

КОСМЕТИКА & МЕДИЦИНА

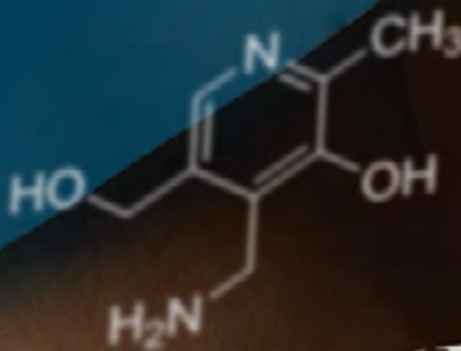
НАУЧНО-ПУБЛИЦИСТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

$$E = k \frac{q}{r^2}$$

ВДОХНОВЕНИЕ

НОВЫЙ ПРОДУКТ

НАУКА



ОТКРЫТИЕ



Зорина А.И., Зорин В.Л.

Стромально-васкулярная клеточная фракция: возможности применения в эстетической медицине

Регенерация тканей является важнейшей проблемой в эстетической медицине, и решение ее достижимо с помощью одного из подходов регенеративной медицины — клеточных технологий. В настоящее время активно изучаются возможности использования клеточной терапии для решения таких задач, как восстановление объемов и устранение дефектов мягких тканей лица и тела, коррекция рубцовых и других структурных дефектов кожи. Одним из перспективных «клеточных» кандидатов для такой терапии является выделенная из жировой ткани стромально-васкулярная клеточная фракция.

Ключевые слова: стромально-васкулярная клеточная фракция, регенерация тканей, коррекция возрастных и рубцовых дефектов кожи

В жировой ткани (рис. 1) наряду с адипоцитами (зрелыми клетками жировой ткани) содержатся клетки и других типов — гетерогенная популяция, названная стромально-васкулярной клеточной фракцией (СВКФ). В ее составе стволовые клетки жировой ткани (СКЖТ), эндотелиальные и гладкомышечные клетки кровеносных сосудов и их предшественники, перicytes, фибробласты, клетки крови, в т.ч. гемопоэтические стволовые клетки и лимфоциты [1–4].

Ключевым компонентом СВКФ являются СКЖТ: благодаря их способности дифференцироваться в адипогенном направлении происходит самообновление жировой ткани [3]. СВКФ используют *ex tempore* для усиления регенерации тканей, а также для получения чистого пула СКЖТ посредством культивирования. Для характеристики клеток, входящих в состав СВКФ, используют поверхностные антигены, присутствующие («положительные») или не присутствующие («отрицательные») на этих клетках, которые называют «CD маркеры».

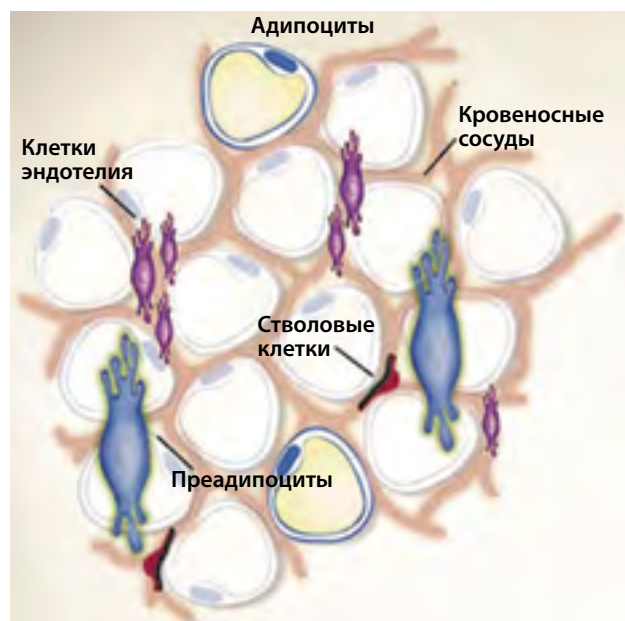


Рис. 1. Схематическое изображение клеток в жировой ткани [5]

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ СВКФ

Выделить СВКФ можно 2 способами — ферментативным и неферментативным; в основе обоих лежит разрушение жировой ткани с последующим ее центрифугированием для удаления зрелых адипоцитов и эритроцитов и получения очищенной СВКФ [5] (рис. 2).

