

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Купша Е.И. Место работы Медицинская Академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ
ВО КФУ им. В. И. Вернадского;

Кочина Е.В. Место учебы Медицинская Академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ
ВО КФУ им. В. И. Вернадского;

Гордейко Т.А. Место учебы Медицинская Академия имени С. И. Георгиевского
ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского.

Стволовые клетки — недифференцированные клетки, имеющиеся в человеческом организме. Стволовые клетки обладают способностью к самообновлению, пролиферируя, образуют одну стволовую, и одну специализированную клетки организма. Стволовые клетки обладают огромным регенеративным потенциалом. Известный источник получения их у взрослого человека - это красный костный мозг. Однако получение постнатальных стволовых клеток из красного костного мозга сопряжено с определенными трудностями. Потому актуален поиск альтернативных источников. Исследования показывают, что из жировой ткани возможно получить гораздо большее количество стволовых клеток. Кроме того, стволовые клетки жировой ткани могут дифференцироваться *in vitro* в адипогенном, остеогенном, хондрогенном, эндотелиальном, миогенном, эпителиальном, нейрогенном направлениях, что говорит о большом потенциале их в регенеративной медицине, и о потенциальных возможностях для создания новых методов лечения и профилактики заболеваний. Одним из перспективных направлений представляется трансплантация стволовых клеток жировой ткани после мастэктомии.

Ключевые слова: стволовые клетки, жировая ткань, стромально - васкулярная фракция, ADSC

ACTUAL ASPECTS OF THE APPLICATION OF STEM CELLS OF ADIPOSE TISSUE IN REGENERATIVE MEDICINE

Kupsha E.I. Place of work: Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky
Crimean Federal University;

Kochina E.V. Place of study: Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I.
Vernadsky Crimean Federal University;

Gordeiko T.A. Place of study: Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

Stem cells are undifferentiated cells in the human body. Stem cells have the ability to self-renewal, proliferating, they form one stem, and one specialized body cells. Stem cells have a huge regenerative potential. A well-known source of getting stem cells from an adult is red bone marrow. However, obtaining postnatal stem cells from the red bone marrow face difficulties. Therefore, the search for alternative sources is relevant. Researches show that it is possible to obtain much more stem cells from adipose tissue. In addition, stem cells of adipose tissue can differentiate in vitro in adipogenic, osteogenic, chondrogenic, endothelial, myogenic, epithelial, neurogenic directions, that shows their great potential in regenerative medicine, and the potential for creating new methods of treatment and prevention of diseases. One of the prospective directions is the transplantation of stem cells of adipose tissue after mastectomy.

Key words: stem cells, adipose tissue, stromal-vascular fraction (SVF), ADSC.

В последние годы популяция стволовых клеток жировой ткани рассматриваются в качестве альтернативы стволовых клеток красного костного мозга. Известно, что жировая ткань превосходит костный мозг по количеству стволовых клеток (СК), по их жизнеспособности и по технически более простому способу получения. Кроме того, СК жировой ткани имеют огромный регенеративный потенциал.

Так, в красном костном мозге взрослого человека на 50 000 – 1 000 000 клеток приходится всего 1 мезенхимальная стволовая клетка, а в жировой ткани содержание СК составляет 1 на 30–1000 клеток [9].

Из 1 мл жира сразу после забора выделяется около 1 млн СК, через 2 часа — 500 тыс., и спустя 18 часов хранения жира при 4 °С выделяется около 250 тыс.. Однако, несмотря на разные сроки выделения клеток, их жизнеспособность будет составлять 90–98 %. СК жировой ткани получают без негативного влияния на их количество, функциональную активность и жизнеспособность. У каждого человека есть большой запас СК для лечения, так как в норме жировая ткань составляет до одной четверти массы тела у женщин, и до одной пятой у мужчин.

СК жировой ткани в литературе принято называть ADSC (Adipose Derived Stem Cells). Они входят в состав стромально-вазкулярной фракции (SVF) жировой ткани, включающей в себя смесь из различных клеток, в том числе следующих мезенхиальных стволовых клеток:

— преадипоциты <10% (дифференцирование адипоцитов);

- эндотелиальные клетки <10% (ангиогенез);
- жировые стволовые клетки <10% (дифференцирование в различные виды клеток);
- фибробласты <5% (формирование внеклеточного матрикса);
- перициты <5% (стабилизация кровеносных сосудов);
- моноциты, макрофаги <40%;
- другие клетки – 20%. [9].

Клетки SVF, располагающиеся вдоль капилляров, являются мультипотентными мезенхимальными (стромальными) стволовыми клетками.

ADSC обладают высокой пластичностью, способны дифференцироваться в хондробласты, остеобласты, фибробласты, адипоциты, миоциты, кардиомиоциты, нейроны, гепатоциты, эндотелиальные клетки и др (рисунок 1). Кроме того, ADSC способны к пролиферации вне зависимости от возраста пациента [3].

