоне рубцовой деформации подподбородочной области (в анамнезе проведение ряда реконструктивных операций по поводу множественных нейрофибром лица).

Также нами получены интересные для дальнейшего исследования данные по влиянию аутожира на качество кожи в обеих группах, вне зависимости от добавления СВФ к аутожиру. При этом разница наблюдалась в двух возрастных категориях пациентов. Так для пациентов до 55 лет пигментация почти не менялась в среднем при сравнении показателей до и спустя 6 месяцев после операции. Средние изменения составили -0,45 (средние значения пигментации до операции: 55,9). Для пациентов от 55 лет и старше корреляция изменения пигментации составила в среднем -13,8 (средние значения пигментации до операции 75,55). Аналогично показатели поверхностной васкуляризации отличались в двух возрастных группах: для пациентов до 55 лет плотность ангиоэктазий менялась в среднем меньше, чем для пациентов 55 лет и старше. Для пациентов до 55 лет средние изменения поверхностной васкуляризации составили -5,7. Средние значения до операции: 57,6. Для пациентов от 55 лет и старше изменения поверхностной васкуляризации менялись значительно: в

среднем -13,6. Средние значения сосудов до операции 74,8. Данный эффект может быть объяснен паракринным действием МСК жировой ткани, или же биологическим эффектом МСК через прямые межклеточные контакты. МСК могут влиять на плотность и сохранность сосудов, действуя как перициты. Влияние МСК на качество кожи может быть опосредовано их дифференцировкой по эпидермальной линии, в результате которой образуются эпителиоподобные клетки и дермальная строма, способные поддерживать пролиферацию и дифференцировку кератиноцитов [186]. За эту дифференцировку в том числе отвечает цитокератин 19, маркер эпителиальных клеток, который можно обнаружить на поверхности МСК жировой ткани [187]. У возрастных пациентов регенеративный потенциал кожи значительно снижен, поэтому липофилинг оказывает эффект «биоревитализации», но у молодых пациентов такого эффекта не наблюдается. Часто у молодых пациентов после липофилинга наблюдался обратный результат - увеличение жирности кожи, появление ангиоэктазий.

На основании вышеприведенных данных представляется возможным повлиять на приживаемость жирового трансплантата двумя путями. Первый путь это корректная техника получения: определенное негативное давление, размер канюли, вид раствора для инфильтрации, сила механического воздействия при заборе жира, уровень получения ткани. Учитывая гетерогенность результатов исследований по ряду показателей, присутствует необходимость в определении четких алгоритмов для забора жировой ткани и ее дальнейшей обработки для липофилинга. Второй путь заключается в создании благоприятного макро- и микроокружения. Прежде всего, нужно правильно получить биологический материал, учитывать слой подкожно-жировой клетчатки для липосакции, особенности каждого пациента - индекс массы тела, лекарственный анамнез, анамнез жизни, сопутствующие заболевания. Следует уделять внимание аккуратному распределению липографта в ложе реципиентной области, подготовке реципиентного ложа в плане васкуляризации и баланса про- и противовоспалительных агентов. Добавление к жировому аутоотрансплантату СВФ способно повлиять на микроокружение и представляется перспективной методикой. Требуются дальнейших исследования, посвященные определению

оптимальной концентрации мезенхимальных клеток на 1мл жирового аутоотрансплантата, определение зависимости данной концентрации от внешних и внутренних факторов.

Перспективы применения клеточных продуктов жировой ткани и дальнейшие направления данной работы

Применение клеточных продуктов жировой ткани целесообразно в виду пластичности биоматериала, благодаря чему становится возможным использование аутожира для введения в деликатные области, например носослезную борозду. В данной области введение синтетических и аутологичных наполнителей рискованно ввиду образования гранулом и неровностей. В таком случае использование СВФ наиболее благоприятно, так как СВФ содержит гораздо меньше зрелых адипоцитов и обладает более эластичной структурой. Наличие в СВФ стромальных клеток с мультинаправленным действием перспективно для исследований в области тканевой инженерии, создания каркасов жировой ткани для трансплантации и восполнения дефицита мягких тканей при реконструктивных операциях. Таким образом, мы считаем, что в дальнейшем следует развивать данное направление исследования клеточных продуктов жировой ткани и искать оптимальные пути применения в клинике.

ВЫВОДЫ

1. Метод 3D компьютерного моделирования для определения объема введения аутожира с использованием разработанного алгоритма программных настроек показывает свою эффективность при планировании липофилинга рубцовых деформаций и позволяет сделать процедуру более предсказуемой и уменьшить морбидность донорских зон.

2. Метод 3D компьютерного сканирования кожи лица, выявляющий особенности ее васкуляризации, пигментации на всем протяжении лечения и реабилитации, позволяет провести сравнительный анализ структурных единиц данных параметров кожи и показывает их динамическое изменение в послеоперационном периоде.

3. Разработанный метод расчета индивидуального объема жирового аутоотрансплантата по формуле $V = 1/2 L \times W \times H$ показал свою эффективность при планировании липофилинга атрофичных областей лица. Объем треугольной призмы выбран согласно фигуре ключевой структуры средней трети лица подглазничной области - жирового пакета треугольной формы.

4. Отмечена зависимость сохранности объема пересаженного аутожира от анатомических особенностей зон лица: наименьшее приживление в зоне комиссуры рта, далее в скуловой области и самое высокое приживление наблюдается в подглазнично-щечной области. Параметры толщины жирового слоя и плотности перфорантных сосудов положительно коррелируют с сохранением объема жирового аутоотрансплантата. Данный результат позволит предсказуемо планировать липофилинг лица с выбором оптимальных зон для приживления.

5. Доказано отсутствие негативного влияния клеточного продукта стромально-васкулярной фракции на структуру жирового аутоотрансплантата. По данным гистологического исследования образец жировой ткани со стромально-васкулярной фракцией является полноценной жировой тканью, без наличия признаков фиброза, воспаления и патологической митотической

активности. Объемная доля жировой ткани в образцах со стромально-васкулярной фракцией составила 90%. Данный результат подтверждает безопасность применения биоматериала, не провоцирующего неблагоприятные изменения микроокружения тканей реципиентной зоны, что в будущем позволит расширить границы применения данного метода.