Ферментативный способ — предусматривает использование ферментов коллагеназы 1-, 2-го типов, трипсина,

Зорина Алла Ивановна

К.м.н., главный специалист по применению клеточных технологий
ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва

Зорин Вадим Леонидович

К.б.н., руководитель отдела регенеративной медицины ПАО «Институт
стволовых клеток человека», генеральный директор ООО «Витацел»,
Москва

КЛЕТОЧНЫЙ ПРОЦЕССИНГ — ВСЕ ПРОЦЕДУРЫ ПО ПОДГОТОВКЕ, ОБРАБОТКЕ, КОНСЕРВАЦИИ И УПАКОВКЕ КЛЕТОК ИЛ И ТКАНЕЙ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ИЛИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ.

диспазы и их аналогов для расщепления жировой ткани. Различают такие варианты:

- мануальный (открытый, используемый в специализированной лаборатории);
- аппаратный (закрытый, автоматизированный или полуавтоматизированный).

Преимущества аппаратного метода:

- минимизация вероятности контаминации;
- бóльшая стандартизация процессинга;
- экономия времени;
- возможность получить СВКФ непосредственно в операционной и применить ее *ex tempore*.

Неферментативный — предполагает механическое воздействие на жировую ткань, например с помощью вибрационного шейкера [6–9].

Для получения СВКФ используют различные устройства, или девайсы. Действие девайсов отличается по ряду параметров, таких как способ выделения СВКФ, тип и концентрация используемого фермента, тип механического воздействия, условия центрифугирования, методы лизиса эритроцитов, количество выделяемых клеток, длительность клеточного процессинга и др. [6, 8, 10, 11].

Большинство устройств рассчитано на получение из 1 мл липоасpirата в среднем от 500 тыс. до 1 млн ядросодержащих клеток с жизнеспособностью более 80% и содержанием СКЖТ в выделенной фракции от 1 до 15%. Время, затрачиваемое на выделение СВКФ, составляет от 15 до 120 мин [6, 7]. Использование ферментов, в частности коллагеназы, приводит к более интенсивному расщеплению внеклеточного матрикса жировой ткани, а значит, к изоляции значительно большего количества ядросодержащих клеток, чем при применении неферментативного способа (до 1,3 млн кл/мл жира и до 240 тыс. кл/мл соответственно).

СКЖТ и перициты локализуются преимущественно вокруг малых и среднего размера сосудов жировой ткани. Однако при механическом воздействии, в отличие

от ферментативного, большинство этих сосудов остаются в нерасщепленных фрагментах соединительной ткани и элиминируются в ходе процессинга СВКФ [11, 12]. Следовательно, выделенная неферментативным путем СВКФ будет отличаться значительно меньшим содержанием стволовых/прогениторных клеток.

Преимущества неферментативного способа выделения СВКФ:

- отсутствие необходимости в ферментах, использование которых не исключает риск негативного воздействия на ткани;
- более низкая стоимость продукта;
- меньшее время, затрачиваемое на получение СВКФ (около 15 мин, в то время как при ферментативном способе — 30–120 мин) [7].

Из **ферментативных девайсов** наиболее распространен Celution 800/CRS (Cytori Therapeutics, Inc., San Diego, США) — закрытое, полностью автоматизированное устройство, использующее смесь ферментов Celase. Он способен обработать одномоментно до 360 мл жировой ткани и выделить 240–360 тыс. ядросодержащих кл/мл липоасpirата, жизнеспособность которых составляет 84–93% [13, 14]. Celution 800/CRS имеет сертификат на применение в клинической практике в 28 странах Европы, в Австралии, Индии, Китае, Южной Корее и России (регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012/12193 от 24. 05. 2012).

