

ПЕРВЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЛИПОАСПИРАТА У ПАЦИЕНТОВ С ГОНАРТРОЗОМ

**Шевела Е.Я., Ница Н.А., Старостина Н.М., Баранов С.И.,
Кожевников Ю.А., Попова Н.Д., Баторов Е.В., Останин А.А.,
Черных Е.Р.**

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия*

Резюме. В работе представлены результаты клинической апробации аутологичных клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ) у пациентов с деформирующим остеоартрозом (ДОА) коленных суставов II-III стадии по Kellgren–Lawrence. В пилотное исследование были рекрутированы 6 больных с ДОА коленных суставов (3 мужчин и 3 женщины; медиана возраста 64 года) с давностью заболевания 7 лет. Пациентам однократно, под УЗИ-навигацией, вводили аутологичные клетки СВФ в средней дозе $16,8 \pm 0,9 \times 10^6$ /сустав. Внутрисуставное введение клеток СВФ не вызывало развития аллергических, токсических или воспалительных реакций. Анкетирование пациентов через 1 мес. после введения клеток СВФ выявило снижение выраженности болевого синдрома, оцениваемого по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) и специализированной 100-балльной шкале KOOS (подшкала «Боль») ($p < 0,05$ по обеим шкалам). Более того, пациенты отметили улучшение функциональной активности суставов и качества жизни, связанного с пораженными суставами по шкале KOOS ($p < 0,05$). Положительная клиническая динамика сохранялась при наблюдении до 6 мес. УЗИ суставов продемонстрировало увеличение толщины гиалинового хряща через 3 (в 73% случаев) и 6 мес. (в 82%). Проведенное нами пилотное исследование показало безопасность и хорошую переносимость внутрисуставного введения аутологичных клеток СВФ у пациентов с выраженными проявлениями ДОА. Полученные результаты свидетельствуют также о значительном противовоспалительном эффекте аутологичных клеток СВФ жировой ткани, проявляющемся на ранних этапах клеточной терапии. Потенциальную возможность стимулирующего влияния клеток СВФ на регенерацию поврежденных суставов предполагается оценить при дальнейшем наблюдении.

Ключевые слова: стромально-васкулярная фракция, остеоартроз, шкала ВАШ, шкала KOOS

Адрес для переписки:

*Шевела Екатерина Яковлевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 228-21-01.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru*

Address for correspondence:

*Shevela Ekaterina Ya.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: 7 (383) 228-21-01.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru*

Образец цитирования:

*Е.Я. Шевела, Н.А. Ница, Н.М. Старостина, С.И. Баранов,
Ю.А. Кожевников, Н.Д. Попова, Е.В. Баторов,
А.А. Останин, Е.Р. Черных «Первые клинические
результаты применения клеток стромально-васкулярной
фракции липоаспираата у пациентов с гонартрозом»
// Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 6. С. 779-788.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-779-788
© Шевела Е.Я. и соавт., 2017*

For citation:

*E.Ya. Shevela, N.A. Nitsa, N.M. Starostina, S.I. Baranov,
Yu.A. Kozhevnikov, N.D. Popova, E.V. Batorov, A.A. Ostanin,
E.R. Chernykh "Preliminary clinical results with lipoaspirate
stromal vascular cell fraction in treatment of patients with knee
osteoarthritis", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 6, pp. 779-788.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-779-788
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-6-779-788*

PRELIMINARY CLINICAL RESULTS WITH LIPOASPIRATE STROMAL VASCULAR CELL FRACTION IN TREATMENT OF PATIENTS WITH KNEE OSTEOARTHRITIS

Shevela E.Ya., Nitsa N.A., Starostina N.M., Baranov S.I., Kozhevnikov Yu.A., Popova N.D., Batorov E.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The paper presents results of clinical application of autologous stromal-vascular fraction (SVF) cells in patients with degenerative osteoarthritis (OA) of the knee, grade II and III (Kellgren–Lawrence scale). We recruited six patients with knee OA (3 men and 3 women; median age 64 years) with mean disease duration of 7 years. All the patients were administered a single intra-articular injection of autologous nucleated SVF cells at an average dose of $16.8 \pm 0.9 \times 10^6$ per joint (a total of 11 joints). The patients did not experience any serious side effects (allergic, toxic or inflammatory) related to the knee injection. Patient surveys at 1 month after SVF administration revealed a decrease in the severity of pain, as measured by a visual analog scale (VAS) and a specialized 100-point scale KOOS (subscale "pain") ($p < 0.05$ on both scales). Moreover, the patients reported improvement in the joint functions and quality of life related to affected joints on a KOOS scale ($p < 0.05$). These positive clinical changes persisted during 6 month follow up. Significant improvements were noted in ultrasound findings, with increased thickness of the cartilage layer at 3 months (in 73% of cases) and at 6 months (in 82%). Our pilot study demonstrated the safety and tolerability of intra-articular injection of autologous SVF cells in patients with moderate to severe OA. The results obtained also indicate a significant antiinflammatory effect of autologous adipose tissue SVF cells, which is manifested at the early stages of cell therapy. Our further investigations will be focused on exploring the SVF stimulatory effects on regeneration of damaged joints.

