

На правах рукописи

КОЭН ИВАН АЛЕКСАНДРОВИЧ

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

3.1.16. Пластическая хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискании ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Мантурова Наталья Евгеньевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России
заведующий кафедрой пластической и
реконструктивной хирургии ФП и ДПО

Кораблева Наталья Петровна

доктор медицинских наук,
КГМА - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО
Минздрава России, профессор кафедры
пластической хирургии

Богов Андрей Алексеевич

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы"

Защита диссертации состоится «___» _____ 202__ г. в _____ часов на заседании Диссертационного совета 21.2.058.10 на базе ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России по адресу: 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России по адресу: 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1. И на сайте www.rsmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 202__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета
Доктор медицинских наук



Ануров Михаил Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Процедура липосакции является одной из самых частых эстетических операций, проводимых как в Российской Федерации, так и во всем мире, уступая первое место только операциям по увлечению груди (ISAPS Global Statistics, 2019). Липосакция – не только способ удаления избыточных жировых отложений и коррекции контуров тела, но и способ получения трансплантата из жировой ткани. Для уменьшения степени травматичности липосакции, улучшения результатов и снижения количества осложнений на данный момент разработано множество методов забора жировой ткани – механические липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция), ультразвуковая липосакция, лазерная липосакция, водоструйная липосакция, радиочастотная липосакция и пр. При этом механические методы липосакции (классическая липосакция, шприцевая липосакция, вибрационная липосакция) являются не только более распространенными, но и всегда входят в состав других методов как окончательный этап сбора жировых клеток (Суламанидзе Г.М., 2008; Сидоренков Д.А., 2010).

В современной пластической хирургии процедуру липосакции все чаще и чаще стала совмещать с последующим использованием компонентов липоаспирата для трансплантации, то есть с последующим липофилингом. Богатая на клеточные элементы жировая ткань после забора чаще всего подвергается ферментативному расщеплению с использованием коллагеназы, реже используются неферментативные методы (центрифугирование, вибрационное разделение). После ферментативной обработки и центрифугирования жировой ткани в пробирке образуются три слоя. Интерес для клинической практики представляют средний и нижний слои липоаспирата. Средний слой представлен в основном адипоцитами – жировыми клетками, с которыми связывают эффект увеличения объема тканей при липофилинге. В нижнем слое скапливается стромально-васкулярная фракция (СВФ), состоящая из стволовых клеток жировой

ткани (СКЖТ), перицитов, эндотелиальных клеток, эритроцитов, фибробластов, гладкомышечных клеток сосудов, гемопоэтических клеток и разнообразных клеток иммунной системы (Васильев В.С. и др., 2019; Doornaert M. et al., 2019; Казанцев И.Б. и др., 2020).

Учитывая широкие возможности применения стволовых клеток в медицине и относительную «простоту» их получения из жировой ткани, в регенеративной медицине стали активно применяться методы липосакции для дальнейшего выделения стволовых клеток и клеточной терапии. Жировая ткань стала важным источником стволовых клеток взрослого организма и находит свое применение не только при коррекции контуров тела, но и в регенеративных целях как в пластической хирургии, так и в смежных специальностях (Казанцев И.Б. и др., 2020; Орлова Ю.М. и др., 2021).

На жизнеспособность и функции стволовых клеток могут оказывать влияние как сами методы получения жировой ткани, так и множество индивидуальных факторов пациента, таких как возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), наличие хронических заболеваний, а также свойства донорской области (Кириллова К.А. и др., 2014; Pérez L. M. et al., 2015; Гатиатулина Е.Р. и др., 2019).

