

УДК 616-002, 616.5

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СРАВНЕНИЕ ЛИПОФИЛИНГА И ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ КРЫСАМ ЧЕРЕЗ 30 ДНЕЙ

© 2025 г. Э. А. Лаврентьева^{1, *}, М. В. Хлысталов¹, С. Е. Мороз¹, О. С. Ходорович^{1, 2}, А. Г. Королев^{1, 3}, С. С. Ибадуллаева¹, И. В. Кастыро¹, А. Ф. Карташева¹, И. Б. Ганьшин¹, М. И. Баранник¹, П. В. Сарыгин¹, А. Н. Иноземцев^{1, 3}

Представлено академиком РАН И.В. Решетовым

Поступило 25.09.2024 г.

После доработки 25.10.2024 г.

Принято к публикации 30.10.2024 г.

Проведено гистологическое сравнение липофилинга и препарата на основе гиалуроновой кислоты у крыс. В эксперименте на крысах на гистологическом уровне показано, что применение трансплантации аутожира приводит к более равномерному распределению жировой ткани на сроке 30 дней, уменьшению площади сальных желез при липофилинге, по сравнению с препаратом на основе гиалуроновой кислоты. Гиалуроновые филлеры способствуют увеличению толщины клеточного эпидермиса, в том числе и за счет увеличения толщины зернистого слоя, толщины дермы и самого филлера в подкожном пространстве, по сравнению с липофилингом.

Ключевые слова: липофилинг, гиалуроновая кислота, трансплантация жира, воспаление

DOI: 10.31857/S2686738925010101, **EDN:** tcogzp

ВВЕДЕНИЕ

Для коррекции контуров лица широко применяются гиалуроновые филлеры [1], использование которых может привести к развитию осложнений, например, эмболизации сосудов [2]. В связи с этим некоторые авторы предлагают альтернативу в виде липофилинга – аутотрансплантации предварительно обработанной подкожно-жировой клетчатки (аутожир) [3]. У данной малоинвазивной хирургической процедуры существуют недостатки, такие как местное воспаление и общие стрессовые реакции, влияющие на механизмы заживления ран и приживаемости имплантатов [4–8]. В настоящее время очень сложно выявить достоинство той или иной методики у человека в связи с этическими вопросами, однако мало экспериментальных исследований,

направленных на гистологическое сравнение липофилинга и гиалуроновых филлеров.

Цель исследования: провести гистологическое сравнение липофилинга и препарата на основе гиалуроновой кислоты у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 60 крысах самцах линии Вистар, возраст 4 месяца, весом 360–380 г (питомник “Столбовая” ФГБУН Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России). Животных содержали по 3 крысы в клетке в условиях 12-часового светового дня со свободным доступом к пище и воде. Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU. Исследование одобрено локальным Комитетом по Этике медицинского института РУДН, протокол № 02-24 от 20.02.2024 г.

Животных разделили на 4 группы. Первая группа контроля была интактной (“КИ”, n=5) и не подвергалась процедурам. В остальных группах все процедуры проводили под изофлурановым наркозом (“Laboratories Karizoo, S.A.”, Испания). Второй контрольной группе (“КФ”, n=15) в области холки

¹ФГАОУ ВО Российский Университет дружбы народов им. П. Лумумбы, Москва, Россия

²Российский научный центр рентгенорадиологии, Москва, Россия

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: laveelina@ya.ru

внутрикожно вводили 0.9% раствора хлорида натрия в объеме 0.05 мл. Третьей группе проводили липофилинг (“ЛФ”, n=15). Кожу в области паха выбривали и обрабатывали хлоргексидином. Место забора жира обезболивали (Бупивакаин, 5 мг/мл) и через разрез длиной 1 см извлекали жировую ткань объемом 1.5–2 мл, которую сразу измельчали скальпелем и вводили подкожно в холку через иглу калибром 18G. Размер фрагментов аутожира регламентировался возможностью их прохождения сквозь иглу. Разрез закрывали внутрикожным швом.