Keywords: stromal-vascular fraction, osteoarthritis, VAS scale, KOOS scale

Введение

Остеоартриты (в отечественной медицине используется термин «остеоартроз», «деформирующий остеоартроз», ДОА) характеризуются дегенерацией суставного хряща, склерозом субхондральной кости и формированием маргинальных остеофитов. Среди всех нозологических форм патологии суставов ДОА составляет 55%. По данным эпидемиологических исследований, ДОА различной локализации страдают 1-2% населения до 45 лет и 15-85% людей старшего возраста [1].

Основными клиническими проявлениями ДОА являются боль и ограничение функции, а также патологические изменения структуры сустава, что является причиной снижения качества жизни, особенно при поражении крупных суставов. Несмотря на мультифакториальность заболевания, важнейшим этиопатогенетическим фактором дегенеративного поражения суставов является воспаление. Признаки воспаления наблюдаются как на ранних, так и на поздних стадиях ДОА. При этом воспаление синовиальной

мембраны сопровождается повышением уровня провоспалительных медиаторов, включая цитокины (TNF, IL-12, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, LIF, IL-8), оксид азота, ПГЕ₂, и ассоциируется с повреждением прилегающей хрящевой ткани [17, 30].

Низкая способность суставного хряща к самовосстановлению существенно ограничивает возможности лечения пациентов с ДОА [34]. Традиционно используемые нестероидные противовоспалительные препараты и глюкокортикостероиды подавляют воспаление и достаточно эффективны в купировании болевого синдрома, однако не способны стимулировать регенеративные процессы в поврежденном хряще. Кроме того, препараты этих групп, даже при использовании в терапевтических дозах, нередко вызывают развитие серьезных побочных реакций. Операции по протезированию суставов также относительно часто ассоциируются с серьезными и опасными для жизни осложнениями, включая повышенный риск инфекции, тромбоземболии, ин-

фаркта миокарда, инсульта, а также ограниченным сроком службы протеза.

Одно из новых направлений в лечении ДОА связано с использованием клеточных технологий, основанных на использовании стволовых клеток. Наиболее перспективными кандидатами являются мультипотентные мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК), которые обладают выраженным противовоспалительным и регенераторным потенциалом [8, 10, 15, 18, 19, 22]. Распространенными источниками этих клеток являются костный мозг и жировая ткань, причем жировая ткань обладает рядом преимуществ [9]. Так, количество МСК, которые можно выделить из жировой ткани, в 100-1000 раз превышает их количество, содержащееся в эквивалентном объеме костного мозга [2]. Кроме того, выделенные из жировой ткани МСК генетически более стабильны в течение длительного срока культивирования, отличаются более низким коэффициентом старения и высокой пролиферативной активностью [3, 31]. Жировая ткань может быть легко получена при проведении стандартной процедуры липосакции под местной анестезией, а методы липотрансфера широко используются в современной пластической хирургии. Кроме того, стромально-васкулярная фракция (СВФ) липоаспирата является богатым источником не только МСК, но и других типов клеток, участвующих в регенерации тканей, например, предшественников эндотелиальных клеток, преадипоцитов, фибробластов, тучных клеток, макрофагов, Т- и В-лимфоцитов [13, 31]. Клетки СВФ оказывают противовоспалительный и иммуномодулирующий эффекты; кроме того, содержащиеся в СВФ МСК способны дифференцироваться в клетки соединительной ткани, включая хрящи, сухожилия и связки [32]. Существенным преимуществом можно также считать возможность использования свежесделанных клеток СВФ, не подвергавшихся культуральной экспансии, поскольку манипуляции *in vitro* могут привести к генетическим и эпигенетическим изменениям, способным повлиять на функциональные и биологические свойства клеток.

Доклинические исследования на животных показали безопасность и эффективность клеток СВФ в лечении ДОА, хрящевых дефектов или других ортопедических заболеваний [3, 23, 29]. Немногочисленные пилотные исследования продемонстрировали хорошую переносимость, безопасность, а также клиническую эффективность СВФ у пациентов с ранними стадиями ДОА [6, 13, 16, 25].

Настоящее исследование было предпринято с целью клинической апробации аутологичных

клеток СВФ у пациентов с длительно текущим ДОА коленных суставов (гонартроз), II-III ст. по Kellgren–Lawrence.

Материалы и методы

Пациенты

Набор пациентов в исследование проводился в соответствии с протоколом (NCT 02967874, clinicaltrials.gov), одобренным локальным этическим комитетом НИИФКИ. Критерии включения: 1) лица обоих полов в возрасте от 40 до 85 лет; 2) наличие первичного деформирующего остеоартроза (ДОА) 1-2 коленных суставов (Rg стадия 2-3 по Kellgren–Lawrence), верифицированного клинически и рентгенологически; 3) возможность проведения липосакции; 4) наличие письменного информированного согласия. Критерии исключения: 1) выраженная декомпенсированная сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночная, почечная недостаточность; 2) аутоиммунные заболевания; 3) острые инфекционные заболевания; 4) психические заболевания; 5) аллергия на препараты для местного обезболивания; 6) использование кортикостероидных препаратов в предшествующие 4 недели; 7) наличие противопоказаний для проведения пункции суставов, включая эндопротезирование суставов.

