














DOI 10.22363/2313-0245-2025-30-2-221-232

EDN GNQCZJ

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ORIGINAL RESEARCH


## Исследование экспрессии Ki-67 в трансплантированном жировом графте у крыс

С.С. Ибадуллаева<sup>1,2</sup> , И.В. Кастыро<sup>1</sup> , Ю.Е. Дьяченко<sup>1</sup>  , Э.А. Лаврентьева<sup>1</sup> ,  
М.В. Хлысталов<sup>1</sup> , С.Е. Мороз<sup>1</sup> , И.Б. Ганьшин<sup>1</sup> , В.И. Попадюк<sup>1</sup> ,  
А.Ф. Карташева<sup>1</sup> , А.Г. Королёв<sup>3</sup> , М.И. Баранник<sup>1</sup> , П.В. Сарыгин<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Клиника Будь Здоров, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Эстетический центр Referans, г. Баку, Азербайджан

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация

 [julika-98@yandex.ru](mailto:julika-98@yandex.ru)

**Аннотация.** *Актуальность.* Ауто трансплантация жира применяется в пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. В настоящее время нет исследований, направленных на изучение пролиферативной активности ауто трансплантатов жира после его различной предоперационной обработки. *Цель исследования:* оценить экспрессию Ki-67 в жировых ауто трансплантатах как маркера пролиферации на отдаленных сроках у крыс. *Материалы и методы:* исследована экспрессия белка Ki-67 в адипоцитах после ауто трансплантации жира у крыс через 30, 90 и 180 дней. Было применено три вида жировых ауто трансплантатов: солидный графт (3 группа), измельченный скальпелем графт (4 группа) и гомогенизированный жир в шприце Luer Lock (5 группа). Группу 1 составили интактные животные, а группы 2 — животные, которым однократно вводили в холку 0,9% раствор хлорида натрия. *Результаты и обсуждение:* через 30 дней после операции количество Ki-67-позитивных клеток в жировом графте 3-й группы было значимо выше, чем в ПЖК реципиентного места 3-й группы и 5-й группы ( $p < 0,001$ ). Данный показатель был значимо выше в 4-й группе, по сравнению с ПЖК в месте ауто трансплантации жира 3-й группы ( $p < 0,001$ ) и 5-й группы ( $p < 0,001$ ), и ниже, по сравнению с солидным графтом 3-й группы ( $p < 0,05$ ). На 90-й день после проведения операции количество Ki-67-позитивных клеток в солидном графе 3-й группы было значимо выше, чем в ПЖК реципиентного места той же группы и 5-й группы ( $p < 0,001$ ), а также 4-й группы ( $p < 0,01$ ). В 4-й группе в ПЖК в месте введения жировых ауто трансплантатов количество Ki-67-позитивных клеток было значимо выше, чем в ПЖК 3-й группы ( $p < 0,001$ ) и 5-й группы ( $p < 0,01$ ). В группе гомогенизированного жира этот показатель был статистически выше, чем в подкожно-жировой клетчатке в области места ауто трансплантации солидного графта в 3-й группе ( $p < 0,05$ ). *Выводы.* Трансплантация солидного графта через 3 месяца провоцирует стимуляцию образования подкожно-жировой клетчатки в месте его введения, с высокой активностью экспрессии белка Ki-67 клетками в самом жировом графте. При ауто трансплантации жировых графтов мелкого размера

© Ибадуллаева С.С., Кастыро И.В., Дьяченко Ю.Е., Лаврентьева Э.А., Хлысталов М.В., Мороз С.Е., Ганьшин И.Б., Попадюк В.И., Карташева А.Ф., Королёв А.Г., Баранник М.И., Сарыгин П.В., 2026



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

(1×2×1 мм) и гомогенизированного жира через 30 и 90 дней отмечается прорастание соединительно-тканых тяжей, содержащих Ki-67-позитивные клетки и кровеносные сосуды.

**Ключевые слова:** трансплантация жира, Ki-67, липофилинг, пролиферация, адипоцит

**Информация о финансировании.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

**Вклад авторов.** Ибадуллаева С.С. — проведение эксперимента, написание статьи. Кастыро И.В. — написание статьи, разработка дизайна исследования, Дьяченко Ю.Е. — редакция статьи, проведение эксперимента. Лаврентьева Э.А. — проведение эксперимента, статистическая обработка данных, работа с научной литературой. Хлысталов М.В. — проведение эксперимента, статистическая обработка данных, работа с научной литературой. Мороз С.Е. — проведение эксперимента, описание гистологических препаратов, корректура статьи, работа с научной литературой. Ганьшин И.Б. — разработка дизайна исследования, корректура статьи, работа с научной литературой. Попадюк В.И. — разработка дизайна исследования, Карташева А.Ф. — корректура статьи, работа с научной литературой. Королев А.Г. — проведение эксперимента, статистическая обработка данных. Баранник М.И. — корректура статьи, работа с научной литературой. Сарыгин П.В. — корректура статьи, работа с научной литературой. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

**Информация о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Этическое утверждение.** Исследование одобрено локальным Комитетом по Этике медицинского института РУДН, протокол № 02–24 от 20.02.2023 г.

**Благодарности** — неприменимо.

**Информационное согласие на публикацию** — неприменимо.

Поступила 17.09.2025. Принята 17.10.2025.