6. Установлено, что использование клеточного продукта стромально-васкулярной фракции улучшает приживление жирового аутооттрансплантата на 28% по сравнению с традиционным методом липофилинга. Сохранность объема жирового аутооттрансплантата в основной и контрольной группах составила соответственно в среднем 70% и 42%. Данные подтверждены результатами УЗ-исследования (определение толщины подкожно-жировой клетчатки) и 3D-компьютерного моделирования.

7. Установлено отсутствие влияния клеточного продукта стромально-васкулярной фракции на качество кожи: толщину, пигментацию, поверхностную васкуляризацию. Показатели пигментации и поверхностной васкуляризации одинаково улучшились в обеих группах исследования преимущественно у пациентов после 55 лет. Спустя 6 месяцев после липофилинга лица у возрастной категории пациентов после 55 лет изменение пигментации составило -13,8, изменение поверхностной васкуляризации составило -13,6. У возрастной категории пациентов до 55 лет изменения пигментации спустя 6 месяцев составили -0,45 и поверхностной васкуляризации -5,7.

8. Выявлены основные факторы, влияющие на приживление аутожира: пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток, индекс массы тела и процент жира пациента. Общее количество жизнеспособных клеток стромально-васкулярной фракции не оказывало влияния на приживление жирового аутооттрансплантата, корреляция составила 0,41. Пролиферативный потенциал основного типа клеток стромально-васкулярной фракции мезенхимальных стромальных клеток оказывал эффект на приживление жирового аутооттрансплантата, корреляция составила 0,52. Индекс массы тела и процент жира пациента отрицательно коррелирует с показателем

пролиферативного потенциала мезенхимальных стромальных клеток, корреляция соответственно составила 0,59 и 0,47, то есть чем выше индекс массы тела и процент жира в организме пациента, тем ниже пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В предоперационном периоде у пациентов с инволютивными изменениями и рубцовыми деформациями лица следует проводить оценку состояния кожи и мягких тканей с помощью 3D компьютерного моделирования: определять показатели пигментации, васкуляризации, измерять объем зоны липофилинга для коррекции рубцовых деформаций согласно разработанному нами алгоритму. Для определения эффективности лечения следует проводить оценку динамических изменений вышеуказанных показателей с помощью 3D компьютерного моделирования.

2. Следует проводить расчет требуемого объема аутожирового трансплантата для липофилинга лица при инволютивных изменениях по предложенной нами формуле. Так обеспечивается более контролируемый результат липофилинга лица, снижаются риски нарушения приживления жирового аутоотрансплантата, а также снижается морбидность донорских зон.

3. Следует учитывать анатомические особенности зон лица при осуществлении липофилинга: наилучшее приживление аутожира наблюдается в подглазнично-щечной области. Приживление жирового аутоотрансплантата зависит от характеристик зоны введения: толщины жирового слоя, наличия перфорантных сосудов, близости к кости, наличие связок.

4. С целью улучшения приживления жировой ткани и повышения эффективности процедуры липофилинга лица следует использовать клеточный продукт стромально-васкулярную фракцию жировой ткани в пропорции 1:1 к объему липоасpirата.

5. Для обеспечения предсказуемости результата липофилинга со стромально-васкулярной фракцией следует оценивать фактор, влияющий на приживление аутоотрансплантата - чем выше пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток, тем выше прогноз благоприятного приживления аутоотрансплантата - основного типа клеток стромально-

васкулярной фракции. Пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток оценивается в культуре клеток путем определения времени удвоения популяции на 3, 6 и 9 пассажах.

6. При проведении липофилинга со стромально-васкулярной фракцией следует учитывать индивидуальные характеристики пациента, так как они также оказывают влияние на пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток: чем выше индекс массы тела и процент жира, тем ниже пролиферативный потенциал мезенхимальных стромальных клеток.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- СВФ - стромально-васкулярная фракция
- МСК - мезенхимальные стромальные клетки
- ПМАС - поверхностная мышечно-апоневротическая система
- ИМТ - индекс массы тела
- УЗИ - ультразвуковое исследование
- МРТ - магнитно-резонансная томография
- КТ - компьютерная томография
- БЖТ - белая жировая ткань
- ФНО-альфа (англ. TNF- α - tumor necrosis factor)- фактор некроза опухоли
альфа
- ЖК - жирные кислоты
- ПЖК - подкожно-жировая клетчатка
- KGF (англ. keratynocyte growth factor) - фактор роста кератиноцитов
- FGF (англ. fibroblast growth factor) - фактор роста фибробластов
- TGF- β (англ. transforming growth factor) - трансформирующий фактор роста
бета
- ERK (англ. extracellular kinase) - экстрацеллюлярная киназа
- IL-6 (англ. interleukin) - интерлейкин -6
- Toll-подобные рецепторы - англ. Toll-like receptor, TLR; от нем. toll —
большой, восхитительный
- СКЖТ - стволовые клетки жировой ткани
- CD39 (англ. cluster of differentiation)- кластер дифференцировки —
номенклатура дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека
- NK-клетки (англ. natural killer cells) - естественные киллеры, тип
цитотоксических лимфоцитов
- ESWT (англ. extracorporeal shock wave therapy) - ударно-волновая терапия
- PBS (англ. phosphate buffered saline) - натрий-фосфатный буфер.

трипсин-EDTA (англ. ethylenediaminetetraacetic acid) - трипсин -
этилендиаминтетрауксусная кислота