В ряде исследований сообщалось о возможном негативном влиянии на количество стволовых клеток и характеристики СКЖТ высоких значений отрицательного давления при использовании аппаратного метода сбора жировой ткани. Mojallal и др. получили существенно большее количество СКЖТ из жировой ткани, собранной при более низком отрицательном давлении (-350 мм рт. ст.), чем при высоком отрицательном давлении (-700 мм рт. ст.) (Mojallal A. et al., 2008). Chen и др. сообщили о более чем двухкратном увеличении количества клеток в СВФ, выделенной из жировой ткани, собранной при низком отрицательном давлении (-225 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.), чем в СВФ из жировой ткани, полученной при высоком отрицательном давлении (-410 мм рт. ст. $\pm$ 37 мм рт. ст.). Сообщалось и о более быстром росте клеток и большей секреции ряда факторов роста в клетках, полученных при более низком отрицательном давлении в начальных пассажах (Chen Y. W. et al., 2017). Другие же исследователи не обнаруживают существенных

различий ни в жизнеспособности адипоцитов, ни в количестве мезенхимальных стволовых клеток в жировой ткани, полученной при различных отрицательных давлениях. К примеру, в исследованиях Charles-de-Sá и др. указано, что при отрицательном давлении -350 мм рт. ст. и -750 мм рт. ст. количество СКЖТ не отличалось в образцах, собранных у 15 пациентов из одной анатомической области. Также согласно Charles-de-Sá и др. отмечалось отсутствие различий в количестве и жизнеспособности адипоцитов, что представляется нелогичным, так как влияние высокого отрицательного давления на адипоциты достаточно хорошо изучено и имеет строго отрицательную корреляцию (Lee J. H. et al., 2013; Charles-De-Sá L. et al., 2015; Molitor M. et al., 2021). Эти противоречивые данные могут быть обусловлены высокой погрешностью измерений или ошибкой в методологии исследований и требуют дополнительной проверки.

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

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

В зарубежной литературе можно встретить отдельные сравнения липоаспирата, полученного различными методами липосакции после операций, выпол-

ненных у разных пациентов по принципу один пациент – один метод липосакции, но ни в одном исследовании не упоминается сравнение липоасpirата, полученного несколькими методами липосакции у одного пациента. Использование же различных методов липосакции у одного пациента позволяет избежать искажений, связанных с индивидуальными анатомическими и физиологическими особенностями каждого конкретного человека, что принципиально важно, когда речь идет об устойчивости адипоцитов и активности СКЖТ.

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

Исходя из вышесказанного были сформулированы цели и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

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

Задачи исследования

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

5. Сравнить длительность проведения липоаспирации различными методами механической липосакции.

Новизна исследования

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

Положения, выносимые на защиту

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

Теоретическая и практическая значимость исследования

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

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

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

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

Методология и методы исследования

Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор пациентов и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне проспективного когортного исследования с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 181 от 28 января 2019г.).

Апробация работы

Основные положения и результаты работы были обсуждены на II Международном конгрессе "Мультидисциплинарная эстетическая медицина". Апробация работы состоялась на заседании кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова 6 июня 2022 года.

Личный вклад автора

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследований включены в учебные материалы кафедры пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий РНИМУ им. Н.И. Пирогова для теоретической и практической подготовки врачей, ординаторов и аспирантов.

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

Публикации

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

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и указателя использованной литературы. Текст диссертационного исследования проиллюстрирован 20 таблицами и 23 рисунками. Список литературы содержит 17 отечественных и 167 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

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

При этом для получения жировой ткани в каждой отдельной области применялся только один из 4-х способов механической липосакции: 1) классическая липосакция при низком отрицательном давлении - 250 мм рт. ст. (low-SAL – suction-assisted liposuction low negative pressure); 2) классическая липосакция при высоком отрицательном давлении - 750 мм рт. ст. (high-SAL – suction-assisted liposuction high negative pressure); 3) шприцевая липосакция (SYR – syringe liposuction); 4) вибрационная липосакция (PAL – power-assisted liposuction).

Перед началом исследования выбор соответствия области и способа проведения липосакции для каждой из участниц устанавливался случайным образом, следуя процедуре рандомизации, реализованной в программе «STATISTICA 12.0» [StatSoft, Inc., 2014].