**Для цитирования:** Ибадуллаева С.С., Кастыро И.В., Дьяченко Ю.Е., Лаврентьева Э.А., Хлысталов М.В., Мороз С.Е., Ганьшин И.Б., Попадюк В.И., Карташева А.Ф., Королев А.Г., Баранник М.И., Сарыгин П.В. Исследование экспрессии Ki-67 в трансплантированном жировом графте у крыс // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2026. Т. 30. № 2. С. 221–232. doi: 10.22363/2313-0245-2026-30-2-221-232. EDN: GNQCZJ

## Study of Ki-67 expression in transplanted fat graft in rats

Svetlana S. Ibadullaeva<sup>1, 2</sup> , Igor V. Kastyro<sup>1</sup> , Yulia E. Dyachenko<sup>1</sup>  

Elina A. Lavrentyeva<sup>1</sup> , Maxim V. KhlystaloV<sup>1</sup> , Svetlana E. Moroz<sup>1</sup> 


Igor B. Ganshin<sup>1</sup> , Valentin I. Popadyuk<sup>1</sup> , Alla F. Kartasheva<sup>1</sup> , Alexey G. Korolev<sup>3</sup> 

Mikhail I. Barannik<sup>1</sup> , Pavel V. Sarygin<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Clinic Be Healthy, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Aesthetic centre Referans, Baku, Azerbaijan

<sup>3</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

 julika-98@yandex.ru

**Abstract. Relevance.** Autotransplantation of fat is used in plastic, reconstructive and aesthetic surgery. Currently, there are no studies aimed at studying the proliferative activity of autotransplants of fat after its various preoperative treatment. **Aims.** To evaluate Ki-67 expression in fat autografts as a marker of proliferation at distant time points in rats. **Materials and Methods.** Ki-67 protein expression was examined in adipocytes after fat autografting in rats after 30, 90 and 180 days. Three types of fat

autografts were used: solid graft (group 3), scalpel-shredded graft (group 4) and homogenised fat in Luer Lock syringe (group 5). Group 1 consisted of intact animals and group 2 consisted of animals injected once in the withers with 0.9 % sodium chloride solution. **Results and Discussion.** The findings of the study indicated that, 30 days following the surgical procedure, the number of Ki-67-positive cells in the fat graft of group 3 was considerably higher than in the SCF of the recipient site of groups 3 and 5 ( $p < 0.001$ ). The same marker was found to be significantly higher in the 4th group when compared to the control group of the autotransplantation of fat in the 3rd and 5th groups ( $p < 0.001$ ), and to the 3rd group ( $p < 0.05$ ). On the 90th day following surgery, the number of Ki-67-positive cells in the solid graft of group 3 was significantly higher than in the subcutaneous fat of the recipient site of the same group and group 5 ( $p < 0.001$ ), as well as group 4 ( $p < 0.01$ ). In group 4, the number of Ki-67-positive cells in subcutaneous fat at the injection site of fat autografts was significantly higher than in subcutaneous fat in group 3 ( $p < 0.001$ ) and group 5 ( $p < 0.01$ ). In the group of homogenised fat, this indicator was found to be statistically higher than in subcutaneous fat in the area of the autotransplantation site of the solid graft in group 3 ( $p < 0.05$ ). **Conclusion.** The transplantation of a solid graft after a period of three months has been shown to stimulate the formation of subcutaneous fatty tissue at the site of its insertion. Furthermore, high activity of Ki-67 protein expression by cells in the fat graft itself has been observed. Moreover, at the time of autotransplantation of small-sized fat grafts (1×2×1 mm) and homogenised fat after 30 and 90 days, sprouting of connective-tissue strands containing Ki-67-positive cells and blood vessels was observed.

**Key words:** fat transplantation, Ki-67, fat grafting, proliferation, adipocyte

**Funding.** The authors state that there was no external funding.

**Author contributions.** Ibadullaeva S.S. — conducting the experiment, writing the article, Kastyro I.V. — writing the article, developing the study design, Dyachenko Y.E. — the editor of the article, conducting the experiment, Lavrenteva E.A. — conducting the experiment, statistical data processing, working with scientific literature, Khlystalov M.V. — conducting the experiment, statistical data processing, working with scientific literature, Moroz S.E. — conducting the experiment, describing histological preparations, proofreading the article, working with scientific literature, Ganshin I.B. — developing the study design, proofreading the article, working with scientific literature, Popadyuk V.I. — developing the study design, Kartasheva A.F. — proofreading the article, working with scientific literature, Korolev A.G. — conducting the experiment, statistical data processing, Barannik M.I. — proofreading the article, working with scientific literature, Sarygin P.V. — proofreading the article, working with scientific literature. All authors approved the version to be published; and agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

**Conflicts of interest statement.** Authors declare no conflict of interest.

**Ethics approval.** The study was approved by the local Ethics Committee of the RUDN Medical Institute, Protocol No. 02–24 dated 02/20/2023.

**Acknowledgements** — not applicable.

**Consent for publication** — not applicable.

Received 17.09.2025. Accepted 17.10.2025.

**For citation:** Ibadullaeva SS, Kastyro IV, Dyachenko YE, Lavrenteva EA, Khlystalov MV, Moroz SE, Ganshin IB, Popadyuk VI, Kartasheva AF, Korolev AG, Barannik MI, Sarygin PV. Highly differentiated cells in the therapy of acute respiratory distress syndrome. *RUDN Journal of Medicine*. 2026;30(2):221–232. (In Russian). doi: 10.22363/2313-0245-2026-30-2-221-232. EDN: GNQCZJ

## Введение

Аутотрансплантация жира завоевала широкую популярность в пластической хирургии для коррекции контуров мягких тканей, восполнения потери ее объемов и омоложения кожи, однако проблема потери объема после трансплантации остается все еще актуальной. В последние годы были разработа-

ны новые стратегии, которые несколько улучшили результаты липофилинга и трансплантации жировой ткани. Вопрос сохранения жирового трансплантата все еще требует дальнейших исследований. Это открывает новые возможности в изучении механизмов регенерации стволовых клеток жировой ткани в реципиентном месте после трансплантации

жира. Значение белка экспрессии Ki-67, апоптоза, макрофагов, которые тесно связаны с локальной микросредой и регенерацией тканей, становится все более важной в контексте пересадки жира [1–4].

Изучение активности стволовых клеток жировой ткани и стромально-васкулярной фракции может стать новым этапом в понимании методов улучшения приживаемости жировых трансплантатов и их последующей сохранности в месте пересадки [5]. Белок Ki-67 на протяжении десятилетий используется в качестве маркера пролиферации опухолевых клеток человека. В процессе митоза Ki-67 играет ключевую роль в формировании перихромосомного слоя — рибонуклеопротеиновой оболочки, которая покрывает конденсированные хромосомы. В этой структуре Ki-67 предотвращает агрегацию митотических хромосом, обеспечивая их правильное разделение [6].