Из **механических** представляет интерес новый способ, разработанный Тоннэрд П. (P. Tonnard) и соавт. (2013) [15] — «nanofat». Он основан на механическом перемешивании липоасpirата до эмульгированного состояния с последующей фильтрацией. «Nanofat» представляет собой жировую эмульсию (не содержащую адипоциты) и СВКФ, которую можно выделить из данной эмульсии посредством центрифугирования. Авторы предполагают использовать разработанный продукт как в виде жировой эмульсии, так и в виде СВКФ в разных областях медицины, в т.ч. при коррекции морщин и рубцовых дефектов кожи. Благодаря простоте метода, он, при соответствующей доказательной базе, может найти достойное применение. Исследования, связанные с использованием «nanofat», продолжаются — на сегодняшний день нет полной ясности как в отношении клеточного состава выделенной из эмульсии СВКФ, так и в отношении влияния процесса эмульгирования жиров на составляющие СВКФ клетки [16].

Следует учитывать, что на состав СВКФ может оказывать влияние целый ряд факторов, таких как возраст пациента, методы выделения, фильтрации и другие особенности клеточного процессинга, вследствие чего получаемые образцы СВКФ могут сильно различаться. Поэтому очень важна стандартизация получаемого препарата, которая позволит добиться оптимального соотношения между клеточными популяциями, входящими в состав СВКФ, а соответственно, и высокой клинической эффективности.

Если сравнивать клиническую эффективность СВКФ и чистой популяции СКЖТ (полученной путем культивирования), то СВКФ, как полагают, благодаря взаимодействию входящих в ее состав клеток, обладает бóльшим терапевтическим потенциалом [17, 18]. Трактюев Д. (Traktuev D.) и соавт., в частности, показали, что продуцируемые СКЖТ факторы, такие как

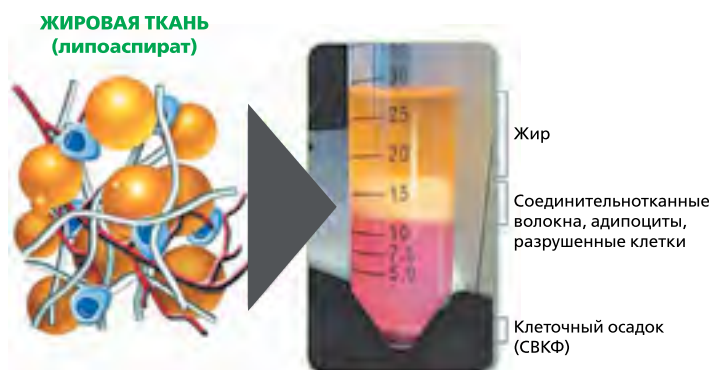


Рис. 2. Концентрат стромально-васкулярной клеточной фракции, выделенный из липоасpirата [5]

фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), способствуют миграции и выживаемости эндотелиальных клеток-предшественников (ЭСК), которые в свою очередь, продуцируя тромбоцитарный фактор роста (PDGF)-BB, стимулируют пролиферацию и миграцию СКЖТ [19, 20]. Показано также (как *in vitro*, так и *in vivo*), что непосредственный контакт между СКЖТ и ЭСК способствует образованию новых кровеносных сосудов.

КРИТЕРИИ ДЛЯ СВКФ И СКЖТ

В настоящее время Международным обществом жировой терапии и науки (IFATS, International Federation for Adipose Therapeutics and Science) совместно с Международным обществом клеточной терапии (ISCT, International Society for Cellular Therapy) утверждено первичное руководство для исследователей, работающих с полученными из жировой ткани клеточными продуктами [21]. Цель — разработка международных стандартов, обеспечивающих стандартизацию СВКФ и возможность адекватного сравнительного анализа и воспроизведения результатов проводимых клинических исследований. В данном пособии термином «стромально-васкулярная клеточная фракция» (СВКФ) обозначена популяция клеток, полученных путем ферментативной обработки жировой ткани и отделенных от зрелых адипоцитов с помощью дифференциального центрифугирования.