Получение клеток СВФ

Жировую ткань (липоаспират) получали при проведении операции липосакции. Липоаспират интенсивно отмывали холодным физиологическим раствором, забуференным фосфатами (ЗФР; «Биолот», Россия), после чего подвергали ферментативной диссоциации с помощью 0,1% раствора коллагеназы 1А типа (Sigma-Aldrich, США) в течение 45 минут при 37 °С и периодическом встряхивании. По окончании инкубации проводили инактивацию фермента и двукратную отмывку клеточной суспензии с помощью физиологического раствора. Нерасщепленные фрагменты жировой ткани удаляли фильтрованием через нейлоновые фильтры (размер пор 100 μm). Полученные таким образом ядросодержащие клетки так называемой стромально-васкулярной фракции (СВФ) ресуспендировали в физиологическом растворе, подсчитывали количество и определяли жизнеспособность (по исключению трипанового синего; Sigma-Aldrich, США).

Процедура исследования

Клетки СВФ вводили однократно интраартикулярно под УЗИ-навигацией в объеме 3 мл клеточной взвеси на сустав. Обследование больных проводили до введения клеток и через 1, 3, 6 мес. после введения клеток. Оценка безопасности включала физикальное обследование и ана-

лиз нежелательных событий (аллергические, токсические, воспалительные реакции). При анализе клинической эффективности использовали оценку выраженности болевого синдрома с помощью визуально-аналоговой шкалы боли (ВАШ) и оценку состояния пораженных суставов и качества жизни по KOOS (Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score; www.koos.nu), а также данные УЗИ суставов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде средних значений (М) и стандартной ошибки (S.E.), а также в виде медианных значений (Me) и интерквартильного диапазона (IQR, $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ квантили). Уровень статистической значимости различий определяли с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика пациентов

В исследование были рекрутированы 6 пациентов (3 мужчин и 3 женщины в возрасте от 50 до 82 лет; медиана 64 года) с первичным ДОО опорных суставов (гонартроз), Rg стадия II (n = 2) и II-III (n = 4), НФС II ст (n = 6). Давность заболевания $8,6 \pm 3,2$ лет (Me 7, IQR 4-8) (табл. 1).

Для оценки функционального состояния пораженных суставов и качества жизни использовали специализированную 100-балльную шкалу для коленного сустава KOOS, которая позволяет оценить боль, другие симптомы заболевания (отек, ограничение объема движений), повседневную активность, возможность занятия спортом/отдыхом, а также уровень качества жизни, связанный с пораженным суставом. Расчет баллов по шкале KOOS проводили на основе анкетирования пациентов, при этом 100 баллов

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1. THE CHARACTERISTIC OF PATIENTS RECRUITED IN THE STUDY

№	Пол Sex	Возраст Age	Стадия Grade	НФС JFD	Давность, годы OA duration, years	Сопутствующие заболевания Comorbidities
1	М М	50	II	II	1,5	АГ II ст., риск 3. Дислипидемия. Жировой гепатоз Systemic arterial hypertension (SAH), stage II. Dyslipidemia. Hepatic steatosis
2	Ж Ф	59	II-III	II	4	АГ I ст., риск 2 SAH, stage I
3	М М	59	II-III	II	8	АГ II ст., риск 3. ХНБ, ремиссия. ДН 0 SAH, stage II. CNOB, clinical remission
4	Ж Ф	67	III-IV	II	6	ГБ II ст, АГ III ст., риск 4. Дислипидемия. Атеросклероз аорты. ХСН I, ФК I. ХЦИ I ст. Ожирение 3 ст. SAH, stage III. Dyslipidemia. CHD. CHF, stage I. CCI, stage I. Obesity, class 3
5	Ж Ф	67	II	II	24	АГ II ст., риск 4. СД II типа. Ожирение 3 ст. SAH, stage II. Diabetes mellitus. Obesity, class 3
6	М М	82	II-III	II	8	ИБС. ГБ II ст, I степ, риск 4. ХСН I. ХПН 1 CHD. SAH, stage II. CHF, stage I. CRF, stage I

Примечание. НФС – недостаточность функции сустава, АГ – артериальная гипертензия; ГБ – гипертоническая болезнь; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СД – сахарный диабет; ХНБ – хронический необструктивный бронхит; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ДН – дыхательная недостаточность; ХЦИ – хроническая церебральная ишемия; ХПН – хроническая почечная недостаточность.

Note. Joint functional disability (JFD); systemic arterial hypertension (SAH); cardiovascular disease (CVD); coronary heart disease (CHD); chronic heart failure (CHF); chronic renal failure (CRF); chronic cerebral ischemia (CCI); chronic non-obstructive bronchitis (CNOB).

