

自体纯化冷冻微粒脂肪注射移植修复面部皮肤软组织老化性萎缩凹陷★

谢红炬, 邓颖, 李明, 罗惠中, 陈碾

Autologous purified freezing fat microparticle injection for facial rejuvenation

Xie Hong-ju, Deng Ying, Li Ming, Luo Hui-zhong, Chen Nian

Abstract

BACKGROUND: Presently, slight and repeated injection is a good method to elevate the survival rate of implanted fat tissue.
OBJECTIVE: To explore the clinical application of autologous purified freezing microparticle fat injection in facial rejuvenation.
METHODS: Totally 64 facial aging patients presenting with atrophy and depression of facial soft tissue were treated with injecting transplantation of microparticle fat which was obtained from patient's abdomen or thighs by using tumescent liposuction technique. Microparticle fat was purified by low-speed and low-pressure centrifugal, then undergoing -20 °C hypothermic freezing and 37 °C rewarming for 1 hour. Vitality of fat tissues was detected.
RESULTS AND CONCLUSION: Totally 21 cases of 64 cases (186 positions) received one time injecting transplantation, 35 cases received two times injecting transplantation, and eight cases received three times injecting transplantation. All the patients were followed for 6 months, the effects were satisfactory and there was no complication. Autologous purified freezing microparticle fat injecting transplantation is characterized as low absorptivity, duplicate injection, and acceptable easily.

Xie HJ, Deng Y, Li M, Luo HZ, Chen N. Autologous purified freezing fat microparticle injection for facial rejuvenation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(5): 779-782. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 以少量、反复、多次脂肪注射, 是目前提高脂肪移植成活率的理想方法。

目的: 总结自体纯化冷冻微粒脂肪注射移植在面部年轻化的应用效果。

方法: 对 64 例面部皮肤软组织老化萎缩凹陷患者, 在其腹部或大腿用肿胀吸脂术抽取微粒脂肪, 经过低速低压离心纯化微粒脂肪, 并在 -20 °C 下低温冷冻, 37 °C 下复温培养 1 h 后, 检测脂肪组织活力, 注射移植填充面部老化凹陷区域。

结果与结论: 64 例(186 个部位)中 21 例接受 1 次微粒脂肪注射移植, 35 例接受 2 次微粒脂肪注射移植, 8 例接受 3 次微粒脂肪注射移植。患者脂肪移植后均随访 6 个月以上, 面部老化症状明显改善, 效果满意、持久, 吸收率低, 无感染、脂肪液化等并发症发生。提示自体纯化冷冻脂肪微粒注射移植效果明显、吸收率低、可重复注射、易于患者接受。

关键词: 自体脂肪微粒; 纯化; 冷冻; 移植; 面部年轻化

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.005

谢红炬, 邓颖, 李明, 罗惠中, 陈碾. 自体纯化冷冻微粒脂肪注射移植修复面部皮肤软组织老化性萎缩凹陷[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(5): 779-782. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

自体脂肪移植自Neube于1893年首先用于填充软组织凹陷至今已有100多年历史, 自体脂肪移植具有来源丰富、应用范围广泛、操作简单、无排斥反应、安全可靠、成本低等优点, 是一种理想的软组织填充材料。但脂肪移植存在吸收率高, 有液化、钙化的可能, 限制了在临床的应用。近年来, 如何降低脂肪吸收率、减少并发症成为脂肪移植研究的热点问题。但由于术者技术水平及操作条件尚不均衡和规范, 手术效果及吸收率差别很大, 各家报道脂肪移植吸收率及稳定性不一致。少量、反复、多次注射, 仍是目前提高脂肪成活率的理想方法。南华大学附属第一医院医疗美容科对64例面部皮肤软组织老化萎缩凹陷患者, 采用自体纯化冷冻微粒脂肪注射移植技术使面部年轻

化, 做到了“一次吸脂, 多次使用”, 取得较满意的效果。

1 对象和方法

设计: 前后对照观察。

时间及地点: 实验于2009-02/2011-02在南华大学附属第一医院临床研究所完成。

对象: 本组64例(女55例, 男9例)面部皮肤软组织老化萎缩凹陷患者, 年龄35~64岁, 平均43岁, 注射部位有前额、眉弓、川字纹、颞部、外眦角、泪沟、颊部、鼻唇沟、木偶纹、颈部、颌轮廓线等, 其中3例单独行双侧颊部注射移植, 5例行颞部及颊部注射移植, 56例同时行3个以上部位注射移植。每次注射量为2~20 mL, 总计脂肪注射量为5~160 mL。

