CC BY 4.0

https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-1-92-99

Стромально-васкулярная фракция: биология и потенциальное применение

В.Н. Павлов, А.А. Казихинуров, Р.А. Казихинуров, М.А. Агавердиев, И.Ф. Гареев, О.А. Бейлерли, Б.З. Мазоров*

Башкирский государственный медицинский университет, Россия, Республика Башкортостан, Уфа
*** Контакты:** Гареев Ильгиз Фанилевич, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Павлов Валентин Николаевич — *д.м.н., профессор, член-корр. РАН, кафедра урологии с курсом ИДПО, orcid.org/0000-0003-2125-4897*

Казихинуров Альберт Альфритович — *д.м.н., профессор, кафедра урологии с курсом ИДПО*

Казихинуров Рустем Альфритович — *к.м.н., доцент, кафедра урологии с курсом ИДПО*

Агавердиев Мурад Арифович — *кафедра урологии с курсом ИДПО*

Гареев Ильгиз Фанилевич — *к.м.н., Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), orcid.org/0000-0002-4965-0835*

Бейлерли Озал Арзуман оглы — *Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), orcid.org/0000-0002-6149-5460*

Мазоров Баходур Зурибекович — *кафедра урологии с курсом ИДПО*

Аннотация

Стромально-васкулярную фракцию (СВФ) можно определить как гетерогенную популяцию свежевыделенных клеток из жировой ткани после ферментативной диссоциации с последующим центрифугированием. Эта популяция клеток включает множество различных типов клеток, таких как стволовые клетки жировой ткани (СКЖТ), эндотелиальные и гладкомышечные клетки кровеносных сосудов и их предшественники, перициты, фибробласты, макрофаги, Т-лимфоциты и т. д., но не включает зрелые адипоциты. Основным компонентом СВФ являются СКЖТ, которые способны к самообновлению и мультипотентной дифференцировке. Со времен открытия и изучения СВФ были проведены многочисленные исследования возможностей ее клинического применения, показавшие значительные успехи в использовании СВФ при лечении различных заболеваний и травм. За последние 10 лет наблюдается тенденция к увеличению количества публикаций, в которых показаны фундаментальные и клинические исследования о терапевтическом использовании СВФ. За это время было разработано множество различных методов и устройств для выделения СВФ из липоаспирата человека, полученного посредством липосакции, и постоянно растет число отчетов о результатах доклинических и клинических исследований в пользу безопасности и эффективности СВФ. В данной обзорной статье мы обсудим основные свойства и функции клеточной популяции СВФ, а также эффективность и безопасность ее применения в терапии заболеваний человека.

Ключевые слова: **стромально-васкулярная фракция, клеточная терапия, стволовые клетки, жировая ткань, клеточный состав**

Для цитирования: **Павлов В.Н., Казихинуров А.А., Казихинуров Р.А., Агавердиев М.А., Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Мазоров Б.З. Стромально-васкулярная фракция: биология и потенциальное применение. Креативная хирургия и онкология. 2021;11(1):92–99. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-1-92-99**

Stromal Vascular Fraction: Biology and Application Outlook

Valentin N. Pavlov, Albert A. Kazikhinurov, Rustem A. Kazikhinurov, Murad A. Agaverdiev, Ilgiz F. Gareev, Ozal A. Beylerli, Bakhodur Z. Mazorov*

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation
*** Correspondence to:** Ilgiz F. Gareev, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Valentin N. Pavlov — *Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Corresponding Member, Department of Urology with a course of Advanced Professional Education, orcid.org/0000-0003-2125-4897*

Albert A. Kazikhinurov — *Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Urology with a course of Advanced Professional Education*

Rustem A. Kazikhinurov — *Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Urology with a course of Advanced Professional Education*

Murad A. Agaverdiev — *Department of Urology with a course of Advanced Professional Education*

Ilgiz F. Gareev — *Cand. Sci. (Med.), Central Research Laboratory, orcid.org/0000-0002-4965-0835*

Ozal A. Beylerli — *Central Research Laboratory, orcid.org/0000-0002-6149-5460*

Bakhodur Z. Mazorov — *Department of Urology with a Course of Advanced Professional Education*

Abstract

Stromal vascular fraction (SVF) is a heterogeneous cell extract obtained with enzymatic dissociation of adipose tissue followed by centrifugation. This population includes many different cell types, i.a. adipose tissue stem cells (ATSCs), vascular endothelial and smooth muscle cells and their precursors, pericytes, fibroblasts, macrophages, T-lymphocytes, etc., excluding mature adipocytes. The main SVF component is ATSCs capable of self-renewal and multipotent differentiation. Since early research on SVF, an extensive effort has been aimed at understanding its clinical applications promoting a significant progress in the SVF use for treatment of various diseases and injuries. The past decade has witnessed an upward publication trend in basic and clinical research into the SVF therapeutic value. Manifold methods and devices for the SVF isolation from human liposuction lipoaspirate have been developed, continuously contributing to preclinical and clinical trials of its safety and efficacy. This review discusses the main properties and functions of the SVF cell population, its efficacy and safety for human therapy.