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ ПО ШКАЛАМ ВАШ И KOOS

TABLE 2. INDIVIDUAL VALUES OF VAS AND KOOS SCORES

№	ВАШ VAS	KOOS*				
		Симптомы Symptoms	Боль Pain	Повседневная активность Activities of daily living	Спорт и отдых Sport and recreation	Качество жизни Quality of life
1	3	43	56	77	35	19
2	6	46	42	47	15	13
3	5	43	39	54	25	19
4	6	61	61	66	10	19
5	8	71	53	53	50	31
6	8	43	53	56	35	19
n = 6	6±0,77 (6; 5-8)	51±4,9 (45; 43-61)	50±3,5 (53; 42-56)	59±4,3 (55; 53-66)	28±4,9 (30; 15-35)	20±2,5 (19; 12-25)

Примечание. * – данные представлены в виде нормализованных значений, рассчитанных как процент от максимально возможного балла по соответствующей подшкале KOOS: индивидуальные значения, M±SEM, медиана и интерквартильный диапазон (в скобках).

Note. *, the data are presented as normalized values, calculated as a percentage of the maximum possible score for each KOOS subscale: individual values, M±SEM, median and interquartile range (in brackets).

свидетельствовали об отсутствии симптомов, 0 баллов – об их резкой выраженности. Полученные данные суммированы в таблице 2.

Видно, что исходно пациенты с ДОО характеризовались наличием выраженного болевого синдрома (Me 7 по ВАШ), а также значительным снижением функций коленных суставов, вовлеченных в патологический процесс, что вызывало существенные затруднения в выполнении повседневной деятельности и приводило к снижению качества жизни пациентов, связанного с пораженным суставом.

Данные физикального обследования и анкетирования дополнялись ультразвуковым исследованием коленных суставов, которое позволяло оценить состояние мягких тканей (наличие или отсутствие отека), гиалинового хряща (толщина, равномерность толщины, структура, поверхность), изменения синовиальной оболочки (утолщение, наличие разрастаний), состояние суставных сумок, заворотов и суставной полости (наличие выпота), суставные поверхности (появление краевых костных остеофитов). Как видно из данных таблицы 3, пациенты с ДОО характеризовались выраженным снижением толщины гиалинового хряща (в норме 3-4 мм), очаговым утолщением синовиальной оболочки (от 1,3 до 3,2 мм) и наличием множественных остеофитов. Кроме того, регистрировалась значительная деформация суставных поверхностей и наличие выпота в незначительном количестве в суставной полости либо в суставных сумках и заворотах.

Оценка безопасности клеток СВФ

Пациентам с ДОО было выполнено однократное внутрисуставное введение аутологичных клеток СВФ в средней дозе $16,8 \pm 0,9 \times 10^6$ (Me $16,4 \times 10^6$; IQR $13-20 \times 10^6$ /сустав) в 3 мл физиологического раствора в один (у одного пациента) или оба (у 5 из 6 пациентов) пораженных сустава. Введение клеток не вызывало развития каких-либо серьезных нежелательных явлений, включая аллергические, токсические или воспалительные реакции. Практически все пациенты отмечали чувство дискомфорта в области коленных суставов через 6-7 часов после введения клеток. В 30% случаев наблюдалось повышение температуры до субфебрильных цифр ($37,2-37,6$ °C). Эти явления проходили самостоятельно в течение первых суток или купировались нестероидными противовоспалительными препаратами. Оценка параметров общего и биохимического анализов крови также не выявила различий с исходными показателями (данные не представлены).

Клиническая эффективность клеток СВФ

Все пациенты, включенные в исследование, были обследованы через 1, 3 и 6 мес. после введения СВФ. Однократное внутрисуставное введение клеток СВФ сопровождалось постепенным снижением болевого синдрома, оцениваемого по шкалам ВАШ и KOOS (подшкала «Боль») (рис. 1). При этом 5 из 6 пациентов отметили уменьшение болевых ощущений уже через 1 мес. после введения клеток ($p < 0,05$ по KOOS), кото-

