

Баніт О. В., канд. мед. наук, доцент

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти Міністерства охорони здоров'я України», м. Запоріжжя, Україна

Клітинна терапія при лікуванні патології опорно-рухового апарату

Резюме. Кількість травм і захворювань опорно-рухового апарату невідносно збільшується з кожним роком. Враховуючи тенденцію старіння населення планети все більше уваги приділяється профілактиці захворювань та розробці специфічних методів лікування. Останнім часом відзначається динамічне зростання клітинних технологій.

Мета дослідження – оцінити безпечність та ефективність застосування клітинних препаратів з жирової тканини для лікування патології опорно-рухового апарату та порівняти їх між собою.

Матеріали та методи дослідження. На базі кафедри травматології та ортопедії ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» і відділення ортопедії, естетичної та регенеративної медицини багатопрофільної лікарні «Вітацентр» за період 2018–2020 рр. було проліковано 45 хворих з різною ортопедичною патологією за допомогою клітинних препаратів, виготовлених з власної жирової тканини.

У 40 випадках вводили стромально-васкулярну фракцію, отриману з власної жирової тканини за допомогою різних девайсів (Goisis, Regenlab, Arthrex SVF, Lipogems®). У 5 пацієнтів для лікування використовували культивовані аутологічні хондроцити та мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини з жирової тканини, отримані у співпраці зі спеціалізованою лабораторією «ilaya.regeneration» м. Києва.

Результати дослідження та їх обговорення. У першій групі у 4 пацієнтів не відзначено негативних реакцій, тільки в одного хворого після введення спостерігалася клінічна картина гонартриту з подальшою нормалізацією стану хворого.

У жодного хворого на введення стромально-васкулярної фракції не було небажаних реакцій. Хворі обох груп спостерігалися через 3–5 днів після процедури, а потім 1 раз на місяць, оцінювання проводили за такими шкалами: візуально-аналоговою (ВАШ), IKDC, WOMAC, KOOS, KSS. В усіх хворих відзначено поступове зниження больового синдрому, покращення функції суглобів та підвищення якості життя. За кількістю пацієнтів ці групи порівнювати, мабуть, некоректно, але ми побачили схожу закономірність у клінічних проявах в обох групах. Наші спостереження показали різницю тільки в довготривалості позитивних змін, які відзначали хворі. У групі хворих, яким вводили клітинний препарат зі стромально-васкулярної фракції, позитивний ефект поступово зменшувався через 1,5–2 роки. Після введення культивованих клітинних препаратів у хворих клінічний стан поліпшувався до рівня, який стало тримався впродовж 3 років без значних змін.

Ключові слова: патологія опорно-рухового апарату, мезенхімальні стовбурові (стромальні) клітини, стромально-васкулярна фракція, клітинні препарати з жирової тканини.

Вступ

Кількість травм і захворювань опорно-рухового апарату невинно збільшується з кожним роком [1, 17, 21]. Сьогодні кожний сьомий пацієнт, який звертається в поліклініку до ортопеда-травматолога, ревматолога, вертебролога, скаржиться на біль у суглобах, м'язах або кістках [23, 24, 28].

Лікування патології опорно-рухового апарату є актуальною проблемою у цілому світі, недарма під егідою Організації Об'єднаних Націй та Всесвітньої організації охорони здоров'я з 2000 по 2010 рік пройшла Міжнародна декада, присвячена лікуванню кісток і суглобів (The Bone and Joint Decade 2000–2010) [7, 13].

Дегенеративно-дистрофічні захворювання суглобів займають перше місце серед усіх ортопедичних захворювань. За даними літератури, тільки остеоартроз колінного суглоба сягає 83 % від загальної захворюваності [17, 23].

Лікувальні засоби цієї патології, які існують на сучасному етапі, не дозволяють відновити структуру та функцію суглобів у повному обсязі.

Враховуючи тенденцію старіння населення планети, все більше уваги приділяється профілактиці захворювань та розробці специфічних методів лікування.

В останній час відзначається динамічне зростання клітинних технологій. Основна мета цього напрямку регенеративної медицини – репарація або заміщення втрачених (пошкоджених) клітин і тканин, відновлення структури та функції [3, 38].

Дослідження в галузі регенеративної медицини показали, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) дає суттєвий терапевтичний та регенеративний ефект при лікуванні різних дегенеративно-дистрофічних захворювань. Найбільше вивченим джерелом отримання МСК є кістковий мозок. При лікуванні пацієнтів з остеоартритом використовували культивовані мезенхімальні стромальні стовбурові клітини кісткового мозку у вигляді локальних внутрішньосуглобових ін'єкцій, після яких більше ніж у 75 % хворих було відмічене значне покращення функції суглобів та зниження больового синдрому. У подальшому, впродовж понад 2 років не спостерігалось жодного небажаного явища або реакції [15].