诊断标准: 根据面部皮肤软组织老化萎缩诊断标准: 患者年龄多大于35岁, 面部皮肤薄,

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, First Affiliated Hospital of South China University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Xie Hong-ju★, Master, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Plastic and Reconstructive Surgery, First Affiliated Hospital of South China University, Hengyang 421001, Hunan Province, China xhj1251@sina.com

Received: 2011-07-26
Accepted: 2011-09-14

南华大学附属第一医院医疗美容科, 湖南省衡阳市 421001

谢红炬★, 男, 1968年生, 湖南省衡阳市人, 汉族, 2006年南华大学毕业, 硕士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事脂肪移植、脂肪干细胞研究。 xhj1251@sina.com

中图分类号: R617
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2012)05-00779-04

收稿日期: 2011-07-26
修回日期: 2011-09-14
(20110326008/W·G)

弹性低, 皮下脂肪萎缩凹陷, 深层软组织松弛下垂^[1]。

纳入标准: ①面部皮肤软组织老化萎缩凹陷。②20~75岁。③对治疗过程知情同意。

排除标准: ①有心、肺、肝、肾等慢性疾病, 不能耐受手术者。②有影响结缔组织代谢的疾病者。③心理障碍、过分要求手术效果者。

方法:

自体纯化冷冻微粒脂肪注射移植前设计: 嘱患者站立位或坐位, 光线充足下, 用龙胆紫标记面部皮肤软组织老化萎缩凹陷区及皱纹, 根据患者面部老化萎缩情况确定需注射移植脂肪量, 保证提供纯化后的微粒脂肪的体积达到估计注射量的2倍。抽脂前在腹部或大腿供区标记脂肪抽吸部位。

切口: ①脂肪抽吸切口: 上下腹抽吸时选择脐孔上下两侧, 大腿脂肪抽吸选择腹股沟内侧, 作4 mm左右的切口。②脂肪注射移植切口: 根据就近原则选择比较隐蔽的发际内、眉部、口角或口腔黏膜、颈部下缘, 作3 mm左右的切口。

微粒脂肪的获取: 供区肿胀麻醉后用20 mL注射器接2.5 mm脂肪抽吸针成扇形抽取皮下脂肪组织。注意均匀抽取皮下脂肪组织。

微粒脂肪的纯化: 将离体微粒脂肪组织垂直静置, 去除下层的肿胀麻醉剂及血液, 分装于5 mL注射器中并密封盖封。将无菌的离心套管放入Lipokit的离心机中, 然后将装有微粒脂肪的5 mL注射器放入套管中, 于1 000 r/min离心3 min后取出注射器, 去除脂肪悬液上层游离脂肪以及下层的液体, 去除杂质。同样方法再离心纯化2次。

纯化微粒脂肪的保存: 将纯化好的微粒脂肪灌注于20 mL注射器无菌储存于-20 °C冰箱。

纯化微粒脂肪复温培养: 微粒脂肪注射移植术前将冷冻储存的微粒脂肪置于37 °C培养箱中复温培养60 min。

冷冻微粒脂肪组织活力测定: 将复温后的冷冻微粒脂肪组织常规固定切片组织学观察细胞。采用肌酸激酶测定法检测复温后的冷冻微粒脂肪组织活力。

纯化脂肪细胞移植: 患者在全麻下行脂肪移植术, 将纯化冷冻微粒脂肪用1 mL注射器接2 mm无创脂肪移植注射针头注入受区。注射层次选择: 前额帽状腱膜上, 颞浅筋膜深面, 外眦眼角皮下, 泪沟处骨膜上, 颊部皮下, 颈部骨膜上, 鼻唇沟真皮下、上颌骨膜面上做扇形钝性分离。鼻唇沟剥离法令纹真皮纤维隔。多层次、多隧道、多角度均匀注射。术中适当按摩调整, 使脂肪均匀分布。面部脂肪注射移植后无需包扎, 术后48 h内间断冰敷, 以减少受创后的渗出, 勿局部按压塑形。

用量: 各脂肪移植受区根据术前估计计量填充脂肪见表1。

表1 各脂肪移植受区术前估计脂肪填充量
Table 1 Estimation of fat padding volume in each fat transfer recipient site

