

*На правах рукописи*



**Даштоян Георгий Эдуардович**

**Сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на  
приживляемость жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных  
животных**

3.1.9. Хирургия

3.1.16. Пластическая хирургия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научные руководители:**

доктор медицинский наук

доктор медицинский наук, доцент

**Старцева Олеся Игоревна**

**Истранов Андрей Леонидович**

**Официальные оппоненты:**

**Бежин Александр Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий кафедрой

**Кораблева Наталья Петровна** – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра пластической и реконструктивной хирургии, заведующая кафедрой

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 25 сентября 2023 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



**Семиков Василий Иванович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Пересадка собственной жировой ткани в современной практике пластических хирургов занимает значительное место и представляет собой как отдельный оперативный подход, так и возможность комбинации данного метода с другими операциями. Возможности данной методики позволяют решать многие проблемы: от восполнения различных объемных дефектов приобретенного и врожденного характера, до применения в эстетических целях при коррекции возрастных изменений мягких тканей.

Среди других наполнителей, успешно используемых в пластической хирургии, стоит отметить использование искусственных материалов, таких как силиконовые протезы и синтетические филлеры различных модификаций. При сохранении целостности кожных покровов силиконовые имплантаты позволяют добиться впечатляющих эстетических результатов, решая широкий спектр задач – восполнение объемов, реконструктивные операции для восстановления конфигурации лица и тела, дерматензия и иные гармонизирующие операции. Но при этом необходимо отметить, что любой синтетический материал, включая и инертный медицинский силикон, подразумевает под собой наличие рисков его воспалительных осложнений, повреждений имплантов и необходимости замены (Visscher L.E. et al., 2017; P.I. Heidekrueger P.I. et al., 2018).

Конкурирующим методом для восполнения объемов тканей являются комплексы собственных тканей – лоскуты. С появлением ангиосомной теории Taylor в арсенале пластических хирургов появились значительные возможности лоскутных реконструкций, большим многообразием мягких тканей в виде многокомпонентного лоскута на сосудистой ножке. Такой комплекс аутоканей, являясь собственным материалом пациента, не отторгается после успешной операции и решает большинство эстетических и функциональных задач в течение одной операции. В дополнение стоит отметить, что собственные ткани имеют такие преимущества как пластичность, схожесть структуры тканей и их температуры. Но и у микрохирургической аутотрансплантации тканей есть свои существенные ограничения – высокая техническая сложность выполнения, наличие

рубцов в донорской области и высокая зависимость от гемодинамических показателей организма (Cho M.J. et al., 2017; Tran B.N.N. et al., 2017).

Поиск компромиссов между снижением травматизации используемых хирургических методов и достижением максимального терапевтического эффекта при закрытии различных дефектов врожденного и приобретенного характера, контурных деформаций и дефицита мягких тканей побудил пластических хирургов к более детальному изучению пересадки собственной жировой ткани. Безопасная, малоинвазивная методика на протяжении всей долгой истории попыток ее применения проигрывала более сложным вышеупомянутым методам, имея главный существенный недостаток – непрогнозируемое и неэффективное приживление пересаженного жира. Снижение резорбции пересаженной жировой ткани и поиск возможностей повлиять на нее является краеугольным камнем при использовании данной методики и целью возросшего количества публикаций на эту тему в профессиональной научной литературе (Coleman S.R., 2006).

По данным Международного Общества Эстетической Пластической Хирургии (ISAPS), в 2017 г. было выполнено более миллиона пересадок жировой ткани исключительно в эстетических целях – аугментация молочных желез и ягодичной области, а также для коррекции возрастных и иных изменений мягких тканей лица. Широкая распространенность пересадки жировой ткани раскрывает и подчеркивает высокую актуальность проблемы резорбции.

### **Степень разработанности темы исследования**

На сегодняшний день исследовали многих стран мира (США, Европа, Япония, Китай) достигли высоких результатов в изучении клеточных технологий и различных возможностей клеточной стимуляции с целью снижения проявления резорбции и усиления приживаемости пересаженных графтов.

Одним из наиболее популярных методов стимуляции являются различные препараты аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (АОТ) (Lindros B. et al., 2011), регенеративный потенциал которой зависит от уровня секреции белков (факторов роста), которые высвобождаются из альфа-гранул тромбоцитов.

Группой ученых из США, Европы и Азии разработана современная общепринятая классификация препаратов аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, – делится на 4 класса, в зависимости от концентрации лейкоцитов и фибрина:

1. чистый обогащенный тромбоцитами фибрин (P-PRF – Pure Platelet Rich Plasma);
2. чистая аутоплазма, обогащенная тромбоцитами крови (P-PRP – Pure Platelet Rich Plasma);
3. фибрин, обогащенный тромбоцитами и лейкоцитами (L-PRF – Leucocyte and Platelet Rich Fibrin);
4. аутоплазма, обогащенная лейкоцитами и тромбоцитами крови (L-PRP – Leucocyte and Platelet Rich Plasma) (Dohan Ehrenfest D.M. et al., 2012).

Было доказано, что за счет широкого спектра факторов роста АОР стимулирует образование коллагена, ускоряет регенерацию кожи и слизистых оболочек, индуцирует рост сосудов, эндотелия, обеспечивает гемостаз, уменьшает боль, обладает противовоспалительным эффектом, снижает риск инфекционных осложнений, предотвращает послеоперационные осложнения. В основе этих эффектов лежит синергетическое взаимодействие факторов роста с местными клетками, обуславливающее специфические реакции: пролиферацию, клеточную миграцию и синтез экстрацеллюлярного матрикса (Сао Y. et al., 2018).

Наиболее перспективным методом клеточной стимуляции приживления графтов на сегодняшний день является использование стволовых клеток жировой ткани (СКЖТ). Основными преимуществами данного метода является относительно простое получение самой фракции стволовых клеток, в большом количестве находящихся в жировой ткани. Более того, Zuk P.A. et al. (2002) показали, что свойства мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани имеют большое сходство с подобными клетками костного мозга, но получение их значительно упрощается с применением техники вакуумной аспирации.