Keywords: **stromal vascular fraction, cell therapy, stem cells, adipose tissue, cell composition**

For citation: **Pavlov V.N., Kazikhinurov A.A., Kazikhinurov R.A., Agaverdiev M.A., Gareev I.F., Beylerli O.A., Mazorov B.Z. Stromal Vascular Fraction: Biology and Application Outlook. Creative Surgery and Oncology. 2021;11(1):92–99. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-1-92-99**

Введение

Клеточная терапия определяется как трансплантация человеческих клеток для замены или восстановления поврежденных тканей и/или клеток, где стромально-васкулярная фракция (СВФ) занимает особое место [1]. СВФ представляет собой гетерогенную универсальную клеточную систему, и степень гетерогенности зависит от множества факторов, таких как место забора жировой ткани, методы выделения и собственный патологический статус пациента [1]. На сегодня не существует единого определения, позволяющего различать конкретные пропорции этих составляющих друг к другу. Ясно то, что СВФ представляет собой динамическую популяцию клеток с потенциально значимой полезностью в клинике. Известно, что СВФ содержит эндотелиальные клетки (ЭК), гладкомышечные клетки, муральные клетки, фибробласты, макрофаги, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) / другие фенотипы стволовых клеток и т. д. (рис. 1) [2].

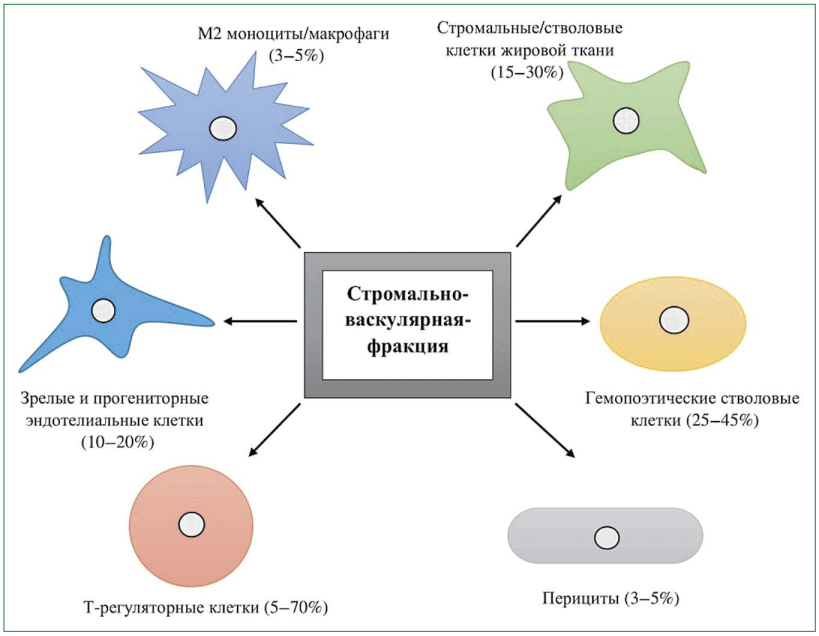

Рисунок 1. Основная клеточная популяция стромально-васкулярной фракции (СВФ)
Figure 1. Main cell composition of stromal vascular fraction (SVF)

Образец	*Заболевание или травма*	*Фаза*	*Безопасность и эффективность*
СКЖТ	Свищ прямой кишки (перианальный свищ)	II	Безопасное и эффективное лечение. Повышенная скорость заживления свищей в группе, получавшей клеточную терапию
СКЖТ	Свищ прямой кишки при болезни Крона	I	Безопасная процедура
СВФ	Радиодермит	I	Безопасное и эффективное лечение. Улучшение или ремиссия поражений
СВФ	Стрессовое недержание мочи у пациентов, перенесших радикальную простатэктомию	I	Безопасная процедура. Видимые улучшения по нескольким параметрам
СВФ	Идиопатический фиброз легких	I	Безопасная процедура
СВФ	Дефект и деформация мягких тканей лица	I	Безопасная процедура
СКЖТ	Повреждение спинного мозга	I	Безопасная процедура

Таблица 1. Список некоторых клинических испытаний, в которых используется стромальная сосудистая фракция (СВФ) или стволовые клетки, полученные из жировой ткани (СКЖТ)
Table 1. Selected clinical trials exploiting stromal vascular fraction (SVF) or adipose tissue stem cells (ATSC)

Среди этих клеток основное внимание было сосредоточено на характеристиках и функциях стромальных/стволовых клеток, полученных из жировой ткани, которые обычно называют стволовыми клетками, полученными из жировой ткани (СКЖТ) или МСК жировой ткани [3]. СВФ используется в течение многих лет в пластической хирургии для регенерации тканей методом аутологичной трансплантации, без какого-либо акцента на потенциальную аллогенную роль СВФ [4]. Кроме того, ангиогенные свойства, противовоспалительная и иммуномодулирующая активность СВФ также позволяет рассматривать их как потенциальную клеточную терапию при различных заболеваниях и травмах [5].