Процедура липосакции

Липосакцию проводили с соблюдением правил асептики и антисептики в условиях общей анестезии после предварительной инфильтрации модифицированным раствором Кляйна (1 л физиологического раствора, 1 мл адреналина 1:1000, 10 мл лидокаина 10%) тупой канюлей 3 мм типа Mercedes, прибегая к супервлажной технике. Время экспозиции составляло 30-40 мин для каждой области. Инфильтрация и дальнейшая липосакция проводилась через 4 прокола кожи в типичных местах длиной не более 0,5-0,6 см.

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

ткань в технике классической липосакции собирали с помощью тупой канюли для PAL Liposculptor типа MicroAire Tri-Port II с 3 отверстиями и внутренним диаметром 4 мм. Для забора жировой ткани с помощью вибрационной липосакции использовали PAL Liposculptor компании MicroAire с электрическим манипулятором с длиной хода возвратно-поступательного движения канюли 2 мм и частотой ходов 4000/мин в режиме 100% мощности.

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

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

Выделение стромально-васкулярной фракции

Липоаспират перемещали в центрифужные пробирки на 50 мл. Для удаления детрита и клеток крови липоаспират промывали стерильным фосфатно-солевым буфером. Затем обрабатывали раствором 0,075% коллагеназы I типа (Sigma) в фосфатно-солевом буфере в течение 30 мин при 37°C и постоянном перемешивании. Коллагеназу инактивировали равным объемом DMEM, 10% фетальной бычьей сыворотки и центрифугировали в течение 10 мин. Осадок клеток ресуспендировали в DMEM и 10% фетальной бычьей сыворотке, пропускали через фильтр с размером ячеек 100 мкм для удаления остатков. Фильтрат центрифугировали и высевали в обычные флаконы для культивирования тканей в среде DMEM (Gibco), 10% фетальной бычьей сыворотке, дополненной 100 ед./мл пенициллином, 100 мкг/мл стрептомицином и рекомбинантным человеческим фактором роста фибробластов (FGF2; 10 нг/мл; Gen Script). Клетки культивировали до тех пор, пока конфлюентность не достигала 70–80%, затем клетки пассировали.

Культивирование стволовых клеток жировой ткани

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

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

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

Статистическая обработка данных

Для обработки данных применялись методы описательной статистики. Для определения средних величин, стандартного отклонения, медиан, интерквартильного интервала использовался программный статистический пакет “StatSoft, Inc. STATISTICA, v 12.0”. Для определения 95% доверительных интервалов медианы (ДИ) использовалась программа “Довинт v.1.0”.

Результаты исследования

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил $34,2 \pm 4,3$ года (от 23 лет до 42 лет), а среднее значение ИМТ было равно $25,7 \pm 2,4$ кг/м² (от 20,3 кг/м² до 29,7 кг/м²). Полученные значения ИМТ позволяют сделать вывод, что все пациенты входили в категорию лиц с нормальным ИМТ (от 18,5 кг/м² до 25 кг/м²) и предожирением (от 25 кг/м² до 30 кг/м²).

Средняя длительность вибрационной липосакции объёма жировой ткани 50 мл составила $76,0 \pm 13,7$ сек., классической липосакции с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.) – $88,2 \pm 15,4$ сек., классической липосакции при низком отрицательном давлении (-250 мм рт. ст.) – $111,9 \pm 20,7$ сек. Средняя длительность шприцевой липосакции – $314,5 \pm 73,5$ сек., значительно превышала длительность липосакции при помощи аппаратных методов. Значительно большая длительность шприцевой липосакции соответствует физическим законам гидродинамики, согласно которым объёмная скорость движения жидкости по трубе прямо пропорциональна разнице давления на концах трубы и радиусу сечения трубы. Шприцевая липосакция отличалась от аппаратных методов непостоянством отрицательного давления, со временем падающего до нуля, и меньшим диаметром канюли (4 мм для аппаратных методов и 2,5 мм для шприцевой липосакции).