Для лучшего понимания нормальных митотических и пролиферативных процессов в жировом аутоотрансплантате при различных методах его обработки возможна оценка экспрессии белка Ki-67 в жировой ткани и тканях, окружающих жировой трансплантат.

**Цель исследования.** Оценить экспрессию Ki-67 в жировых аутоотрансплантатах как маркера пролиферации на отдаленных сроках у крыс.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Исследование было проведено на 65 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Контроль-негативную группу интактных животных составили 5 крыс, которым не проводилось никаких манипуляций (1 группа,  $n = 5$ ). Во 2-й группе (контроль-позитивная,  $n = 15$ ) иглой 25G ( $D = 0.5$  мм) в участок кожи на холке площадью  $1 \text{ см}^2$  внутрикожно 6-кратно вводили  $0,05 \text{ мл}$   $0,9\%$  раствор хлорида натрия. В третьей группе ( $n = 15$ ) вводился аутоотрансплантат цельной необработанной жировой ткани размером  $2 \times 4 \times 3 \text{ мм}$  ( $1,2 \pm 0,5 \text{ мг}$ ) в область холки через разрез длиной  $5 \text{ мм}$ . В четвертой группе

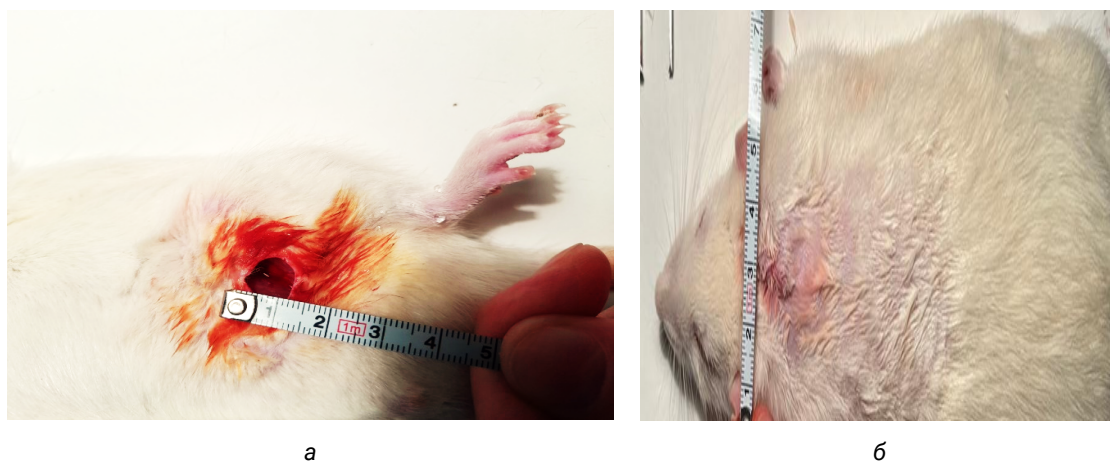
( $n = 15$ ) проводилась трансплантация предварительно измельченной скальпелем собственной жировой ткани  $1 \times 2 \times 1 \text{ мм}$  ( $1,33 \pm 0,47 \text{ мг}$ ). Крысам данной группы в область холки через разрез  $0,5 \text{ см}$  вводили предварительно измельченную скальпелем жировую ткань. В пятой группе ( $n = 15$ ) через иглу 20G ( $D = 1 \text{ мм}$ ) в области холки внутрикожно вводили препарат собственной жировой ткани после предварительной ее обработке в шприце Луер Лок ( $2 \text{ мл}$ ) с последовательной сменой насадок с диаметром отверстий от  $2,4 \text{ мм}$  до  $0,2 \text{ мм}$ . Критерием готовности материала была его способность проходить через иглу шприца диаметром  $0,6 \text{ мм}$ . Объем одной инъекции составлял  $0,05 \text{ мл}$  посредством 6-ти инъекций на площадь  $1 \text{ см}^2$ . Жировая ткань у всех крыс извлекалась из паховой области (Рисунок 1) и промывалась охлажденным  $0,9\%$  раствором хлорида натрия, после чего обрабатывалась одним из указанных методов. Оценивали количество клеток с экспрессией Ki-67 в месте трансплантированного жира и толщину жировых графтов.

Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU. Исследование одобрено локальным Комитетом по этике медицинского института РУДН, протокол № 02–24 от 20.02.2023 г.

Всем крысам 2–5 групп манипуляции проводились под общей анестезией при помощи изофлуранового наркоза ( $6\%$ ) в эксикаторе. После чего крысы проверялись на стандартные защитные рефлексы. Затем уменьшалась подача наркоза в испарителе до  $0,6$ – $1\%$ . После чего животные помещались на операционном столе и им надевали наркозную маску. После окончания процедур выключали испаритель и снимали наркозную маску.

### Забор тканей и иммуногистохимическая окраска препаратов

Эвтаназию крысам 2–5 групп проводили через 30, 90 и 180 дней после проведения эксперимента при помощи внутрибрюшинного введения токсичных доз раствора Золетила 100. После этого проводилась вырезка тканей в области холки. Ткани после проведения их забора помещались в  $10\%$



**Рис. 1.** Локализация места забора аутотрансплантата жировой ткани у крыс (а), определение координат для трансплантации жировой ткани у крыс в 3–5 группах (б). Стрелкой указано место трансплантации

**Fig. 1.** Localization of the site of autotransplantation of adipose tissue in rats (а), determination of coordinates for transplantation of adipose tissue in rats in 3–5 groups (б). The arrow indicates the place of transplantation

раствор забуференного формалина и фиксировались в течение 1 недели. Проводилась заливка тканей парафином и приготовление парафиновых блоков. Толщина всех срезов составляла 4 микрона. Срезы окрашивались моноклональными кроличьими антителами к белку Ki-67 (клон GM0010, Россия). Оценивали площадь сальных желез (ПСЖ) и долю Ki-67-позитивных клеток в них. Препараты сканировались на микроскопе KFBIO 400 (Konfoong Biotech International Co., Ltd., КНР). Сканированные срезы анализировались при помощи программного обеспечения Aperio ImageScope v12.2.2.5015 (Leica Microsystems, Франция).