Клиническое использование методов лечения на основе аутологичных клеток с использованием жировой ткани в качестве источника клеток может осуществляться с использованием двух различных подходов: с использованием выращенных СКЖТ или свежевыделенной СВФ (табл. 1). На процесс принятия решений влияют различные факторы, но наиболее важными из них являются необходимые нормативные требования, наличие утвержденных правил GMP (надлежащая производственная практика), связанные с этим затраты, дозировка клеток и время обработки. Использование выращенных культур СКЖТ позволяет персоналу очищать и увеличивать количество клеток-предшественников с течением времени (несколько недель) в культуре, что создает последовательную и относительно однородную популяцию клеток. Эта процедура проводится в строго контролируемых условиях правил GMP, но является дорогостоящей и занимает несколько недель, чтобы подготовить рабочий образец для инъекций [6, 7]. Использование свежеизолированных образцов СВФ в месте оказания медицинской помощи в режиме реального времени во время одной и той же хирургической процедуры имеет важные преимущества: меньшая вероятность инфицирования (особенно при использовании закрытых устройств обработки), более быстрая обработка и клиническое применение, а также меньшие связанные с этим расходы [8].

Фармацевтическая промышленность активно участвует в клеточной терапии и поддерживает клиническое использование культивируемых клеток. И наоборот, биотехнологические компании, которые создают или производят медицинские устройства, продвигают использование свежевыделенных клеток, готовых к использованию у постели больного. У обеих стратегий есть свои плюсы и минусы, но удивительно мало научных или клинических исследований, сравнивающих

оба типа клеток для одного и того же заболевания или клинического показания. Существует неопределенность в отношении того, какая популяция клеток будет более эффективной при различных клинических состояниях: гетерогенная СВФ или культуры СКЖТ. Несколько исследований показали улучшенные результаты со свежеполученными образцами СВФ по сравнению с культурами СКЖТ. Например, Semon и др. сообщили, что внутрибрюшинная инъекция в количестве 1 миллиона клеток СВФ была более эффективной, чем СКЖТ, с ингибированием прогрессирования аутоиммунного энцефаломиелита *in vivo* [8]. В другом исследовании Jurgens и др. были показаны лучшие результаты свежевыделенных образцов СВФ по сравнению с культивируемыми СКЖТ в стимулировании регенерации хрящевой ткани и субхондральной кости *in vivo* [9]. Все эти исследования показали безопасность и осуществимость клеточной терапии на основе СВФ без каких-либо побочных эффектов. В последнем исследовании Wu и др. в 2016 году продемонстрировали, что СВФ лучше, чем СКЖТ; при использовании СВФ происходило более быстрое формирование нового хрящевого матрикса при совместной инкубации с первичными хондроцитами человека *in vitro* [10].

Описание различных методов, доступных для выделения СВФ

Методы выделения СВФ: ферментативный и механический метод выделения

Существует множество методов, доступных для выделения СВФ, но в целом они делятся на две основные категории: те, которые используют протеолитические ферменты для диссоциации липоаспирата (ферментативный метод), и те, которые не используют (механический метод). Механический метод включает такие подходы, как промывание, встряхивание, вибрация или центрифугирование, чтобы отделить популяции клеток СВФ от липоаспирата. Ферментативный метод сочетает промывание и встряхивание с использованием протеолитических ферментов, способствующих диссоциации тканей. У обоих методов есть свои преимущества и недостатки (табл. 2) [11, 12].

Ручные, полуавтоматические и автоматизированные системы выделения СВФ

Существует множество систем выделения, которые коммерчески доступны. Эти системы упрощают процесс, предоставляя все необходимые расходные материалы и реагенты в одноразовом комплекте. Они предлагают заметное преимущество в виде замкнутых систем, что снижает риск загрязнения во время выделения и может устранить необходимость в защитном кожухе биобезопасности [13]. Коммерчески доступные наборы (kit), как правило, менее изменчивы, чем традиционные методы, использующие лабораторное оборудование и стеклянную посуду (например, делительную воронку, химические стаканы) [14]. Этот подход лучше с нормативной точки зрения, поскольку производители могут уже иметь профили безопасности продукта и характеристики, доступные для использования потребителями.

Существуют 3 основных уровня коммерческих систем: ручная, полуавтоматическая и полностью автоматизированная [14, 15]. По мере увеличения уровня автоматизации возрастает и стоимость эксплуатации, при этом ручные методы обходятся дешевле, чем автоматизированные или полуавтоматические системы; тем не менее по мере увеличения автоматизации от технического специалиста требуется меньше навыков. Ручные методы требуют использования стандартного лабораторного оборудования (например, центрифуга, лабораторный шейкер с подогревом, кожух биозащиты) и хорошо обученный персонал для выполнения каждого шага процесса. Полуавтоматические системы требуют некоторого вмешательства персонала во время процесса выделения, но этот процесс упрощается за счет специального устройства, которое может автоматически выполнять несколько этапов процесса выделения. Полностью автоматизированные системы практически не требуют вмешательства пользователя и содержат все необходимое оборудование для проведения полного выделения СВФ в рамках единой закрытой системы. Обычно от персонала требуется только ввести в систему липоаспират и ферменты диссоциации тканей, и устройство будет проводить весь процесс выделения. Существуют системы выделения в различных ценовых диапазонах, чтобы удовлетворить потребности и финансовые возможности различных лабораторий и клиницистов; однако лаборатории и клиники должны знать, что результаты различных систем выделения могут значительно отличаться [16–18].