Одновременно «стволовые клетки, выделенные из жировой ткани» («adipose-derived stromal/stem cells, ASCs») рассматриваются как адгезивные к пластику, *ex vivo* культивируемые и последовательно пассированные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, выделенные из СВКФ.

Эти клетки должны обладать следующими минимальными морфофункциональными критериями, характерными для всех популяций, подобных популяциям мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [21]:

- мультилинейный дифференцировочный потенциал (адипо-, остео-, хондрогенный);
- экспрессия маркеров, характерных для стромальных клеток CD13, CD73, CD90;
- отсутствие экспрессии CD45 и CD11b гемопоэтических маркеров.

Следует отметить также, что IFATS и ISCT утвердили поверхностный антиген CD34, связанный, прежде всего, с гемопоэтическими стволовыми клетками, в качестве важного маркера регенеративных МСК-подобных клеток СВКФ [21, 22].

Разработка и утверждение критериев, характеризующих СВКФ и СКЖТ, играют важную роль в развитии регенеративной медицины, поскольку стандартизация клеточного материала является необходимым условием для успешного внедрения в практику результатов биомедицинских разработок, основанных на использовании данных клеток.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

СКЖТ, как и стволовые клетки вообще, представляют собой не- (или мало-) дифференцированные клетки, способные к самообновлению и образованию нескольких

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ — СОДЕРЖАЩИЕСЯ В ЭТОЙ ТКАНИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ (СТРОМАЛЬНЫЕ) КЛЕТКИ [23].

типов дифференцированных потомков. Стволовые клетки являются ранними типами клеток в последовательной цепи строго упорядоченных процессов, таких как пролиферация клеток, их миграция, дифференцировка, созревание и апоптоз, обеспечивающих образование и поддержание клеточных линий тканей взрослого человека, в которых данные клетки присутствуют [24–26].

Это гетерогенная популяция негемопоэтических клеток-предшественников, происходящих из мезодермального ростка, способных к самообновлению и мультипотентной дифференцировке в направлении остеобластов, хондроцитов, адипоцитов, васкулярных эндотелиальных клеток [24, 27]. В отличие от эмбриональных стволовых клеток, образующихся на начальной стадии формирования организма, стадии бластоцисты, МСК появляются на более поздних стадиях. Они присутствуют в каждой ткани постнатального организма, локализируются преимущественно в периваскулярной зоне в специфических нишах, регулирующих их функционирование [28, 29].

МСК секретируют широкий спектр про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов роста и простагландинов [30–32]. Следует отметить, что хотя МСК жировой ткани — СКЖТ — способны дифференцироваться в нескольких направлениях [27], но в данной ткани этот процесс идет в адипо- и ангиогенном направлениях, за счет чего и поддерживаются в ней адипо- и ангиогенез [3].

Таким образом, СКЖТ оказывают существенное влияние на репаративные процессы в зоне трансплантации, а именно:

- осуществляют неоангиогенез за счет дифференцировки СКЖТ в эндотелиальные клетки, активации эндотелиальных прогениторных клеток и продукции широкого спектра проангиогенных факторов (FGF, HGF, VEGF, IGF-I, TGF β , GM-CSF, SDF-1, IL-6, -8, -17, NGF, TIMP-1 и TIMP-2, ангиогенин, ангиопоэтин-1), благодаря которым наблюдается активация процессов васкуляризации в области их присутствия [3, 20, 32–35];
- осуществляют регенерацию адипоцитов за счет своей антиапоптотической активности (факторы роста VEGF, GM-CSF, TGF-бетта, IGF-I, гликопротеин Stanniocalcin-1) и дифференцировки в адипоциты [30–32];
- влияют на модуляцию местных воспалительных реакций и оказывают иммуномодулирующий эффект за счет продукции факторов роста/цитокинов (энзим indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), простагландин PGE-2, факторы роста TGF-бетта и HGF, человеческий лейкоцитарный антиген HLA-G5) [27, 31, 32];
- оказывают антифибротический эффект (факторы роста HGF и bFGF) [4, 5, 16].