Recipient site	Fat padding volume of preoperation estimation (mL)
Forehead	2.0-8.0
Superciliary arch (One side)	0.5-1.0
Chuan stria	0.5-1.0
Temple (One side)	2.0-3.0
Outer canthus (One side)	0.5-1.0
Lacrimal groove (One side)	0.5-1.0
Pars buccalis (One side)	2.0-6.0
Nasolabial fold (One side)	1.0-2.0
Puppet stria (One side)	0.5-1.0
Mental region	3.0-5.0
Maxillofacial contour (One side)	1.0-2.0

主要观察指标: ①患者脂肪移植后临床疗效。②冷冻微粒脂肪组织组织学观察。③冷冻微粒脂肪组织细胞活力。④不良反应及并发症。

统计学分析: 脂肪细胞活力测定数据处理均采用SPSS 13.0软件进行统计学分析, 计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间分析采用单向方差分析多重比较进行检验, 以 $P < 0.05$ 为有显著性意义。

2 结果

2.1 参与者数量分析 本组64例患者均随访大于6个月, 最长随访24个月, 全部进入结果分析。

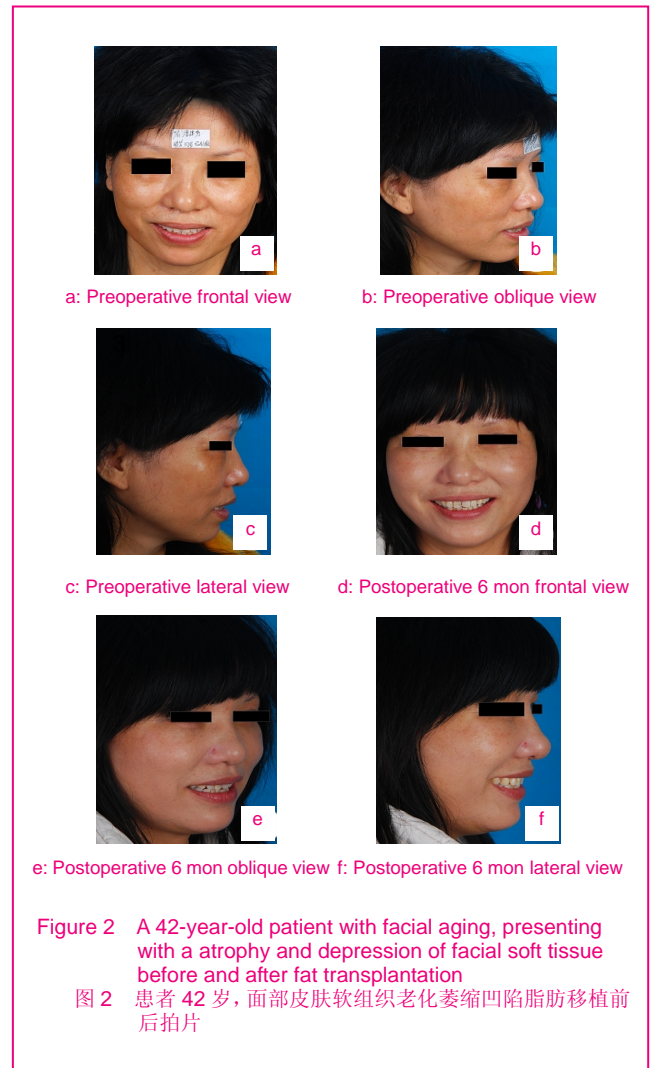
2.2 临床疗效 本组64例患者(186个部位)中21例接受1次微粒脂肪注射移植, 35例接受2次微粒脂肪注射移植, 8例接受3次微粒脂肪注射移植, 每次注射量12~35 mL。随访结果可见面部皮肤软组织老化萎缩凹陷及皱纹消失, 脸型圆润、丰满, 面部轮廓明显改善, 效果满意、持久, 吸收率低, 无过度矫正。

2.3 冷冻微粒脂肪组织组织学观察 脂肪组织切片后苏木精-伊红染色光镜下观察, 新鲜脂肪细胞呈类圆形; 包膜清楚完整, 排列成巢片状; 细胞核大小一致, 膜光滑; 细胞浆经脱脂后呈空泡状; 另见少许纤细的纤维细胞间质, 见图1a。

脂肪冷冻4周后与新鲜脂肪细胞形态一致, 细胞膜清楚完整; 细胞核清楚, 见图1b。脂肪冷冻8周后细胞膜仍清楚完整; 细胞核仍清楚完整, 见图1c。脂肪冷冻16周后细胞膜仍清楚完整; 细胞核仍清楚完整, 见图1d。脂肪冷冻24周后细胞膜仍清楚完整; 细胞核仍清楚完整, 见图1e。可见, 脂肪细胞经冷冻24周后, 与新鲜脂肪形态无明显差异。