Мезенхімальні стовбурові (стромальні) клітини можуть бути отримані також із жирової тканини. Хоча мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку дуже схожі з клітинами, отриманими з жирової тканини (однаковий імунофенотип та здатність до диференціювання), вони також мають відмінні властивості [16, 17]. Мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини мають вищий проліферативний потенціал, при довготривалому спостереженні більш стабільні, також

у них нижчий коефіцієнт старіння [14, 38, 39]. При виділенні мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини отримують майже в 1000 разів більше клітинного матеріалу, ніж з еквівалентного обсягу кісткового мозку [14, 17].

Жирова тканина є джерелом для отримання двох клітинних препаратів, які використовуються в лікуванні патології опорно-рухового апарату – це стромально-васкулярна клітинна фракція та стовбурові клітини жирової тканини. Сукупність усіх клітин, які можна отримати з жирової тканини, називаються стромально-васкулярною клітинною фракцією. Окрім адипоцитів, це стовбурові клітини жирової тканини, ендотеліальні та гладком'язові клітини кровоносних судин та їх попередники, перицити, фібробласти, клітини крові, гемопоетичні стовбурові клітини та лейкоцити [12–14, 27–29].

Стромально-васкулярна клітинна фракція дає протизапальний, імуномодельючий, антисептичний ефект, її використовують для посилення регенерації тканин, а також для отримання власне стовбурових клітин жирової тканини шляхом культивування.

Отримують стромально-васкулярну фракцію з жирової тканини зазвичай двома шляхами – за допомогою ферментативних або неферментативних засобів. І в одному, і в іншому випадку жирова тканина піддається руйнуванню з подальшим центрифугуванням для видалення адипоцитів, еритроцитів та отримання вже очищеної стромально-васкулярної фракції. Ферментативні засоби використовують ферменти в процесі отримання стромально-васкулярної фракції (колагенази, диспази тощо). Ферментативні засоби бувають відкритими (мануальними), які використовують у спеціалізованих лабораторіях, та закритими (апаратними) [15, 22, 27]. Апаратний засіб (автоматизований чи напівавтоматизований) має низку переваг перед мануальним завдяки тому, що використовується закритий спосіб отримання стромально-васкулярної фракції, а значить мінімізує ризик інфікування матеріалу, а також є можливість застосовувати його одразу в операційній.

Неферментативні засоби отримання стромально-васкулярної фракції піддають жирову тканину дії механічної сили [10, 16–18, 30].

Для того щоб отримати стромально-васкулярну клітинну фракцію з жирової тканини існують різні девайси. Вони відрізняються засобом виділення фракції, різною концентрацією ферментів, різними типами механічного впливу, умовами центрифугування матеріалу, методами лізису еритроцитів, різною кількістю життєздатних клітин. У середньому отримують з 1 мл аспірата жирової тканини від 500 тис. до 1 млн клітин з життєздатністю 80 % та із вмістом мезенхімальних стовбурових клітин жирової тканини у виділеній фракції від 1 до 15 %.

Пристрої для отримання стромально-васкулярної фракції з жирової тканини розроблено на основі ферментативних засобів (Sceldis®, GID SVF-1™, HuriCell, STEM-XTM, Beauty Cell, Unistation™, CHA STATION™, CID300 та ін.) та неферментативних засобів (Puregraft®, LipiVage™, Fastkit (Fastem), Revolve™/GID 700™, Lipogems®, Lipo-Kit GT, StromaCell™, myStem, Goisis, Regenlab, Arthrex SVF) [10, 15, 17, 19–21, 30].

Доведено, що стовбурові клітини жирової тканини та перицити розміщені здебільшого біля судин жирової тканини. Завдяки механічному впливу, більшість цих судин залишається в нерозщеплених фрагментах сполучної тканини та видаляються. У ферментативних системах ферменти, що застосовуються більш інтенсивно розщеплюють фрагменти жирової тканини та отримують більшу кількість клітин. Тому прийнято вважати, що за допомогою ферментативних пристроїв отримують стромально-васкулярну фракцію, більш багату на стовбурові клітини жирової тканини й клітини-попередники [27, 29]. Водночас відсутність негативного впливу ферментів на тканини є перевагою механічних пристроїв для отримання стромально-васкулярної фракції, а також менший час для її виділення – близько 15 хв, а не 30–120 хв, як при ферментативних пристроях. Також механічні пристрої часто компактніші та доступніші у фінансовому плані [31].

Стовбуровими клітинами жирової тканини називають мезенхімальні стовбурові (стромальні) клітини, які містяться в ній (згідно з рішенням Міжнародного товариства застосування жирової тканини (International Fat Applied Technology Society, 2004).