Исследования пересаженного материала позволяют предположить, что гибель адипоцитов и значительная резорбция происходят вследствие недостаточной реваскуляризации и последующего склероза. При этом результаты доклинических и клинических исследований по применению мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани позволяют предположить, что подобного рода клеточная стимуляция повышает степень неоангиогенеза за счет мультипотентности СКЖТ и, в результате, значительно повышает выживаемость графтов (Zuk P.A. et al., 2002; Zhu M. et al., 2010). Однако стоит

отметить, что среди всех клинических исследований есть случаи с отрицательными результатами, где авторы не отметили никаких стимулирующих свойств СКЖТ (Liu W.H. et al., 2015). Поэтому изучение влияния мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на приживаемость аутотрансплантатов является крайне актуальным и стратегически необходимым для дальнейшего развития пересадки собственного жира.

Противоречивые данные и большой интерес к данному методу лег в основу проведения нашего эксперимента с целью анализа влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживаемость жировых аутотрансплантатов.

### **Цель исследования**

Определить объективное влияние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на приживаемость пересаженных жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных животных для увеличения приживаемости жировых аутотрансплантатов в хирургической практике.

### **Задачи исследования**

1. Разработать методику хирургической пересадки жировой в ткани в эксперименте на мелких лабораторных животных.
2. Оценить эффективность экспериментальной модели и реципиентной зоны как области для хирургической пересадки.
3. Разработать методику приготовления СКЖТ.
4. Создать модель экспериментальной хирургической пересадки жировой ткани с добавлением СКЖТ.
5. Доказать влияние СКЖТ на приживаемость жировых аутотрансплантатов в эксперименте на мелких лабораторных животных.
6. Обосновать возможность и целесообразность использования СКЖТ при хирургической пересадке жировой ткани для увеличения приживаемости аутотрансплантатов в клинической практике.

## **Научная новизна исследования**

Проведенное комплексное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживаемость жировых аутотрансплантатов дает объективную оценку влияния стволовых клеток жировой ткани на приживаемость жировых аутотрансплантатов в пластической хирургии с помощью лабораторных и функциональных методов.

Разработанная экспериментальная модель эффективна для моделирования хирургической пересадки, в том числе пересадки собственной жировой ткани в экспериментах на мелких лабораторных животных.

Данное исследование позволяет проанализировать прогрессирующие механизмы адаптации пересаженного материала в сроки 1, 3 и 6 месяцев и оценить механизмы фиброза, уменьшение объема и процессы неоваскуляризации. Убедительно продемонстрировано преимущество добавления СКЖТ на всех этапах исследования в сравнении с хирургической пересадкой чистой взвеси жировой ткани.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

На основе проведенного экспериментального исследования аутотрансплантации жировой ткани и аутотрансплантации жировой ткани, обогащенной стволовыми клетками, показаны достоинства и недостатки каждой из методик, подготовлен фундамент для дальнейших клинических исследований в пластической и реконструктивной хирургии.

Разработаны и внедрены в практику методы культивирования стволовых клеток жировой ткани, а также оптимальная концентрация для дальнейшей пересадки подготовленного материала.

## **Методология и методы исследования**

В данном исследовании применялись клинические, инструментальные и лабораторные методы исследования, а также методы фотографирования и анкетирования. Объектом исследования являлись лабораторные животные в количестве 30 кроликов

породы «Шиншилла» мужского и женского пола, которым была выполнена пересадка собственной жировой ткани в два этапа.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная экспериментальная модель достоверно показала, что хирургическая пересадка собственной жировой ткани является клинически значимым и перспективным методом для хирургического восполнения дефектов мягких тканей различного расположения и этиологии, имея обширное поле для научных изысканий в возможностях воздействия на клеточном уровне.
2. Проведенное экспериментальное исследование показало, что обогащение пересаженной жировой ткани мезенхимальными стволовыми клетками позволяет не только усовершенствовать стандартную хирургическую процедуру липофилинга, но и значительно повлиять на выживаемость жировых трансплантатов за счет усиления неоваскуляризации, снижения явлений резорбции и фиброза последних.
3. Выполнение сравнительного гистологического анализа пересаженных аутопрепаратов позволяет комплексно оценить три наиболее важных клинических показателя: явления фиброза, резорбции и остаточного объема.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Достоверность выполненного исследования обеспечивается последовательной и логичной постановкой задач, их решением, использованием современных апробированных методов сравнительных и лабораторных исследований, а также достаточным объемом данных и количеством исследуемых лабораторных моделей в каждой отдельной группе. В работе используются методы статистического анализа (тест Манна-Уитни для сравнения двух групп, ранговый дисперсионный анализ Краскала-Уоллеса и тест Тьюки для сравнения трех и более групп) и критической оценки, которые прямо коррелируют с данными мировой научной литературы.



## **Внедрение результатов исследования**

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и в лечебный процесс клиники онкологии, реконструктивной хирургии и радиологии УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы были обсуждены и доложены: в школе реконструктивной и эстетической хирургии «Комплексный подход в реконструктивной и эстетической хирургии» (г. Нижний Новгород, 7–6 февраля 2015 г.); в учебном центре компании Clovermed в рамках курса «Пересадка собственного жира от основ до клинического применения» (г. Москва, 16 сентября 2015 г.); на Национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология» (г. Москва, 3–5 декабря 2015 г.); в рамках обучающего курса по пересадке жировых ауто трансплантатов «Ауто трансплантация жира и эстетическая хирургия груди. Симбиоз будущего» в клинике «Семейная», на базе кафедры пластической хирургии ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, НОКЦ «Пластическая хирургия» НИО (г. Москва, 2 декабря 2016 г.); в рамках конгресса «Инновационная школа эстетической медицины» (г. Москва, 2–3 июля 2021 г.).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (г. Москва, 10.11.2022, протокол №7).

## **Личный вклад автора**

Автор лично занимался проведением экспериментального исследования пересадки собственной жировой ткани с применением мезенхимальных стволовых клеток и принял участие в оценке экспериментальных данных. Прооперированно 30 лабораторных животных в виде кроликов породы «Шиншилла», получены и изучены гистологические материалы, проведена статическая оценка полученных результатов.

## **Публикации**

По результатам исследования автором опубликовано 3 работы, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в зарубежном научном издании, индексируемом в международных базах (Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer).

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Тема исследования соответствует паспорту научной специальности 3.1.9. Хирургия, а именно пунктам 4, 6 направлений исследований, и пунктам 11, 15 паспорта научной специальности 3.1.16. Пластическая хирургия.