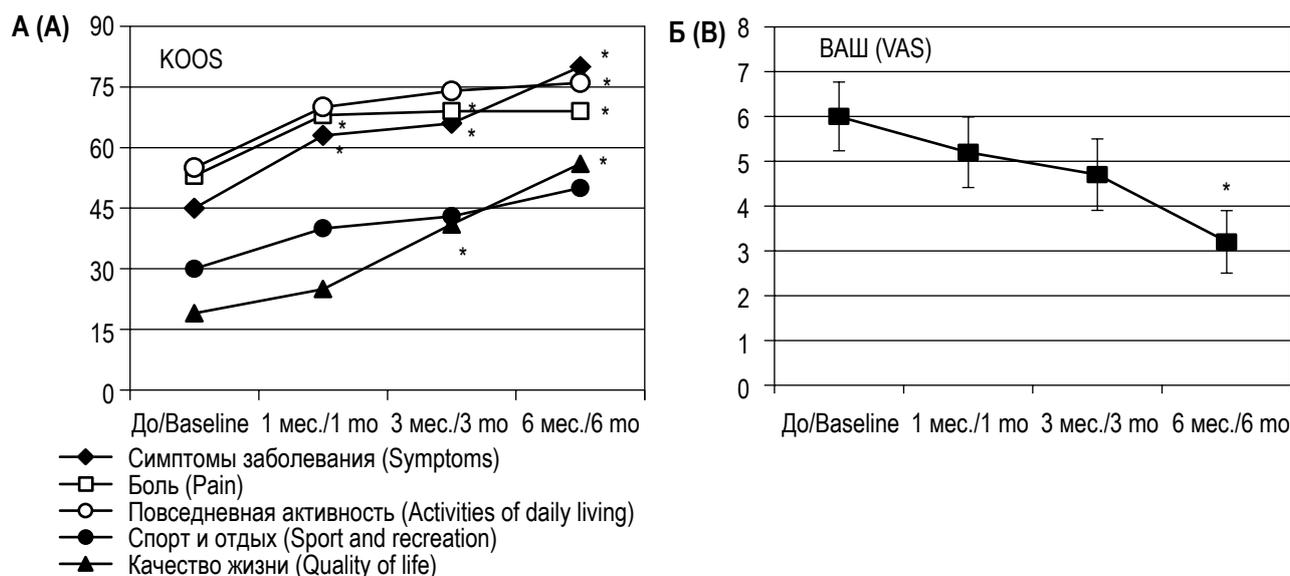


Рисунок 1. Динамика показателей по шкале KOOS и ВАШ при наблюдении до 6 мес. после введения клеток СВФ
 Примечание. Данные представлены в виде медианных значений для каждой из подшкал KOOS («Симптомы заболевания», «Боль», «Повседневная активность», «Спорт и отдых», «Качество жизни») и в виде средних значений со стандартной ошибкой для ВАШ. p – достоверность различий по сравнению с исходными значениями (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 1. The changes in KOOS and VAS scores from baseline to 6 months

Note. Data are presented as median values for each of the subscales KOOS (“Symptoms”, “Pain”, “Activities of daily living”, “Sport and recreation”, “Quality of life”) and as mean and standard error for the VAS. * p , significance of changes compared to baseline values (Mann–Whitney U-test).

рое сохранялось до 6 мес. наблюдения. По ВАШ выраженность болевого синдрома постепенно снижалась в течение всего периода наблюдения, достигая двукратного уменьшения к 6 мес. ($p < 0,05$). Анкетирование пациентов по шкале KOOS продемонстрировало также снижение выраженности основных симптомов заболевания (в 1,8 раза, $p < 0,05$), уменьшение затруднений в выполнении повседневной деятельности (в 1,4 раза, $p < 0,05$), повышение возможности занятий спортом (в 1,7 раза) и улучшение качества жизни, связанного с пораженным суставом (в 2,9 раза, $p < 0,05$). При этом клиническое улучшение сопровождалось положительной динамикой по данным УЗИ суставов. Действительно, через 3 мес. после введения клеток СВФ у 5 из 6 пациентов регистрировалось увеличение толщины гиалинового хряща в пораженных суставах (Me с 1,0 мм до 1,5 мм, $p = 0,09$).

Обсуждение

Ядродержащие клетки СВФ, выделенные из жировой ткани, находят все более широкое использование в клинической практике. Терапевтический потенциал клеток СВФ связывают, прежде всего, с высоким содержанием стволовых/стромальных клеток, в частности МСК, которые обладают выраженным трофическим действием благодаря секреции широкого спектра ростовых факторов, цитокинов и хемокинов, необходимых для репарации. Значительная часть клинических

исследований основана на использовании культивированных *in vitro* МСК жировой ткани [11], однако нативная СВФ – как «терапевтическое средство», а не как источник для получения МСК – имеет ряд преимуществ. Одним из основных преимуществ СВФ по сравнению с «чистыми» популяциями стволовых/стромальных клеток, полученных в результате культивирования *in vitro*, является гетерогенность этой фракции. Действительно, наряду с МСК, в образцах СВФ присутствуют различные типы клеток, оказывающих стимулирующий эффект на процессы регенерации и ревазуляризации и обладающих противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами (преадипоциты, предшественники эндотелиальных клеток, макрофаги второго типа и Т-регуляторные клетки) [4, 14, 27]. Согласно критериям, разработанным International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) и International Society for Cellular Therapy (ISCT), клетки СВФ должны иметь жизнеспособность не ниже 70% и экспрессировать следующий иммунофенотип: CD13⁺, CD29⁺, CD44⁺, CD73⁺, CD90⁺ (> 40%), CD34⁺ (> 20%), CD31⁺ (< 20%) и CD45⁺ (< 50%) [4].