Контроль качества и анализ безопасности СВФ

Инфекционный контроль

При проведении терапии в клинических условиях с использованием СВФ инфекционный контроль является наиболее важной мерой контроля качества с точки

Ферментативный метод	*Механический метод*
Ферментативный метод позволяет получить значительно больше ядерных клеток из эквивалентной массы ткани, чем механический метод, и имеет тенденцию выделять более низкую частоту по содержанию клеток гематопоэтического происхождения и более высокую частоту содержания стромальных/стволовых клеток. Использование протеолитических ферментов, обычно коллагеназы и/или нейтральной протеазы, может потенциально внести дополнительный риск в процесс, поскольку любой из них может потенциально вызвать аллергическую реакцию или нежелательное разрушение ткани *in vivo*, если не удаляется или не нейтрализуется надлежащим образом во время выделения	Преимущество механического метода состоит в том, что он менее дорог и занимает немного времени по сравнению с ферментативным методом, потому что нет необходимости покупать дорогостоящие протеолитические ферменты, пригодные для надлежащей производственной практики (GMP), и нет необходимости включать стадию расщепления в процесс выделения. Механический метод обычно занимает от 20 до 40 минут, тогда как ферментативный метод обычно занимает от 60 до 90 минут. Механический метод может быть экономически эффективным в лабораторных условиях, где может не потребоваться большого количества клеток или ткани, но ферментативный метод, как правило, идеален для применения в клинических условиях из-за лучшего фенотипического состава выделенных клеток

Таблица 2. Преимущества и недостатки методов выделениястромально-васкулярной фракции (СВФ)
Table 2. Pros and contras of stromal vascular fraction (SVF) extraction methods

зрения обеспечения безопасности пациентов. Два основных теста, которые необходимо провести для оценки стерильности образца для введения человеку, — это окрашивание по Граму и культуры аэробных и анаэробных бактерий [19, 20]. Введение терапевтического продукта не должно продолжаться до тех пор, пока результаты окрашивания по Граму не будут отрицательными. Если получен положительный результат окрашивания по Граму, что означает наличие бактерий, процедура не должна продолжаться. В случае положительного результата аэробной или анаэробной культуры за субъектом следует внимательно следить на предмет признаков инфекции [21].

Тестирование на бактериальный эндотоксин

Тестирование на бактериальный эндотоксин также имеет жизненно важное значение с точки зрения оценки безопасности образцов СВФ [22]. Бактериальные эндотоксины — это липополисахариды, присутствующие в клеточной мембране грамотрицательных бактерий, которые потенциально могут вызывать лихорадку или инфекционное заболевание на достаточно высоких уровнях концентрации [23]. Максимально безопасное количество эндотоксинов, которое может присутствовать в образце, известно как предел обнаружения эндотоксинов [24]. Предел обнаружения эндотоксина определяется в зависимости от веса пациента, объема образца и метода введения. Общая глава фармакопеи США (USP) <85> содержит полные инструкции по определению предела обнаружения эндотоксина, разрешенного Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (EMEA) (USP <85>) [25]. Повышенный уровень эндотоксина может быть индикатором серьезного бактериального загрязнения образца во время процесса выделения. Кроме того, в СВФ будут присутствовать эндотоксины в результате использования протеолитических ферментов, поскольку ферменты обычно имеют бактериальное происхождение. В конечном лиофилизированном продукте остаются остаточные уровни эндотоксина в результате производственного процесса. Ведущим анализом, используемым для оценки уровня бактериального эндотоксина, является анализ, основанный на использования реактива, представляющего собой лизат клеток крови (амебоцитов) мечехвоста *Limulus polyphemus* (ЛАЛ-реактив) [26].

Подсчет ядерных клеток

Подсчет ядерных клеток и оценка их жизнеспособности имеют решающее значение для правильного приготовления дозы. Выделение СВФ варьируется первую очередь из-за вариабельности пациента. Для «рабочего образца» СВФ необходимо выделить минимальное количество жизнеспособных ядерных клеток, жизнеспособность которых выше определенного уровня (обычно ≥70 %) [27]. Если выделение СВФ не соответствует заранее определенным критериям выпуска партии образцов, то терапию не следует начинать или продолжать. Количество ядерных клеток и жизнеспособность клеток являются показателями эффективности процесса выделения и будут использоваться для обеспечения точного дозирования. Очень важно знать средний выход клеток (количество ядерных клеток на грамм ткани), поскольку разные методы и/или системы могут давать разные результаты [14, 15].

Проточная цитометрия

Проточная цитометрия позволяет идентифицировать количество различных типов клеток, присутствующих в конечном продукте. Для СВФ, поскольку это гетерогенная популяция клеток, это важно, поскольку существуют значительные различия между методами выделения СВФ. Целью проточной цитометрии является определение пропорций различных типов клеток, содержащихся в СВФ, и, что наиболее важно, содержания СКЖТ (обычно <2 %) [28]. Обычно маркерами для проверки клеточной популяции в СВФ являются кластеры дифференцировки (CD): CD31, CD34, CD45, CD90 и CD105, при этом популяция клеток-мишеней представляет собой клетки, которые имеют $CD45^-$, $CD31^-$, $CD73^+$, $CD90^+$ и $CD105^+$ [29].