## **Объем и структура работы**

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы: всего 99 страниц машинописного текста. Работа содержит 6 таблиц и 27 рисунков. Список литературы включает 161 источник (16 отечественных, 145 зарубежных авторов).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Материалом для изучения и получения препаратов нами были отобраны лабораторные животные в количестве 30 кроликов породы «Шиншилла» мужского и женского пола, в возрасте от 1 до 2 лет (в среднем 1,4 года), весом от 2 до 2,5 кг, без признаков известных инфекционных и вирусных заболеваний. Во время проведения эксперимента соблюдались положения Национального Исследовательского Консилиума по использованию лабораторных животных.

Операции проводили под общей анестезией с сохранением дыхательной функции путем внутримышечного введения 1,0–1,2 мл раствора Золетила (из расчета 15 мг/кг) и Рометара (из расчета 2 мг/кг).

Исследование включило в себя 3 серии экспериментов, в каждой из которой использовали по 10 животных.

Животные подготавливались к проведению оперативного вмешательства путем голодания в течение 8 часов до операции, также нами предварительно проводилась подготовка операционного поля в условиях анестезии.

Исследование проводили в 3 этапа:

*1-й этап (получение липоасpirата и культивирование СКЖТ в лаборатории):*

- забор жировой ткани из донорской области (задняя поверхность шейного отдела – правая сторона R) для выделения СКЖТ;
- культивирование СКЖТ в течение 30 дней.

*2-й этап (получение материала и его пересадка в реципиентную область):*

- забор жировой ткани из контрлатеральной донорской области (задняя поверхность шейного отдела – левая сторона L) и обработка липоасpirата;
- пересадка обработанной жировой ткани БЕЗ СКЖТ в реципиентную область подкожно (ушная область – левая сторона L);
- пересадка обработанной жировой ткани + СКЖТ в реципиентную область подкожно (ушная область – правая сторона R).

*3-й этап (гистологический этап):*

- гистологическая и статистическая оценка аутоотрансплантата после операции в сроки: 1,

3, 6 месяцев.

### Результаты исследований

В контрольной группе животных, где трансплантировалась суспензия жировой ткани из холки кроликов без добавления МСК, к 1 месяцу после операции в тканях раковины обнаруживали жировую ткань без четких границ, без признаков тканевого отторжения и без некроза, что свидетельствовало о полном приживлении трансплантата. Однако уже на этот срок у 3-х из 5 животных отмечались признаки разной степени резорбции жировой ткани макрофагами и гигантскими многоядерными клетками, а также прорастание трансплантата соединительной тканью (Рисунок 1).

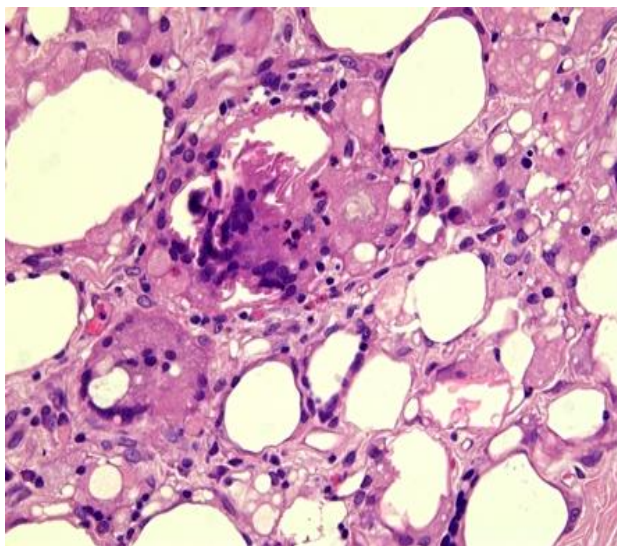


Рисунок 1 – Контрольная группа, 1 месяц. Прорастание жировой ткани имплантата соединительной тканью. В центре – многоядерная гигантская клетка, отмечается также лимфо-макрофагальная инфильтрация и скопление бесструктурного жира. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 400

При фазово-контрастной микроскопии выявляются коллагеновые волокна растущей соединительной ткани и многочисленные крупные и мелкие жировые капли, оставшиеся после резорбции жировой ткани (Рисунок 2).

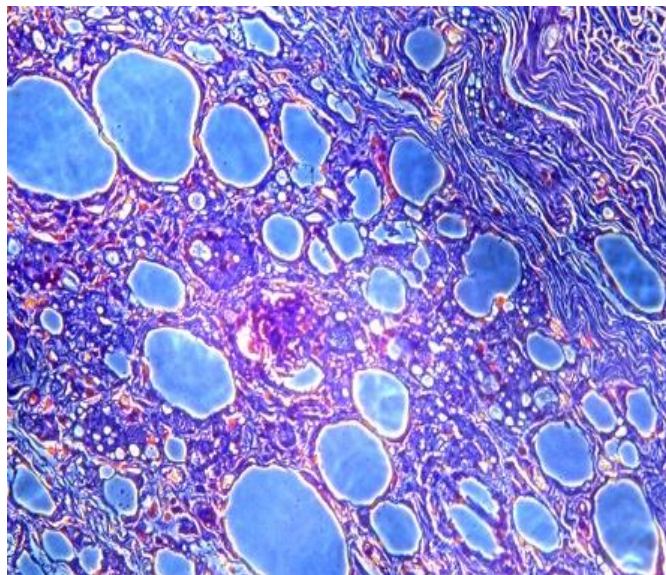


Рисунок 2 – Контрольная группа, 1 месяц. При фазово-контрастной микроскопии отчетливо видны мелкие жировые капли в жировой ткани, пророщенной соединительной тканью. Ув. x 200

К 3-м месяцам после операции значительно усилилась как резорбция жира, так и замещение его фиброзной соединительной тканью. Объем жировой ткани резко сокращался (Рисунок 3).

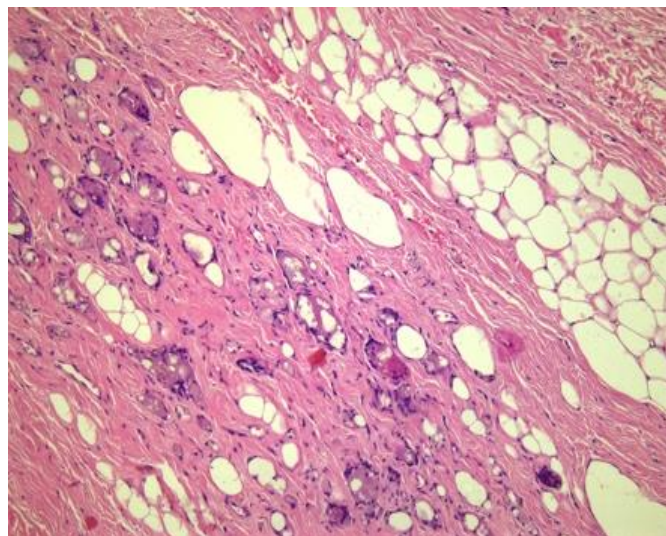


Рисунок 3 – Контрольная группа, 1 месяц. Проращение тканей жирового имплантата фиброзной соединительной тканью с отдельными гигантскими клетками. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x 100

Через 6 месяцев в 4-х из 5 случаев жир в ушной раковине уже не обнаруживался. В замещившей его фиброзной соединительной ткани выявлялись признаки обратного развития фиброза (инволюции), у части животных оставались олеогранулемы – гранулемы из фагоцитирующих жир клеток (Рисунок 4).