#### Статистическая обработка данных

Данные обрабатывались в программном обеспечении Microsoft Excel, MATLAB, STATISTICA 12.6, JASP 0.14.0.0. При сопоставлении данных группы на различных сроках после введения препаратов применялся критерий Вилкоксона. При сравнении данных экспериментальных групп между собой и с данными контрольных групп применяли Критерий Краскела–Уоллиса или критерий Манна–Уитни. Для каждого сравнения в результате статистического анализа определялся свой уровень значимости ( $p < \text{от } 0,001 \text{ до } 0,05$ ).

#### Результаты и обсуждение

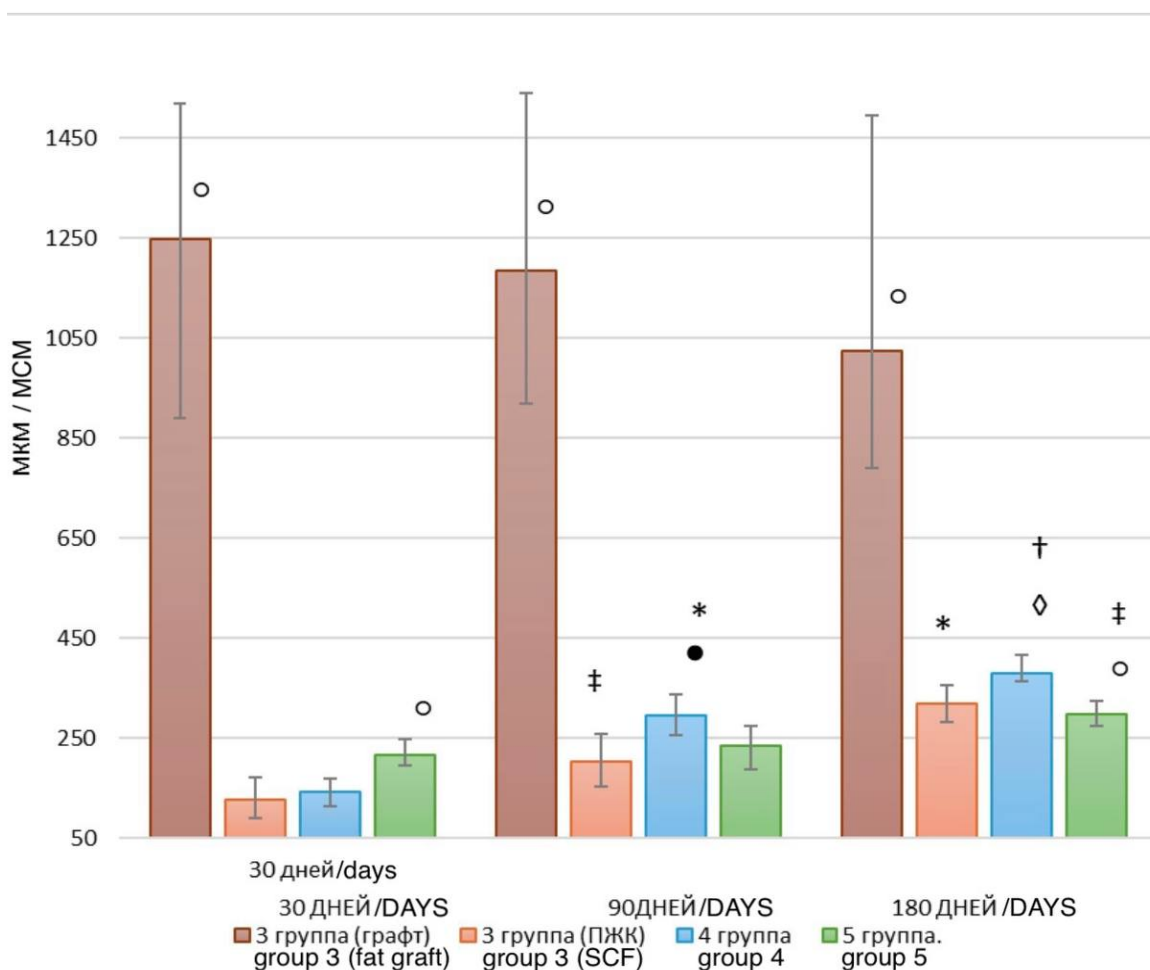
Критерий Краскела–Уоллиса показал, что толщина имплантированного солидного жирового графта на всех сроках в 3-й группе была значимо выше, чем толщина подкожной жировой клетчатки (ПЖК) в той же группе и жировой ткани после аутотрансплантации мелких графтов (4-я группа) и введения гомогенизированного жира (5-я группа) ( $p < 0,001$ ). При этом его размеры значимо не менялись в течение всего срока анализа.

Критерий Манна–Уитни показал, что через 1 месяц после проведения эксперимента в 5-й группе подкожно-жировая клетчатка в реципиентной области была достоверно толще по сравнению с 3-й и 4-й группами ( $p < 0,001$ ). Через 3 месяца размер ПЖК был значимо выше в 4-й группе по сравнению с остальными экспериментальными группами ( $p < 0,01$ ). Через полгода сохранялась та же тенденция — толщина жировой ткани в гиподерме была выше в 4-й группе по сравнению с 3-й ( $p < 0,05$ ) и 5-й группами ( $p < 0,001$ ) (рис. 2, табл. 1).