Сравнение средней длительности различных методов механической липосакции показало, что наиболее эффективной с точки зрения временных затрат оказалась вибрационная липосакция. На втором и третьем местах – классическая липосакция с высоким отрицательным давлением и классическая липосакция с низким отрицательным давлением соответственно (Таблицы 1, 2, рисунок 1).

Таблица 1 – Длительность различных способов механической липосакции

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

Таблица 2 – Межгрупповое сравнение длительности липосакции в зависимости от способа механической липосакции

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

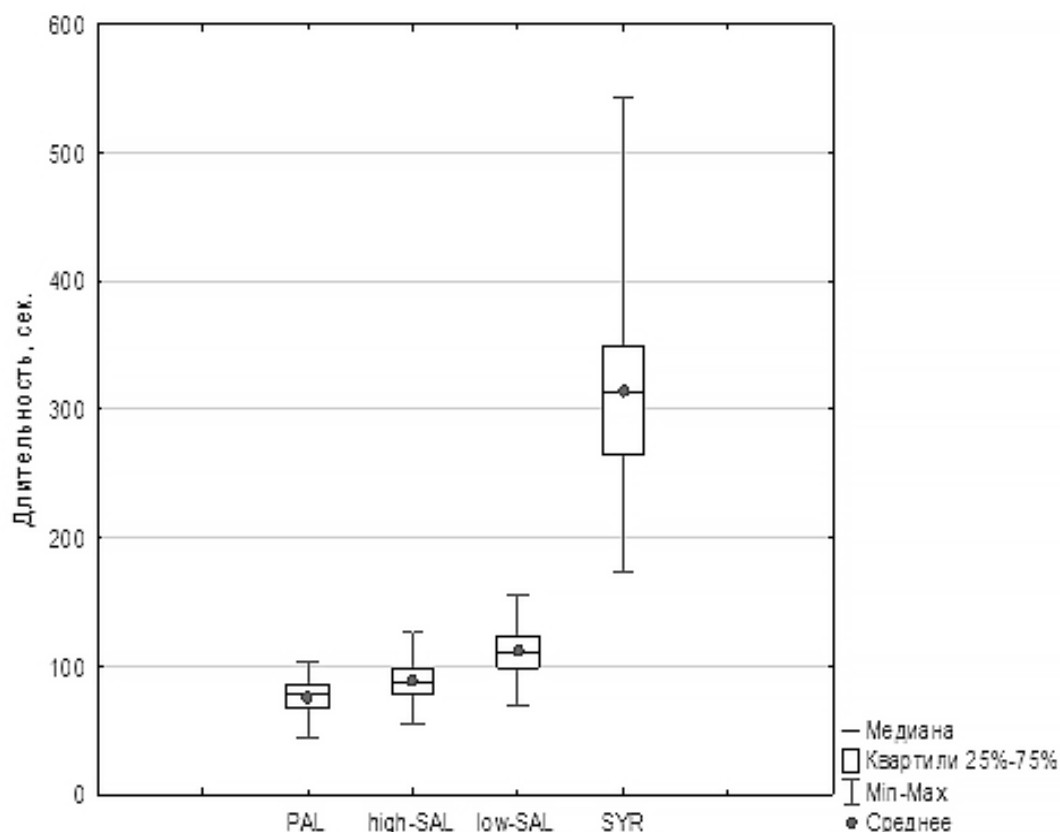


Рисунок 1 – Сравнение длительности способов механической липосакции

Межгрупповое сравнение длительности различных видов механической липосакции показало значимые статистические различия между всеми группами. Таким образом, можно предположить, что при проведении липосакции большого объема длительность операции может быть значительно сокращена благодаря применению вибрационного метода.