Мезенхімальні стовбурові (стромальні) клітини – це гетерогенна популяція негемопоетичних клітин-попередників, що походять з мезодермального ростка і можуть самовідновлюватися та мультипотентно диференціюватися. Мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини мають можливість диференціювання в напрямку адипоцитів, остеобластів, хондроцитів, васкулярних ендотеліальних та нейрональних клітин [10, 17, 19–21, 32], вони з'являються на більш пізніх стадіях організму, на відміну від ембріональних стовбурових клітин, які утворюються на ранніх стадіях. Мезенхімальні стовбурові (стромальні) клітини наявні в кожній тканині організму, за їх рахунок відбувається самовідновлення, регенерація та відновлення тканин. Локалізуються вони здебільшого в периваскулярній зоні, у специфічних нішах, які регулюють їх функціонування [32, 39].

Нині відомо, що мезенхімальні стовбурові клітини секретують багатий спектр про- та протизапальних цитокінів, хемокінів, простагландинів і факторів росту [10–18], що обумовлює їх імуномодельючий, антиапоптотичний, антифібротичний ефект. Фактори росту, які містяться в мезенхімальних стовбурових клітинах, сприяють неоан-

гіогенезу, а цитокіни – регуляції процесів проліферації та диференціювання стовбурових клітин.

Для клітинної терапії найбільш перспективними вважають стовбурові клітини жирової тканини з таких причин: кількість мезенхімальних стовбурових клітин в 1 мл жирової тканини в 100–1000 разів вища, ніж в 1 мл кісткового мозку, а процедура отримання клітинного матеріалу малотравматична, доступна та не є технічно складною [15–18].

Для взяття матеріалу краще використовувати жирову тканину живота, в якій, як вважають, більша концентрація мезенхімальних стовбурових клітин порівняно з іншими ділянками. Наприклад, жирова тканина живота містить близько 5 % мезенхімальних стовбурових клітин, виділених зі стромально-васкулярної фракції, із стегна – 1 %, а їх проліферативні та потенціали диференціювання практично не відрізняються [38, 39].

Етапи отримання клітинного матеріалу з жирової тканини:

- 1) взяття матеріалу (найчастіше передня черевна стінка, жирова тканина живота);
- 2) центрифугування;
- 3) отримання стромально-васкулярної фракції;
- 4) виділення та подальше культивування власне стовбурових клітин жирової тканини;
- 5) подальше диференціювання у разі потреби за такими напрямками: адипогенез, ангіогенез, остеогенез, хондрогенез.

Нині мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини застосовують при найрізноманітніших захворюваннях: остеоартритах, патології кісткової та м'яких тканин, інфаркті міокарда, запальних захворюваннях кишківника, хронічних ранах [19–26, 28–30, 33].

Мета дослідження – оцінити безпечність та ефективність застосування клітинних препаратів з жирової тканини для лікування патології опорно-рухового апарату та порівняти їх між собою.

Матеріали та методи дослідження

На базі кафедри травматології та ортопедії ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» і відділення ортопедії, естетичної та регенеративної медицини багатопрофільної лікарні «Вітацентр» за період 2018–2020 рр. було проліковано 45 хворих з різною ортопедичною патологією за допомогою клітинних препаратів, виготовлених з власної жирової тканини.

У 40 випадках вводили стромально-васкулярну фракцію, отриману з власної жирової тканини за допомогою різних девайсів (Goisis, Regenlab, Arthrex SVF, Lipogems®). У 5 пацієнтів для лікування використовували культивовані аутологічні хондроцити та мультипотентні

мезенхімальні стромальні клітини з жирової тканини, отримані у співпраці зі спеціалізованою лабораторією «ilaya.regeneration» м. Києва.

Хірургічна процедура отримання матеріалу з жирової тканини суттєво не відрізнялася для обох груп пацієнтів і вимагала двох етапів: інфільтрації та аспірації.

На етапі інфільтрації готували фізіологічний розчин 500 мл, в якому розводили 50 мл 2 % лідокаїну та 1 мл адреналіну. Інфільтрували за допомогою спеціально розробленої одноразової тупої канюлі 19 см після проколу лезом 11 G.

Звуження судин разом із тупим краєм канюлі дозволяє уникнути випадкового внутрішньосудинного травмування та полегшує подальшу ліпоаспірацію. Додавання до суміші дуже розбавленого лідокаїну (0,02 %) дає можливість забезпечити місцеву анестезію, з часом очікування мінімум 10 хв перед аспірацією.

У вибрану зону для взяття жирової тканини (як правило, нижню частину живота) зазвичай вводять від 300 до 500 мл розчину для інфільтрації, завдяки чому тканина справді «наповнюється» ін'єкційним розчином. Набір для інфільтрації зі спеціально розробленим пружинним шприцом та клапаном може бути безпосередньо прикріплений до інфузійного мішка для полегшення кроку інфільтрації, забезпечуючи при цьому закриту систему, що ідеально підходить для амбулаторних процедур.