Остаточные протеолитические ферменты

Если в методах по выделению СВФ используются протеолитические ферменты, такие как коллагеназа, есть вероятность риска наличия остаточных протеолитических ферментов в конечном продукте. Токсичность остаточных ферментов в отношении клеточной популяции СВФ до конца не изучена, но теоретически может привести к аллергической реакции или нежелательной деградации ткани *in vivo*, если ее не удалить надлежащим образом (см. тестирование на бактериальный эндотоксин) [30]. Уровень остаточного фермента можно измерить с помощью ряда различных анализов, но наиболее распространенным является анализ, основанный на использовании субстрата N-[3-(2-furyl) acryloyl]-Phe-Gly-Gly (FAPGG) [31]. Хотя это не обязательно проводить при каждом выделении образцов СВФ, важно продемонстрировать на достаточно большом размере выборки, что уровень протеолитических ферментов, присутствующих в конечном продукте, настолько низок, что они не являются клинически значимыми и не представляют значительного риска.

Анализ колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕф)

Анализ колониеобразующих единичных фибробластов (КОЕф) является эффективным и точным методом для количественного определения количества СКЖТ в образце СВФ [32]. Этот анализ позволяет оценить количество колоний, образовавшихся после культивирования, что является общим показателем частоты и свойств роста СКЖТ. Анализ КОЕф, проводимый в тандеме с панелью проточной цитометрии с 6 CD-маркерами, дает точную оценку состава образца СВФ, как только набор данных станет достаточно большим [32]. Один из ярких примеров эффективности анализа

КОЕф на СВФ был продемонстрирован в работе/протоколе Hicok и Hedrick [33].

Онкогенез

За последние десятилетия достигнут значительный прогресс в изучении биологии опухолей, изучении механизмов контроля метастазирования опухолей, апоптоза, инвазии, ангиогенеза и пролиферации опухолевых клеток. Эти данные были получены при изучении клеточного состава и микроокружения опухолей, различных внутриклеточных путей передачи сигналов, молекулярных процессов онкогенеза [34]. На сегодня проводится множество доклинических и клинических исследований по применению стволовых клеток (МСК и СКЖТ) для лечения некоторых заболеваний человека [35]. Однако до сих пор нет достаточных оснований для того, чтобы признать введение СВФ или СКЖТ абсолютно безопасным. В частности, существуют работы *in vitro* и *in vivo*, что некоторые типы клеток из популяции СВФ способны провоцировать развитие, рост и прогрессирование опухолей [36–38].

Тропизм, или миграция, стволовых клеток (например, МСК и СКЖТ) к ложу опухоли изучен недостаточно хорошо, однако может иметь два диаметрально противоположных значения. В исследовании, проведенном в 2017 году Shammas и др., была показана возможность использования СКЖТ в качестве переносчика цитотоксических агентов в опухоль *in vitro* (клеточная линия SKBR3 (аденокарциномы молочной железы)) [39]. При этом проникновение стволовых клеток в ложе опухоли рассматривается как серьезная опасность — источник риска рецидива [40]. Однако результаты данного исследования показывают, что доставка лекарств с применением СКЖТ в качестве переносчика обходится без изменения клеточного фенотипа. После фотоактивации гибель соседних раковых клеток под воздействием препарата демонстрирует потенциал СКЖТ как средства доставки в терапии опухоли.

Ряд исследований показали, что зрелые адипоциты способны стимулировать опухолевые клетки рака груди. Белая жировая ткань рассматривается как эндокринный орган, способный секретировать гормоны, факторы роста и цитокины, такие как инсулин, лептин, адипонектин, фактор роста гепатоцитов (HGF) и инсулиноподобный фактор роста (IGF1). Эти адипокины являются не только важными компонентами метаболизма, но они также могут способствовать прогрессированию ближайшей опухоли. Однако, как уже известно, среди популяций клеток СВФ нет зрелых адипоцитов, что указывает на безопасность применения СВФ в этом отношении [41, 42]. Lee и др. в своем исследовании изучили влияния СВФ и трансплантированного жира на рак груди *in vivo* [43]. Из результатов было видно, что изначальный объем опухоли, составлявший 43,6, 42,3, 48,7 и 42,4 мм^3 в исходный момент времени, стал 6780, 5940, 6080 и 5570 мм^3 через 8 недель в четырех исследовательских группах A, B, C и D соответственно (группа A — контроль; группа B — вводили 30 мкл СВФ; группа C — вводили 0,5 мл жира и 30 мкл физиологического раствора; группа D — вводили 0,5 мл жира и 30 мкл СВФ). Другими словами, по сравнению с исходными значениями сразу после введения трансплантата (СВФ и жировая ткань), группы A, B, C и D показали среднее процентное увеличение на 12 270, 12 610, 12 530 и 14 060 %. При контрольном обследовании через 8 недель после трансплантации не было обнаружено отдаленных метастазов ни в одной группе.