У взрослого человека наиболее богата стволовыми клетками жировая ткань, 1 мл которой содержит в 100–1000 раз больше МСК, чем, например, 1 мл костного мозга [36]. При этом процедура забора жировой ткани не представляет сложности, малотравматична [37].

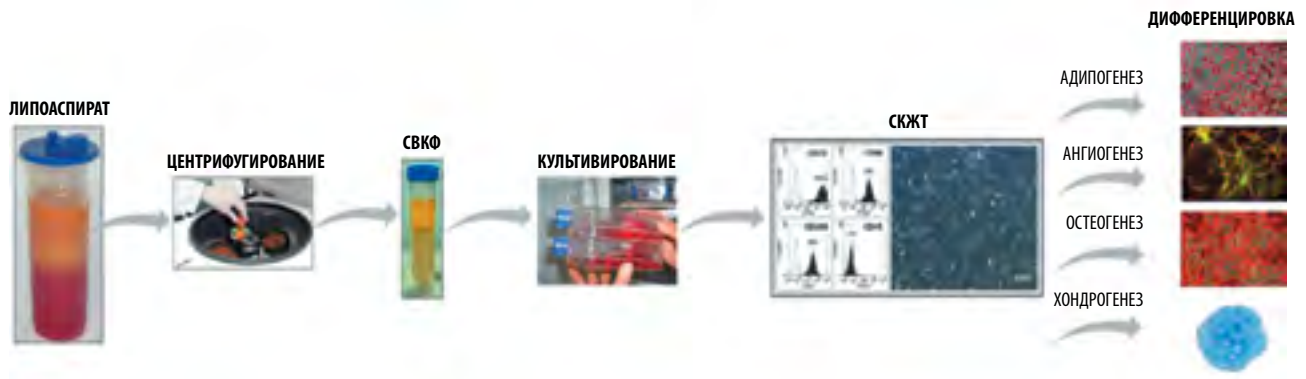


Рис. 3. Алгоритм получения стромально-васкулярной клеточной фракции и стволовых клеток жировой ткани. Иммунофенотипическая характеристика, морфология и дифференцировочный потенциал СКЖТ [5, 7]

Отметим, что локализуются предшественники адипоцитов преимущественно периваскулярно [4, 5]. Для выделения СВКФ с наибольшим содержанием СКЖТ предпочтительно использовать жировую ткань живота, т.к. в этой зоне она отличается большей концентрацией данных клеток. Например, содержание СКЖТ в СВКФ, выделенной из жировой ткани живота, составляет около 5%, а из бедра — 1%, при этом их пролиферативные и дифференцировочные потенциалы практически не отличаются [8] (рис. 3).

ПРИМЕНЕНИЕ СВКФ В ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

СВКФ при липофиллинге

Клиническая стратегия обогащения жирового трансплантата (липографта) стволовыми клетками разработана Йошиморо К. (Yoshimuro K.) и соавт. (2003), она получила название «пересадка жировой ткани с использованием клеток» (Cell-Assisted Lipotransfer, CAL) [38, 39]. Авторы исходили из того, что липографт, используемый при классическом липофиллинге, вследствие особенностей процессинга содержит недостаточное для полноценного приживания количество кровеносных сосудов и стволовых/прогениторных клеток. Дефицит последних, а также высокая восприимчивость зрелых адипоцитов, входящих в состав липографта, к индуцированному гипоксией апоптозу способствуют его существенной (до 80%) резорбции [33, 40–42]. Поэтому обогащение трансплантата

КЛИНИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ БОГАЩЕНИЯ ЖИРОВОГО ТРАНСПЛАНТАТА СВКФ ПОЗВОЛЯЕТ УСОВЕРШЕНСТВОВАТЬ КЛАССИЧЕСКИЙ СПОСОБ ЛИПОФИЛЛИНГА. КРОМЕ ТОГО, ОНА РАСШИРЯЕТ РЕСУРСЫ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ, ПОСКОЛЬКУ ЗНАЧИТЕЛЬНО ПОВЫШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БОРЬБЫ С ПОВРЕЖДЕНИЯМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ИХ ФИБРОЗОМ И ИШЕМИЕЙ, А ТАКЖЕ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ ЭТИХ ТКАНЕЙ В ТАКИХ СЛОЖНЫХ ОБЛАСТЯХ, КАК, НАПРИМЕР, ВИСОЧНАЯ [43].

ХОРОШИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛУЧЕНЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ СВКФ ПАЦИЕНТОВ С МЕСТНЫМ НЕКРОЗОМ, РАЗВИВШИМСЯ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ФИЛЛЕРОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ [44].

СВКФ может значительно повысить приживаемость и сохранить объем пересаженного жира, максимально снизив его резорбцию.

СВКФ при коррекции структурных дефектов кожи

В настоящее время СВКФ применяется для коррекции структурных дефектов кожи в странах Восточной Европы, Японии и Кореи (в этих странах СВКФ классифицируется как минимально манипулируемый клеточный продукт) [38–46]. Корейскими учеными показана эффективность применения СВКФ для устранения осложнений, вызванных локальной ишемией.

Случайное попадание геля в кровеносный сосуд приводит к обструкции сосуда с последующей локальной ишемией и некрозом окружающих мягких тканей. Особенно часто такие осложнения возникают в области носа и переносицы. Пациентам в течение 4–7 дней с момента развития ишемии/некроза вводили внутривенно в область дефекта аутологичную СВКФ, выделенную из 20–50 мл жировой ткани. Результаты исследований подтвердили, что СВКФ способствует быстрому устранению ишемии за счет стимуляции неоваскуляризации и заживлению раны с минимальным риском образования рубца [44, 46] (рис. 4, 5).

В корейских клиниках СВКФ активно применяют также с целью ремоделирования процессов рубцевания, особенно после пластических операций на лице. Однако, несмотря на большой опыт по применению СВКФ в кли-



Рис. 4. Дифференцировка стволовых клеток жировой ткани в ангиогенном направлении в условиях ишемии (ув. x400) [5, 44]



Рис. 5. Некроз спинки носа, развившийся вследствие случайного попадания в артерию гиалуроновой кислоты (А). Результат лечения посредством стромально-васкулярной клеточной фракции (Б) [5, 44]

нической практике, и для корейских специалистов вопрос стандартизации процессинга клеточного препарата и оптимальной концентрации СВКФ также остается дискуссионным [44].

Заслуживает внимания клинический опыт, представленный Стивенс Х. (Stevens H.) и соавт. (2018) по применению СВКФ при лечении алопеций [47]. В клиническом исследовании принимали участие 10 мужчин в возрасте 25–72 лет с андрогенной алопецией. В кожу головы им вводили СВКФ, выделенную механическим способом, в комбинации с плазмой, обогащенной тромбоцитами (PRP). Исследователи отметили активную стимуляцию волосяных фолликулов и значительное увеличение плотности волос (срок наблюдения 12 нед). При этом клинический эффект применения комбинации PRP + СВКФ был значительно более выраженным, чем после применения только PRP.

Следует отметить, что нормативно-правовая база применения клеточных продуктов требует конкретизации и обновления в соответствии с достижениями современной биологической и медицинской науки. В России этот вопрос в настоящее время находится на стадии урегулирования — принят закон о биомедицинских продуктах, вступивший в силу с января 2017 г., который определяет процесс их получения и необходимые стандарты.