Етап аспірації (ліпоаспірат) виконується 10-кубовим шприцом з люерним замком (Merit Medical System, USA), з'єднаним з одноразовою тупою канюлею 19 см з 5 овальними отворами (1*2 мм). Достатньо кількох рухів із використанням стандартної ліпосакційної техніки, щоб зібрати 6–10 мл жирової тканини. Вакуум під час аспірації можна отримати вручну, затиснувши поршень шприца за тискачем. Менше ніж за 15 хв можна зібрати до 1000 мл, але зазвичай потрібно 100–150 мл, що збирають за 1–2 хв.

Після отримання клітинного матеріалу у першій групі хворих зібраний ліпоаспірат переміщали у контейнери з поживною рідиною та спеціальним термоконтейнером доправляли у лабораторію, де проходило виділення й наступна культивування власне мезенхімальних стовбурових клітин. Упродовж 6 тижнів відбувалася культивування клітин, а потім у замороженому стані у спеціальних термоконтейнерах культуру клітин доправляли в клініку. Процес транспортування клітин займав близько 12–18 годин. У клініці проводили розморожування культури клітин за протоколом лабораторії, готували суспензію зі стовбуровими клітинами пацієнта та в стерильних умовах проводили введення культури клітин. Після обробки операційного поля, за допомогою стандартних доступів, залежно від постраждалого суглоба голкою 20G виконували введення від 5–10 мл приготовленої

суспензії з клітинним матеріалом. Після видалення голки шкіру обробляли та накладали асептичну пов'язку. Імобілізацію після введення не проводили, обмежували хворому фізичну активність протягом 2–4 тижнів. Кожному хворому проводили триразове введення клітинного матеріалу: 1-є введення – 20 млн мезенхімальних стовбурових клітин; 2-є введення – 10 млн стовбурових клітин та 10 млн аутологічних хондроцитів; 3-є введення – 20 млн аутологічних хондроцитів. Проміжок між введеннями становив 1–2 місяці.

Більш доступною як для хворих, так і для лікарів-практиків є технологія отримання клітинного препарату завдяки різним девайсам для отримання стромально-васкулярної фракції з власної жирової тканини. Розглянемо процес обробки ліпоаспірата за допомогою пристрою Lipogems (рисунок 1).

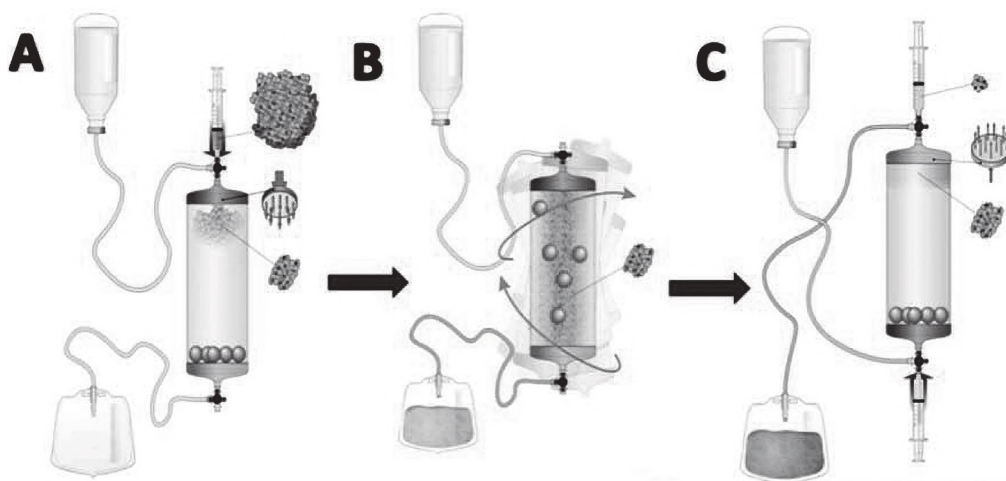


Рисунок 1. Схематичне зображення пристрою Lipogems

У цій повністю закритій системі вихідний ліпоаспірат переробляється за допомогою м'яких механічних сил без використання колагенази або інших ферментів/домішок. У пристрої Lipogems ліпоаспірат спочатку піддають дії до першого кластерного зменшення (рисунок 1, A), отриманого шляхом виштовхування аспірованої жирової тканини зі шприца в пристрій через великий фільтр (синій кінець), дозволяючи відповідній кількості сольового розчину виходити до мішка. Кульки з нержавіючої сталі, що містяться в пристрої, потрібні для отримання тимчасової емульсії, залишаючи масло, кров та сольовий розчин, які змиваються струмом сольового розчину, що рухається під дією сили тяжіння (рисунок 1, B). Після цього етапу про-

мивання (текучий розчин здається прозорим, а ліпоаспірат – жовтим), приплив сольового розчину зупиняється і пристрій перевертається (сіра кришка вгору), що веде до другого зменшення жирового кластера (рисунок 1, С). Таке зменшення досягається прощтовхуванням плаваючих жирових скупчень через другу ріжучу гексагональ фільтра, виштовхуючи рідину знизу за допомогою шприца 10 мл. Зменшені скупчення проходять в інший шприц 10 мл, розміщений вище (див. рисунок 1, С).

