

# СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

## MODERN POSSIBILITIES OF THE USE OF STROMAL-VASCULAR FRACTION OF ADIPOSE TISSUE IN TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS

**Мироманов А.М. Miromanov A.M.**  
**Мироманов М.М. Miromanov M.M.**  
**Мироманова Н.А. Miromanova N.A.**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
 г. Чита, Россия

Chita State Medical Academy,  
 Chita, Russia

В обзоре проведен анализ данных литературы об использовании стволовых клеток жировой ткани в медицинской практике, представлены источники и способы ее выделения, характеристика состава, иммунотип и направления дифференцировки клеток.

**Цель** – раскрыть возможности мезенхимальных мультипотентных клеток жировой ткани, сравнить их остеогенную и хондрогенную дифференцировку со стволовыми клетками костного мозга, а также обозначить границы их использования в травматологии и ортопедии.

**Материалы и методы.** Проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы, посвященной выделению, селекции и клиническому использованию мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в медицинской практике.

**Результаты.** За последние годы разработаны многочисленные экспериментальные модели для применения стволовых клеток в регенерации органов и тканей. Большинство работ подтверждают более низкую остеогенную способность стволовых клеток жировой ткани, однако многие механизмы их остеогенного потенциала еще предстоит выяснить. К сожалению, во многих изысканиях сравниваются только две стволовые клетки в нормальной, здоровой среде, однако в клинической ситуации существует много различных сценариев репарации костной, хрящевой и других тканей. Что касается хондрогенной дифференцировки, то потенциал стволовых клеток практически не уступает потенциалу стволовых клеток костного мозга.

**Заключение.** Стволовые клетки проявляют свой восстановительный потенциал как прямым путем дифференцировки, так и косвенным, за счет влияния на «клеточную нишу». Исследования способности стволовых клеток жировой ткани к дифференцировке в естественных условиях не показали убедительных результатов в большинстве своем из-за отсутствия стандартов работы с данным материалом. Основной задачей, безусловно, является создание стандартизированных протоколов получения, селекции и дифференцировки этой культуры клеток, что позволит применять данную технологию в травматологии и ортопедии при лечении многих патологических процессов.

**Ключевые слова:** жировая ткань; стромально-васкулярная фракция; стволовые клетки; дифференцировка; травматология и ортопедия.

The review analyzes the literature data on the use of adipose tissue stem cells in medical practice, presents the sources and methods for its isolation, characterization of the composition, immune phenotype and cell differentiation directions.

**Objective** – to reveal the possibilities of the mesenchymal multipotent adipose tissue cells, to compare their osteogenic and chondrogenic differentiation with the stem cells of the bone marrow, and also to outline the boundaries of their use in traumatology and orthopedics.

**Materials and methods.** The analysis of modern domestic and foreign literature on the isolation, breeding and clinical use of multipotent mesenchymal stem cells of adipose tissue in medical practice has been carried out.

**Results.** In the recent years, numerous experimental models have been developed for the use of stem cells in the regeneration of organs and tissues. Most studies confirm the lower osteogenic capacity of adipose tissue stem cells, but many of the mechanisms of their osteogenic potential have yet to be clarified. Unfortunately, many studies compare only two stem cells in a normal, healthy environment, but there are many different scenarios for the repair of bone, cartilage and other tissues in the clinical situation. As for chondrogenic differentiation, the potential of stem cells is almost as good as the potential of bone marrow stem cells.

**Conclusion.** Stem cells manifest their regenerative potential, both by direct differentiation and indirectly, by influencing the "cell niche". Studies of the ability of adipose tissue stem cells to differentiate in vivo did not show convincing results, most of them due to the lack of standards for working with this material. The main task, of course, is the creation of standardized protocols for obtaining, selecting and differentiating this cell culture, which will allow this technology to be applied in traumatology and orthopedics in the treatment of many pathological processes.

**Key words:** adipose tissue; stromal vascular fraction; stem cells; differentiation; traumatology and orthopedics.

За последние столетия практики в травматологической области изобретены не только различные консервативные и оперативные методы лечения патологии опорно-двигательной системы, но и способы стимуляции репаративной регенерации тканей. Несмотря на многочисленные медицинские технологии, применяемые в данной области, вопрос полного и быстрого восстановления костной, хрящевой

и других тканей на сегодня остается открытым. В последние годы актуальным является изучение влияния стволовых клеток (СК) на процессы регенерации тканей [43].