Крысам четвертой группы (“ФГК”, n=15) внутрикожно в холку вводили монофазный филлер на основе гиалуроновой кислоты с концентрацией активного компонента 24 мг/мл (“Juvederm Ultra 3”, Allergan, США).

Через 30 дней животных подвергали эвтаназии и в местах введения препаратов забирали образцы кожи и подкожных структур для гистологического исследования. Срезы красили гематоксилином и эозином, по Маллори стандартно и сканировали на микроскопе KFBIO 400 (Konfoong Biotech International Co., Ltd., КНР). Сканы анализировались при помощи программы Aperio ImageScope v12.2.2.5015 (Leica Microsystems, США). Оценивали приживляемость аутожира, характер распределения филлера, реакцию окружающих тканей в месте введения. Межгрупповые различия рассчитывали при помощи U-критерия Манна-Уитни в программе GraphPad Prism 8.0 (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На момент исследования мы не наблюдали проявлений отека и инфильтрации тканей кожи ни в одной из групп. В обеих экспериментальных группах произошло увеличение толщины различных слоев кожи, наиболее выраженное в группе ФГК (табл. 1). Количество слоев зернистых кератиноцитов (ряды клеток) в контрольных группах составляло 1–3, в экспериментальных группах наблюдали тенденцию к увеличению данного параметра, который варьировался в диапазоне 2–4 и 3–4 в группах

ЛФ и ФГК соответственно. В группе ЛФ возросла плотность прилегания рогового слоя к поверхности клеточного пласта, в то время как во всех остальных группах роговой слой был рыхлым и неплотно прилегающим. Статистически значимого увеличения толщины рогового слоя не зафиксировано, хотя и отмечается некоторое увеличение параметра.

Дерма контрольных животных, представленная сосочковым и сетчатым слоями, состояла из рыхлой и плотной неоформленной соединительной ткани, имела умеренно высокие дермальные сосочки. В группе ЛФ количество сосудов микроциркуляторного русла в сетчатом слое дермы составляло от 3 до 5 профилей в трех полях зрения x40, а в группе ФГК от 5 до 7 профилей. В одном поле зрения (x100) выявляли от 3 до 5 волосных фолликулов. Сальные железы были ассоциированы с волосными фолликулами и формировали сально-волосные комплексы. Количество профилей в поле зрения от 3 до 5.

Характерной особенностью обеих экспериментальных групп стало формирование подкожной основы из имплантируемого материала, в то время как в группах контроля у исследованных крыс линии Wistar подкожная основа отсутствовала. В группе ЛФ основа представлена жировой тканью, состоящей из компактных скоплений адипоцитов, разделенных тонкими прослойками рыхлой соединительной ткани, содержащей кровеносные сосуды и нервы (рис. 1а). Жировые клетки были вариабельны по размеру, от 30 до 60 мкм (рис. 1б). В группе ФГК основа сформирована на гелем на основе гиалуроновой кислоты, который на препарате выглядел гомогенным материалом, голубовато-сиреневого цвета (рис. 2г). Чаше локализован в дерме и в гиподерме (рис. 2а). В некоторых образцах кожи гель раздвигал ткани, формируя полости (рис. 2б), а также распределялся, инфильтрируя окружающие ткани (рис. 2в). В тканях, окружающих гель, не выявлено признаков отторжения геля, воспалительной или аллергической реакций. Количество сосудов микроциркуляторного русла в сетчатом слое дермы у группы

Таблица 1. Гистологические параметры кожи после инъекции препаратов

Группа	Толщина слоя (мкм)				Площадь сальных желез (мкм ²)	Подкожная основа
	эпидермис	зернистый	роговой	дерма		
КИ	15.5±0.6	4.74±1.03	6.58±0.4	371±33	3794.5±224	Нет
КФ	15.1±0.64	4.25±0.9	5.25±0.9	390±49	3653.5±394	Нет
ЛФ	16.95±0.5	6.58±0.5	7.35±0.5	514±37*	3036.5±205*	225±38
ФГК	18.08±0.3*	6.98±0.4*	7.15±0.8	532±21*	3968.6±218^^	295±61

* – различие значимо (p<0.05) по U-критерию Манна–Уитни при сравнении с контролем, ^^ – различие значимо (p<0.01) по U-критерию Манна–Уитни при сравнении с ЛФ.