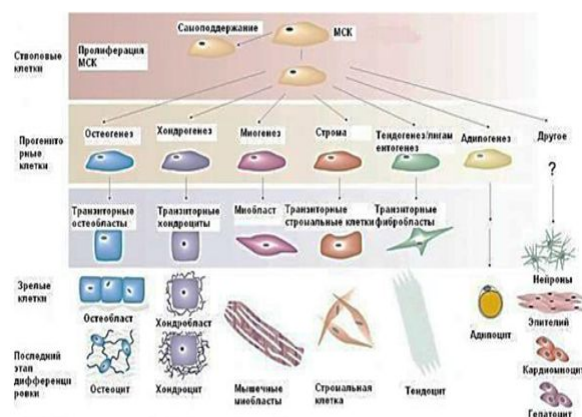


Рис. 1. Пролиферация СК жировой ткани.

Сейчас проводится много исследований терапевтического потенциала ADSC. Они касаются применения ADSC для регенерации мягких и скелетных тканей, ишемических повреждений, инфаркта миокарда, при дегенерации межпозвоночных дисков, легочных болезнях и иммунных патологий, включающих волчанку, артрит, болезнь Крона, рассеянный склероз, сахарный диабет и реакцию отторжения трансплантата.

Показательным является регенеративный эффект трансплантированных ADSC для лечения поврежденных костей при различных дефектах. В одном из исследований на животных аутологичные ADSC были введены в головку бедренной кости. Через два месяца после операции было отмечено ускорение остеогенеза и микроструктуры, замещение костного дефекта [1].

Установлено, что *in vitro* ADSC могут дифференцироваться непосредственно в эпителиальные клетки или в фибробласты и могут секретировать факторы роста, которые вызывают пролиферацию и миграцию кератиноцитов, фибробластов и эндотелиальных клеток. Применение ADSC для ослабления образования гипертрофированных рубцов,

которые возникают из-за аномального отложения внеклеточного матрикса (коллагена) или воспаления, было исследовано на модели гипертрофического рубца уха кроликом путем локально введённой инъекции. Это способствовало заживлению раны без образования гипертрофированного рубца [10].

Активно изучается клеточная терапия в лечении сердечно-сосудистой системы и регенерации тканей миокарда. При исследованиях на животных было выявлено, что трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (MSCs) при лечении инфаркта миокарда (ИМ) улучшает функцию левого желудочка [8]. Изучался терапевтический потенциал ADSC при хронической сердечной недостаточности или острого инфаркта миокарда, с помощью внутрикоронарной инъекции ADSC. Через 4 недели после трансплантации клеток ADSC были отмечены улучшения сердечной функции и перфузии [6]. Кроме того, ADSC были рассмотрены как источник интерстициальных клеток для заполнения конструкций сердечного клапана. Было показано, что ADSC могут воспроизводить основные тканевые структуры, которые необходимы для надлежащей функциональности клапана, секретируя коллаген и эластин [5].

Популяции клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани (SVF) стимулируют образование новых кровеносных сосудов ангиогенными механизмами, обеспечивающих образование новых сосудов из уже существующих. Это происходит за счет продуцируемых ADSC факторов роста. Также они обладают васкулогенным потенциалом, то есть становится возможным формирование кровеносных сосудов *de novo* в постнатальном периоде. Предварительные клинические исследования с помощью клеточных маркеров дают альтернативное объяснение увеличения плотности сосудов, обработанных SVF. Установлено, что новые сосуды происходят из популяции инъецированных клеток SVF и что клетки проявляют способность самостоятельно собираться в новые сосуды: артериолы, венулы и капилляры [4]. Предполагается, что клетки SVF обеспечивают оптимальное микроокружение для реформирования многоклеточных сосудистых компонентов, включая эндотелиальные клетки, клетки гладкой мускулатуры, перициты, жировые клетки, и дополнительные иммунные и стромальные клетки.

Одним из послеоперационных осложнений является некроз участка кожи из-за недостаточного кровоснабжения. В эксперименте на различные некротические участки кожи были нанесены солевой раствор, гель стромально-васкулярной фракции (SVF-гель) и клетки стромально-васкулярной фракции. На 14 день исследования участки кожи, обработанные SVF-гелем показали наибольший регенеративный потенциал. Некроз значительно уменьшился за счет ангиогенеза. Гель стромально-васкулярной фракции получают из жирового аспирата, путем центрифугирования и экскузии, осаждая адипоциты. С помощью этого метода получают высокую концентрацию SVF, в том числе и СК жировой ткани, без

использования ферментов. Главная особенность SVF-геля - это способность локализоваться в месте инъекции, тогда как без его применения большинство клеток SVF мигрируют через 1 час после введения инъекции в мягкие ткани [7].

Изначально изучение стволовых клеток жировой ткани началось и применялось для омоложения кожи лица, рук, морщин, коррекции объема и неровностей на бедрах, ягодицах, животе и других частях тела. Так же увеличения губ, усиления роста жидких волос и реконструкции груди после мастэктомии. Эта область применения ADSC хорошо изучена, и активно применяется в регенеративной медицине.