Известно, что СВФ при реконструктивных операциях после мастоэктомии является мощной добавкой, которая может увеличивать количество эпителиальных клеток-предшественников в тканях молочной железы [44]. Поскольку в предыдущих исследованиях упоминалось, что СКЖТ, обнаруженные в СВФ, являются потенциальным источником пролиферации, миграции и метастазирования клеток рака молочной железы, следует соблюдать осторожность при использовании СВФ в качестве добавки [45, 46]. В исследовании Lee и др. было показано увеличение объема рака груди примерно на 14,6 % через 2 месяца по сравнению с контрольной группой. Однако, основываясь на данных о влиянии СВФ на рост соседней опухоли и выживаемости жирового трансплантата, полученных в результате данного эксперимента, следует провести дополнительные исследования с моделями, использующими жировой трансплантат после иссечения ткани рака молочной железы. К тому же изучение изменений результатов должно основываться на количестве клеток СВФ в зависимости от различных концентраций СВФ в смешанных инъекциях. Другими словами, использование СВФ и СКЖТ имеет особое значение для реконструкции после мастэктомии у пациенток с раком груди. Следовательно, в ближайшем будущем необходимо провести дополнительные доклинические исследования по оценке взаимодействия клеток СВФ и СКЖТ с более широким спектром типов опухолей. Есть веские аргументы в пользу того, что клинические исследования должны тщательно регулироваться и контролироваться на предмет результатов до тех пор, пока не будет лучше изучено канцерогенное действие клеток, полученных из жировой ткани.

Заключение

СВФ представляет собой гетерогенную популяцию клеток, которые, взаимодействуя друг с другом, могут воздействовать на процессы регенерации, ангиогенеза и иммуномодуляции. Однако конкретные механизмы синергетического взаимодействия клеток СВФ все еще требуют дальнейшего изучения. И хотя СВФ продемонстрировала хороший терапевтический эффект во многих исследованиях, все еще необходимо дальнейшее изучение, чтобы определить, имеются ли побочные эффекты данной терапии. Любая процедура в клинических условиях, включающая выделение и/или использование СВФ, полученной из жировой ткани человека, должна сопровождаться максимальным контролем качества и безопасности. Также настоятельно рекомендуется проводить подсчет клеток и анализ жизнеспособности в каждом случае с использованием

СВФ или ее отдельных клеток. Оценка влияния клеток СВФ на лечение различных заболеваний и травм, включая выживаемость клеток, скорость пролиферации и трансформации, а также определение характеристик трансформированных клеток, все еще требует изучения и решения в будущих исследованиях. Мы ожидаем, что в недалеком будущем появятся результаты исследований с исчерпывающими ответами, подтверждающие эффективность, качество и безопасность СВФ и ее использования для терапии в условиях рутинной клинической практики.

Информация о конфликте интересов.
Конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве.
Данная работа не финансировалась.

Список литературы / References

1 Andia I., Maffulli N., Burgos-Alonso N.Stromal vascular fraction technologies and clinical applications. Expert Opin Biol Ther. 2019;19(12):1289–305. DOI: 10.1080/14712598.2019.1671970

2 Ramakrishnan V.M., Boyd N.L.The adipose stromal vascular fraction as a complex cellular source for tissue engineering applications. Tissue Eng Part B Rev. 2018;24(4):289–99. DOI: 10.1089/ten.TEB.2017.0061

3 Yao Y., Dong Z., Liao Y., Zhang P., Ma J., Gao J., et al. Adipose extracellular matrix/stromal vascular fraction gel: a novel adipose tissue-derived injectable for stem cell therapy. Plast Reconstr Surg. 2017;139(4):867–79. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003214

4 Rasmussen B.S., Sørensen C.L., Kurbegovic S., Ørholt M., Talman M.M., Herly M., et al. Cell-enriched fat grafting improves graft retention in a porcine model: a dose-response study of adipose-derived stem cells versus stromal vascular fraction. Plast Reconstr Surg. 2019;144(3):397e–408e. DOI: 10.1097/PRS.0000000000005920

5 Nürnberger S., Lindner C., Maier J., Strohmeier K., Wurzer C., Slezak P., et al. Adipose-tissue-derived therapeutic cells in their natural environment as an autologous cell therapy strategy: the microtissue-stromal vascular fraction. Eur Cell Mater. 2019;37:113–33. DOI: 10.22203/eCM.v037a08

6 Fritsche E., Volk H.D., Reinke P., Abou-El-Enein M. Toward an optimized process for clinical manufacturing of CAR-Tregcell therapy. Trends Biotechnol. 2020;38(10):1099–112. DOI: 10.1016/j.tibtech.2019.12.009

7 Aghayan H.R., Payab M., Mohamadi-Jahani F., Aghayan S.S., Larijani B., Arjmand B. GMP-compliant production of human placenta-derived mesenchymal stem cells. Methods Mol Biol. 2021;2286:213–25. DOI: 10.1007/7651_2020_282

8 Semon J.A., Zhang X., Pandey A.C., Alandete S.M., Maness C., Zhang S., et al. Administration of murine stromal vascular fraction ameliorates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. Stem Cells Transl Med. 2013;2(10):789–96. DOI: 10.5966/sctm.2013-0032