BSA (англ. bovine serum albumin) - альбумин бычий сывороточный

ANOVA (англ. ANalysis Of VAriance) - метод дисперсионного анализа

SOOF (англ. suborbicularis oculi fat) - подглазничный жировой пакет

АТФ - аденозинтрифосфат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / Веремеев А.В., Болгарин Р.Н., Петкова М.А. и др. // Гены & клетки 2016; XI(1): 1–8.
2. Жировая ткань - источник клеток с регенеративным потенциалом / И. И. Еремин, В. С. Васильев, В. Л. Зорин // Гены и Клетки. – 2017. – Т. 12. – № 3. – С. 91-92.
3. Зорина А.И., Зорин В.Л. Применение клеточных технологий в эстетической медицине: современное состояние вопроса // Инъекционные методы в косметологии 2016; 2: 56–69.
4. Дзампаева И.Р. Обоснование применения структурного липофилинга при лечении пациентов с врожденными и приобретенными дефектами и деформациями челюстно-лицевой области: дисс. кандидата медицинских наук. М., 2018. 240 с. 1
5. Мантурова Н.Е. Оптимизация хирургической и консервативной коррекции инволюционных изменений системы кожи: дисс. доктора медицинских наук. М., 2012. 347 с.
6. Применение клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани при лечении полнослойного дефекта гиалинового хряща медиального мыщелка бедренной кости коленного сустава: Клинический случай / Масгутов Р.Ф., Салихов Р.З., Ризванов А.А., Салафутдинов И.И., Богов А.А., Плаксейчук Ю.А. // Гены и клетки. 2014. №3.
7. Разумов А.Н., Орехова Э.М. Современные аспекты применения методов аппаратной физиотерапии в косметологии // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. -2003.-№1.-С. 24-27.
8. Соболева И.В. Обоснование тактики лечения детей с послеожоговыми рубцами кожи: дисс. кандидата медицинских наук. М., 2007. 190 с.
9. Клинико-морфологические особенности сосудистого русла гипертрофической рубцовой ткани в разные сроки ее формирования /

Филиппова О.В., Афоничев К.А., Красногорский И.Н., Вашетко Р.В. // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. - 2017. - Т. 5. - №3. - С. 25-35.

10. Зорина, А. И. Применение аутологичного жира, обогащенного стромально-васкулярной клеточной фракцией, для коррекции дефектов мягких тканей (краткий обзор исследований) / А. И. Зорина, В. Л. Зорин // Вестник эстетической медицины. – 2012. – Т. 11. – № 4. – С. 60.

11. Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в регенеративной хирургии челюстного альвеолярного гребня / В. Б. Карпюк, М. Д. Перова, В. А. Порханов [и др.] // Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. – 2019. – № 4. – С. 18-26. – DOI 10.25792/HN.2019.7.4.18-26.

12. Миromanов, А. М. Современные возможности использования стромально-васкулярной фракции жировой ткани в травматологии и ортопедии / А. М. Миromanов, М. М. Миromanов, Н. А. Миromanова // Политравма. – 2019. – № 3. – С. 83-89.

13. Применение стромально-васкулярной клеточной фракции в префабрикации перфорантных лоскутов / И. Б. Казанцев, А. И. Цуканов, В. В. Иванов [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14. – № 5. – С. 104-105.

14. Изменение толщины мягких тканей скулощечной области после липофилинга // Стоматология. – 2016. – Т. 95. – № 1. – С. 49-54.

15. Романенков, Н. С. Негативные эффекты трансплантации аутологичной жировой ткани, обогащенной культурой стволовых клеток (обзор литературы) / Н. С. Романенков, К. Н. Мовчан // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2017. – Т. 12. – № 4. – С. 326-339.

16. Воблая, И. Н. Маркетинговый анализ рынка пластической хирургии в России / И. Н. Воблая, Н. В. Королева, Е. Г. Мореева // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2020. – Т. 28. – № 2. – С. 227-233.

17. Сенчихина, О. А. Липофилинг: современное состояние и перспектива применения в контурной пластике лица / О. А. Сенчихина, С. В. Грищенко // *Метаморфозы*. – 2018. – № 21. – С. 16-24.
- 18.Боровиков А.М. Аутотрансплантация жировой ткани – липофилинг / А.М. Боровиков // *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2011. - № 6. - С. 19-31.
- 19.Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: современный взгляд, актуальность и перспективы применения в пластической хирургии / О.И.Старцева, Д.В.Мельников, А.С.Захаренко [и др.]// *Исследования и практика в медицине*. - 2016. - Т. 3. - No 3. - С. 68-75.
- 20.Васильев В.С., Васильев С.А., Мантурова Н.Е., Терюшкова Ж.И. Биологическая характеристика жировой ткани. Пластическая хирургия и эстетическая медицина – 2019 - No2 – С. 33-42 .
21. Coleman SR. / Facial recontouring with lipostructure // *Clin Plast Surg* 1997; V.24(2). 347–67.
- 22.Coleman SR. / Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations // *Aesthet Plast Surg* 1995. V. 19(5). 421–5.
- 23.Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. / Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery // *Plast Reconstr Surg*. 2006; V. 118. 121S–128S
- 24.Liao H.T., K.G. Marra, J.P. Rubin / Application of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in fat grafting: basic science and literature review // *Tissue Eng Part B Rev*, 2014. V. 20. pp. 267-276
- 25.J.M. Serra-Mestre, J.M. Serra-Renom, L. Martinez, *et al.* / Platelet-rich plasma mixed-fat grafting: a reasonable prosurvival strategy for fat grafts // *Aesthetic Plast Surg*, 2014. V. 38. pp. 1041-1049
- 26.D.S. Oh, Y.W. Cheon, Y.R. Jeon, *et al.* / Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study // *Dermatol Surg*, 2011. V. 37. pp. 619-625
- 27.Yoshimura K, Sato K, Aoi N, *et al.* / Cell-assisted lipo- transfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of ADSCs // *Dermatol Surg* 2008. V. 34. 1178–85.

28.Charles-de-Sa L, Gontijo-de-Amorim NF, Takiya CM, et al. / Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells // *Plast Reconstr Surg* 2015. V. 135(4). 999–1009.

29.Gentile P, De Angelis B, Pasin M et al / Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face // *J Craniofac Surg* 2014. V. 25(1). 267–272.

30.Gentile P, De Angelis B, Pasin M, Cervelli G, Curcio CB, Floris M, Di Pasquali C, Bocchini I, Balzani A, Nicoli F, Insalaco C, Tati E, Lucarini L, Palla L, Pascali M, De Logu P, Di Segni C, Bottini DJ, Cervelli V. / Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face // *J Craniofac Surg*. 2014. V. 25(1). 267-72.

31.Sasaki GH. / The Safety and Efficacy of Cell-Assisted Fat Grafting to Traditional Fat Grafting in the Anterior Mid-Face: An Indirect Assessment by 3D Imaging. // *Aesthetic Plast Surg*. 2015. V. 39(6). 833-46.

32.Schendel SA. / Enriched autologous facial fat grafts in aesthetic surgery: 3D volumetric results // *Aesthet Surg J*. 2015. V. 35(8). 913-9.

33.Gontijo-de-Amorim NF, Charles-de-Sá L, Rigotti G. / Fat Grafting for Facial Contouring Using Mechanically Stromal Vascular Fraction-Enriched Lipotransfer. // *Clin Plast Surg*. 2020. V. 47(1). 99-109.