Початковою метою системи Lipogems було вдосконалення класичної техніки ліпофілінгу Coleman [12, 15, 27] шляхом забезпечення трансплантаційних скупчень ліпоаспірата зі зменшеним розміром для поліпшення їх трансплантаційного приживлення. Важливість товщини тканини для оптимізації приживлення добре відома при трансплантації шкіри. Тим не менше, у класичних методах ліпофілінгу ця мета може бути досягнута лише за рахунок зменшення калібру аспіраційної канюлі та/або їх отворів. Однак ця стратегія накладає обмеження через значне збільшення часу збирання тканин і зниження якості продукту ліпоаспіратних клітин [12, 15, 27]. Зменшення кластерів жирової тканини за розмірами, отриманих за допомогою інших механічних засобів, таких як леза (блендери або центрифугування), дуже травмує клітини й утворює велику кількість залишків олії та клітинного сміття [12, 15, 27, 33–36].

Після отримання ліпоаспірата його поступово вводили в пристрій за допомогою кількох 60-кубових шприців. Щоразу в стандартному пристрої об'ємом 225 мл обробляється від 40 до 130 мл ліпоаспірата (в ідеалі – 100 мл). Щоб уникнути пошкодження клітин, на пристрої не повинно бути повітря на всіх процедурних етапах, а пристрій слід попередньо наповнити сольовим розчином перед початком обробки. Аспірований жир завжди має бути оточений рідким середовищем: це важливо для отримання здорових менших жирових скупчень замість олії та залишків жирової тканини. Перше кластерне зменшення було отримано шляхом виштовхування аспірованого жиру зі шприца в пристрій та через перший фільтр зменшення розміру, дозволяючи відповідній кількості сольового розчину виходити до мішка для сміття (див. рисунок 1, А). Коли бажану кількість ліпоаспіратної тканини поміщали в пристрій, тримали його вертикально з першим фільтром зменшення розміру (див. рисунок 1, А) зверху, плаваючий шар аспірованої жирової тканини повинен займати не більше половини верхньої частини пристрою. Всередині пристрою було використано 5 мармурових кульок з нержавіючої сталі, які струшували для емульгування залишків олії, які згодом видаляли разом із забруднюючими компонентами крові гравітаційним протитоком сольового розчину, тоді як промиті відновлені скупчення адипоцитів мігрували на вершину пристрою Lipogems

(див. рисунок 1, В). Коли розчин всередині приладу стає прозорим, а ліпоаспірат – жовтим, потік сольового розчину зупиняють і пристрій перевертають догори дном (180°, сіра кришка вгору). Друге зменшення жирового кластера було отримано шляхом пропускання плаваючих жирових кластерів через другий фільтр зменшення розміру шляхом виштовхування додаткової рідини з нижнього отвору пристрою за допомогою 10-кубового шприца (див. рисунок 1, С). Потім кінцевий продукт Lipogems збирають у шприци 10 мл, підключені до верхнього отвору пристрою. Це і є остаточним продуктом Lipogems – стромально-васкулярна фракція з власної жирової тканини, яка готова до клінічного застосування.

Уведення клітинних препаратів виконували в умовах операційної з дотриманням усіх стандартних вимог до обробки хірурга та операційного поля. Положення пацієнтів – на спині, анестезія в усіх випадках – внутрішньовенна. Незважаючи на те що практично всі девайси для приготування стромально-васкулярної фракції запропоновані насамперед для використання в амбулаторних умовах, ми вважаємо, що цю маніпуляцію потрібно виконувати тільки в умовах операційної, з дотриманням усіх правил асептики й антисептики та під належною анестезією, виключаючи місцеву анестезію. Після обробки операційного поля, стандартними доступами, залежно від постраждалого суглоба голкою 20G виконували введення від 5–10 мл приготовленої стромально-васкулярної фракції. Після видалення голки проводили обробку шкіри, накладали асептичну пов'язку. Імобілізацію після введення не виконували, обмежували хворому фізичну активність протягом 2–4 тижнів.

Результати дослідження та їх обговорення

У першій групі у 4 пацієнтів не було негативних реакцій, тільки в одного хворого після введення через 1 тиждень спостерігалось підвищення температури тіла та набряк суглоба. Далі клінічна картина розгорталася за типом артриту колінного суглоба, консервативна терапія була невдалою та в подальшому виконано артроскопію колінного суглоба, дебридмент і тотальну синовектомію. Згодом стан нормалізувався, на сьогодні хворий почуває себе задовільно.

