

ЦИТОСБЕРЕГАЮЩАЯ УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЛИПОСАКЦИЯ

А. Мелерзанов¹, кандидат медицинских наук,
А. Пенаев³, доктор медицинских наук, профессор,
А. Мишра¹,
С. Тоски², доктор медицины
¹Московский физико-технический институт
²Госпиталь «Дель Анжело», Местре, Италия
³Клиника доктора Пенаева, Москва
E-mail: m83071@gmail.com

Особенностью новой технологии липосакции для малых объемов жировой ткани является ее цитосберегающий эффект. Отсутствие выраженного разрушающего действия применяемого низкочастотного ультразвука на мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани позволяет использовать данную технологию не только для липоскульптуры, но и для получения жизнеспособных стволовых клеток.

Ключевые слова: цитосберегающая липосакция, мезенхимальные стволовые клетки, низкочастотный ультразвук.

С момента выхода в 2001 г. работы P. Zuk и соавт. [1] с описанием состава стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани, внимание специалистов, работающих со стволовыми клетками, привлекает жировая ткань в качестве источника мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Сообщается, что МСК, полученные из жировой ткани, более потентны в плане модуляции иммунной системы, чем клетки, полученные из костного мозга; это открывает более широкие перспективы для их применения, например, при пересадке кожного лоскута. Утверждается также, что в жировой ткани содержится в 500 раз больше МСК, чем в костном мозге, а поскольку только в США в год проводится 400 тыс. липосакций и при этом липоаспират относят к отходам, безрисковый для донора источник МСК практически неисчерпаем [2].

МСК могут дифференцироваться в клетках многих видов тканей — в зависимости от создаваемых условий; возможны остреогенная, хондрогенная, липогенная и другие варианты прямой дифференцировки, а также получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

Потенциальное применение МСК рассматривалось многими исследователями. В частности на сайте клинических исследований к концу 2016 г. были указания на 93 открытых клинических исследования стволовых клеток, полученных из жировой ткани [3].

Пересадка жира, содержащего незрелые клетки (так называемая стромально-васкулярная фракция), становится все более популярным методом коррекции инволютивных нарушений, восполнения участков минус-ткани и тотальной липоскульптуры в косметической и реконструктивной пластической хирургии. Опубликована статья [4] о применении МСК, полученных из жировой ткани, для применения в дерматологии и для терапии возрастных изменений кожи.

По данным Американской ассоциации пластической хирургии (American Society of Plastic Surgeons), процедура липосакции упоминалась в 1-й пятерке наиболее популярных косметических операций в пластической хирургии, а после того, как в 2015 г. количество липосакций увеличилось по сравнению с 2012 г. более чем на 11% (с 200 до 222 тыс.), эта операция в указанном рейтинге переместилась на 2-е место [5], при этом среди наиболее популярных косметических операций у мужчин она имела 1-е место уже в 2012 г. [6].

Несмотря на то, что первая документированная пересадка жира была произведена еще в 1893 г. немецким врачом Ф. Нубером [7], массовую популярность процедура липотрансфера (липофилинг, пересадка жира) приобрела в последнее десятилетие. Сегодня вопрос о целесообразности применения пересадки жира, как и о безопасности этой процедуры, уже не стоит. В руководстве Американской ассоциации пластических хирургов указано [8], что на основании многочисленных наблюдений и статистической обработки данных при восстановлении молочной железы после мастэктомии с применением пересадки жира роста рецидивов рака по сравнению с контрольной группой не отмечено.

Сегодня дискуссия ведется главным образом между сторонниками 2 теорий. Согласно первой, использование технологии обогащения жира (cell-assisted lipotransfer – CAL) для пересадки стволовыми клетками дает лучшие результаты, чем обычная пересадка жира [9]; согласно второй, указанные результаты не различаются [10].

Основным предметом дискуссии является процент сохранения изменений после пересадки жира. Помимо влияющих на сохранение объема факторов, которые зависят от самого пациента (например, сохранение постоянной массы тела), важнейшую роль в приживаемости аутотрансплантата играют:

- количество и жизнеспособность незрелых клеток, содержащихся в аутотрансплантате;
- техника хирурга, позволяющая избежать избыточного давления при трансплантации, ведущего к некрозу пересаживаемой ткани (R. Kouri);
- размер конгломератов жира, получаемых при липосакции (K. Yoshimura).

В задачи нашего исследования не входили анализ хирургической техники и рекомендации пациентам в послеоперационном периоде. Ниже рассматривается только жизнеспособность МСК, получаемых из жировой ткани.

В работе группы исследователей из Китая [11], опубликованной в 2016 г., утверждается, что выживаемость МСК выше при липэктомии, чем при липосакции. Объясняется это дозозависимым токсическим воздействием вазоконстрикторных агентов и лидокаина.