В нашем исследовании липоаспиранты были получены у всех пациентов из однотипного анатомического региона (передняя брюшная стенка), клетки СВФ выделяли стандартно с помощью коллагеназы I типа, при этом итоговая популяция ядродержащих клеток СВФ по сво-

ТАБЛИЦА 3. УЗИ КОЛЕННЫХ СУСТАВОВ У ПАЦИЕНТОВ ДОО
TABLE 3. ULTRASOUND EXAMINATION OF KNEES IN OA PATIENTS

№	Гиалиновый хрящ Hyaline cartilage		Синовиальная оболочка, мм Synovium, mm	Остеофиты, мм Osteophytes, mm
	Толщина, мм Thickness, mm	Плотность Density		
1	1,2/1,4 1.2/1.4	Плотный/плотный* Dense/dense	3,2/1,9 3.2/1.9	До 1/нет Up to 1/no
2	1,0/1,0 1.0/1.0	Плотный/плотный Dense/dense	1,5/1,7 1.5/1.7	До 2,6/до 3 Up to 2.6/up to 3
3	1,2/1,2 1.2/1.2	Плотный/плотный Dense/dense	1,5/1,3 1.5/1.3	До 5,5/до 4,5 Up to 5.5/up to 4.5
4	1,0/1,0 1.0/1.0	Плотный/плотный Dense/dense	1,6/2,0 1.6/2.0	До 4/до 2,7 Up to 4/up to 2.7
5	1,0/1,0 1.0/1.0	Не изменен/не изменен Not changed/ Not changed	1,9/2,0 1.9/2.0	До 6/до 2,7 Up to 6/up to 2.7
6	1,0/1,0 1.0/1.0	Плотный/плотный Dense/dense	1,9/2,2 1.9/2.2	До 5,5/до 6 Up to 5.5/up to 6

Примечание. * – правый/левый сустав.

Note. *, right/left joint.

им характеристикам соответствовала общепринятым критериям: высокая жизнеспособность наряду с высоким содержанием предшественников МСК и вариабельной экспрессией CD34 (данные не представлены).

Следует отметить, что именно в лечении пациентов с дегенеративными заболеваниями суставов терапевтическая «ценность» клеток жировой ткани выше по сравнению, например, с костным мозгом, поскольку МСК жировой ткани отличаются от костномозговых МСК более высоким хондрогенным потенциалом [24]. При этом безопасность и хорошая переносимость продемонстрированы для разных путей введения, включая системный [26, 28] и локальный (внутрисуставной) [7, 12]. Тем не менее у пациентов с ДОО внутрисуставное введение является предпочтительным – не только в силу «адресной» доставки клеток, но и вследствие способности синовиальной жидкости пациентов при контакте с МСК усиливать хондрогенный потенциал последних [24].

Особенностью нашего исследования можно считать рекрутирование пациентов с длительно текущим ДОО, преимущественно III рентгенологической стадии; при этом мы не исключали из исследования пациентов с высоким индексом массы тела (> 30), как это делается рядом авторов. Ближким нам по исполнению является сообщение Correa и соавт., представляющее описание

клинического случая, в котором характер изменений и их динамика схожи с полученными нами результатами [7]. В клиническом исследовании Jo и соавт. сообщается об отсутствии побочных реакций и значительном улучшении по шкале WOMAC через 6 мес. после введения 1×10^8 клеток у 18 пациентов с ДОО [16]. Pak и соавт. продемонстрировали значительное клиническое улучшение у нескольких пациентов через 2 года после введения клеток по сравнению с данными на 12 мес. [25].

С целью усиления эффектов СВФ некоторые авторы дополняют клетки СВФ различными факторами. Например, Vui и соавт для лечения 21 пациента с ДОО II-III использовали клетки СВФ в комбинации с аутологичной плазмой, обогащенной тромбоцитами (platelet-rich plasma, PRP) [6]. Авторы сообщили о двух основных позитивных эффектах – снижении боли через 3-6 мес. и стимуляции роста хряща. При этом оба эти эффекта приписываются PRP, поскольку, во-первых, PRP подавляет NF-κB каскад, активированный в хондроцитах пациентов с ДОО [33] и, во-вторых, PRP подавляет продукцию VEGF стромальными/стволовыми клетками жировой ткани, который является ингибитором роста хрящевой ткани [20], тем самым облегчается прохондрогенное действие стволовых клеток жировой ткани. Важно отметить, что в нашем исследовании купирование болевого синдрома достигалось

трансплантацией клеток СВФ без использования PRP, и статистически значимые изменения при этом регистрировались уже через 1 мес. после введения клеток.

В литературе имеются также данные многоцентрового нерандомизированного клинического исследования, в которое были рекрутированы 1128 пациентов с ОА крупных суставов [21]. Согласно представленным данным, лечение ОА с использованием аутологичной СВФ жировой ткани приводило к значительному клиническому улучшению у подавляющего числа больных. Более того, при длительном — до 4,5 лет — наблюдении за пациентами ни в одном из случаев не были зарегистрированы такие тяжелые нежелательные последствия или побочные эффекты, связанные с лечением, как инфекционные осложнения, онкологические или аутоиммунные заболевания.

Интересно, что терапевтический эффект клеток СВФ не ограничивается позитивными изменениями в целевом органе, но является более широким. Так, в исследовании Bright было обнаружено, что внутривенное введение СВФ пациентам с ДОО сопровождалось неожиданным снижением частоты и интенсивности мигренозных приступов [5]. Авторы предполагают, что этот

эффект связан с противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью МСК и М2-макрофагов.