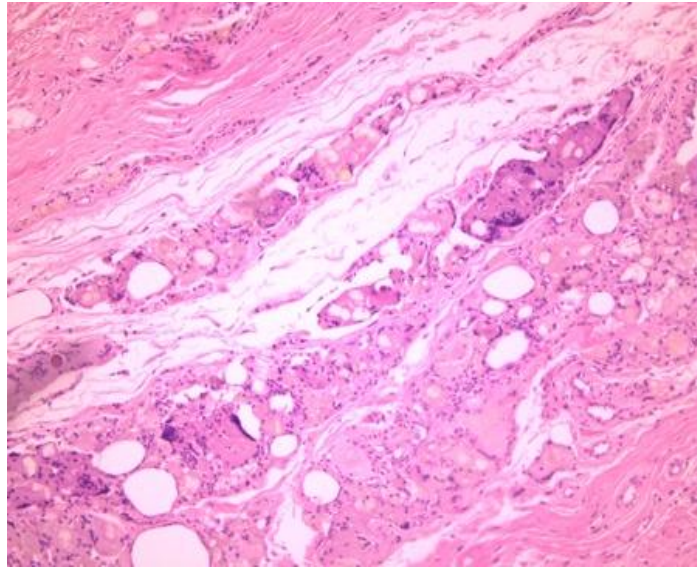


Рисунок 4 – Контрольная группа, 6 месяцев. Крупная олеогранулема в фиброзной ткани, заместившей жир. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 200

В опытной группе животных, в которой в жировой ткани аутотрансплантата добавлялись МСК, уже к 1 месяцу только у двух из пяти животных отмечались незначительные признаки резорбции жира, прорастания соединительной ткани и уменьшение объема трансплантата (Рисунок 5).

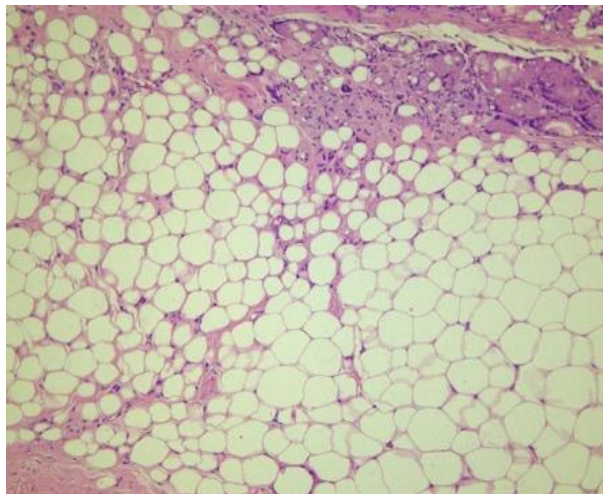


Рисунок 5 – Опыт, 1 месяц. Большой участок жировой ткани, внизу – очаг резорбции жира. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 100

В 3 случаях объем жировой ткани почти не уменьшался, резорбция и прорастание соединительной ткани было минимальным. Отмечалась неоваскуляризация области трансплантата, что, возможно, связано с действием сосудистых факторов МСК. В частности, образование новых сосудов происходило в соединительно-тканых септах,

разделяющих участки жировой ткани. Улучшенное кровоснабжение и питание жировой ткани, по-видимому, явилось причиной ее замедленной инволюции (Рисунок 6).

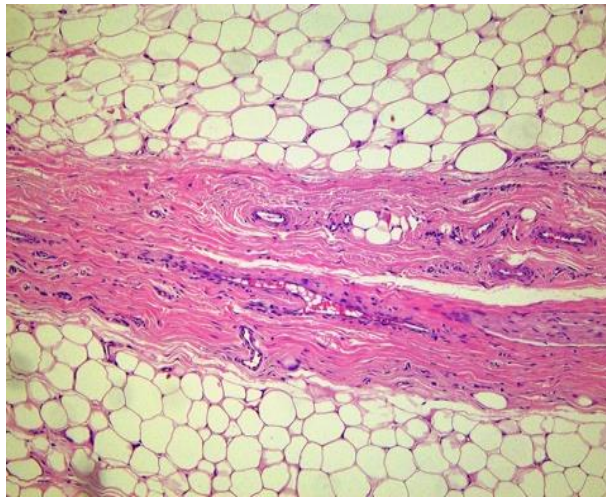


Рисунок 6 – Опыт, 1 месяц. Неоваскуляризация в соединительнотканых тяжах. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 100

Через 3 месяца продолжалась васкуляризация области трансплантации (Рисунок 7).

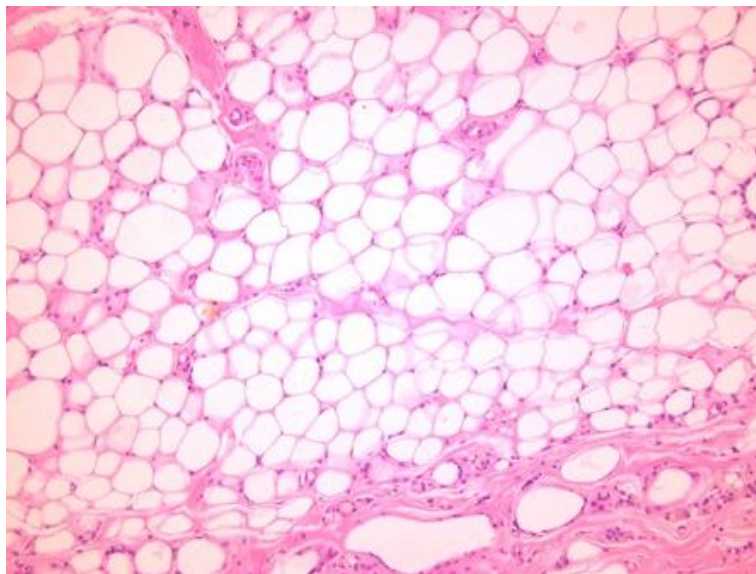


Рисунок 7 – Опыт, 3 месяца. Усиленная васкуляризация жировой ткани. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 200

Объем жировой ткани у 3-х из 5 животных почти не менялся, резорбция жира и замещение его соединительной тканью были слабо выражены (Рисунок 8).