Безусловно, многие исследователи отмечали подобный эффект, однако не указывалось, при каком виде анестезии производилась липэктомия. При выполнении манипуляций под общей анестезией без применения местных анестетиков и вазоконстрикторов токсическое воздействие на мезенхимальные клетки жировой ткани будет еще ниже. В частности, исследователи из Италии сравнили [12] так называемую сухую (dry) и влажную (wet) липосакцию – с применением анестетика и вазоконстрикторных агентов и без них. При этом была продемонстрирована 40% разница в количестве выделяемых жизнеспособных клеток в пользу сухой липосакции, а выжившие клетки не различались по потенциалу к дифференцировке [12].

К настоящему моменту опубликовано несколько работ по оценке качества и концентрации МСК, полученных из жировой ткани с помощью различных методик липосакции, включающих как разные типы оборудования для липосакции, так и применение разных местных анестетиков с различающимися концентрациями вазоконстрикторного агента. Однако исследователи сравнивали механическую (ручную) и электрическую (power-assisted) липосакцию [13].

При сравнении механической и лазерной липосакции исследователи из Турции показали, что в последнем случае получаемое количество жизнеспособных клеток ниже. Схожие данные представили ученые из Польши, отметившие сравнимые результаты при механической и электрической липосакции и более низкие – для лазерной [14].

В то же время в обзоре, основанном на анализе 65 статей, вышедших в 1970–2014 гг. и посвященных пересадке жира [15], исследователи не нашли достоверного обоснования преимуществ той или иной техники получения, обработки и пересадки жира, хотя и отметили необходимость более тщательного изучения новых технологий липосакции.

В опубликованной в 2016 г. работе [16] авторы сравнили результаты ультразвуковой (УЗ) липосакции и названной ими «золотым стандартом» липосакции с помощью всасывания (suction-assisted lipoaspiration – SAL).

Согласно их данным, количество клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ), полученной с помощью УЗ-липосакции и SAL, не отличалось. Участницами исследования были 3 здоровые женщины (добровольцы) в возрасте от 28 до 48 лет. Для SAL использовали каниюли диаметром 35 мм, а для УЗ-липосакции – проводники диаметром 2,9–3,7 мм, генерирующие импульс частотой 36 кГц. В проводимом исследовании использовалась новая технология липосакции – по протоколу, подробно описанному М. Джулиани и соавт. [17].

Было показано (*ex vivo*), что как чрескожная (транскутанная), так и хирургическая техника в сочетании с применением инфильтрации тканей физиологическим раствором обуславливали эффекты в виде снижения массы тела и высвобождения жира. При этом достигалось разрушение архитектоники жировой ткани и индуцировался апоптоз адипоцитов, продолжавшийся в течение 18 ч после окончания УЗ-воздействия.

Физические характеристики интенсивности УЗ-воздействия составляли около 2,5 Вт/см² при транскутанном и приблизительно 20 Вт/см² – при хирургическом (прямом) воздействии.

УЗ высокой интенсивности при воздействии на биологические ткани оказывает 3 эффекта: механический, термический (разогревающий) и кавитационный.

Особенностью новой технологии является минимизация термического эффекта и максимизация – кавитационного. Последний в жировой ткани достигается за счет высвобождения энергии от волнового воздействия, приводящего к достижению уровня давления в точке приложения до 100 кг на 1 см². Таким образом, происходит потеря содержимого адипоцитов с последующим выведением метаболитов через внеклеточный матрикс и (последовательно) – мочу. Также возможна аспирация с помощью SAL.

Особенностью новой технологии является использование УЗ-колебаний низкой частоты. При условии сохранения количества волновых циклов УЗ низкой частоты проникает глубже, чем высокой, в связи с меньшими абсорбционными

ми потерями энергии. Стандартно для липосакции и липоскульптуры применяется УЗ на частоте 1–10 МГц (чаще – 1–3 МГц), оказывающий эмульгирующее воздействие на жир за счет кавитационного эффекта, особенно в водной среде, создаваемой путем инфльтрации жировой ткани физиологическим раствором.

Нами был использован УЗ более низкой частоты. Для проведения исследования применяли ультразвуковой прибор (Promelter, Lain Electronics), генерирующий УЗ-волны на частоте 37,3–42,2 кГц, с 2 насадками диаметром 60 и 2 мм – соответственно для чрескожного (внешнего) и хирургического (прямого) воздействия; причем за счет инновационной конструкции канюли УЗ транслируется только с кончика канюли, снижая термический эффект.

В исследовании использованы образцы липосаспира-та 6 пациенток в возрасте от 35 до 50 лет (средний возраст 42,4 года). Образцы жира брали с передней стенки живота. Все пациентки были здоровы, операции проводили по эстетическим причинам. Достоверной корреляции между количеством полученных клеток СВФ и возрастом пациенток не выявлено.