Кроме того, отсутствие стандартизированных подходов к выделению и использованию СВКФ осложняет усовершенствование и внедрение в клиническую практику этого клеточного продукта. Необходимо проведение полноценных мультицентровых, рандомизированных срав-

нительных клинических исследований в рамках доказательной медицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не вызывает сомнения, что СВКФ представляет собой весьма перспективный клеточный продукт для применения в клинической практике, поскольку:

- относится к минимально манипулируемым клеточным препаратам, которые, благодаря наличию готовых девайсов, можно получить непосредственно в операционной и использовать *ex tempore*;
- является богатым источником стволовых/прогениторных мезенхимальных и эндотелиальных клеток с высокими регенеративными возможностями, важнейшие из них — неоангиогенез и иммуномодуляция.

В этой связи применение СВКФ обосновано при коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи, лечении алопеций, а также таких тяжелых осложнений, как ишемия, некрозы, фиброз, при которых стандартные медицинские подходы малоэффективны. Бесспорно, использование регенеративного потенциала СВКФ позволит значительно расширить возможности терапевтической косметологии и пластической/реконструктивной хирургии. Очевидным является также и то, что для получения высокой клинической эффективности необходима стандартизация данного клеточного продукта как в отношении клеточного процессинга, так и в отношении доз и показаний в рамках доказательной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Han J, Koh Y, Moon H, et al. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2010; 115(5): 957–964.
2. Gimble J.M., Bunnell B.A., Frazier T., et al. Adipose-derived stromal/stem cells. *Organogenesis* 2013; 9: 3–10.
3. Planat-Benard V, Silvestre J, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: Physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 2004; 109(5): 656–663.
4. Веремеев А.В., Болгарин Р.Н., Петкова М.А. и др. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины. *Гены и клетки* 2016; XI(1): 1–8.
5. Зорина А.И., Зорин В.Л. Применение клеточных технологий в эстетической медицине: современное состояние вопроса. *Инъекционные методы в косметологии* 2016; 2: 56–69.
6. Oberbauer E, Steffenhagen C, Wurzer C, et al. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: current state of the art. *Cell Regeneration* 2015; 4 (1): 4–7.
7. Aronowitz J, Lockhart R, Hakakian C. Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue. *Springer Plus* 2015; 4 (713): 1–9.
8. Aguena M, Fanganiello R, Tisiani L, et al. Optimization of parameters for a more efficient use of adipose-derived stem cells in regenerative medicine therapies. *Stem Cells Int* 2012; 2012:3036.
9. Shah F, Wu X, Dietrich M. et al. A non-enzymatic method for isolating human adi-