Результаты проведенного нами пилотного исследования свидетельствуют о безопасности и хорошей переносимости внутрисуставного введения аутологичных клеток СВФ жировой ткани у пациентов с ДОО коленных суставов. Данный подход можно рассматривать как один из методов, предупреждающих дальнейшую прогрессию заболевания, а в случае тяжелых повреждений подобная терапия может помочь уменьшить боль и другие проявления артрита и облегчить тем самым пациенту период до имплантации искусственного сустава. Однако для проверки этих предположений необходимы дальнейшие исследования, предусматривающие проведение контролируемых, рандомизированных клинических испытаний с продолжительным проспективным наблюдением. Кроме того, с целью доказательства прямого противовоспалительного эффекта клеток СВФ в дальнейшем предполагается изучить биомаркеры воспалительного процесса как на локальном (в синовиальной жидкости), так и на системном уровне (в сыворотке крови пациентов с ДОО).

Список литературы / References

1. Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Матвейчук И.В. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии. М., 2005. С. 302-324. [Denisov-Nikolsky Yu.I., Mironov S.P., Omelyanenko N.P., Matveichuk I.V. Actual problems of theoretical and clinical osteoarthrology]. Moscow, 2005, pp. 302-324.
2. Aust L., Devlin B., Foster S., Gimble J.M. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*, 2004, Vol. 6, no. 1, pp. 7-14.
3. Black L.L., Gaynor J., Gahring D., Adams C., Aron D., Harman S., Gingerich D.A., Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Vet. Ther.*, 2007, Vol. 8, pp. 272-284.
4. Bourin P., Bunnell B.A., Casteilla L., Dominici M., Katz A.J., March K.L., Redl H., Rubin J.P., Yoshimura K., Gimble J.M. 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, Vol. 15, no. 6, pp. 641-648.
5. Bright R., Bright M., Bright P., Hayne S., Thomas W.D. Migraine and tension-type headache treated with stromal vascular fraction: a case series. *Journal of Medical Case Reports*, 2014, Vol. 8, p. 237.
6. Bui K.H., Duong T.D., Nguyen T.N., Nguyen T.D., Le V.T., Mai V.T., Phan N.L., Le D.M., Ngoc N.K., Phan P.V. Symptomatic knee osteoarthritis treatment using autologous adipose derived stem cells and platelet-rich plasma: a clinical study. *Biomed. Res. Ther.*, 2014, Vol. 1, pp. 2-8.
7. Correa D., Gomez A., Vargas C., Turner E., Carstens M.H. Adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) for the treatment of osteoarthritis of the knee, functional outcome and anatomic recovery of the cartilage: a case report. *CellR4*, 2016, Vol. 4, no. 1, e1768.
8. D'souza N., Rossignoli F., Golinelli G., Grisendi G., Spano C., Candini O., Dominici M. Mesenchymal stem/stromal cells as a delivery platform in cell and gene therapies. *BMC Medicine*, 2015, Vol. 13, no. 1, p. 186.
9. El-Badawy A., Amer M., Abdelbaset R., Sherif S.N., Abo-Elela M., Ghallab Y.H., Abdelhamid H., Ismail Y., El-Badri N. Adipose stem cells display higher regenerative capacities and more adaptable electro-kinetic properties compared to bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, p. 37801.