34.Billon N, Iannarelli P, Monteiro MC, Glavieux-Pardanaud C, Richardson WD, Kessar N, Dani C, Dupin E. / The generation of adipocytes by the neural crest. // *Development*. 2007. V.134(12). 2283-92.

35. Spalding, K., Arner, E., Westermarck, P. *et al.* / Dynamics of fat cell turnover in humans // *Nature* 2008. V. 453, 783–787.

36. Gesta, S., Bluher, M., Yamamoto, Y., Norris, A.W., Berndt, J., Kralisch, S., Boucher, J., Lewis, C., and Kahn, C.R. / Evidence for a role of developmental genes in the origin of obesity and body fat distribution // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006. V.103. 6676–6681.

37. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. / Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge // *N Engl J Med*. 2007. V.18. 356(3):213-5.
38. MacDougald OA, Mandrup S. / Adipogenesis: forces that tip the scales // *Trends Endocrinol Metab*. 2002. V.13(1):5-11.
39. Weyer C, Foley JE, Bogardus C, Tataranni PA, Pratley RE. / Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance // *Diabetologia*. 2000. V.43(12). 1498-506.
40. Adipose Tissue: Physiology to Metabolic Dysfunction / Richard AJ, White U, Elks CM, et al. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.
41. Pandžić Jakšić V, Grizelj D. / Under the Surface of Subcutaneous Adipose Tissue Biology // *Acta Dermatovenerol Croat*. 2016. V. 24(4). 250-260.
42. Satoor, S., Puranik, A., Kumar, S. *et al.* / Location, location, location: Beneficial effects of autologous fat transplantation // *Sci Rep* 2011. V.1. 81.
43. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhaber F, Hermetter A, Zechner R. / Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase // *Science*. 2004. V.19. 306(5700):1383-6.
44. Ziboh VA, Cohen KA, Ellis CN, et al. / Effects of Dietary Supplementation of Fish Oil on Neutrophil and Epidermal Fatty Acids: Modulation of Clinical Course of Psoriatic Subjects // *Arch Dermatol*. 1986. V.122(11). 1277–1282.
45. Mahdavian Delavary B, van der Veer WM, van Egmond M, Niessen FB, Beelen RH./ Macrophages in skin injury and repair // *Immunobiology*. 2011. V. 216(7). 753-62.
46. Schmidt BA, Horsley V. / Intradermal adipocytes mediate fibroblast recruitment during skin wound healing // *Development*. 2013. V.140(7). 1517-27.
47. Wetzler C, Kämpfer H, Stallmeyer B, Pfeilschifter J, Frank S. / Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair // *J Invest Dermatol*. 2000. V.115(2). 245-53.

48. Murad A, Nath AK, Cha ST, Demir E, Flores-Riveros J, Sierra-Honigmann MR. / Leptin is an autocrine/paracrine regulator of wound healing // *FASEB J*. 2003. V.17(13). 1895-7.
49. Kawai K, Kageyama A, Tsumano T, Nishimoto S, Fukuda K, Yokoyama S, Oguma T, Fujita K, Yoshimoto S, Yanai A, Kakibuchi M. / Effects of adiponectin on growth and differentiation of human keratinocytes--implication of impaired wound healing in diabetes // *Biochem Biophys Res Commun*. 2008. V.19. 374(2). 269-73.
50. Akazawa Y, Sayo T, Sugiyama Y, Sato T, Akimoto N, Ito A, Inoue S. / Adiponectin resides in mouse skin and upregulates hyaluronan synthesis in dermal fibroblasts // *Connect Tissue Res*. 2011. V. 52(4).322-8.
51. Schäffler, A., Schölmerich, J., & Salzberger, B. / Adipose tissue as an immunological organ: Toll-like receptors, C1q/TNFs and CTRPs // *Trends in Immunology*, 2007. V.28(9). 393–399.
52. Wensveen FM, Valentić S, Šestan M, Wensveen TT, Polić B. / Interactions between adipose tissue and the immune system in health and malnutrition // *Semin Immunol*. 2015. V.27(5). 322-33.
53. Cinti, S. et al. / A morphological study of the adipocyte precursor // *J. Submicrosc. Cytol*. 1984. V.16, 243–251
54. Jiang, Y. et al. / Independent stem cell lineages regulate adipose organogenesis and adipose homeostasis // *Cell Rep*.2014. V.9. 1007–1022
55. Aronowitz JA, Lockhart RA, Hakakian CS, et al. / Clinical safety of stromal vascular fraction separation at the point of care // *Ann Plast Surg*. 2015. V.75. 666–671
56. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. / Adipose tissue stem cells: the great WAT hope // *Trends Endocrinol Metab* 2012. V.23. 270–277.
57. Rodbell M. / Localization of lipoprotein lipase in fat cells of rat adipose tissue // *J Biol Chem* 1964. V.239.753–755.
58. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al. / Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // *Tissue Eng* 2001. V.7. 211–228.
59. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L et al. / Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture ex- panded adipose tissue-derived

stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) // *Cytotherapy* 2013. V.15. 641–648.

60. Zuk P. A., Zhu M., Ashjian P., et al. / Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // *Mol Biol Cell*. 2002. V.13. 4279–95.

61. Al-Nbaheen M., Vishnubalaji R., Ali D. et al. / Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential // *Stem Cell Rev* 2013. V.9(1). 32–43.

62. Bianco P., Cao X., Frenette P. et al. / The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine // *Nat Med* 2013;. V.19. 35–42.

63. Nombela-Arrieta C., Ritz J., Silberstein L. / The elusive nature and function of mesenchymal stem cells // *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011. V.12(2). 126–131.

64. Baer P., Geiger H. / Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity // *Stem Cell Int*. 2012;. V.812693.

65. Caplan A. I. / All MSCs are pericytes? // *Cell Stem Cell*. 2008. V.3(3).229–230.

66. Hoogduijn M., Popp F., Verbeek R., et al. / The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy // *Int. Immunopharmacology*. 2010. V. 10 (12). 1496–1500.

67. Meirelles L. da Silva, Fontes A., Covas D. T., Caplan A. I. / Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells // *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2009. V. 20 (5-6). 419–27.

68. Salgado A., Reis R., Sousa N., Gimble J. / Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine // *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010. V. 5 (2). 103–10.