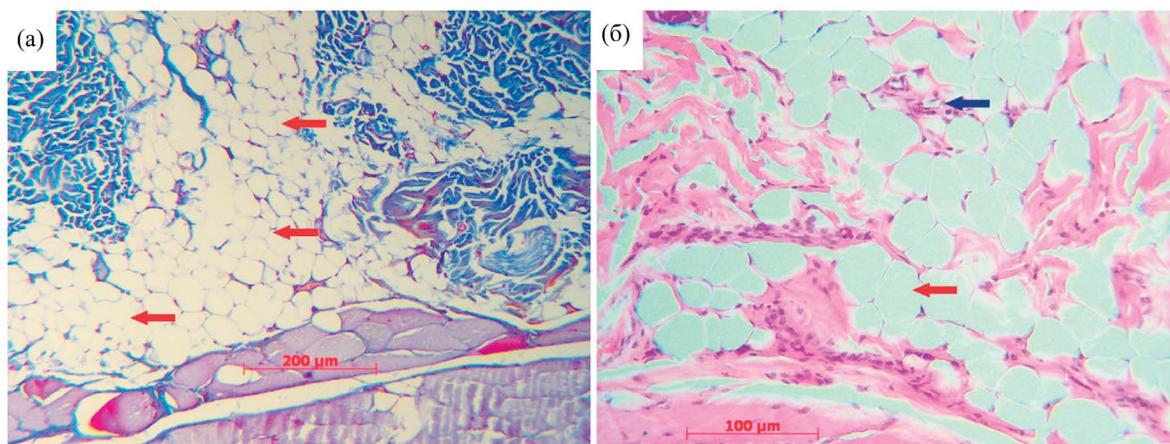


Рис. 1. Группа ЛФ (30 дней). А) Дерма и гиподерма. Красными стрелками указано диффузное распределение жировой ткани аутоотрансплантата. Окраска по Маллори. Ув. х 100. Б) Жировая ткань в месте имплантации, прослойки рыхлой соединительной ткани с сосудами микроциркуляторного русла (синяя стрелка), варибельные по размеру жировые клетки (красная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