2.4 冷冻微粒脂肪组织细胞活力 本组64例患者中选用12例患者脂肪采用肌酸激酶测定法检测复温后的冷冻微粒脂肪组织活力, 结果表明脂肪组织在-20 °C下冷冻较好的保存了脂肪细胞的活力, 2周时细胞活力为

(92.20 ± 1.18)%, 24周时细胞活力为(88.89 ± 1.23)%, 各相邻时间点细胞活力差异无显著性意义($P > 0.05$), 但2周时间点与8, 16, 24周时间点细胞活力差异有显著性意义($P < 0.01$), 见表2。



3 讨论

自体脂肪注射移植是将自体抽吸所得的脂肪细胞通过纯化后注射移植到受区, 从而使受区达到丰满塑形的效果。自体脂肪细胞注射移植具有来源丰富、应用范围广泛、操作简单、无排斥反应、不存在致病、致癌性、手感好、外形好、无体表阴影、安全可靠、保留持久、几乎没有成本、可重复多次注射、无瘢痕、可调整等优点, 易于患者接受, 在美容外科有广阔的应用前景。

但自体脂肪组织注射移植有吸收率高, 有液化、钙化的可能, 临床上很多报道脂肪组织注射移植有30%~40%吸收率。目前提高脂肪成活率的研究方法有很多, 包括细胞因子的干预、脂肪干细胞技术、组织工程脂肪技术等方法的应用, 但这些方法目前多只限于基础研究, 并且仍存在一定的脂肪吸收率^[2-3]。少量、反复、多次注射仍然是目前临床上提高脂肪移植成活率的有效方法。

少量、反复、多次脂肪注射移植对患者造成多次抽脂的痛苦、较高的风险及费用, 增加了医生的工作量。

表 2 不同时间下储存后脂肪细胞活力变化
Table 2 Fat cell viability at different storage times ($\bar{x} \pm s, n=12, \%$)

Time (wk)	Fat cell viability
2	92.20 ± 1.18
4	91.27 ± 1.34
8	90.45 ± 1.47
16	89.63 ± 1.99
24	88.89 ± 1.23

2.5 不良反应及并发症 患者均未出现硬结、感染、脂肪液化等并发症, 亦无免疫、过敏反应等全身或局部不良反应。

2.6 典型病例 患者女, 42岁, 面部皮肤软组织老化萎缩凹陷, 经过2次自体冷冻脂肪颗粒注射移植治疗, 效果明显、满意。见图2。

一次抽取足够的脂肪体外冷冻储存, 需要时复温培养注射移植, 可以避免重复取材、减低费用及工作量, 做的“一次吸脂、多次使用”, 对临床应用有重要意义。如能在体外建立脂肪库, 患者将可终身使用自体脂肪移植。Shoshani等^[4]将抽吸的脂肪细胞储存于-18℃ 2周, 消融后注入裸鼠; 对照组注入未冷冻的刚采集的脂肪细胞。15周后, 取出移植物作对比, 两组结果在移植物重量、容积以及其他组织学参数上, 差异无显著性意义。Katuya Taksu等^[5]报道, 冷冻达7年之久的脂肪可以用来填充面部缺陷。但德国的Wolter等^[6]认为, 将冷冻于-20℃的脂肪细胞进行再注射, 其实质上是注入无活性的细胞物质。最初用这些细胞碎片填充容积, 但随着物质被吸收, 就会表现出容积减少。目前实验研究没有统一的脂肪冷冻储存方法的温度选择, 也没有冷冻后脂肪细胞如何成活的明确的理论支持。

本组病例全部将纯化离心后的微粒脂肪组织冷藏于-20℃下, 复温后采用肌酸激酶测定法检测复温后的冷冻微粒脂肪组织活力及组织学观察复温后冷冻脂肪细胞结构。结果表明脂肪组织在-20℃下冷冻较好的保存了脂肪细胞的活力, 2周时细胞活力为(92.20±1.18)%, 24周时细胞活力为(88.89±1.23)%, 各相邻时间点细胞活力差异不显著($P > 0.05$), 2周时间点与8, 16, 24周时间点细胞活力差异有显著性($P < 0.01$)。尽管24周后脂肪细胞活力稍有下降, 但细胞活力仍在89%左右, 说明脂肪细胞在-20℃下冷冻储存24周内, 可用于脂肪细胞移植填充。临床疗效也证实经冷冻后微粒脂肪移植的结果与通常的新鲜脂肪移植取得的结果, 无明显差异。