Использовали образцы жира объемом 100 мл, которые поступали в лабораторию в течение 64 ± 12 мин после проведения липосаспирации. Во время транспортировки жир содержался в пробирках по 50 мл при температуре $+10 \pm 2^\circ\text{C}$. Выделение СВФ и – последовательно – МСК проводили по протоколу М. Джулиани [17]. Количество клеток в культуре оценивали через 72 ч после посева; в среднем оно составило $5,9 \pm 0,4$ млн МСК. Также были проведены успешные эксперименты по адипогенной, остеогенной и хондрогенной дифференцировке МСК в соответствии со стандартными протоколами [18].

На основании полученных экспериментальных результатов можно сделать вывод, что метод низкочастотного УЗ позволяет получать из липосаспирата значительные количества жизнеспособных МСК. Таким образом, УЗ-липосакция может успешно применяться (наряду с другими методами получения жировой ткани) для выделения СВФ и получения МСК.

Литература

1. Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // *Tissue Eng.* – 2001; 7 (2): 211–28.
2. <http://stemcellstm.alphamedpress.org>
3. www.clinicaltrials.gov
4. Gaur M., Dobke M., Luniy V. Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue in Clinical Applications for Dermatological Indications and Skin Aging // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017; 18 (1): E208. DOI: 10.3390/ijms18010208.
5. www.americastopplasticsurgeons.com

6. www.surgery.org.

7. Mizuno H., Itoi Y., Kawahara S. et al. *In vivo* adipose tissue regeneration by adipose-derived stromal cells isolated from GFP transgenic mice // *Cells Tissues Organs.* – 2008; 187: 177–85. DOI: 10.1159/000110805.

8. Chen C. Replacing Like with Like: Clarifying Fat Grafting's Role in Breast Reconstruction. Published on September 29, 2014. www.plasticsurgerypractice.com

9. Luan A., Duscher D., Whittam A. et al. Cell-Assisted Lipotransfer Improves Volume Retention in Irradiated Recipient Sites and Rescues Radiation-Induced Skin Changes // *Stem Cells.* – 2016; 34 (3): 668–73.

10. Sheng Huang, Weiliang Zhao, Zihua Wang et al. PMID: Potential drawbacks in cell-assisted lipotransfer: A systematic review of existing reports (Review) // *Mol. Med. Rep.* – 2016; 13 (2): 1063–9. DOI: 10.3892/mmr.2015.4682.

11. Bian Y., Deng C., Li W. et al. A Comparative Study on the Biological Characteristics of Human Adipose-Derived Stem Cells from Lipectomy and Liposuction // *PLoS One.* – 2016; 11 (9): e0162343. DOI: 10.1371/journal.pone.0162343.

12. Muscari C., Bonafè F., Fiumana E. et al. Comparison between stem cells harvested from wet and dry lipoaspirates // *Connect. Tissue Res.* – 2013; 54 (1): 34–40. DOI: 10.3109/03008207.2012.717130.

13. Keck M., Kober J., Riedl O. et al. Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration // *Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2014; 67 (1): e1–8. DOI: 10.1016/j.bjps.2013.08.019.

14. Yildiz K., Taşlı P., Şahin F. et al. Comparison of Cellular Alterations in Fat Cells Harvested With Laser-Assisted Liposuction and Suction-Assisted Liposuction // *J. Craniofac. Surg.* – 2016; 27 (3): 631–5. DOI: 10.1097/SCS.0000000000002589.

15. Shim Y., Zhang R. Literature Review to Optimize the Autologous Fat Transplantation Procedure and Recent Technologies to Improve Graft Viability and Overall Outcome: A Systematic and Retrospective Analytic Approach // *Aesthetic. Plast. Surg.* – 2017; DOI: 10.1007/s00266-017-0793-3.

16. Duscher D., Atashroo D., Maan Z. et al. Ultrasound-Assisted Liposuction Does Not Compromise the Regenerative Potential of Adipose-Derived Stem Cells // *Stem Cells Transl. Med.* – 2016; 5 (2): 248–57. DOI: 10.5966/sctm.2015-0064.

17. Palumbo P., Cinque B., Miconi G. et al. Biological effects of low frequency high intensity ultrasound application on ex vivo human adipose tissue // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2011; 24 (2): 411–22.

18. Yagi H., Soto-Gutierrez A., Navarro-Alvarez N. et al. Reactive bone marrow stromal cells attenuate systemic inflammation via *stNFR1* // *Mol. Ther.* – 2010; 18 (10): 1857–64.

CYTOPRESERVING ULTRASONIC LIPOSUCTION

A. Melerzanov¹, MD, PhD; Professor A. Penaev², MD;

A. Mishra¹; S. Toski², MD

¹Moscow Institute of Physics and Technology

²Dell' Angelo Hospital, Mestre, Italy

³Doctor Penaev Clinic, Moscow

The specific feature of a new liposuction technology for small adipose tissue volumes is its cytopreserving effect. No pronounced destructive action of low-frequency ultrasound on adipose tissue mesenchymal stem cells allows the use of this technology not only for liposculpture, but also for obtaining viable stem cells.

Key words: cytopreserving liposuction, mesenchymal stem cells, low-frequency ultrasound.