- pose tissue-derived stromal stem cells. *Cytotherapy* 2013; 15: 979–985.
10. Baptista L, do Amaral R, Carias R, et al. An alternative method for the isolation of mesenchymal stromal cells derived from lipoaspirate samples. *Cytotherapy* 2009; 11(6): 706–715.
 11. Baer P, Geiger H. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem Cell Int* 2012; 2012:812693.
 12. Conde-Green A, Rodriguez R, Slezak S, et al. Enzymatic digestion and mechanical processing of aspirated adipose tissue. *Plast Reconstr Surg* 2014; 134: 54.
 13. Aronowitz J, Ellenhorn J. Adipose stromal vascular fraction isolation: a head-to-head comparison of four commercial cell separation systems. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132(6): 932–939.
 14. Fraser J, Hicok K, Shanahan R, et al. The Celution system: automated processing of adipose-derived regenerative cells in a functionally closed system. *Adv Wound Care* 2013; 3(1): 38–45.
 15. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, et al. Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132(4): 1017–1026.
 16. 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; 8:145.
 17. Rajashekhar G, Traktuev D, Roell W, et al. Adipose stromal cell differentiation is reduced by endothelial cell contact and paracrine communication: role of canonical Wnt signaling. *Stem Cells* 2008; 26(10): 2674–2681.
 18. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, et al. Supplementation of fat grafts with adipose-derived regenerative cells (ADRCs) improves long-term graft retention. *Ann Plast Surg* 2009; 63(6): 1–7.
 19. Traktuev D.O., Merfeld-Clauss S., Li J., et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res* 2008; 102: 77–85.
 20. Traktuev D.O., Prater D.N., Merfeld-Clauss S., et al. Robust functional vascular network formation *in vivo* by cooperation of adipose progenitor and endothelial cells. *Circ Res* 2009; 104: 1410–1420.
 21. Bourin P, Bunnell B. A., Casteilla L., et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: A joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy* 2013; 15(6): 641–648.
 22. Guo J., Nguyen A., Banyard D.A., et al. Stromal vascular fraction: a regenerative reality? Part 2: mechanisms of regenerative action. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* 2016; 69:180–188.
 23. Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279–4295.
 24. Al-Nbaheen M., Vishnubalaji R., Ali D., et al. Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential. *Stem Cell Rev* 2013; 9(1): 32–43.
 25. Bianco P, Cao X, Frenette P, et al. The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat Med* 2013; 19: 35–42.
 26. Nombela-Arrieta C., Ritz J., Silberstein L. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(2): 126–131.
 27. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering* 2001; 7: 211–228.
 28. Meirelles L. da Silva, Chagastelles P., Nardi N. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006; 119(11): 2204–2213.
 29. Caplan A. I. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell* 2008; 3(3):229–230.
 30. Rehman J., Traktuev D., Li J., et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004; 109(10): 1292–1298.
 31. Kilroy G., Foster S., Wu X., et al. Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors. *J Cell Physiol* 2007; 212(3): 702–709.
 32. Salgado A., Reis R., Sousa N., Gimble J. Adipose tissue derived stem cells secrete: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2010; 5(2): 103–110.
 33. Matsumoto D., Sato K., Gonda K., et al. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 2006; 12: 3375–3383.
 34. Moon M, Kim S Y, Kim Y, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell Physiol Biochem* 2006; 17: 279–290.
 35. Cao Y, Sun Z, Liao L, et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332: 370–379.
 36. Aust L, Devlin B, Foster S, et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 2004; 6(1): 7–14.
 37. Coleman W., Glogau R., Klein J., et al. Guidelines of care for liposuction. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45(3): 438–447.
 38. Yoshimura K., Sato K., Aoi N., et al. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plast Surg* 2008; 32: 48–45.
 39. Yoshimura K., Sato K., Aoi N., et al. Cell-assisted lipotransfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of adipose-derived stem cells. *Dermatol Surg* 2008; 34: 1178–1185.
 40. Suga H., Eto H., Aoi N., et al. Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126:1911–1923.
 41. Kato H., Mineda K., Eto H., et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plast Reconstr Surg* 2014; 133: 303e–313-e.
 42. Eto H., Kato H., Suga H., et al. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129: 1081–1092.
 43. Tanikawa D., Agueno M., Bueno D., et al. Fat grafts supplemented with adipose-derived stromal cells in the rehabilitation of patients with craniofacial microsomnia. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132:141–152.
 44. Kim Y.-J., Jeong J.-H. Clinical Application of Adipose Stem Cells in Plastic Surgery. *J Korean Med Sci*. 2014; 29: 462–467.
 45. Lee S.K., Kim D.W., Dhong E.S., et al. Facial soft tissue augmentation using autologous fat mixed with stromal vascular fraction. *Arch Plast Surg*. 2012; 39: 534–539.
 46. Sung H., Suh I., Lee H., et al. Case reports of adipose-derived stem cell therapy for nasal skin necrosis after filler injection. *Arch Plast Surg*. 2012; 39: 51–54.
 47. Stevens H.P., Donners S., de Bruijn J. Introducing Platelet-Rich Stroma: Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVF) Combined for the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Aesthet Surg J*. 2018; 1-12.