面部皮肤软组织老化萎缩的病理表现为皮肤变薄, 弹性降低, 皮下脂肪萎缩凹陷, 深层软组织松弛下垂等^[1]。传统的面部除皱手术可以有效改善软组织松弛下垂, 但对于皮下脂肪萎缩所引起的上睑、颞部、颊部的生理性凹陷没有改善作用。自体颗粒脂肪注射移植可以有效解决传统面部除皱手术面临的上述难题。作者将自体颗粒脂肪注射于颞部、上睑、颊部的生理性凹陷区, 矫正凹陷的同时, 使面部轮廓饱满柔和, 有效改善了面部皮下脂肪萎缩引起的老化症状, 以微创手术代替大范围面部除皱, 取得了满意的效果。

注意事项: 自体纯化冷冻脂肪细胞注射移植需严格按无菌操作原则手术及纯化脂肪, 防止感染; 脂肪细胞注射时仔细操作, 严格遵守无创原则, 充分松懈皮下有粘连的组织, 多角度、多层次、多隧道均匀注射, 效果较好; 低压力抽吸、推注, 创造宽松的受区环境均有利于细胞成活; 避免过快的离心速度, 使离心速度保持在

800~1 000 r/min, 以免破坏脂肪细胞的完整性; 移植后72 h严禁持续按摩或热敷, 以免脂肪液化。冷冻脂肪在贮存时, 必须严格密封, 绝对无菌。

总之, 自体纯化冷冻脂肪微粒注射移植面部年轻化效果明显、吸收率低、可重复注射、做到了“一次吸脂, 多次使用”, 给患者建立了一个较短期的脂肪库, 是一种理想的面部年轻化手术方法, 易于患者接受, 值得临床推广, 但如何建立一种长期的特殊的脂肪细胞冷冻保存模式, 真正达到定期重复注射移植的目的, 需要深入冷冻生物学基础研究, 理解细胞内和细胞外的冰晶形成机制, 才能找出能够长期储存脂肪组织并且能有效保持其活性的方法。

4 参考文献

- [1] Wang W, Hangzhou: Zhengxing Waikexue. 1999:1095-1110. 王炜. 整形外科学[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1999:1095-1110.
- [2] Xu JH, Liu YS, Tan WQ, et al. Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi. 2010;27(3):600-605. 徐靖宏, 刘友山, 谈伟强, 等. 复合缓释载体提高脂肪移植成活率的研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2010, 27(3):600-605.
- [3] Li WH, Sun ZC, Wang W. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(41):7753-7756. 李卫华, 孙志成, 王文. 碱性成纤维细胞生长因子在自体脂肪颗粒填充面部凹陷中的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(41): 7753-7756.
- [4] Shoshaoni, Ullmann, Shupak A, et al. The role of frozen storage in preserving adipose tissue obtained by suction-assisted lipectomy for repeated fat injection procedures. Dermatol Surg. 2001;27(7): 645-647.
- [5] Katuya Taksu, Shizu Takasu. 长期冷冻脂肪的移植[J]. 实用美容整形外科杂志, 2001, 12(6): 332.
- [6] Wolter TP, Heimburg D, Stoffels I, et al. Cryopreservation of mature human adipocytes: in vitro measurement of viability. Ann Plast Surg. 2005; 55(4): 408-413.
- [7] State Council of the People's Republic of China. Administrative Regulations on Medical Institution. 1994-09-01. 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例. 1994-09-01.

来自本文课题的更多信息--

作者贡献: 实验设计为第一、二作者, 实施为第二、三、四作者, 评估为第五作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

利益冲突: 本科课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 根据国务院《医疗机构管理条例》规定^[7], 患者知情同意。

本文的创新性: 少量、反复、多次注射仍然是目前临床上提高脂肪移植成活率的有效方法。将脂肪冷冻储存再次移植应用能做到一次吸脂, 多次使用, 目前国内鲜有应用冷冻脂肪移植及冷冻后脂肪细胞活力测定、疗效的报道。

课题在冷冻脂肪移植面部年轻化治疗及采用肌酸激酶测定法测定冷冻后脂肪细胞活力具有一定的先进性。随访疗效观察, 效果明显、吸收率低。给患者建立一个较短期的脂肪库用于脂肪移植方法, 易于患者接受。