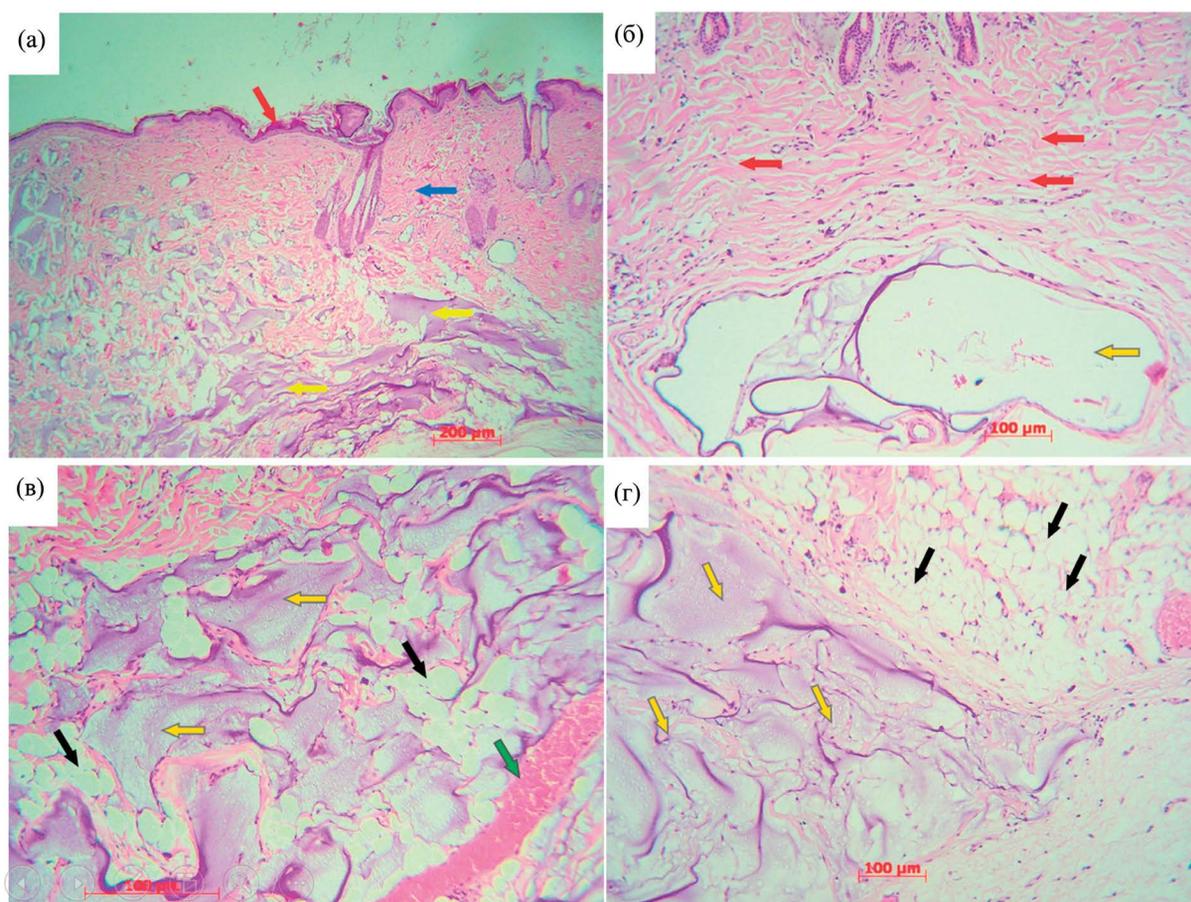


Рис. 2. Группа ФГК (30 дней). А) Эпидермис обозначен красной стрелкой, дерма – синей стрелкой, гель – желтыми стрелками. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 50. Б) Полости в дерме, образованные при имплантации геля на основе гиалуроновой кислоты. Коллагеновые волокна дермы обозначены синими стрелками, а полости, образованные гелем, – желтой стрелкой. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 100. В) Распределение геля в гиподерме. Жировые клетки обозначены черными стрелками, гель – желтыми стрелками, вена – зеленой стрелкой. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200. Г) Распределение геля между дермой и гиподермой. Жировые клетки обозначены черными стрелками, гель указан желтыми стрелками. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

ЛФ составляло 3–5 профилей (в трех полях зрения $\times 40$), а в группе ФГК 5–7.

Различием между ЛФ и ФГК стало разнонаправленное изменение в площади сальных желез. В группе ЛФ введение аутожира привело к уменьшению данного показателя, а в группе ФГК к его увеличению.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Введение исследуемых препаратов привело к увеличению толщины дермы, а в группе ФГК эпидермиса и зернистого слоя (у ЛФ рост на уровне тенденции), что свидетельствует об их положительном влиянии на регенеративные процессы в коже крыс. Увеличение количества рядов зернистых кератиноцитов и размер кератогиалиновых гранул в их цитоплазме является маркером усиления активности кератинизации эпидермиса [9–11]. В отличие от ФГК, аутожир уменьшил площадь сальных желез, что говорит о вероятном негативном влиянии факторов стромально-васкулярной фракции на функцию сальных желез [13].

Наблюдалось образование достаточно толстой подкожной основы из соответствующего филлера. Толщина основы после ЛФ была не значимо меньше, чем после введения ФГК, но так как объем аутожира был больше, чем геля, это может говорить о большей скорости его разрушения. Кроме того, ФГК препятствует липолизу и может поддерживать объем за счет высокой гидрофильности [13, 25].