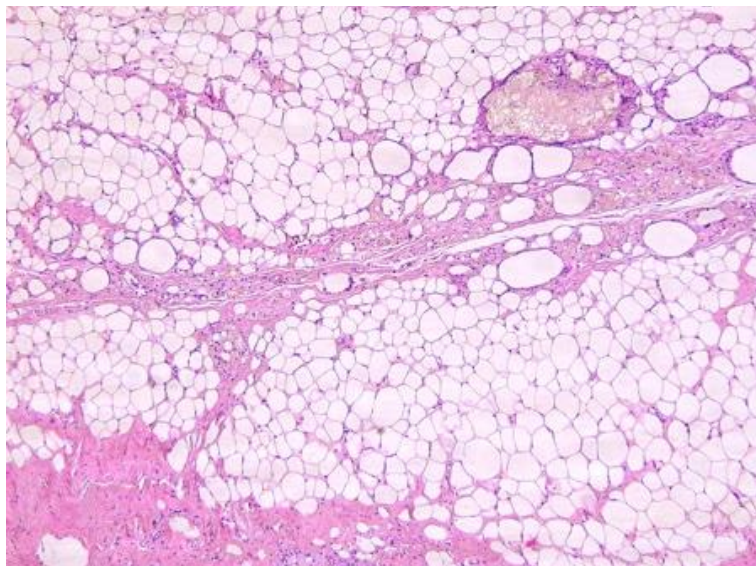


Рисунок 8 – Опыт, 3 месяца. Большое количество жировой ткани и очаг резорбции жира. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 50

Только у 2-х кроликов отмечалось уменьшение объема, резорбция и фиброз жирового аутотрансплантата.

Через 6 месяцев содержание жировой ткани в ушной раковине уменьшается, но остается значительно больший её объем, чем в контрольной группе на этот срок (Рисунок 9).

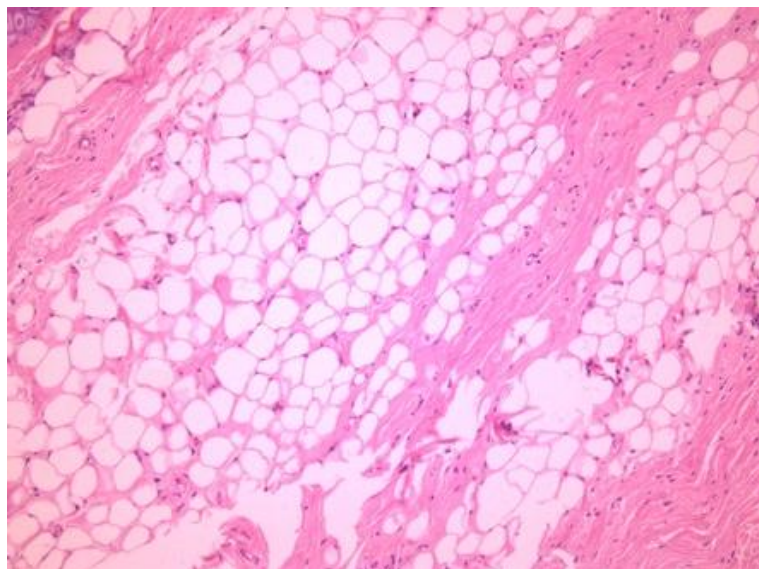


Рисунок 9 – Опыт, 6 месяцев. Относительно крупные конгломераты жировой ткани. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 100



Отмечается еще большее новообразование сосудов как в соединительно-тканых перегородках, так и в самой жировой ткани. Только у одного животного жировая ткань почти исчезает (Рисунок 10).

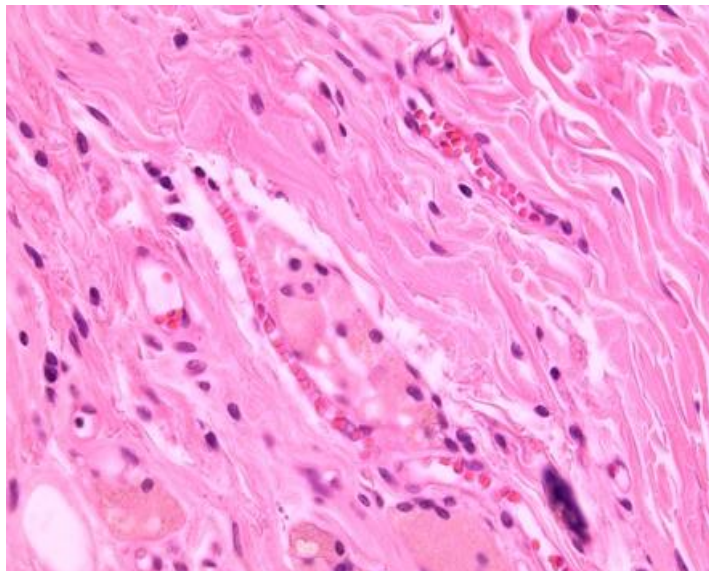


Рисунок 10 – Опыт, 6 месяцев. Большое количество микрососудов с эритроцитами в просвете. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x 400

В Таблице 1 представленная балльная оценка подтверждает положительное влияние мезенхимальных стволовых клеток на приживаемость пересаженного аутотрансплантата. Стоит отметить, что на ранних сроках (1 месяц) проявления резорбции, фиброза и общего уменьшения не столь значительны, как на более отдаленных сроках. При этом в некоторых случаях и в опытной группе отмечалось значительная потеря пересаженного материала, что требует более детальной оценки.