69. Planat-Benard V., Silvestre J., Cousin B., et al. / Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: Physiological and therapeutic perspectives // *Circulation*. 2004. V.109 (5). 656–63.

70. Traktuev D.O., Prater D.N., Merfeld-Clauss S. et al. / Robust functional vascular network formation *in vivo* by cooperation of adipose progenitor and endothelial cells // *Circ Res* 2009. V.104. 1410–1420
71. Matsumoto D., Sato K., Gonda K., et al. / Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection // *Tissue Eng* 2006. V.12. 3375–3383.
72. Cao Y, Sun Z, Liao L, et al. / Human adipose tissue derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo* // *Biochem Biophys Res Commun* 2005. V.332. 370–379.
73. Rehman J., Traktuev D., Li J., et al. / Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells // *Circulation*. 2004. V. 109 (10). 1292–8.
74. Kilroy G., Foster S., Wu X., et al. / Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors // *J Cell Physiol*. 2007. V. 212 (3). 702–9.
75. Zuk P. A., Zhu M., Mizuno H., et al. / Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // *Tissue engineering* 2001. V. 7. 211–28
76. Bora P., Majumdar A. S. / Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation // *Stem Cell Res Ther* 2017. V.8.145.
77. Tang, W. et al. / White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature // *Science* 2008. V.322. 583–586
78. Tsekouras A, Mantas D, Tsilimigras DI, Moris D, Kontos M, Zografos GC. / Comparison of the Viability and Yield of Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas // *In Vivo*. 2017. V.31(6). 1229–1234.
79. Varghese, J., Griffin, M., Mosahebi, A., & Butler, P. / Systematic review of patient factors affecting adipose stem cell viability and function: implications for regenerative therapy // *Stem Cell Research & Therapy*, 2017. V.8(1).45
80. Morin CL, Pagliassotti MJ, Windmiller D, Eckel RH. / Adipose tissue-derived tumor necrosis factor-alpha activity is elevated in older rats // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997. V.52. B190–5.

81. Wang Y, Sullivan S, Trujillo M, Lee MJ, Schneider SH, Brodin RE, et al. / Perilipin expression in human adipose tissues: effects of severe obesity, gender, and depot // *Obes Res*. 2003. V.11.930–6.
82. Greenberg AS, Obin MS. / Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism // *Am J Clin Nutr*. 2006. V.83. 461S–5S.
83. Brown LM, Gent L, Davis K, Clegg DJ. / Metabolic impact of sex hormones on obesity // *Brain Res*. 2010. V.1350.77–85.
84. Spiga F, Walker JJ, Terry JR, Lightman SL. / HPA axis-rhythms // *Compr Physiol* 2014. V.4. 1273-1298.
85. Geer EB, Islam J, Buettner C. / Mechanisms of glucocorticoid- induced insulin resistance: Focus on adipose tissue function and lipid metabolism // *Endocrinol Metab Clin North Am* 2-14. V.43. 75-102.
86. Desantis AS, Kuzawa CW, Adam EK. / Developmental origins of flatter cortisol rhythms: Socioeconomic status and adult cortisol activity // *Am J Hum Biol* 2015 .V.27. 458-467.
87. Lasikiewicz N, Hendrickx H, Talbot D, Dye L. / Exploration of basal diurnal salivary cortisol profiles in middle-aged adults: Associations with sleep quality and metabolic parameters // *Psychoneuroendocrinology* 2008. V.33.143-151.
88. Bartness TJ, Wade GN. / Photoperiodic control of seasonal body weight cycles in hamsters // *Neurosci Biobehav* 1985. V.9.599-612.
89. Alonso-Vale MI, Andreotti S, Peres SB, Anhe GF, das Neves Borges- Silva C, Neto JC, Lima FB. / Melatonin enhances leptin expression by rat adipocytes in the presence of insulin // *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005. V.288. E805-E812.
90. Serena C, Keiran N, Ceperuelo-Mallafre V et al. / Obesity and type 2 diabetes alters the immune properties of human adipose derived stem cells // *Stem Cells* 2016. V.34. 2559–2573.
91. van Harmelen V, Skurk T, Rohrig K, Lee YM, Halbleib M, Aprath-Husmann I, et al. / Effect of BMI and age on adipose tissue cellularity and differentiation capacity in women // *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003. V.27. 889–95.

92. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. / Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding // *J Lipid Res* 2008. V.49. 1894-1903.
93. Talukdar S, Oh da Y, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, Lu M, Li P, Yan Q, Zhu Y, Ofrecio J, Lin M, Brenner MB, Olefsky JM. / Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase // *Nat Med* 2012. V.18. 1407-1412.
94. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. / Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue // *J Clin Invest* 2003. V.112. 1796-1808.
95. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. / Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance // *J Clin Invest* 2003. V.112. 1821-1830.
96. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. / TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance // *J Clin Invest* 2006. V.116. 3015-3025.
97. Xu X, Grijalva A, Skowronski A, van Eijk M, Serlie MJ, Ferrante AW, Jr. / Obesity activates a program of lysosomal-dependent lipid metabolism in adipose tissue macrophages independently of classic activation // *Cell Metab* 2013. V.18. 816-830.
98. Wensveen FM, Jelencic V, Valentic S, Sestan M, Wensveen TT, Theurich S, Glasner A, Mendrila D, Stimac D, Wunderlich FT, Bruning JC, Mandelboim O, Polic B. / NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance // *Nat Immunol* 2015. V.16. 376-385.
99. Wellen KE, Hotamisligil GS. / Inflammation, stress, and diabetes // *J Clin Invest* 2005. V.115. 1111-1119.
100. Mitterberger MC, Mattesich M, Zwerschke W. / Bariatric surgery and diet-induced long-term caloric restriction protect subcutaneous adipose-derived stromal/progenitor cells and prolong their life span in formerly obese humans // *Exp Gerontol*. 2014. V.56. 106–13.