Различным было и распределение препаратов в месте введения. Аутожир распределялся в основном в подкожной основе, в то время как наруживали в гиподерме и дерме, что согласуется с данными других авторов [12]. Обобщая указанные результаты, можно обосновано предположить, что аутожир подвергается более быстрой деградации в дерме, чем ФГК, который более стабилен и менее иммуногенен, что объясняет меньшую толщину различных структур кожи после ЛФ. Гиалуроновая кислота не является кожей чужеродной, поскольку входит в состав межклеточного вещества (гликозаминогликаны) и не вызывает реакций при имплантации [16, 17].

Оба препарата способствовали образованию новых микрососудов, но наибольший эффект оказал ФГК. Известно, что жировая ткань способна стимулировать ангиогенез за счет стромально-васкулярной фракции, из которой дифференцируются клетки будущих эндотелиоцитов и фибробластоподобные предшественники [3, 14, 15]. Гиалуроновая кислота стимулирует активность стромальных клеток и эндотелия сосудов [25], что, судя по нашим данным, носит более пролонгированный эффект.

Предпочтение использования того или иного имплантата в значительной степени зависит

от поставленных клинических целей. Имплантируемый жир успешно приживается в реципиентной зоне, может обеспечить долгосрочный результат восполнения объема мягких тканей [18], однако есть данные о деформирующем эффекте жирового имплантата в случае коррекции выступающих рубцов, что может привести к видимой деформации кожи [19]. Несмотря на свою эффективность, липофилинг в визуально доступных областях следует проводить с осторожностью [20, 21] в том числе и из-за возможных местных осложнений: эритемы, отека и гематомы в месте забора жира или в месте трансплантации [22].

Филлеры с гиалуроновой кислотой (ГК) можно разделить на 2 типа: монофазные и бифазные. Монофазные препараты в клинической практике используются очень часто, в то время как бифазные используют относительно редко. Монофазные филлеры ГК имеют ряд преимуществ в сравнении с бифазными: равномерное распределение в коже, более быстрая и равномерная биодеградация, легче вводятся в плотные ткани, что повышает точность инъекций. “Juvederm Ultra 3” является типичным представителем монофазных филлеров ГК и был выбран из-за перечисленных свойств. Имплантация гиалуронового геля характеризуется более предсказуемым результатом [23], поскольку гиалуроновая кислота, как компонент межклеточного вещества, распределяется равномерно, не вызывая реакций и осложнений. Некоторые авторы указывают, что длительность ее клинического и эстетического эффектов значительно короче, чем имплантируемого жира [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время накоплен богатый экспериментальный и клинический опыт по липофилингу и препаратам гиалуроновой кислоты. Применяемый гиалуроновый филлер зарегистрирован в РФ и прошел все фазы клинических и экспериментальных исследований. При этом существуют различные мнения на эффективность обоих методов. Данное исследование преследовало цель сравнить обе методики и определить в каждой из них определенные гистологические преимущества.