Критерий Манна–Уитни выявил, что в группе крыс, которым имплантировали солидный графт, толщина образовавшейся ПЖК на 90-й день увеличилась по сравнению с 30-м днем ( $p < 0,05$ ). На 180-й день она также выросла по сравнению с 90-м днем

( $p < 0,001$ ). В 4-й группе толщина жира в гиподерме значительно возросла на 90-й день по сравнению с 30-м ( $p < 0,001$ ) и на 180-й день, по сравнению с 90-м днем ( $p < 0,001$ ) ( $p < 0,001$ ) ( $p < 0,001$ ) ( $p < 0,01$ ).

Увеличение толщины ПЖК в месте введения гомогенизированного жирового графта произошло лишь на 180-й день после проведения эксперимента ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 2, Таблица 1).



**Рис. 2.** Изменения толщины жировых графтов после различных видов липофилинга

*Примечание:* \* – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,001$ ); † – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,01$ ); ‡ – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,05$ ); ○ – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,001$ ); ● – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,01$ ); ◊ – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 2.** Changes in the thickness of fat grafts after various types of lipofilling.

*Note:* \* – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.001$ ); † – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.01$ ); ‡ – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.05$ ); ○ – differences between the experimental groups at different dates ( $p < 0.001$ ); ● – differences between experimental groups at different dates ( $p < 0.01$ ); ◊ – differences between experimental groups at different dates ( $p < 0.05$ ).

Таблица 1

## Значения толщины жировых графтов и ПЖК после трансплантации различных видов липофилинга

Толщина графта (мкм)		3 группа (графт)	3 группа (ПЖК)	4 группа	5 группа
30 дней	25 % перцентиль	357	45	25	31
	Медиана	1247	127	143	217
	75 % перцентиль	271	38	29	23
90 дней	25 % перцентиль	264	55	42	41
	Медиана	1184	204	295	234
	75 % перцентиль	356	51	39	47
180 дней	25 % перцентиль	233	38	38	26
	Медиана	1023	318	379	298
	75 % перцентиль	472	36	16	24

Table 1

## Values of the thickness of fat grafts and subcutaneous fat tissue after transplantation of various types of lipofilling

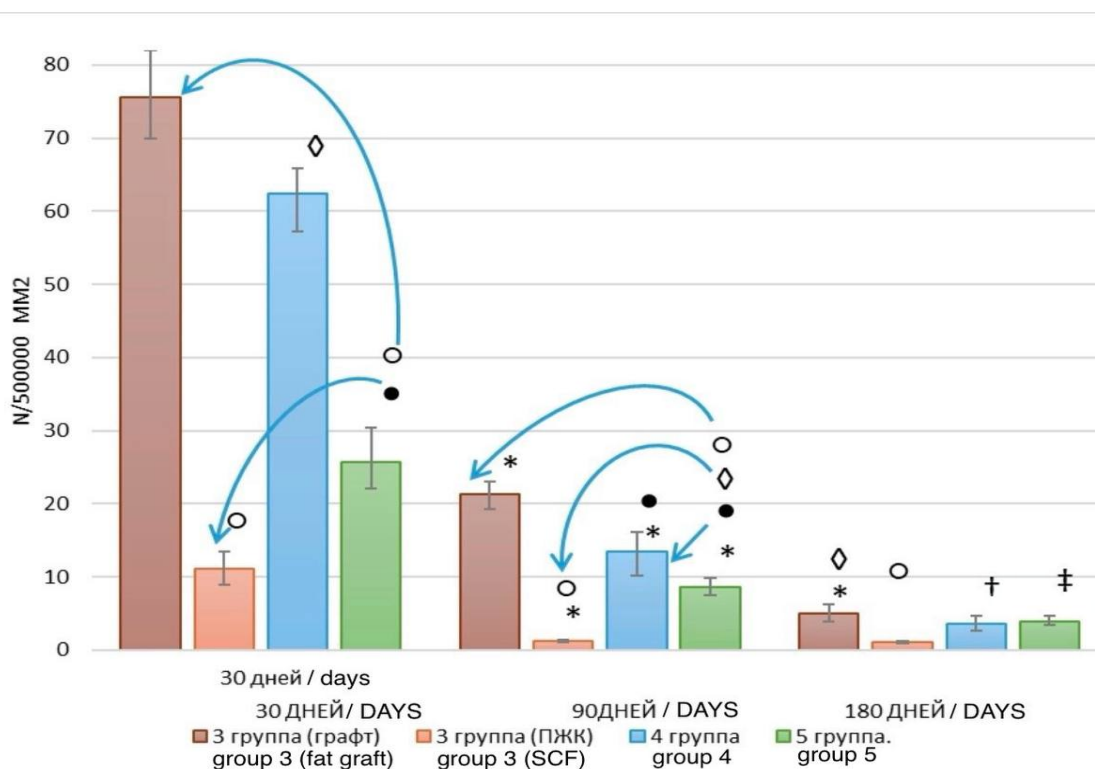
Graft thickness ( $\mu\text{m}$ )		Group 3 (fat graft)	Group 3(SCF)	Group 4	Group 5
30 days	25% percentile	357	45	25	31
	median	1247	127	143	217
	75% percentile	271	38	29	23
90 days	25% percentile	264	55	42	41
	median	1184	204	295	234
	75% percentile	356	51	39	47
180 days	25% percentile	233	38	38	26
	median	1023	318	379	298
	75% percentile	472	36	16	24

Количество Ki-67-позитивных клеток в жировой ткани. Критерий Краскела–Уоллиса показал, что на 30-й день после операции в солидном графте 3-й группы количество Ki-67-позитивных клеток статистически значимо было выше, по сравнению с 90-м днем ( $p < 0,001$ ). Это количество значительно уменьшилось на 180-й день по сравнению с 90-м днем ( $p < 0,001$ ). Количество Ki-67-позитивных клеток в ПЖК 3-й группы по сравнению с 30-м послеоперационным днем на 90-й и 180-й дни достоверно снизилось ( $p < 0,001$ ). Этот показатель снижался и в 4-й группе. Так, на 90-й день Ki-67-позитивных клеток было меньше, чем на 30-й день ( $p < 0,001$ ), а на 180-й день эта величина снизилась по сравнению с 90-м днем ( $p < 0,01$ ). Количество Ki-67-позитивных