Количество СКЖТ варьировало в достаточно широких пределах – от $0,098 \times 10^6/\text{мл}$ до $1,134 \times 10^6/\text{мл}$ (Таблица 3). При межгрупповом анализе количества СКЖТ, полученных разными видами механической липосакции, статистически значимо было установлено различие между группой классической липосакции с высоким отрицательным давлением и группой шприцевой липосакции (Таблица 4, рисунок 2).

Таблица 3 – Количество стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

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

Таблица 4 – Межгрупповое сравнение количества стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

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

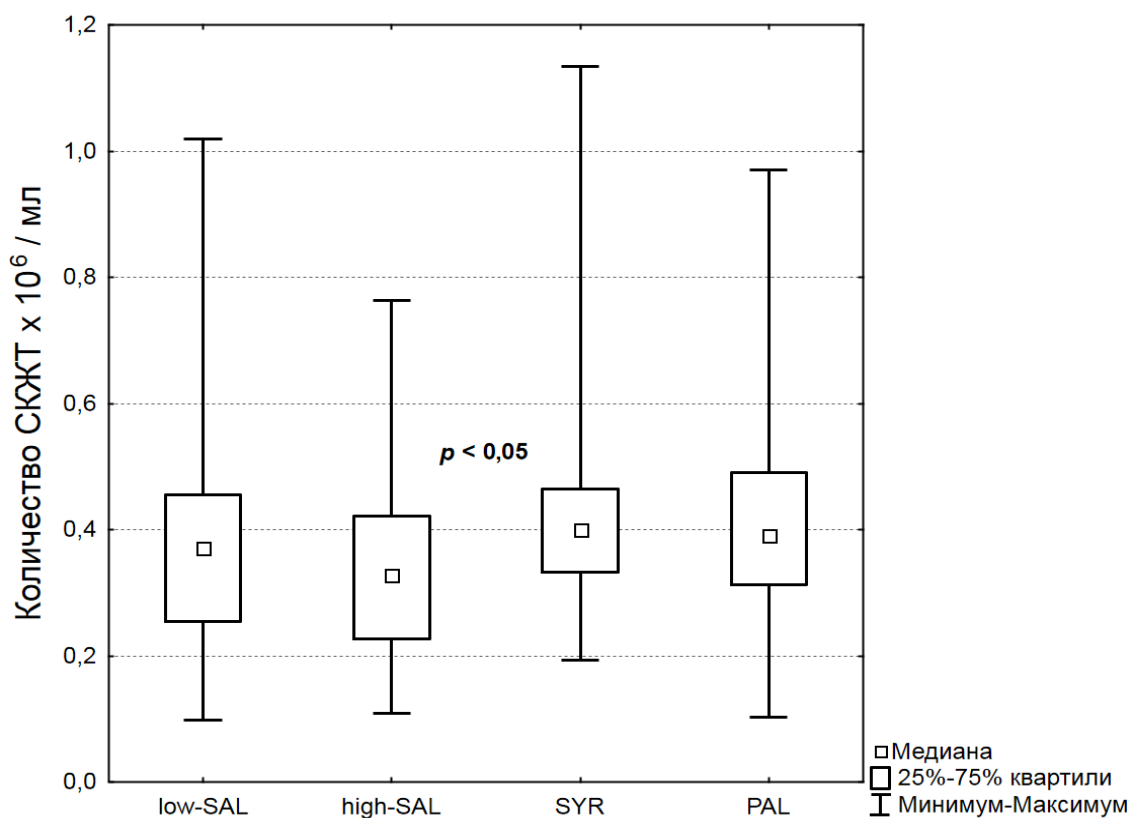


Рисунок 2 – Сравнение количества стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