Таким образом, гистологически показано, что отличительной особенностью трансплантации аутожира в сравнении с филлером гиалуроновой кислоты является более равномерное распределение аутожира в области введения и уменьшение площади сальных желез. Гиалуроновые филлеры способствуют увеличению толщины слоев эпидермиса, в том числе и за счет утолщения зернистого слоя, дермы и самого филлера в подкожном пространстве, по сравнению с липофилингом.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Исследование одобрено локальным Комитетом по Этике медицинского института РУДН, протокол № 02-24 от 20.02.2024 г.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет собственных средств.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sinel'nikov M.E., Babaeva J.V., Startseva O.I., Burdin S.A.* Acute vascular complications after facial contouring. Mechanisms of development, methods of prevention and treatment // *Golova i sheya. Rossijskij zhurnal Head and neck Russian Journal.* 2020; 8(1):63–68.
2. *Startseva O.I., Guryanov R.A., Mahmud K.V., Zabolotnaya E.N.* Three-dimensional analysis of the results of endoscopic eyebrows lift // *Head and neck Russian Journal.* 2020;8(1):15–21.
3. *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; 8 (1): 145.
4. *Dragunova S.G., Reshetov I.V., Kosyreva T.F., Severin A.E., Khamidulin G.V., Shmaevsky P.E., Inozemtsev A.N., Popadyuk V.I., Kastyro I.V., Yudin D.K., Yunusov T.Yu., Kleyman V.K., Bagdasaryan V.V., Alieva S.I., Chudov R.V., Kuznetsov N.D., Pinigina I.V., Skopich A.A., Kostyaeva M.G.* Comparison of the Effects of Septoplasty and Sinus Lifting Simulation in Rats on Changes in Heart Rate Variability // *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2021; 498: 165–169.
5. *Dolgalev Al., Svyatoslavov D.S., Pout V.A., Reshetov I.V., Kastyro I.V.* Effectiveness of the Sequential Use of Plastic and Titanium Implants for Experimental Replacement of the Mandibular Defect in Animals using Preliminary Digital Design // *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2021; 496: 36–39.
6. *Kastyro I.V., Mikhalskaia P.V., Khamidulin G.V., Kostyaeva M.G., Tsymbal A.A., Shilin S.S., Popadyuk V.I., Pavluk-Pavluchenko L.L., Minasyan P.N., Markushin A.A., Ganshin I.B.* Expression of the P53 Protein and Morphological Changes in Neurons in the Pyramidal Layer of the Hippocampus After Simulation of Surgical Interventions in the Nasal Cavity in Rats // *Cell Physiol Biochem.* 2023; 57 (1): 23–33.
7. *Kastyro I.V., Khamidulin G.V., Dyachenko Yu.E., Kostyaeva M.G., Tsymbal A.A., Shilin S.S., Popadyuk V.I., Mikhalskaya P.V., Ganshin I.B.* Analysis of p53 protein expression and formation of dark neurons in the hippocampus of rats during septoplasty modeling // *Russian Rhinology.* 2023; 31 (1): 27–36.
8. *Nashwan A.K., Markushin A.A., Kastyro I.V., Gordeev D.V., Timoshemko A.V., Popadyuk V.I., Ganshin I.B.* Comparison of the degree of allogenicity of rhinoplasty, septoplasty and rhinoseptoplasty // *Head and neck. Russian Journal.* 2023;11(4):17–24.
9. *Matoltsy A.G.* Desmosomes, filaments, and keratohyaline granules: their role in the stabilization and keratinization of the epidermis // *J Invest Dermatol.* 1975; 65 (1): 127–42.
10. *Alibardi L., Toni M.* Cytochemical, biochemical and molecular aspects of the process of keratinization in the epidermis of reptilian scales // *Prog Histochem Cytochem.* 2006; 40(2):73–134.
11. *Hoover J.K., Eggink L.L.* The Discovery and Function of Filaggrin // *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (3): 1455.
12. *Nadra K., André M., Marchaud E., Kestemont P., Braccini F., Cartier H., Kéophiphath M., Fanian F.* A hyaluronic acid-based filler reduces lipolysis in human mature adipocytes and maintains adherence and lipid accumulation of long-term differentiated human preadipocytes // *J Cosmet Dermatol.* 2021; 20 (5): 1474–1482.
13. *Ehlinger-David A., Gorj M., Braccini F., Loreto F., Grand-Vincent A., Garcia P.* A prospective multicenter clinical trial evaluating the efficacy and safety of a hyaluronic acid-based filler with Tri-Hyal technology in the treatment of lips and the perioral area // *J Cosmet Dermatol.* 2023; 22 (2): 464–472.
14. *Goncharov E.N., Koval O.A., Bezuglov E.* Stromal Vascular Fraction Therapy for Knee Osteoarthritis: A Systematic Review. // *Medicina (Kaunas).* 2023; 59 (12): 2090.
15. *Gandolfi S., Pileyre B., Drouot L., Dubus I., Auquit-Auckbur I., Martinet J.* Stromal vascular fraction in the treatment of myositis. // *Cell Death Discov.* 2023; 9 (1): 346.
16. *Marinho A., Nunes C., Reis S.* Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. // *Biomolecules.* 2021; 11 (10):1518.
17. *Wu G.T., Kam J., Bloom J.D.* Hyaluronic Acid Basics and Rheology. // *Clin Plast Surg.* 2023; 50 (3): 391–398.
18. *Klinger M., Caviggioli F., Klinger F.M., Giannasi S., Bandi V., Banzatti B., Forcellini D., Maione L., Catania B., Vinci V.* Autologous fat graft in scar treatment // *J Craniofac Surg.* 2013; 24 (5): 1610–5.
19. *Xie Y., Cheng C., Li Q.* Comment on Autologous fat graft in scar treatment // *J Craniofac Surg.* 2014; 25(2):726.