9 Jurgens W.J., Kroeze R.J., Zandieh-Doulabi B., van Dijk A., Renders G.A., Smit T.H., et al. One-step surgical procedure for the treatment of osteochondral defects with adipose-derived stem cells in a caprine knee defect: a pilot study. Biores Open Access. 2013;2(4):315–25. DOI: 10.1089/biores.2013.0024

10 Wu L., Prins H.J., Leijten J., Helder M.N., Evseenko D., Moroni L., et al. Chondrocytes cocultured with stromal vascular fraction of adipose tissue present more intense chondrogenic characteristics than with adipose stem cells. Tissue Eng Part A. 2016;22(3–4):336–48. DOI: 10.1089/ten.TEA.2015.0269

11 Brown J.C., Shang H., Li Y., Yang N., Patel N., Katz A.J. Isolation of adipose-derived stromal vascular fraction cells using a novel point-of-care device: cell characterization and review of the literature. Tissue Eng Part C Methods. 2017;23(3):125–35. DOI: 10.1089/ten.TEC.2016.0377

12 van Dongen J.A., Harmsen M.C., Stevens H.P. Isolation of stromal vascular fraction by fractionation of adipose tissue. Methods Mol Biol. 2019;1993:91–103. DOI: 10.1007/978-1-4939-9473-1_8

13 Gentile P., Calabrese C., De Angelis B., Pizzicannella J., Kothari A., Garcovich S. Impact of the different preparation methods to obtain human adipose-derived stromal vascular fraction cells (AD-SVFs) and human adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs): enzymatic digestion versus mechanical centrifugation. Int J Mol Sci. 2019;20(21):5471. DOI: 10.3390/ijms20215471

14 Lee S.J., Lee C.R., Kim K.J., Ryu Y.H., Kim E., Han Y.N., et al. Optimal condition of isolation from an adipose tissue-derived stromal vascular fraction for the development of automated systems. Tissue Eng Regen Med. 2020;17(2):203–8. DOI: 10.1007/s13770-019-00238-3

15 Aronowitz J.A., Lockhart R.A., Hakakian C.S. A method for isolation of stromal vascular fraction cells in a clinically relevant time frame.Methods Mol Biol. 2018;1773:11–9. DOI: 10.1007/978-1-4939-7799-4_2

16 Haack-Sørensen M., Follin B., Juhl M., Brorsen S.K., Søndergaard R.H., Kastrup J., et al. Culture expansion of adipose derived stromal cells. A closed automated Quantum Cell Expansion System compared with manual flask-based culture. J Transl Med. 2016;14(1):319. DOI: 10.1186/s12967-016-1080-9

17 Ghiasloo M., Lobato R.C., Díaz J.M., Singh K., Verpaele A., Tonnard P. Expanding clinical indications of mechanically isolated stromal vascular fraction: a systematic review. Aesthet Surg J. 2020;40(9):NP546–60. DOI: 10.1093/asj/sjaa111

18 Karina K., Rosliana I., Rosadi I., Schwartz R., Sobariah S., Afini I., et al. Safety of technique and procedure of stromal vascular fraction therapy: from liposuction to cell administration. Scientifica (Cairo). 2020;2020:2863624. DOI: 10.1155/2020/2863624

19 Basso S., Compagno F., Zelini P., Giorgiani G., Boghen S., Bergami E., et al. Harnessing T Cells to control infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Front Immunol. 2020;11:567531. DOI: 10.3389/fimmu.2020.567531

20 Wada A., Nishio N., Yokoi S., Tsuzuki H., Mukoyama N., Maruo T., et al. Safety and feasibility of fat injection therapy with adipose-derived stem cells in a rabbit hypoglossal nerve paralysis model: A pilot study. Auris Nasus Larynx. 2021;48(2):274–80. DOI: 10.1016/j.anl.2020.08.003

21 Yoshitani J., Kabata T., Arakawa H., Kato Y., Nojima T., Hayashi K., et al. Combinational therapy with antibiotics and antibiotic-loaded adipose-derived stem cells reduce abscess formation in implant-related infection in rats. Sci Rep. 2020;10(1):11182. DOI: 10.1038/s41598-020-68184-y

22 Schneier M., Razdan S., Miller A.M., Briceno M.E., Barua S. Current technologies to endotoxin detection and removal for biopharmaceutical purification.Biotechnol Bioeng. 2020;117(8):2588–609. DOI: 10.1002/bit.27362

23 Monteiro H.F., Faciola A.P. Ruminal acidosis, bacterial changes, and lipopolysaccharides. J Anim Sci. 2020;98(8):skaa248. DOI: 10.1093/jas/skaa248

24 Liebers V., Brüning T., Raulf M. Occupational endotoxin exposure and health effects. Arch Toxicol. 2020;94(11):3629–44. DOI: 10.1007/s00204-020-02905-0

25 Bacterial Endotoxins Test. Chapter 85, United States Pharmacopeia. [cited 2016 Nov 4]. Available from: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/2011-02-2585BACTERIALENDOTOXINS.pdf

26 Neun B.W., Dobrovolskaia M.A. Detection of endotoxin in nanoformulations using Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) assays. J Vis Exp. 2019;(143). DOI: 10.3791/58830