Таблица 1 – Бальная оценка морфологических признаков изменения ушной раковины: контроль – пересадка аутотрансплантата без обогащения, опыт – пересадка аутотрансплантата, обогащенного стволовым клетками

|                         | Уменьшение объема |           | Резорбция |           | Фиброз    |           | Сумма     |           |
|-------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                         | Контроль          | Опыт      | Контроль  | Опыт      | Контроль  | Опыт      | Контроль  | Опыт      |
| <b>1 месяц</b>          |                   |           |           |           |           |           |           |           |
| 1a                      | 1                 | 1         | 1         | 1         | 1         | 1         |           |           |
| 2a                      | 2                 | 2         | 2         | 2         | 2         | 2         |           |           |
| 3a                      | 3                 | 2         | 3         | 2         | 3         | 2         |           |           |
| 4a                      | 1                 | 1         | 0         | 1         | 1         | 0         |           |           |
| 5a                      | 2                 | 1         | 2         | 2         | 1         | 1         |           |           |
| <b>Сумма баллов гр.</b> | <b>9</b>          | <b>7</b>  | <b>8</b>  | <b>8</b>  | <b>8</b>  | <b>6</b>  | <b>25</b> | <b>21</b> |
| <b>3 месяца</b>         |                   |           |           |           |           |           |           |           |
| 1b                      | 4                 | 2         | 3         | 3         | 4         | 2         |           |           |
| 2b                      | 4                 | 2         | 1         | 2         | 4         | 2         |           |           |
| 3b                      | 3                 | 1         | 2         | 2         | 4         | 1         |           |           |
| 4b                      | 4                 | 1         | 2         | 2         | 3         | 1         |           |           |
| 5b                      | 3                 | 2         | 2         | 2         | 3         | 2         |           |           |
| <b>Сумма баллов гр.</b> | <b>18</b>         | <b>8</b>  | <b>10</b> | <b>11</b> | <b>18</b> | <b>8</b>  | <b>46</b> | <b>27</b> |
| <b>6 месяцев</b>        |                   |           |           |           |           |           |           |           |
| 1c                      | 4                 | 2         | 1         | 1         | 2         | 2         |           |           |
| 2c                      | 4                 | 2         | 1         | 2         | 2         | 3         |           |           |
| 3c                      | 3                 | 2         | 3         | 2         | 2         | 3         |           |           |
| 4c                      | 4                 | 3         | 1         | 3         | 4         | 2         |           |           |
| 5c                      | 4                 | 2         | 3         | 2         | 3         | 3         |           |           |
| <b>Сумма баллов гр.</b> | <b>19</b>         | <b>11</b> | <b>9</b>  | <b>10</b> | <b>13</b> | <b>13</b> | <b>41</b> | <b>34</b> |

## Статистический анализ полученных результатов

Нормальность распределения значений параметров в исследуемых группах для оценки достоверности полученных результатов оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Так как распределение отличалось от нормального, данные представлены в виде медиан  $Me$ , верхних и нижних квартилей  $Q1$  и  $Q2$  вариационного ряда. Для выявления меж- и внутригрупповых различий использовали двусторонние непараметрические тесты: тест Манна-Уитни для сравнения двух групп, ранговый дисперсионный анализ Краскала-Уоллеса и тест Тьюки для сравнения трех и более групп. Различия считали достоверными при достигнутом уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

В контрольных группах уменьшение объема через 6 месяцев после операции было статистически значимо по сравнению с 1 месяцем ( $p < 0,05$ ). В опытных группах объем значимо не уменьшался ( $p = 0,09$ ) и достоверно отличался от контрольных значений через 3 месяца ( $p = 0,008$ ) и 6 месяцев после операции ( $p < 0,001$ ) (Таблица 2, Рисунок 11).

Таблица 2 – Уменьшение объема жировых аутотрансплантатов

| Срок после операции | Контроль |                                       | Опыт |                                       | Значимость различий                            |
|---------------------|----------|---------------------------------------|------|---------------------------------------|--|
|                     | N        | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) | n    | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) |  |
| 1 месяц             | 5        | 2,0 (1,0; 2,25)                       | 5    | 1,0 (1,0; 2,0)                        | $p_{ок} = 0,397$<br>$p_{к1-6} < \mathbf{0,05}$ |
| 3 месяца            | 5        | 4,0 (3,0; 4,0)                        | 5    | 2,0 (1,0; 2,0)                        | $p_{ок} = \mathbf{0,008}$                      |
| 6 месяцев           | 5        | 4,0 (3,75; 4,0)                       | 5    | 2,0 (2,0; 2,25)                       | $p_{ок} < \mathbf{0,001}$                      |

Примечание:  $p_{ок}$  – достигнутая значимость различий между контрольной и опытной группой;  $p_{к1-6}$  – достигнутая значимость различий между контрольными группами через 1 и 6 месяцев после операции

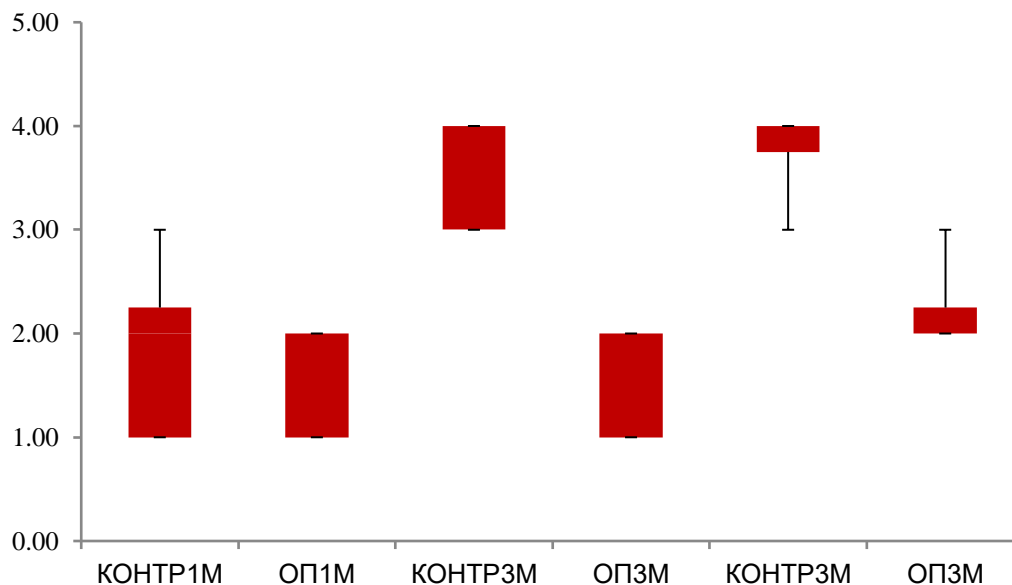


Рисунок 11 – Балльная оценка уменьшения объема в контрольных и опытных группах.