У жодного хворого на введення стромально-васкулярної фракції не відзначено небажаних реакцій. Хворі обох груп спостерігалися через 3–5 днів після процедури, а потім 1 раз на місяць, оцінювання проводили за такими шкалами: візуально-аналоговою (ВАШ), IKDC, WOMAC, KOOS, KSS [7]. В усіх хворих ми спостерігали поступове зниження больового синдрому, покращення функції суглобів та підвищення якості життя. За кількістю пацієнтів ці групи порівнювати, мабуть, некоректно але ми побачили схожу закономірність у клінічних проявах в обох групах. Наші спостереження показали різни-

цю тільки в довготривалості позитивних змін, які відзначали хворі. У групі хворих, яким вводили клітинний препарат зі стромально-васкулярної фракції позитивний ефект поступово зменшувався через 1,5–2 роки. Після введення культивованих клітинних препаратів у хворих клінічний стан поліпшувався до рівня, який стало тримався впродовж 3 років без значних змін.

На сучасному етапі в арсеналі ортопеда-травматолога існує багато різних методів консервативного лікування. Традиційно найчастіше використовують препарати гіалуронової кислоти та глюкокортикостероїди, завдяки яким досягають швидкого ефекту, але, на жаль, не тривалого. Останнім часом все більше дослідників звертають увагу на регенеративні технології, такі як аутоплазму, збагаченою тромбоцитами, та клітинні продукти як культивовані в спеціалізованій лабораторії, так і клітинні препарати стромально-васкулярної фракції з жирової тканини, вушного хряща, волосяного фолікула, кісткового мозку та ін. [2–6, 8-11, 13, 37]. Водночас досліджень щодо ефективності застосування культивованих клітинних препаратів порівняно з препаратами зі стромально-васкулярної фракції майже немає.

Наш досвід показав, що введення клітинних препаратів, приготовлених з власної жирової тканини у хворих обох груп, дало змогу зменшити вираженість больового синдрому, покращити якість життя та об'єм рухів у суглобах, показало безпечність цієї терапії у пацієнтів. За сучасними даними літератури, такі позитивні зміни обумовлені дією власне мезенхімальних стовбурових (стромальних) клітин.

Кожного дня з'являються дослідження про використання культивованих мезенхімальних стовбурових клітин, виділених з жирової тканини для лікування остеоартриту. Однак для цієї технології приготування клітинного препарату потрібна спеціалізована лабораторія, з юридичною (дозвільні документи, відповідна ліцензія до чинного законодавства) і матеріальною базою (обладнання реактиви, персонал та ін.) – усе це збільшує собівартість клітинного препарату та суттєво зменшує доступність такої технології. На відміну від культивованих препаратів, більш доступною для широкого кола ортопедів-травматологів виявляється технологія отримання стромально-васкулярної фракції, зокрема із жирової тканини. Клітинний препарат може бути отриманий у закритій системі, в амбулаторних умовах, використовується за одну хірургічну процедуру, не потребує ліцензування, наявності спеціалізованої лабораторії тощо. При цьому позитивні клінічні ефекти майже схожі. Тому введення клітинних препаратів зі стромально-васкулярної фракції може бути альтернативою терапії культованими мезенхімальними стовбуровими клітинами. Клінічний ефект застосування стромально-васкулярної фракції мож-

ливий у результаті дії як власне мезенхімальних стовбурових клітин, так і паракринної дії специфічного оточення – «ніші», клітин-попередників.

Висновки

1. Клітинні препарати стовбурових клітин, отриманих з жирової тканини, показали себе безпечним та ефективним методом лікування ортопедичної патології.

2. На сучасному етапі для широкого кола ортопедів-травматологів більш доступною для використання є отримання стромально-васкулярної фракції з жирової тканини за допомогою різноманітних закритих девайсів.

3. Наш досвід і дані сучасних досліджень показують безумовну перспективність лікування ортопедичної патології із застосуванням регенеративних технологій.

Banit O. V.

Zaporizhia Medical Academy of Post-Graduate Education Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, Ukraine

Cellular Therapy in the Treatment of Musculoskeletal Disorders

Abstract. The number of injuries and diseases of the musculoskeletal system is constantly increasing every year. Given the world's population aging, more and more attention is paid to disease prevention and the development of specific treatment options. Recently, there has been a dynamic growth of cell technology.

The aim. To evaluate the safety and effectiveness of cell-based medicinal products from adipose tissue for the treatment of musculoskeletal disorders and compare them with each other.

Materials and methods. In 2018-2020, at the premises of the Department of Traumatology and Orthopedics of Zaporizhia Medical Academy of Post-Graduate Education of the Ministry of Health of Ukraine and the Department of Orthopedics, Aesthetic and Regenerative Medicine of Vitacenter General Hospital, 45 patients with orthopedic disorders were treated using cell-based medicinal products made from native adipose tissue.

In 40 cases, stromal-vascular fraction obtained from native adipose tissue using various devices (Goisis, Regenlab, Arthrex SVF, Lipogems®) was injected. Five patients were treated with cultured autologous chondrocytes and multipotent mesenchymal stromal cells from adipose tissue obtained in collaboration with a specialized laboratory "Ilaya.regeneration", Kyiv.