101. Ambrosi TH, Scialdone A, Graja A et al. / Adipocyte accumulation in the bone marrow during obesity and aging impairs stem cell-based hematopoietic and bone regeneration // *Cell Stem Cell* 2017.V. 20. 771–784.
102. Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Raposio E. / From liposuction to adipose-derived stem cells: indications and technique // *Acta Biomed.* 2019. V.90(2). 197-208.
103. Faustini M, Bucco M, Chlapanidas T, Lucconi G, Marazzi M, Tosca MC, et al. / Nonexpanded mesenchymal stem cells for regenerative medicine: yield in stromal vascular fraction from adipose tissues // *Tissue Eng Part C Methods.* 2010;. V.16. 1515–21.
104. Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, Tarola NA, DiMatteo C, McIlhenny SE, et al. / Availability of adipose-derived stem cells in patients undergoing vascular surgical procedures // *J Surg Res.* 2010. V.163. e105–12.
105. Van Harmelen V, Rohrig K, Hauner H. /Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects // *Metabolism.* 2004. V.53. 632–7.
106. Glashofer M, Lawrence N. / Fat transplantation for treatment of the senescent face // *Dermatol Ther.* 2006.V.19.169–176.
107. Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, et al. / Trends in autologous fat grafting to the breast: A national survey of the American society of plastic surgeons // *Plast Reconstr Surg.* 2013. V. 132. 35–46.
108. Stallworth CL, Wang TD. / Fat grafting of the midface // *Facial Plast Surg.* 2010. V.26. 369–375.
109. Guijarro-Martínez R, Alba LM, Mateo MM, Torres MP, Pascual Gil JV. / Autologous fat transfer to the cranio-maxillofacial region: Updates and controversies // *J Craniomaxillofac Surg.* 2011. V.39.359–363.
110. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. / Lipomodelling: An important advance in breast surgery // *Acta Chir Plast.* 2013. V.55.34–43.

111. Calabrese C, Orzalesi L, Casella D, Cataliotti L. / Breast reconstruction after nipple/areola-sparing mastectomy using cell-enhanced fat grafting. // *Ecancer medical science* 2009. V.3.116.
112. Butterwick KJ. / Lipoaugmentation for aging hands: A comparison of the longevity and aesthetic results of centrifuged versus noncentrifuged fat // *Dermatol Surg.* 2002. V.28.987–991.
113. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al. / On the safety of autologous fat grafting for breast reconstruction // *Plast Reconstr Surg.* 2012. V.119. 1409–1422.
114. Rupnick MA, Panigrahy D, Zhang C-Y, Dallabrida SM, Lowell BB, Langer R, Folkman MJ / Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature // *Proc Natl Acad Sci USA* 2002. V.99.10730-10735.
115. De Carvalho FG, Justice JN, Freitas EC, Kershaw EE, Sparks LM. / Adipose Tissue Quality in Aging: How Structural and Functional Aspects of Adipose Tissue Impact Skeletal Muscle Quality // *Nutrients.* 2019. V.11(11). 2553.
116. Ezure T, Amano S. / Negative regulation of dermal fibroblasts by enlarged adipocytes through release of free fatty acids // *J Invest Dermatol.* 2011. V.131(10). 2004–2009
117. Li L, Mac5Mary S, Marsaut D, et al. / Age-related changes in skin topography and microcirculation // *Arch Dermatol Res* 2006. V.297(9). 412–6.
118. Ashcroft GS, Mills SJ, Ashworth JJ. / Ageing and wound healing. // *Biogerontology.* 2002. V.3(6).337-45.
119. Gosain A, DiPietro LA. / Aging and wound healing // *World J Surg.* 2004. V. 28(3).321-6.
120. Rogers J, Harding C, Mayo A, Banks J, Rawlings A. / Stratum corneum lipids: the effect of ageing and the seasons // *Arch Dermatol Res.* 1996. V.288(12). 765-70.
121. Festa E, Fretz J, Berry R, Schmidt B, Rodeheffer M, Horowitz M, Horsley V. / Adipocyte lineage cells contribute to the skin stem cell niche to drive hair cycling // *Cell.* 2011. V.146(5). 761-71.
122. Farkas JP, Pessa JE, Hubbard B, Rohrich RJ. / The science and theory behind facial aging // *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2013. V.1(01).e8–e15

123. Kahn DM, Shaw RB Jr. / Aging of the bony orbit: a three-dimensional computed tomographic study // *Aesthet Surg J* 2008. V.28(3). 258–64.
124. Mendelson B, Wong CH. / Changes in the facial skeleton with aging: implications and clinical applications in facial rejuvenation // *Aesthetic Plast Surg* 2012. V.36(4). 753–60.
125. Rohrich RJ, Ghavami A, Constantine FC, Unger J, Mojallal A. / Lift- and-fill face lift: integrating the fat compartments // *Plast Reconstr Surg* 2014. V.133(06). 756e–767e
126. Shaw RB Jr, Katzel EB, Koltz PF, et al. / Aging of the facial skeleton: aesthetic implications and rejuvenation strategies // *Plast Reconstr Surg* 2011. V.127. 374–3
127. Moss CJ, Mendelson BC, Taylor GI. / Surgical anatomy of the ligamentous attachments in the temple and periorbital regions // *Plast Reconstr Surg* 2000. V. 105.1475–1490.
128. Lambros V. / Observations on periorbital and midface aging // *Plast Reconstr Surg*. 2007. V.120(5). 1367-1376.
129. Use of adipocyte derived stem and regenerative cells in aesthetic soft tissue augmentation / Cohen SR, Holmes R. // Тез. докл. на ASMS pre-symposium on perioral aging at the American Society of Plastic Surgeon annual meeting. San Diego, CA, 2003
130. Artlett CM. / Inflammasomes in wound healing and fibrosis // *J Pathol*. 2013. V.229. 157–167.
131. Ding J, Tredget EE. / The role of chemokines in fibrotic wound healing // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015. V.4. 673–686.
132. Fayzullin A, Ignatieva N, Zakharkina O, Tokarev M, Mudryak D, Khristidis Y, Balyasin M, Kurkov A, Churbanov S, Dyuzheva T, Timashev P, Guller A, Shekhter A. / Modeling of Old Scars: Histopathological, Biochemical and Thermal Analysis of the Scar Tissue Maturation // *Biology (Basel)*. 2021. V.9;10(2).136.
133. Sun W, Ni X, Sun S, et al. / Adipose-derived stem cells alleviate radiation-induced muscular fibrosis by suppressing the expression of TGF- β 1 // *Stem Cells Int*. 2016. V.5638204.