клеток в жировой ткани в месте введения гомогенизированного жира на 90-й день было значительно меньше, чем на 30-й день ( $p < 0,001$ ). Через 6 месяцев этот показатель достоверно уменьшился по сравнению с тремя месяцами ранее ( $p < 0,05$ ) (рис. 3, табл. 2). Критерий Манна–Уитни определил, что через 30 дней после операции количество Ki-67-позитивных клеток в жировом графте 3-й группы было значимо выше, чем в ПЖК реципиентного места 3-й группы и 5-й группы ( $p < 0,001$ ). Данный показатель был значимо выше в 4-й группе по сравнению с ПЖК в месте аутопересадки жира 3-й группы ( $p < 0,001$ ) и 5-й группы ( $p < 0,001$ ) и ниже, по сравнению с солидным графтом 3-й группы ( $p < 0,05$ ). Количество Ki-67-позитивных клеток

было достоверно выше в 5-й группе по сравнению с ПЖК 3-й группы ( $p < 0,01$ ) (рис. 3, табл. 2). Согласно критерию Манна–Уитни, на 90-й день после проведения операции количество Ki-67-положительных клеток в солидном графте 3-й группы было значимо выше, чем в ПЖК реципиентного места той же группы и 5-й группы ( $p < 0,001$ ), а также 4-й группы ( $p < 0,01$ ). В 4-й группе в ПЖК в месте введения жировых ауто трансплантатов количество Ki-67-положительных клеток было значи-

мо выше, чем в ПЖК 3-й группы ( $p < 0,001$ ) и 5-й группы ( $p < 0,01$ ). В группе гомогенизированного жира этот показатель был статистически выше, чем в подкожно-жировой клетчатке в области места ауто трансплантации солидного графта в 3-й группе ( $p < 0,05$ ). Через 180 дней количество Ki-67-положительных клеток было достоверно выше лишь в солидном графте 3-й группы по сравнению с ПЖК той же группы и остальных экспериментальных групп ( $p < 0,001$ ) (рис. 3, табл. 2).



**Рис. 3.** Изменения содержания Ki-67-положительных клеток в жировой ткани после различных видов липофилинга (описание в тексте)

*Примечание:* \* – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,001$ ); † – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,01$ ); ‡ – различия между сроками в экспериментальных группах ( $p < 0,05$ ); ○ – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,001$ ); ● – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,01$ ); ◊ – различия между экспериментальными группами на разных сроках ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 3.** Changes in the content of Ki-67-positive cells in adipose tissue after various types of lipofilling (description in the text)

*Note:* \* – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.001$ ); † – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.01$ ); ‡ – differences between the dates in the experimental groups ( $p < 0.05$ ); ○ – differences between the experimental groups at different dates ( $p < 0.001$ ); ● – differences between experimental groups at different dates ( $p < 0.01$ ); ◊ – differences between experimental groups at different dates ( $p < 0.05$ ).

Таблица 2

## Значения количества Ki-67-позитивных клеток после трансплантации различных видов жировых графтов

Ki-67-позитивные клетки (n/500000 $\mu\text{m}^2$ )		3 группа (графт)	3 группа (ПЖК)	4 группа	5 группа
30 дней	25 % перцентиль	5,67	2,33	3,53	4,78
	Медиана	75,61	11,18	62,37	25,64
	75 % перцентиль	6,33	2,27	5,09	3,49
90 дней	25 % перцентиль	2,08	0,17	2,64	1,24
	Медиана	21,33	1,26	13,55	8,57
	75 % перцентиль	1,72	0,13	3,41	1,01
180 дней	25 % перцентиль	1,07	0,21	1,01	0,67
	Медиана	4,97	1,08	3,67	3,95
	75 % перцентиль	1,34	0,09	0,99	0,44

Table 2

## Values of the number of Ki-67-positive cells after transplantation of various types of fat grafts

Ki-67-positive cells (n/500000 $\mu\text{m}^2$ )		Group 3(fat graft)	Group 3(SCF)	Group 4	Group 5
30 days	25% percentile	5.67	2.33	3.53	4.78
	median	75.61	11.18	62.37	25.64
	75% percentile	6.33	2.27	5.09	3.49
90 days	25% percentile	2.08	0.17	2.64	1.24
	median	21.33	1.26	13.55	8.57
	75% percentile	1.72	0.13	3.41	1.01
180 days	25% percentile	1.07	0.21	1.01	0.67
	median	4.97	1.08	3.67	3.95
	75% percentile	1.34	0.09	0.99	0.44

Данное исследование является первым, в котором описана экспрессия белка Ki-67 в жировых графтах в зависимости от вида обработки пересаженного аутожира у крыс.

Обогащение жирового графта культивированными клетками СВФ и тромбоцитарным фактором роста представляет собой один из перспективных методов, активно исследуемых для улучшения выживаемости трансплантатов. Эти подходы могут способствовать выживанию трансплантата через несколько механизмов, включая усиление ангиогенеза, что, в свою очередь, улучшает кровоснабжение и доставку кислорода и питательных веществ к клеткам трансплантата. Кроме того, разбиение жирового трансплантата на более мелкие фрагменты также

может способствовать улучшению выживаемости. Такой подход обеспечивает более эффективный доступ привитых клеток к оксигенации и питанию в донорской области. Уменьшая размер фрагментов, можно увеличить площадь поверхности, что позволяет улучшить диффузию кислорода и питательных веществ, а также способствует более равномерному распределению клеток в трансплантате. Таким образом, сочетание этих методов может создать оптимальные условия для выживания и интеграции жирового трансплантата, что имеет важное значение для успешного выполнения процедур пересадки жировой ткани в клинической практике [7]. В настоящем исследовании именно группа крыс, которой были пересажены мелкие жировые графты, показала

самую высокую экспрессию Ki-67 в графте через 1 и 3 месяца по сравнению с другими группами. Эти показатели схожи и с ростом толщины жира в гиподерме. Это связано, по-видимому, с тем, что солидный графт подвергается некрозу на ранних стадиях его приживаемости и с последующим его фиброзированием, а при пересадке гомогенизированного жира, вероятно, погибает достаточное количество стволовых клеток из стромально-васкулярной фракции [8]. Рост экспрессии белка Ki-67 в солидном графте, по сравнению с другими группами, по нашему мнению, свидетельствует о запуске процессов регенерации и фиброза, так как количество Ki-позитивных клеток было высоко в соединительной ткани [9], а не в жировой.