27 Chan L.L., McCulley K.J., Kessel S.L. Assessment of cell viability with single-, dual-, and multi-staining methods using image cytometry.Methods Mol Biol. 2017;1601:27–41. DOI: 10.1007/978-1-4939-6960-9_3

28 Mushahary D., Spittler A., Kasper C., Weber V., Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. Cytometry A. 2018;93(1):19–31. DOI: 10.1002/cyto.a.23242

29 Borrelli M.R., Patel R.A., Blackshear C., Vistnes S., Diaz Deleon N.M., Adem S., et al. CD34+CD146+ adipose-derived stromal cells enhance engraftment of transplanted fat.Stem Cells Transl Med. 2020;9(11):1389–400. DOI: 10.1002/sctm.19-0195

30 Oshita T., Tobita M., Tajima S., Mizuno H. Adipose-derived stem cells improve collagenase-induced tendinopathy in a rat model. Am J Sports Med. 2016;44(8):1983–9. DOI: 10.1177/0363546516640750

31 Giromini C., Fekete Á.A., Givens D.I., Baldi A., Lovegrove J.A. Short-communication: a comparison of the in vitro angiotensin-1-converting enzyme inhibitory capacity of dairy and plant protein supplements. Nutrients. 2017;9(12):1352. DOI: 10.3390/nu9121352

32 Hicok K.C., Hedrick M.H. Automated isolation and processing of adipose-derived stem and regenerative cells. Methods Mol Biol. 2011;702:87–105. DOI: 10.1007/978-1-61737-960-4_8

33 Cowper M., Frazier T., Wu X., Curley L., Ma M.H., Mohiuddin O.A., et al. Human platelet lysate as a functional substitute for fetal bovine se-

rum in the culture of human adipose derived stromal/stem cells.Cells. 2019;8(7):724. DOI: 10.3390/cells8070724

34 Khan M.A., Zubair H., Anand S., Srivastava S.K., Singh S., Singh A.P. Dysregulation of metabolic enzymes in tumor and stromal cells: Role in oncogenesis and therapeutic opportunities. Cancer Lett. 2020;473:176–85. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.01.003

35 Si Z., Wang X., Sun C., Kang Y., Xu J., Wang X., et al. Adipose-derived stem cells: sources, potency, and implications for regenerative therapies.Biomed Pharmacother. 2019;114:108765. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108765

36 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;1(2):19. DOI: 10.1186/scrt19

37 Zakaria N., Yahaya B.H. Adipose-derived mesenchymal stem cells promote growth and migration of lung adenocarcinoma cancer cells. Adv Exp Med Biol. 2020;1292:83–95. DOI: 10.1007/5584_2019_464

38 Chan Y.W., So C., Yau K.L., Chiu K.C., Wang X., Chan F.L., et al. Adipose-derived stem cells and cancer cells fuse to generate cancer stem cell-like cells with increased tumorigenicity. J Cell Physiol. 2020;235(10):6794–807. DOI: 10.1002/jcp.29574

39 Shammas R.L., Fales A.M., Crawford B.M., Wisdom A.J., Devi G.R., Brown D.A., et al. Human adipose-derived stem cells labeled with plasmonic gold nanostars for cellular tracking and photothermal cancer cell ablation. Plast Reconstr Surg. 2017;139(4):900e–10e. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003187

40 Wang X. Stem cells in tissues, organoids, and cancers. Cell Mol Life Sci. 2019;76(20):4043–70. DOI: 10.1007/s00018-019-03199-x

41 Wu Q., Li B., Li Z., Li J., Sun S., Sun S. Cancer-associated adipocytes: key players in breast cancer progression. J Hematol Oncol. 2019;12(1):95. DOI: 10.1186/s13045-019-0778-6

42 Rybinska I., Agresti R., Trapani A., Tagliabue E., Triulzi T. Adipocytes in breast cancer, the thick and the thin. Cells. 2020;9(3):560. DOI: 10.3390/cells9030560

43 Lee J.S., Eo P., Kim M.C., Kim J.B., Jin H.K., Bae J.S., et al. Effects of stromal vascular fraction on breast cancer growth and fat engraftment in NOD/SCID mice. Aesthetic Plast Surg. 2019;43(2):498–513. DOI: 10.1007/s00266-018-01304-2

44 Mazur S., Zołocińska A., Siennicka K., Janik-Kosacka K., Chrapusta A., Pojda Z. Safety of adipose-derived cell (stromal vascular fraction — SVF) augmentation for surgical breast reconstruction in cancer patients. Adv Clin Exp Med. 2018;27(8):1085–90. DOI: 10.17219/acem/70798

45 Zhao R., Kaakati R., Liu X., Xu L., Lee A.K., Bachelder R., et al. CRISPR/Cas9-mediated BRCA1 knockdown adipose stem cells promote breast cancer progression.Plast Reconstr Surg. 2019;143(3):747–56. DOI: 10.1097/PRS.0000000000005316

46 Goto H., Shimono Y., Funakoshi Y., Imamura Y., Toyoda M., Kiyota N., et al. Adipose-derived stem cells enhance human breast cancer growth and cancer stem cell-like properties through adipsin.Oncogene. 2019;38(6):767–79. DOI: 10.1038/s41388-018-0477-8