Results and discussion. In the first group, 4 patients had no adverse reactions, only one patient after administration had manifestations of gonarthrosis with subsequent improvement.

No patients had adverse reactions to the introduction of stromal-vascular fraction. Patients of both groups were observed for 3-5 days after the procedure, and then once a month; the assessment was performed using VAS, IKDC, WOMAC, KOOS, KSS. All the patients showed gradual decrease in pain improved joint function, and improved quality of life. It is probably incorrect to compare these groups in terms of the number of patients, but we saw a similar pattern in clinical manifestations in both groups. Our observations showed a difference only in the duration of positive changes noted by patients. In the group of patients who received cell-based medicinal product from the stromal-vascular fraction, the positive effect gradually decreased within 1.5-2 years. After the introduction of cultured cell-based products in patients, their clinical condition improved to a level that was maintained for 3 years without significant changes.

Keywords: musculoskeletal disorder, mesenchymal stem (stromal) cells, stromal-vascular fraction, cell-based medicinal products from adipose tissue.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

REFERENCES

1. Aguena M, Fanganiello RD, Tissiani LA, Ishiy FA, Atique R, Alonso N, et al. Optimization of parameters for a more efficient use of adipose-derived stem cells in regenerative medicine therapies. *Stem Cells Int.* 2012;2012:303610. <https://doi.org/10.1155/2012/303610>.
2. Aronowitz J, Ellenhorn J. Adipose stromal vascular fraction isolation: A head-to-head comparison of four commercial cell separation systems. *Plast Reconstr Surg.* 2013 Dec;132(6):932e-939e. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182a80652>.
3. Aronowitz JA, Lockhart RA, Hakakian CS, Hicok KC. Clinical safety of stromal vascular fraction separation at the point of care. *Ann Plast Surg.* 2015 Dec;75(6):666-71. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000000594>.
4. Aronowitz J, Lockhart R, Hakakian C. Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue. *Springer Plus.* 2015;4:713. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1509-2>
5. Baer P, Geiger H. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: Tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem Cell Int.* 2012;2012:812693. <https://doi.org/10.1155/2012/812693>.
6. Baptista LS, do Amaral RJ, Carias RB, Aniceto M, Claudio-da-Silva C, Borojevic R. An alternative method for the isolation of mesenchymal stromal cells derived from lipoaspirate samples. *Cytotherapy.* 2009;11(6):706-15. <https://doi.org/10.3109/14653240902981144>.
7. Belova AN, Shchepetova ON. Shkaly, testy i oprosniki v medicinskoj rehabilitacii [Labs, tests and questionnaires are in medical rehab]. Moscow; 2002.
8. Burlacu A, Grigorescu G, Rosca AM, Preda MB, Simionescu M. Factors secreted by mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells have complementary effects on angiogenesis in vitro. *Stem Cells and Development.* 2013 Feb 15;22(4):643-53. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0273>.
9. Caplan AI. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell.* 2008 Sep 11;3(3):229-30. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.08.008>.
10. Casiraghi F, Remuzzi G, Abbate M, Perico N. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy and risk of malignancies. *Stem Cell Rev Rep.* 2013 Feb;9(1):65-79. <https://doi.org/10.1007/s12015-011-9345-4>.