У интактных крыс и крыс, которым вводили 0,9 % раствор хлорида натрия, в гиподерме жировой ткани обнаружено не было. В связи с этим представляется интересным тот факт, что после трансплантации солидного графта между гиподермой и мышечным слоем в гиподерме у крыс была обнаружена новая жировая ткань. Это, скорее всего, связано с миграцией клеток стромально-васкулярной фракции из поверхностных слоев графта в соседние слои гиподермы или воздействием факторов дифференцировки из трансплантированных клеток на стволовые клетки мезенхимы в реципиентном месте. Это подтверждается исследованиями, в которых меченые стволовые клетки жировой ткани мышам вводили внутривенно после пересадки жировых графтов, в которых эти клетки активно накапливались [10]. В других исследованиях, направленных на изучение стволовых клеток жировой ткани в процессах ревитализации послеоперационных тканей, была подтверждена способность СТКЖ к миграции в области послеоперационной раны [11]. Тем не менее, толщина этого новообразованного жира с течением времени (на 90-й и 180-й дни) стала уменьшаться, что связано, по-видимому, со снижением активности клеток СВФ, которые в условиях гипоксии могут сохранять свою активность до 3 недель и запускать процессы регенерации уже через 3 дня после проведения липофилинга [12]. Подобные изменения новообразованной жировой клетчатки у крыс помогут

объяснить исследования, направленные на изучение апоптоза после аутооттрансплантации жира [13–19]. В клинической практике понимание этих механизмов поможет найти методику сохранения объемов имплантированного и новообразованного жира.

## Выводы

На основании полученных результатов очевидно, что трансплантация солидного графта через 3 месяца провоцирует стимуляцию образования подкожно-жировой клетчатки в месте его введения, с высокой активностью экспрессии белка Ki-67 клетками в самом жировом графте. При аутооттрансплантации жировых графтов мелкого размера (1x2x1 мм) и гомогенизированного жира через 30 и 90 дней отмечается прорастание соединительно-тканых тяжей, содержащих Ki-67-позитивные клетки и кровеносные сосуды. Различный размер адипоцитов при данных методах трансплантации косвенно свидетельствует о разных стадиях их роста и дифференцировки.

Размер жирового графта напрямую оказывает влияние на экспрессию белка Ki-67 в клетках аутооттрансплантатов. Введение гомогенизированного жира провоцирует наименьшую активность экспрессии белка Ki-67 на всех сроках по сравнению с солидным и измельченными жировыми графтами.

## References/Список литературы

1. Wang HJ, Li CY, Wang YK. Diagnostic implications of Ki-67 expression in adipocytes and lipoblasts: an immunohistochemical study. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(12): 8899–904.
2. Pang H, Zhou Y, Wang J, Wu H, Liu X, Gao F, Xiao Z. Berberine Influences the Survival of Fat Grafting by Inhibiting Autophagy and Apoptosis of Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells. *Drug Des Devel Ther.* 2021;15:4795–4809. doi:10.2147/DDDT.S337215
3. Chen Q, Liu S, Cao L, Yu M, Wang H. Effects of macrophage regulation on fat grafting survival: Improvement, mechanisms, and potential application-A review. *J Cosmet Dermatol.* 2022;21(1):54–61. doi:10.1111/jocd.14295
4. Zhao J, Ding X, Peng C, Tian X, Wang M, Fu Y, Guo H, Bai X, Zhai X, Huang Q, Liu K, Li L, Ye H, Zhang X, Ma X, Wang H. Assessment of Ki-67 proliferation index in prognosis prediction in patients with nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma and tumor thrombus. *Urol Oncol.* 2024;42(1):23. e5–23. e13. doi:10.1016/j.urolonc.2023.11.001