ADSC могут быть выделены в течение часа из аспирата жировой ткани пациента. Далее клеточная суспензия, без этапа культивирования, вновь смешивается с оставшимся жировым аспиратом и вводится пациенту. Большинство методов эстетической медицины основанных на применении стволовых клеток занимают от нескольких дней до недель. Необходимое количество ADSC описанным выше методом можно получить за одну хирургическую процедуру. Это позволяет проводить оперативное вмешательство достаточно быстро, и получать аутогенные СК прямо в операционной [9].

Применение ADSC для восстановления молочной железы требует особого внимания. Считается, что ADSC усиливают рост опухолевых клеток и метастазирование. Было установлено, что необлученные или с более низкими дозами облучения ADSC, улучшали рост опухолевых клеток, тогда как использование более высоких доз облучения приводило к существенному ингибированию роста опухолевых клеток (Таблица 1). Вне зависимости от дозы облучения, ADSC уменьшают выживаемость не облученных ранее опухолевых клеток. Также ADSC без предварительного облучения обеспечивают радиозащитный эффект для опухолевых клеток молочной железы, тогда как предварительно облученные не дают этого радиозащитного эффекта [2].

Доза облучения	Эффект
ADSC с более низкими дозами облучения или необлученные	Активирование роста опухолевых клеток
ADSC с высокими дозами облучения	Ингибирование роста опухолевых клеток

Табл. 1. Взаимодействие ADSC и опухолевых клеток молочной железы

При невозможности контроля окончательной дифференцировки ADSC не в опухолевые клетки необходимо рекомендовать их предварительно облучение. Трансплантированные пациенту перед радиотерапией ADSC оказывают радиозащитный эффект. Также ADSC, в

зависимости от полученной дозы облучения, оказывают противоположный эффект на опухолевые клетки. Низко облученные или необлученные ADSC стимулируют рост опухолевых клеток. ADSC, получившие высокие дозы облучения перед трансплантацией ингибировали рост опухолевых клеток.

Выше сказанное подчеркивает важность дальнейших исследований влияния ADSC на рост опухоли и метастазирования при лучевой терапии.

Библиографическая ссылка

1. Abudusaimi A. Adipose-derived stem cells enhance bone regeneration in vascular necrosis of the femoral head in the rabbit / A. Abudusaimi, Y. Aihemaitijiang and all. // *Journal of International Medical Research*. – 2011. – Vol. 39. P. 1852–1860.
2. Baaße A. Promoting effects of adipose-derived stem cells on breast cancer cells are reversed by radiation therapy / A. Baaße, D. Juerß and all. // *Cytotechnology*. – 2017. P. 1-11. doi.org/10.1007/s10616-017-0172-6
3. Beane O.S. Impact of Aging on the Regenerative Properties of Bone Marrow-, Muscle-, and Adipose-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells / O.S. Beane, V.C. Fonseca and all. // *PLoS ONE*.- 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0115963
4. Chang C.C. Determinants of microvascular network topologies in implanted neovasculatures / C.C. Chang, L. Krishnan and all. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2012. – Vol. 32(1). P. 5–14. doi:10.1161/ATVBAHA.111.238725
5. Frese L. Adipose Derived Tissue Engineered Heart Valve / L. Frese, B. Sanders and all. // *Journal of Tissue Science*. – 2015. – Vol. 6(3). doi:10.4172/2157-7552.1000156
6. Nagata H. Cardiac Adipose-Derived Stem Cells Exhibit High Differentiation Potential to Cardiovascular Cells in C57BL/6 Mice / H. Nagata, M. Ii and all. // *Stem Cells Transl Med*. – 2016. – Vol. 5(2). P. 141-151.
7. Park I.S. Enhanced angiogenic effect of adipose-derived stromal cell spheroid with low-level light therapy in hind limb ischemia mice / I.S. Park, P.S. Chung and all. // *Biomaterials*. – 2014. – Vol. 35(34). P. 9280–9289.
8. Shafy A. Development of cardiac support bioprostheses for ventricular restoration and myocardial regeneration / A. Shafy, T. Fink and all. // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2013. – Vol. 43 (6). P. 1211–1219. doi.org/10.1093/ejcts/ezs480
9. Startseva O. I. Mesenchymal stem cells of adipose tissue: a modern view, the relevance and prospects of application in plastic surgery / O. I. Startseva, D.V. Melnikov and all. // *Research'n Practical Medicine*. – 2016. – Vol. 3(3). – P. 68-75. doi: 10.17709/2409-2231-2016-3-3-7
10. Zhang Q. Intralesional injection of adipose-derived stem cells reduces hypertrophic scarring in a

rabbit ear model / Q. Zhang, L.N. Liu and all. // Stem Cell Research & Therapy.- 2015.- Vol. 6(1).
doi: 10.1186/s13287-015-0133-y