Статистически значимые различия в количестве СКЖТ между группой классической липосакции с высоким отрицательным давлением и группой шприцевой липосакции скорее всего обусловлены меньшим диаметром канюли для шприцевой липосакции, большим количеством отверстий и непостоянным давлением, что соответствует данным некоторых литературных источников. Высокое отрицательное давление безусловно негативно влияет на целостность адипоцитов, полученных в результате липосакции. Однако целостность адипоцитов, по некоторым литературным данным, не имеет существенного значения для объёмного эффекта липофилинга (Molitor M. et al., 2021). Полученные результаты позволяют сделать два вывода: при липосакции малых объёмов (до 200 мл) жировой ткани с целью последующего липофилинга для увеличения выхода СКЖТ рекомендуется использовать шприцевую липосакцию; при липосакции больших объёмов (свыше 200 мл) жировой ткани с целью последующего

липофилинга в силу высокой длительности шприцевой липосакции и малых различий в выходе СКЖТ, особенно учитывая доминирующее значение объёмного эффекта при больших объёмах, рекомендуется использовать вибрационную или классическую липосакцию с высоким отрицательным давлением (-750 мм рт. ст.).

Была проведена оценка жизнеспособности СКЖТ при помощи анализатора Vi-CELL XR (Beckman Coulter) (Таблица 5). Оценка жизнеспособности показала, что выживаемость СКЖТ после культивирования оставалась одинаково высокой вне зависимости от способа липосакции и достигала значений, превышающих 90%. Выраженных различий между группами обнаружено не было.

Таблица 5 – Жизнеспособность стволовых клеток жировой ткани в зависимости от способа механической липосакции

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

В нашем исследовании было проведено иммунофенотипирование с антигенами: CD31, CD34, CD44, CD45, CD59, CD105, CD146, CD13, CD29, CD73, CD90 (Таблицы 6, 7).

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

Экспрессия маркеров гемопоэза CD34, CD45 была очень низка, и различий в их экспрессии в зависимости от способа липосакции обнаружено не было. Иммунофенотипические различия обнаруживаются только для маркера гемопоэза

CD31. Была выявлена вариабельность экспрессии CD146 в пределах от 9,8% до 18,8%.

Таблица 6 – Иммунофенотипические маркеры с высоким уровнем экспрессии

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

Таблица 7 – Иммунофенотипические маркеры с низким уровнем экспрессии

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

Мы полагаем, что глубокое понимание факторов, способных повлиять на жизнеспособность и характеристики жировой ткани при ее аспирации, помогут в будущем улучшить результаты хирургических вмешательств с использованием аутологичных жировых трансплантатов.

Заключение

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ влияния на культуральные свойства СКЖТ различных видов липосакций – вибрационной, шприцевой, классической липосакции при низком давлении (-250 мм рт. ст.) и классической липосакции при высоком отрицательном давлении (-750 мм рт. ст.).

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

Оптимизация методологии аспирации и трансплантации жировой ткани имеет важное значение, поскольку факторы, связанные с пациентом, в большинстве случаев неизменны, и успех процедуры зависит от эффективности методов липосакции и липофилинга.

ВЫВОДЫ

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

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

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

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

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

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

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

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕТАЦИИ

1. Коэн И.А. Факторы, влияющие на биологические свойства липоасpirата для последующего липофилинга / И. А. Коэн, А. Ю. Устюгов, Н. Е. Мантурова // **Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – № 2. – С. 73-80.**
2. Коэн И.А. Влияние соматических факторов пациента на свойства липоасpirата / И. А. Коэн, А. Ю. Устюгов, Н. Е. Мантурова // **Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – № 3. – С. 102-108.**
3. Коэн И.А. Влияние различных способов липосакции на культуральные свойства стволовых клеток жировой ткани / И. А. Коэн, А. Ю. Устюгов, Н. Е. Мантурова // **Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – № 4. – С. 47-52.**

Список сокращений

ДИ – доверительный интервал

ИМТ – индекс массы тела

СВФ – стромально-васкулярная фракция

СКЖТ – стволовые клетки жировой ткани

CD – кластер дифференцировки

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

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

PAL (power-assisted liposuction) – вибрационная липосакция

SYR (syringe liposuction) – шприцевая липосакция

ДЛЯ ЗАМЕТОК