134. Zhang Q, Liu LN, Yong Q, et al. / Intralesional injection of adipose-derived stem cells reduces hypertrophic scarring in a rabbit ear model // *Stem Cell Res Ther.* 2015. V.6. 145.
135. Zielins ER, Atashroo DA, Maan ZN et al. / Wound healing: an update // *Regen. Med.* 2014. V.9(6). 817–830.
136. Driskell RR, Lichtenberger BM, Hoste E et al. / Distinct fibroblast lineages determine dermal architecture in skin development and repair // *Nature* 2013. V. 504(7479). 277–281.
137. Plikus MV, Guerrero-Juarez CF, Ito M et al. / Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing // *Science* 2017. V.355(6326). 748–752.
138. Spiekman M, Przybyt E, Plantinga JA, et al. / Adipose tissue- derived stromal cells inhibit TGF- β 1-induced differentiation of human dermal fibroblasts and keloid scar-derived fibroblasts in a paracrine fashion // *Plast Reconstr Surg.* 2014. V.134. 699–712.
139. Aiba-Kojima E, Tsuno NH, Inoue K, et al. / Characterization of wound drainage fluids as a source of soluble factors associated with wound healing: comparison with platelet-rich plasma and potential use in cell culture // *Wound Repair Regen.* 2007. V.15.511–520.
140. Kumai Y, Kobler JB, Park H, et al. / Modulation of vocal fold scar fibroblasts by adipose-derived stem/stromal cells // *Laryngoscope.* 2010. V.120. 330–337.
141. Zhang Q, Liu LN, Yong Q, et al. / Intralesional injection of adipose-derived stem cells reduces hypertrophic scarring in a rabbit ear model // *Stem Cell Res Ther.* 2015. V.6.145.
142. Hovius SE, Kan HJ, Smit X, et al. / Extensive percutaneous aponeurotomy and lipografting: a new treatment for Dupuytren disease // *Plast Reconstr Surg.* 2011. V.128.221–228.
143. Krastev, T. K., Schop, S. J., Hommes, J., Piatkowski, A., & van der Hulst, R. R. W. J. / Autologous fat transfer to treat fibrosis and scar-related conditions: a systematic review and meta-analysis // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2020. V.73(11). 2033-2048.

144. D.T. Leong, D.W. Hutmacher, F.T. Chew, T.C. Lim / Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction // *J. Dermatol. Sci.* 2005.V.37. 169-176.
145. Doornaert, M., Colle, J., De Maere, E., Declercq, H., & Blondeel, P. / Autologous fat grafting: Latest insights // *Annals of Medicine and Surgery* 2019,. V. 37. 47–53.
146. Fu S, Luan J, Xin M, Wang Q, Xiao R, Gao Y. / Fate of adipose-derived stromal vascular fraction cells after co-implantation with fat grafts: Evidence of cell survival and differentiation in ischemic adipose tissue // *Plast. Reconstr. Surg.*, 2013.V.132.363–73.
147. S.R. Coleman / Facial augmentation with structural fat grafting // *Clin. Plast. Surg.* 2006. V.33.567-577
148. Shiffman MA. / History of autologous fat transplant survival. In: Shiffman MA. *Autologous Fat Transfer: Art, Science, and Clinical Practice* // Heidelberg: Springer-Verlag. 2010. 5–10.
149. Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, et al. / Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system // *Plast Reconstr Surg.* 2013. V.131.873–880.
- 150.Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. / In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site // *Plast Reconstr Surg* 2004. V.113.391-7.
151. Lei H, Zheng D, Ma GE, et al. / Assessment of effects of physical or chemical factors on fat particle viability by glucose transport test // *Ann Plast Surg.* 2014. V.73. 225–230.
- 152.Marten T, Elyassnia D / Simultaneous facelift and fat grafting. In: Coleman S, Mazzola R, Pu L (eds) *Fat injection— from filling to regeneration.* Thieme Medical Publishers, Inc, New York 2018.
153. Rohrich RJ, Ghavami A, Constantine FC, Unger J, Mojallal A./ Lift- and-fill face lift: integrating the fat compartments // *Plast Reconstr Surg* 2014. V.133(06). 756–767.

154. Pu LLQ / Fat grafting for facial rejuvenation and contouring: a rationalized approach // *Ann Plast Surg* 2018. V.81(6S, Suppl 1).S102–S108
155. Church, C.D. et al. / Isolation and study of adipocyte precursors // *Methods Enzymol.* 2014. V.537. 31–46
156. Bjorntorp, P. et al. / Isolation and characterization of cells from rat adipose tissue developing into adipocytes // *J. Lipid Res.* 1978. V.19. 316–324.
157. Chang H, Do BR, Che JH, et al. / Safety of adipose-derived stem cells and collagenase in fat tissue preparation // *Aesthetic Plast Surg.* 2013. V.37.802–808.
158. Agüena M., Fanganiello R., Tissiani L., et al. / Optimization of parameters for a more efficient use of adipose-derived stem cells in regenerative medicine therapies // *Stem Cells Int.* 2012. V.3036.
159. Shah F., Wu X., Dietrich M. et al. / A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells // *Cytherapy.* 2013. V.15.979–985.
160. Raposio E., Caruana G., Bronomini S., et al. / A novel and effective strategy for the isolation of adipose-derived stem cells: minimally manipulated adipose-derived stem cells for more rapid and safe stem cell therapy // *Plast Reconstr Surg.* 2014. V.133.1406–1409.
161. Markarian C.F., Frey G. Z, Silveira M.D., et al. / Isolation of adipose-derived stem cells: a comparison among different methods // *Biotechnol Lett.* 2014. V.36. 693–702.
162. Conde-Green A., Rodriguez R., Slezak S., et al. / Enzymatic digestion and mechanical processing of aspirated adipose tissue // *Plast Recons Surg.* 2014;. V.134. 54.
163. Aronowitz J., Ellenhorn J. / Adipose stromal vascular fraction isolation: a head-to-head comparison of four commercial cell separation systems // *Plast Reconstr Surg.* 2013. V.132(6). 932–939.
164. Fraser J., Hicok K., Shanahan R., et al. / The Celution system: automated processing of adipose-derived regenerative cells in a functionally closed system // *Adv Wound Care.* 2013. V.3(1).38–45.
165. Tonnard P., Verpaele A., Peeters G. et al. / Nanofat grafting: basic research and clinical applications // *Plast Reconstr Surg* 2013. V.132(4). 1017–1026.