20. *Klinger F., Maione L., Vinci V., Lisa A., Barbera F., Balia L., Caviggioli F., Di Maria A.* Autologous fat graft in irradiated orbit postenucleation for retinoblastoma // *Orbit*. 2018; 37 (5): 344–347.
21. *Klingenstein A., Garip-Kuebler A., Muth D.R., Hintschich C.* A prospective randomized pilot study evaluating the scar outcome after gluteal dermis fat graft with and without kinesiotaping // *Int Ophthalmol*. 2022; 42 (8): 2563–2571.
22. *Le J.M., Bosworth J.W., Honeywell B., Ananthasekar S., Collawn S.S.* Adipose Grafting for Volume and Scar Release // *Ann Plast Surg*. 2021; 86 (6S Suppl 5): S487–S490.
23. *Salwowska N.M., Bebenek K.A., Źądło D.A., Wcisło-Dziadecka D.L.* Physiochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review // *J Cosmet Dermatol*. 2016; 15 (4): 520–526.
24. *Tabassum N., Chowdary Jasthi V., Al Salem A., Kumar S.M.* Perspectives and challenges in lip rejuvenation: a systematic review // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023; 27 (19): 9043–9049.
25. *Ciccone V., Zazzetta M., Morbidelli L.* Comparison of the Effect of Two Hyaluronic Acid Preparations on Fibroblast and Endothelial Cell Functions Related to Angiogenesis // *Cells*. 2019; 8(12):1479.

HISTOLOGICAL COMPARISON OF LIPOFILLING AND HYALURONIC ACID-BASED PREPARATION 30 DAYS AFTER SIMULATION IN RATS

**E. A. Lavrenteva^{1, *}, M. V. Khlystalov¹, S. E. Moroz¹, O. S. Hodorovich^{1, 2},
A. G. Korolev^{1, 3}, S. S. Ibadullaeva¹, I. V. Kastyro¹, A. F. Kartasheva¹,
I. B. Ganshin¹, M. I. Barannik¹, P. V. Sarygin¹, A. N. Inozemtsev^{1, 3}**

¹*Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation*

²*Russian Research Center of Roentgenology and Radiology, Moscow, Russian Federation*

³*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

*e-mail: lavelina@ya.ru

Presented by Academician of the RAS I.V. Reshetov

A histological comparison of lipofilling and hyaluronic acid-based preparations in rats was conducted. In an experiment on rats, it was shown at the histological level that the use of autofat transplantation leads to a more uniform distribution of adipose tissue at a period of 30 days, a decrease in the area of the sebaceous glands during lipofilling, compared with hyaluronic acid-based preparations. Hyaluronic fillers contribute to an increase in the thickness of the cellular epidermis, including due to the growth of the granular layer, the thickness of the dermis and the filler itself in the subcutaneous space, compared to lipofilling.

Keywords: lipofilling, hyaluronic acid, fat transplantation, inflammation