-
11. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: Going back to the future. *J Lipid Res.* 2012 Feb;53(2):227-46. <https://doi.org/10.1194/jlr.R021089>.
 12. Coleman WP 3rd, Glogau RG, Klein JA, Moy RL, Narins RS, Chuang TY, Farmer ER, et al. Guidelines of care for liposuction. *J Am Acad Dermatol.* 2001 Sep;45(3):438-47. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.117045>.
 13. Ebrahimi A, Kazemi A, Rasouli HR, Kazemi M, Kalantar Motamedi MH. Reconstructive surgery of auricular defects: An overview. *Trauma Mon.* 2015 Nov;20(4):e28202. <https://doi.org/10.5812/traumamon.28202>.
 14. Escacena N, Quesada-Hernández E, Capilla-Gonzalez V, Soria B, Hmadcha A. Bottlenecks in the efficient use of advanced therapy medicinal products based on mesenchymal stromal cells. *Stem Cells International.* 2015;2015:895714. <https://doi.org/10.1155/2015/895714>. Epub 2015 Jul 27.
 15. Fraser JK, Hicok KC, Shanahan R, Zhu M, Miller S, Arm DM. The Celution® system: Automated processing of adipose-derived regenerative cells in a functionally closed system. *Adv Wound Care.* 2014 Jan 1;3(1):38-45. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0408>.
 16. Friedenstain AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet.* 1987 May;20(3):263-72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1987.tb01309.x>.
 17. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007 May 11;100(9):1249-60. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09>.
 18. Han J, Koh YJ, Moon HR, Ryoo HG, Cho CH, Kim I, et al. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood.* 2010 Feb 4;115(5):957-64. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-219923>.
 19. Hoogduijn MJ, Popp F, Verbeek R, Masoodi M, Nicolaou A, Baan C, et al. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy. *Int Immunopharmacol.* 2010 Dec;10(12):1496-500. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.06.019>.
 20. Jin R, Zhang L, Zhang YG. Does platelet-rich plasma enhance the survival of grafted fat? An update review. *Int J Clin Exp Med.* 2013 Apr 12;6(4):252-8.
 21. Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: Dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plast Reconstr Surg.* 2014 Mar;133(3):303e-313e. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000066>.
 22. Kilroy GE, Foster SJ, Wu X, Ruiz J, Sherwood S, Heifetz A, et al. Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: Expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors. *J Cell Physiol.* 2007 Sep;212(3):702-9. <https://doi.org/10.1002/jcp.21068>.
 23. Kyryk VM, Butenko GM. Stvolovye kletki iz zhirovoj tkani: osnovnye charakteristiki i perspektivy klinicheskogo primeneniya v regenerativnoj medicine (obzor literatury) [Fat stem cells: basic characteristics and prospects for clinical use in regenerative medicine (literature review)]. *Zhurnal Akademii medichnikh nauk Ukrainy.* 2010;16(4):576-604. Russian.
 24. Kronsteiner B, Wolbank S, Peterbauer A, Hackl C, Redl H, van Griensven M, et al. Human mesenchymal stem cells from adipose tissue and amnion influence T-cells depending on stimulation method and presence of other immune cells. *Stem Cells Dev.* 2011 Dec;20(12):2115-26. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0031>.
 25. Lee SK, Kim DW, Dhong ES, Park SH, Yoon ES. Facial soft tissue augmentation using autologous fat mixed with stromal vascular fraction. *Arch Plast Surg.* 2012 Sep;39(5):534-9. <https://doi.org/10.5999/aps.2012.39.5.534>.

-
26. Minteer DM, Marra KG, Rubin JP. Adipose stem cells: biology, safety, regulation, and regenerative potential. *Clin Plastic Surg.* 2015 Apr;42(2):169-79. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2014.12.007>.
 27. Oberbauer E, Steffenhagen C, Wurzer C, Gabriel C, Redl H, Wolbank S. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: Current state of the art. *Cell Regen.* 2015 Sep 30;4:7. <https://doi.org/10.1186/s13619-015-0020-0>.
 28. Pappa AK, Caballero M, Dennis RG, Skancke MD, Narayan RJ, Dahl JP, et al. Biochemical properties of tissue-engineered cartilage. *J Craniofac Surg.* 2014 Jan;25(1):111-5. <https://doi.org/10.1097/SCS.0b013e3182a2eb56>.
 29. Rajashekhar G, Traktuev DO, Roell WC, Johnstone BH, Merfeld-Clauss S, Van Natta B., et al. IFATS collection: Adipose stromal cell differentiation is reduced by endothelial cell contact and paracrine communication: role of canonical Wnt signaling. *Stem Cells.* 2008 Oct;26(10):2674-81. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2008-0277>.
 30. Salgado AJ, Reis RL, Sousa NJ, Gimble JM. Adipose tissue derived stem cells secretome: Soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2010 Jun;5(2):103-10. <https://doi.org/10.2174/157488810791268564>.
 31. Shah FS, Wu X, Dietrich M, Rood J, Gimble JM. A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells. *Cytotherapy.* 2013 Aug;15(8):979-85. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.04.001>.
 32. Suga H, Eto H, Aoi N, Kato H, Araki J, Doi K, et al. Adipose tissue remodeling under ischemia: Death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Dec;126(6):1911-1923. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181f4468b>.
 33. Tobita M, Orbay H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells: current findings and future perspectives. *Discov Med.* 2011 Feb;11(57):160-70.
 34. Tobita M, Tajima S, Mizuno H. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: Stem cell transplantation methods that enhance stemness. *Stem Cell Res & Ther.* 2015 Nov 5;6:215. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0217-8>.
 35. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, Schreiber R, Ransom JT, Fraser JK, et al. Supplementation of fat grafts with adipose-derived regenerative cells improves long-term graft retention. *Ann of Plastic Surg.* 2010 Feb;64(2):222-8. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e31819ae05c>.
 36. Zimmerlin L, Donnenberg VS, Pfeifer ME, Meyer EM, Péault B, Rubin JP, et al. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue. *Cytometry Part A: J Int Soc Anal Cytol.* 2010 Jan;77(1):22-30. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20813>.
 37. Zorina A, Zorin V, Cherkasov V. [PRP in aesthetic medicine]. *Experimentation and wedge dermatocometol.* 2013;6:10-21. Russian.
 38. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002 Dec;13(12):4279-95. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0105>.
 39. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue engineering.* 2001 Apr;7(2):211-28. <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>.

Стаття надійшла в редакцію 28.02.2021 р.