166. Kuka G, Epstein J, Aronowitz J, et al. / Cell Enriched Autologous Fat Grafts to Follicular Niche Improves Hair Regrowth in Early Androgenetic Alopecia // *Aesthet Surg J*. 2020. V.40(6).NP328-NP339.

167. Bank J, Fuller SM, Henry GI, Zachary LS. / Fat grafting to the hand in patients with Raynaud phenomenon: a novel therapeutic modality // *Plast Reconstr Surg* 2014. V.133(5).1109–18.

168. Granel B, Daumas A, Jouve E, Harle J-R, Nguyen P-S, Chabannon C, et al. / Safety, tolerability and potential efficacy of injection of autologous adipose-derived stromal vascular fraction in the fingers of patients with systemic sclerosis: an open-label phase I trial // *Ann Rheum Dis* 2014. V.81.2056

169. Cohen, S. R., Hewett, S., Ross, L., Delaunay, F., Goodacre, A., Ramos, C., ... Saad, A. / Regenerative Cells For Facial Surgery: Biofilling and Biocontouring. *Aesthetic Surgery Journal* 2017. V.37.S16–S32.

170. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, et al. / Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study // *Plast Reconstr Surg*. 2009. V. 124(3).765-774.

171. Amirkhani MA, Shoaee-Hassani A, Soleimani M, Hejazi S, Ghalichi L, Nilforoushzadeh MA. / Rejuvenation of facial skin and improvement in the dermal architecture by transplantation of autologous stromal vascular fraction: a clinical study // *Bioimpacts*. 2016. V.6(3).149-154.

172. Kraemer, R., Sorg, H., Forstmeier, V., Knobloch, K., Liodaki, E., Stang, F. H., ... Kisch, T. / Immediate Dose–Response Effect of High-Energy Versus Low-Energy Extracorporeal Shock Wave Therapy on Cutaneous Microcirculation // *Ultrasound in Medicine & Biology* 2016. V.42(12).2975–2982.

173. Ambrose C. / Pro-Angiogenesis Therapy and Aging: A Mini-Review // *Gerontology* 2017. V.63. 393-400.

174. de la Torre JC / Vascular risk factor detection and control may prevent Alzheimer's disease // *Ageing Res Rev* 2010. V.9.218-225.

175. Arias JI, Aller MA, Arias J. / Surgical inflammation: a pathophysiological rainbow // *J Transl Med*. 2009. V.7.19.

176. Chien LC, Lu KJ, Wo CC, Shoemaker WC. / Hemodynamic patterns preceding circulatory deterioration and death after trauma // *J Trauma*. 2007. V.62. 928–932.
177. Rosser BG, Gores GJ. / Liver cell necrosis: Cellular mechanisms and clinical implications // *Gastroenterology*. 1995. V.108.252–275.
178. Jackson RM, Ann HS, Oparil S. / Hypoxia-induced oxygen tolerance: maintenance of endothelial metabolic function // *Exp Lung Res*. 1988. V. 14.887–896.
179. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. / Adipose-derived stem cells for regenerative medicine // *Circ Res* 2007. V.100.1249–1260.
180. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. / Adipose tissue stem cells: the great WAT hope // *Trends Endocrinol Metab* 2012. V. 23.270–277.
181. Serena C, Keiran N, Ceperuelo-Mallafre V et al. / Obesity and type 2 diabetes alters the immune properties of human adipose derived stem cells // *Stem Cells* 2016. V.34.2559–2573.
182. Silva KR, Liechocki S, Carneiro JR et al. / Stromal-vascular fraction content and adipose stem cell behavior are altered in morbid obese and post bariatric surgery ex-obese women // *Stem Cell Res Ther* 2015. V.6. 72.
183. Badimon L, Cubedo J. / Adipose tissue depots and inflammation: effects on plasticity and resident mesenchymal stem cell function // *Cardiovasc Res* 2017;. V. 113.1064–1073.
184. Palmer AK, Kirkland JL. / Aging and adipose tissue: potential interventions for diabetes and regenerative medicine // *Exp Gerontol* 2016. V.86.97–105.
185. Festa, E. et al. / Adipocyte lineage cells contribute to the skin stem cell niche to drive hair cycling // *Cell* 2011. V.146. 761–771.
186. Li H, Xu Y, Fu Q, et al. / Effects of multiple agents on epithelial differentiation of rabbit adipose-derived stem cells in 3D culture // *Tissue Eng Part A* 2012. V.18(17–18). 1760–70.
187. Derby, B. M., Dai, H., Reichensperger, J., Cox, L., Harrison, C., Cosenza, N., Neumeister, M. W. / Adipose-Derived Stem Cell to Epithelial Stem Cell Transdifferentiation: A Mechanism to Potentially Improve Understanding of Fat

Grafting's Impact on Skin Rejuvenation / *Aesthetic Surgery Journal* 2013. V. 34(1). 142–153.

188. Dobos, G., Trojahn, C., Lichterfeld, A., D'Alessandro, B., Patwardhan, S. V., Canfield, D., ... Kottner, J. / Quantifying dyspigmentation in facial skin ageing: an explorative study // *International Journal of Cosmetic Science* 2015. V.37(5). 542–549.

189. Kikuchi, K., Masuda, Y., Yamashita, T., Sato, K., Katagiri, C., Hirao, T., ... Yaguchi, H. / A new quantitative evaluation method for age-related changes of individual pigmented spots in facial skin // *Skin Research and Technology* 2016. V. 22(3). 318–324.

190. Galzote, C., Estanislao, R., Suero, M.O. et al. / Characterization of facial skin of various Asian populations through visual and non-invasive instrumental evaluations: influence of seasons // *Skin Res. Technol.* 2014. V.20. 453–462.

191. Baquie, M. and Kasraee, B. / Discrimination between cutaneous pigmentation and erythema: comparison of the skin colorimeters Dermacatch and Mexameter // *Skin Res. Technol.* 2014. V.20. 218–227.

192. Ras F., Habets LL., van Ginkel FC., Prahl-Andersen B. / Quantification of facial morphology using stereophotogrammetry - demonstration of a new concept // *J Dent.* 1996;245:369-374.

193. Mailey B., Baker JL, Hossein A. Et al./ Evaluation of facial volume changes after rejuvenation surgery using a 3-dimensional camera // *Aesthetic Surgery Journal* 2016. V. 364:379-387.