10. Ennis W.J., Sui A., Bartholomew A. Stem cells and healing: impact on inflammation. *Advances in Wound Care*, 2013, Vol. 2, no. 7, pp. 369-378.
11. Filardo G., Perdida F., Roffi A., Marcacci M., Kon E. Stem cells in articular cartilage regeneration. *J. Orthop. Surg. Res.*, 2016, Vol. 11, p. 42.
12. Fodor P.B., Paulseth S.G. Adipose derived stromal cell (ADSC) injections for pain management of osteoarthritis in the human knee joint. *Aesthetic Surgery Journal*, 2015, Vol. 36, no. 2, pp. 229-236.
13. Gimble J.M., Guilak F., Bunnell B.A. Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Res. Ther.*, 2010, Vol. 1, no. 2, p. 19.
14. Han J., Koh Y.J., Moon H.R., Ryoo H.G., Cho C.H., Kim I., Koh G.Y. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 2010, Vol. 115, no. 5, pp. 957-964.
15. Hematti P., Keating A. Mesenchymal stromal cells in regenerative medicine: A Perspective. Ed. Hematti P., Keating A. New York: Humana Press, 2013, pp. 3-16.
16. Jo C.H., Lee Y.G., Shin W.H., Kim H., Chai J.W., Jeong E.C., Kim J.E., Shim H., Shin J.S., Shin I.S., Ra J.C., Oh S., Yoon K.S. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: A proof-of-concept clinical trial. *Stem Cells*, 2014, Vol. 32, no. 5, pp. 1254-1266.
17. Kapoor M., Martel-Pelletier J., Lajeunesse D., Pelletier J.-P., Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2011, Vol. 7, no. 1, pp. 33-42.
18. Koga H., Shimaya M., Muneta T., Nimura A., Morito T., Hayashi M., Suzuki S., Ju Y.J., Mochizuki T., Sekiya I. Local adherent technique for transplanting mesenchymal stem cells as a potential treatment of cartilage defect. *Arthritis Res. Ther.*, 2008, Vol. 10, no. 4, R84.
19. Koh Y.G., Choi Y.J., Kwon S.K., Kim Y.S., Yeo J.E. Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 2015, Vol. 23, no. 5, pp. 1308-1316.
20. Lee C.S., Burnsed O.A., Raghuram V., Kalisvaart J., Boyan B.D., Schwartz Z. Adipose stem cells can secrete angiogenic factors that inhibit hyaline cartilage regeneration. *Stem Cell Res. Ther.*, 2012, Vol. 3, no. 4, p. 35.
21. Michalek J., Moster R., Lukac L., Proefrock K., Petrasovic M., Rybar J., Capkova M., Chaloupka A., Darinskas A., Michalek J. Sr., Kristek J., Travnik J., Jabandzic P., Cibulka M., Holec M., Jurik M., Skopalik J., Kristkova Z., Dudasova Z. Autologous adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells application in patients with osteoarthritis. *Cell Transplant.*, 2015.
22. Mizuno H., Tobita M., Uysal A.C. Concise review: Adipose-derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells*, 2012, Vol. 30, no. 5, pp. 804-810.
23. Murphy J.M., Fink D.J., Hunziker E.B., Barry F.P. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2003, Vol. 48, no. 12, pp. 3464-3474.
24. Pagani S., Borsari V., Veronesi F., Ferrari A., Cepollaro S., Torricelli P., Filardo G., Fini M. Increased chondrogenic potential of mesenchymal cells from adipose tissue versus bone marrow-derived cells in osteoarthritic *in vitro* models. *J. Cell. Physiol.*, 2016.
25. Pak J. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. *J. Med. Case Rep.*, 2011, Vol. 5, p. 296.
26. Ra J.C., Shin I.S., Kim S.H., Kang S.K., Kang B.C., Lee H.Y., Kim Y.J., Jo J.Y., Yoon E.J., Choi H.J., Kwon E. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells Dev.*, 2011, Vol. 20, no. 8, pp. 1297-1308.
27. Riordan N.H., Ichim T.E., Min W.P., Wang H., Solano F., Lara F., Alfaro M., Rodriguez J.P., Harman R.J., Patel A.N., Murphy M.P., Lee R.R., Minev B. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *J. Transl. Med.*, 2009, Vol. 7, p. 29.
28. Rodriguez J.P., Murphy M.P., Hong S., Madrigal M., March K.L., Minev B., Harman R.J., Chen C.S., Timmons R.B., Marleau A.M., Riordan N.H. Autologous stromal vascular fraction therapy for rheumatoid arthritis: rationale and clinical safety. *Int. Arch. Med.*, 2012, Vol. 5, p. 5.
29. Sato M., Uchida K., Nakajima H., Miyazaki T., Guerrero A.R., Watanabe S., Roberts S., Baba H. Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2012, Vol. 14, no. 1:R31.
30. Sellam J., Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2010, Vol. 6, no. 11, pp. 625-635.
31. Strioga M., Viswanathan S., Darinskas A., Slaby O., Michalek J. Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells Dev.*, 2012, Vol. 21, no. 14, pp. 2724-2752.
32. Ude C.C., Sulaiman S.B., Min-Hwei N., Hui-Cheng C., Ahmad J., Yahaya N.M., Saim A.B., Idrus R.B.H. Cartilage regeneration by chondrogenic induced adult stem cells in osteoarthritic sheep model. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 6, e98770. doi: 10.1371/journal.pone.0098770.

33. van Buul G.M., Koevoet W.L., Kops N., Bos P.K., Verhaar J.A., Weinans H., Bernsen M.R., van Osch G.J. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *The American Journal of Sports Medicine*, 2011, Vol. 39, no. 11, pp. 2362-2370.

34. Zingler C., Carl H.-D., Swoboda B., Krinner S., Hennig F., Gelse K. Limited evidence of chondrocyte outgrowth from adult human articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2016, Vol. 24, no. 1, pp. 124-128.

Авторы:

Шевела Е.Я. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Ница Н.А. — врач-терапевт клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Старостина Н.М. — заслуженный врач РФ, к.м.н., заведующая отделением иммунологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Баранов С.И. — врач ультразвуковой диагностики клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Кожевников Ю.А. — к.м.н., заведующий отделением хирургии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Попова Н.Д. — клинический ординатор 2-го года обучения ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Баторов Е.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Останин А.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Shevela E. Ya., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Nitsa N.A., Physician (Therapy), Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Starostina N.M., Honored Doctor of Russian Federation, PhD (Medicine), Head, Immunology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Baranov S.I., Doctor of Ultrasonic Diagnostics, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Kozhevnikov Yu.A., PhD (Medicine), Head, Surgical Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Popova N.D., Clinical Intern (2nd year of study), Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Batorov E.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ostanin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 10.02.2017
Принята к печати 22.02.2017

Received 10.02.2017
Accepted 22.02.2017