5. Debus B, Gendron N, Cras A, Rancic J, Philippe A, Cetrulo CL Jr, Lellouch AG, Smadja DM. Improving Autologous Fat Grafting in Regenerative Surgery through Stem Cell-Assisted Lipotransfer. *Stem Cell Rev Rep*. 2023;19(6):1726–1754. doi:10.1007/s12015–023–10568–4
6. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018; 127 (2): 175–186
7. Brooker JE, Rubin JP, Marra KG. The Future of Facial Fat Grafting. *J Craniofac Surg*. 2019;30(3):644–651. doi:10.1097/SCS.0000000000005274
8. Azoury SC, Shakir S, Bucky LP, Percec I. Modern Fat Grafting Techniques to the Face and Neck. *Plast Reconstr Surg*. 2021;148(4):620e–633e. doi:10.1097/PRS.00000000000008405
9. Wang T, Li T, Niu X, Hu L, Cheng J, Guo D, Ren H, Zhao R, Ji Z, Liu P, Li Y, Guo Y. ADSC-derived exosomes attenuate myocardial infarction injury by promoting miR-205-mediated cardiac angiogenesis. *Biol Direct*. 2023;18(1):6. doi:10.1186/s13062–023–00361–1
10. Hong KY, Kim IK, Park SO, Jin US, Chang H. Systemic Administration of Adipose-Derived Stromal Cells Concurrent with Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(5):973e–982e. doi:10.1097/PRS.0000000000005513
11. Wu SH, Shirado T, Mashiko T, Feng J, Asahi R, Kanayama K, Mori M, Chi D, Sunaga A, Sarukawa S, Yoshimura K. Therapeutic Effects of Human Adipose-Derived Products on Impaired Wound Healing in Irradiated Tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2018;142(2):83–391. doi:10.1097/PRS.0000000000004609
12. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(5):1081–1092.
13. Zhang Y, Cai J, Zhou T, Yao Y, Dong Z, Lu F. Improved Long-Term Volume Retention of Stromal Vascular Fraction Gel Grafting with Enhanced Angiogenesis and Adipogenesis. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(5):676e–686e. doi:10.1097/PRS.00000000000004312
14. Moroz SE, Lavrentieva EA, Khlystalov MV, Ibadullaeva SS, Popadyuk VI, Kastyro IV, Ganshin IB, Korolev AG, Kotov VN, Ivanova YuV, Uvartseva ID, Kulikova IA. Pathomorphological changes in tissues with various methods of transplantation of adipose tissue (experimental study). *Head and neck. Russian Journal*. 2024;12(4):41–49 (In Russian). [Мороз С.Е., Лаврентьева Э.А., Хлысталов М.В., Ибадуллаева С.С., Попадюк В.И., Кастыро И.В., Ганьшин И.Б., Королев А.Г., Котов В.Н., Иванова Ю.В., Уварцева И.Д., Куликова И.А. Патоморфологические изменения в тканях при различных методах трансплантации жировой ткани (экспериментальное исследование). *Head and neck. Голова и шея. Российский журнал*. 2024. Т. 12(4). С. 41–49]. doi: 10.25792/HN.2024.12.4.41–49
15. Torshin VI, Kastyro IV, Reshetov IV, Kostyaeva MG, Popadyuk VI. The Relationship between P53-Positive Neurons and Dark Neurons in the Hippocampus of Rats after Surgical Interventions on the Nasal Septum. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2022;502:30–35. doi:10.1134/S1607672922010094
16. Kastyro IV, Reshetov IV, Khamidulin GV, Shilin SS, Torshin VI, KostyaevaMG, Popadyuk VI, Yunusov TY, Shmaevsky PE, Shalamov KP, Kupryakova AD, Doroginskaya ES, Sedelnikova AD. Influence of Surgical Trauma in the Nasal Cavity on the Expression of p53 Protein in the Hippocampus of Rats. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2021;497:99–103. doi:10.1134/S160767292102006X
17. Kastyro IV, Khamidulin GV, Dyachenko YuE, Kostyaeva MG, Tsymbal AA, Shilin SS, Popadyuk VI, Mikhalskaya PV, Ganshin IB. 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 (In Russian). [Кастыро И.В., Хамидулин Г.В., Дьяченко Ю.Е., и др. Исследование экспрессии белка p53 и образования темных нейронов в гиппокампе у крыс при моделировании септопластики. *Российская ринология*. 2023;31(1):27–36.]. doi: 10.17116/rosrino20233101127
18. Kastyro IV, Mikhalskaia PV, Khamidulin GV, Kostyaeva MG, Tsymbal AA, Shilin SS, Popadyuk VI, Pavluk-Pavluchenko LL, Minasyan PN, Markushin AA, Ganshin IB. 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. doi: 10.33594/000000605
19. Kostyaeva MG, Kastyro IV, Yunusov TYu, Kolomin TA, Torshin VI, Popadyuk VI, Dragunova SG, Shilin SS, Kleiman VK, Slominsky PA, Teplov AY. Protein p53 Expression and Dark Neurons in Rat Hippocampus after Experimental Septoplasty Simulation. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2022;37(1):19–24. doi: 10.3103/S0891416822010037

*Ответственный за переписку:* Дьяченко Юлия Евгеньевна — ассистент врача-оториноларинголога ООО «Клиника Будь Здоров». Адрес: 119146, Россия, г. Москва, Комсомольский пр-кт, д. 28, эт 1, 3 пом III, VI. E-mail: julika-98@yandex.ru

Дьяченко Ю.Е. SPIN 8345-5829, ORCID 0000-0001-8469-6073

Ибадуллаева С.С. ORCID 0000-0001-9237-3995

Кастыро И.В. SPIN 5694-3710, ORCID 0000-0001-6134-3080

Лаврентьева Э.А. ORCID 0009-0005-3833-1491

Хлысталов М.В. ORCID 0009-0002-6766-8323

Мороз С.Е. ORCID 0000-0002-3892-0596

Ганьшин И.Б. SPIN 2765-7044, ORCID 0000-0001-5766-9416

Попадюк В.И. SPIN 6284-8040, ORCID 0000-0003-3309-4683

Карташева А.Ф. SPIN 5814-9282, ORCID 0000-0002-8533-301X

Королев А.Г. SPIN 5114-8832, ORCID 0000-0003-0828-7715

Баранник М.И. SPIN 8925-3202, ORCID 0000-0002-6540-3252

Сарыгин П.В. SPIN 4926-4406, ORCID 0000-0003-3787-2147

*Corresponding author:* Dyachenko Yulia Evgenievna — Assistant of an otorhinolaryngologist LLC «Bud Zdorov».

Address: 119146, Russia, Moscow, Komsomolsky Prospect, 28, floor 1, 3 room III, VI. E-mail: julika-98@yandex.ru

Dyachenko Y.E. SPIN 8345-5829, ORCID 0000-0001-8469-6073

Ibadullaeva S.S. ORCID 0000-0001-9237-3995

Kastyro I.V. SPIN 5694-3710, ORCID 0000-0001-6134-3080

Lavrentieva E.A. ORCID 0009-0005-3833-1491

Khlystalov M.V. ORCID 0009-0002-6766-8323

Moroz S.E. ORCID 0000-0002-3892-0596

Ganshin I.B. SPIN 2765-7044, ORCID 0000-0001-5766-9416

Popadyuk V.I. SPIN 6284-8040, ORCID 0000-0003-3309-4683

Kartasheva A.F. SPIN 5814-9282, ORCID 0000-0002-8533-301X

Korolev A.G. SPIN 5114-8832, ORCID 0000-0003-0828-7715

Barannik M.I. SPIN 8925-3202, ORCID 0000-0002-6540-3252

Sarygin P.V. SPIN 4926-4406, ORCID 0000-0003-3787-2147