Представлены верхние и нижние квартили вариационного ряда (боксы), а также максимальные и минимальные значения. По оси абсцисс – группы, по оси ординат – величина балльной оценки. КОНТР – контрольные группы (красные), ОП – опытные группы (голубые). 1М, 2М, 3М – соответственно 1, 3 и 6 месяцев после операции

Степень резорбции в опытных и контрольных группах статистически значимо не различалась на всех сроках исследования (Таблица 3, Рисунок 12).

Таблица 3 – Балльная оценка резорбции жировых аутрансплантатов

| Срок после операции | Контроль |                                       | Опыт |                                       | Значимость различий |
|---------------------|----------|---------------------------------------|------|---------------------------------------|---------------------|
|                     | n        | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) | n    | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) |                     |
| 1 месяц             | 5        | 2,0 (0,75; 2,25)                      | 5    | 2,0 (1,0; 2,0)                        | $p_{ок} = 1,000$    |
| 3 месяца            | 5        | 2,0 (1,75; 2,25)                      | 5    | 2,0 (2,0; 2,25)                       | $p_{ок} = 0,690$    |
| 6 месяцев           | 5        | 1,0 (1,0; 3,0)                        | 5    | 2,0 (1,75; 2,25)                      | $p_{ок} = 0,690$    |

Примечание:  $p_{ок}$  – достигнутая значимость различий между контрольной и опытной группой

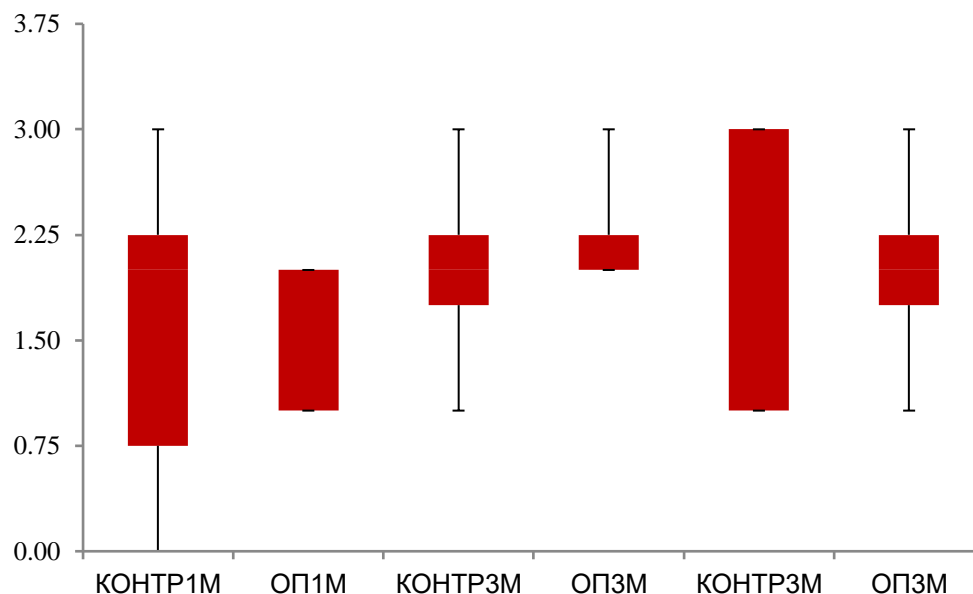


Рисунок 12 – Балльная оценка резорбции в контрольных и опытных группах. Обозначения те же, что на Рисунке 11

Выраженность фиброза в контрольных группах через 3 месяца после операции была значимо больше, чем через 1 месяц ( $p < 0,05$ ). В экспериментальной группе степень фиброза достоверно возрастала только через 6 месяцев после операции ( $p < 0,05$ ). Через 3 месяца после операции выраженность фиброза в опытной группе была значимо меньше, чем в контрольной ( $p = 0,008$ ), через 6 месяцев различия в степени фиброзировании в опытной и контрольной группе были недостоверными ( $p = 0,690$ ) (Таблица 4, Рисунок 13).

Таблица 4 – Балльная оценка фиброзировании жировых аутоотрансплантатов

| Срок после операции | Контроль |                                       | Опыт |                                       | Значимость различий  |
|---------------------|----------|---------------------------------------|------|---------------------------------------|--|
|                     | n        | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) | n    | Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ) |  |
| 1 месяц             | 5        | 1,0 (1,0; 2,25)                       | 5    | 1,0 (0,75; 2,0)                       | $p_{ок} = 0,486$<br>$p_{к1-3} < \mathbf{0,05}$<br>$p_{о1-6} < \mathbf{0,05}$ |
| 3 месяца            | 5        | 4,0 (3,0; 4,0)                        | 5    | 2,0 (1,0; 2,0)                        | $p_{ок} = \mathbf{0,008}$  |
| 6 месяцев           | 5        | 1,0 (2,0; 3,25)                       | 5    | 3,0 (2,0; 3,0)                        | $p_{ок} = 0,841$   |

Примечание:  $p_{ок}$  – достигнутая значимость различий между контрольной и опытной группой;  $p_{к1-3}$  – достигнутая значимость различий между контрольными группами через 1 и 3 месяца после операции;  $p_{о1-6}$  – достигнутая значимость различий между опытными группами через 1 и 6 месяцев после операции

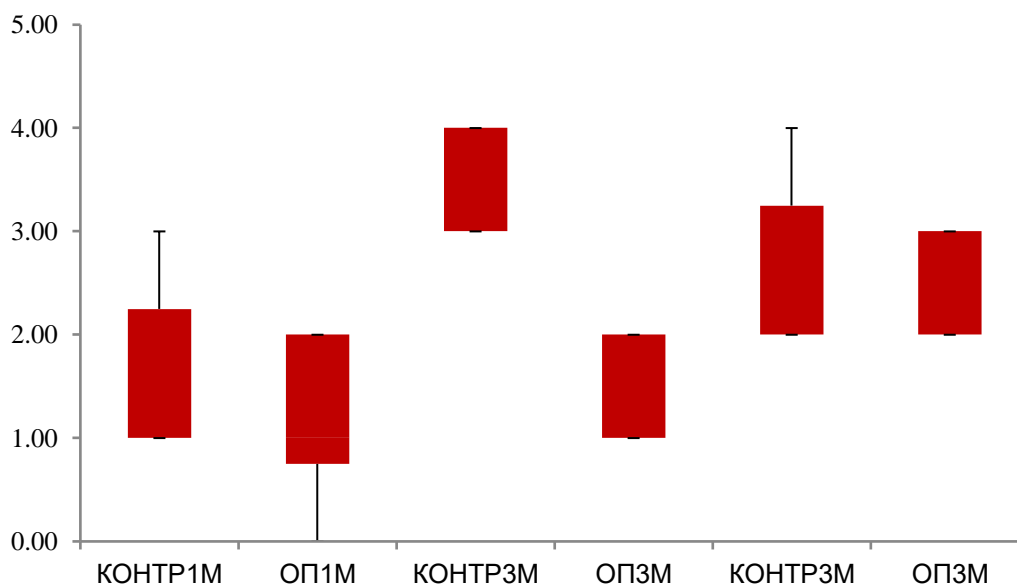


Рисунок 13 – Балльная оценка фиброзирования в контрольных и опытных группах. Обозначения те же, что на Рисунке 11

Таким образом, в результате проведенных исследований достоверно доказано положительное влияние стволовых клеток на приживление жировых аутотрансплантатов. Исследование жировой ткани на сроках 30 дней после пересадки позволять сделать следующие заключения: в контрольной группе, где выполнялась аутотрансплантация чистой жировой ткани, в ткани имплантата постепенно усиливались фиброзные процессы. Жировая ткань частично заместилась фиброзным компонентом. Скопление незрелых адипоцитов на этих же сроках значительно выше, в сравнении с более долгими сроками. При этом в опытной группе явления фиброза на всех сроках значительно ниже. Соединительная ткань лишь в небольшой степени замещала жировую, там меньше скапливались незрелые адипоциты, значительно усиливалась васкуляризация и, в конечном итоге, лучше сохранялась жировая ткань трансплантата.

## ВЫВОДЫ

1. Разработанная экспериментальная модель достоверно показала, что пересадка собственной жировой ткани является клинически значимым и перспективным хирургическим методом для восполнения дефектов мягких тканей различного расположения и этиологии, имея обширное поле для научных изысканий и возможностей воздействия на клеточном уровне.

2. Проведенное исследование показало, что разработанная экспериментальная модель позволяет эффективно оценить процессы приживаемости жировых аутотрансплантатов в разрезе всех исследуемых факторов. Однако, некоторые неудачные случаи приживления жировой ткани в реципиентной зоне связаны, на наш взгляд, с отсутствием значительного количества жировой прослойки в ушной раковине, что является неблагоприятным условием для процессов реваскуляризации.
3. Разработанная методика выделения мезенхимальных стволовых клеток позволяет получить жизнеспособные клетки собственной жировой ткани с целью их дальнейшей транспортировки и хирургической пересадки.
4. Разработанная модель позволила наглядно продемонстрировать, что хирургическая пересадка собственной жировой ткани с использованием СКЖТ является клинически значимым и перспективным методом, однако выделение СКЖТ в лабораторных условиях требует времени и диктует необходимость этапности исследования.
5. Сравнительный гистологический анализ препаратов пересаженной жировой ткани необходимо оценивать, исходя из трех наиболее важных клинических показателей – явлений фиброза, резорбции и остаточного объема. Использование стволовых клеток жировой ткани достоверно оказало положительное влияние на все указанные механизмы.
6. Применение в пластической хирургии и регенеративной медицине инновационных клеточных технологий может позволить достичь стабильных результатов в коррекции дефектов мягких тканей лица и тела в результате однократного проведения пересадки жировой ткани.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Аутотрансплантацию жировой ткани следует применять как эффективный и относительно доступный метод хирургического восполнения дефицита мягких тканей в тех случаях, когда требуется восполнить ограниченный объем. Однако для улучшения приживаемости стоит учитывать концепцию “fat-to-fat” для получения более эффективного результата.
2. Наиболее точным и прогнозируемым методом культивирования мезенхимальных стволовых клеток является лабораторный. Однако он требует значительного времени, что резко снижает его практическое применение в хирургической практике.

3. Использование СКЖТ при пересадке жировой ткани оказывает достоверное положительное влияние на все механизмы приживления пересаженного материала, что подтверждает целесообразность их использования в хирургической практике с целью стимуляции приживляемости аутотрансплантатов.
4. Гистологическое исследование определило значительную разницу в механизмах приживления аутотрансплантатов на всех этапах исследования, что подтверждает актуальность их применения при проведении подобных операций. Однако для более точной оценки патогенетических механизмов стоит внедрить практику клеточного типирования.
5. Для эффективной очистки жировой ткани рекомендован метод центрифугирования 1300 об/мин в течение 1,5 минут, что позволяет сохранить жизнеспособность адипоцитов

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Даштоян, Г.Э.** Сравнительное исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживаемость живых аутотрансплантатов путем гистологической оценки в эксперименте на мелких лабораторных животных / О.И. Старцева, Д.И. Мельников, А.Л. Истранов, А.В. Люндуп, М.Е. Крашенинников, А.Б. Шехтер, **Г.Э. Даштоян**, А.С. Захаренко, К.А. Кириллова, М.Е. Синельников // **Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.** – 2018. – № 4. – С. 12–17.
2. **Dashtoyan, G.E.** Comparative analysis of the effect of mesenchymal stem cells on viability of autologous fat transplants by histologic examination of resorption, fibrosis, volume decrease and revascularization of fat grafts: in vivo experiment / O.I. Starceva, D.V. Melnikov, A.L. Istranov, A.V. Lundup, M.E. Kreshennikov, A.B. Shehter, **G.E. Dashtoyan**, M.Y. Sinelnikov, A.S. Zaharenko, K.A. Kirillova // **Eurasian Journal of Biosciences.** – 2018. – № 12 (2). – P. 303–312. (Scopus)
3. **Даштоян, Г.Э.** Исследование влияния мезенхимальных стволовых клеток на приживаемость жировых аутотрансплантатов: актуальность, эффективность, онконастороженность / **Г.Э. Даштоян**, О.И. Старцева // **Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки.** – 2022. – № 8. – С. 164–173.



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АОТ – аутоплазма, обогащенная тромбоцитами

ЖТ – жировая ткань

СВКФ – стромальная васкулярная клеточная фракция

СКЖТ – стволовые клетки жировой ткани

ФР – факторы роста

МСК – мезенхимальные стволовые клетки

EGF – фактор роста эпителия

FGF – фактор роста фибробластов

IGF – инсулиноподобный фактор роста

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

TGF – трансформирующий фактор роста

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

HGF – фактор роста гепатоцитов