**Цель обзора** — раскрыть возможности мезенхимальных мультипотентных клеток жировой ткани, сравнить их остеогенную и хондрогенную дифференцировку со стволовыми клетками костного мозга, а также обозначить границы их использования в травматологии и ортопедии.

Человеческие стволовые клетки стали привлекательными кандидатами для клеточной терапии, способной восстановить утраченные функции клеток и тканей. Эти уникальные клетки способны самообновляться бесконечно и дифференцироваться в другие ткани [6, 13, 25]. Использование силы этих плюрипотентных стволовых клеток потенциально может предложить новые варианты терапевтического лечения различных заболеваний. С момента первоначального создания линий СК в 1998 году были достигнуты огромные успехи в лучшем понимании биологии стволовых клеток и требований к культуре для поддержания плюрипотентности [42].

Утверждение первых клинических испытаний СК для лечения повреждений спинного мозга и макулярной дегенерации в 2010 году ознаменовало начало новой эры в регенеративной медицине [37].

В настоящее время некоторые ученые, изучая жировую ткань как один из основных источников стволовых клеток, обратили внимание на стромально-вазкулярную фракцию, используемую в качестве физиологического регенераторного субстрата [24, 40].

Данная фракция способствовала обеспечению тканевого гомеостаза и тем самым оказывала влияние на регенерацию костной, хрящевой и других тканей посредством способности к самообновлению и дифференцировке по нескольким линиям. Основным ее компонентом являются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) периваскулярной локализации [22, 29]. Эти клетки способны к дифференцировке в различные ткани с

помощью индукторов и микроокружения клетки — «специфической ниши» [44, 45].

Долгое время было принято считать источником мультипотентных клеток вещество костного мозга, но в 2001 году Р.А. Zuk и соавторы описали новую мезенхимальную стромальную стволовую клетку, выделенную из жировой ткани (МСКЖТ) после процедуры липосакции [50]. Липоаспирационную ткань обрабатывают коллагеназой с последующим центрифугированием, чтобы получить клеточный осадок на дне пробирки. Клеточный осадок представляет собой так называемую стромально-сосудистую фракцию. На самом деле МСКЖТ представляет собой гетерогенную клеточную популяцию эритроцитов, фибробластов, эндотелиальных клеток, клеток гладких мышц, перицитов и стромальных стволовых клеток жировой ткани, которые имеют пластически-адгезивный характер. После культивирования МСКЖТ *in vitro* с течением времени клеточная популяция становится гомогенной, прежде всего, пластически сцепленным МСКЖТ [20]. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки из стромально-вазкулярной фракции жировой ткани также демонстрируют способность к дифференцировке по нескольким линиям в адипоциты, остеобласты, хондроциты и миоциты. Кроме того, процедура липосакции проста, легка и повторяема с меньшим дискомфортом и осложнениями [12].

Получение МСКЖТ гораздо проще, так как они локализуются, вблизи периваскулярной области сосудов организма, и самым распространенным и доступным источником данных видов клеток по сей день считается богатая кровеносными сосудами жировая ткань. Тогда как стволовые клетки костного мозга (МСККМ) залегают глубоко в костной структуре. Клеточный выход МСКЖТ из жировой ткани выше, чем из костного мозга, так как аспираты костного мозга дают в среднем  $6 \times 10^6$  ядро-содержащих клеток на мл, и только от 0,001 до 0,01 % — стволовые клетки. Напротив,  $2 \times 10^6$  клеток могут быть выделены из 1 г жи-

ровой ткани, из которых 10 % считаются стволовыми клетками. Эта особенность делает МСКЖТ хорошим источником клеток для клинического применения. Например, если мы берем 100 мл аспириатов костного мозга от взрослого пациента, у которого есть только от  $6 \times 10^3$  до  $6 \times 10^4$  стволовых клеток, то популяция клеток в данном случае обычно недостаточна для клинического применения. Тем не менее, от пациента без какого-либо дискомфорта или осложнений можно извлечь 1000-2000 куб. см липоаспирата, в котором может содержаться от  $2 \times 10^8$  до  $4 \times 10^8$  стволовых клеток. Данного количества СК уже достаточно для восстановления небольшого дефекта кости. Обширный пассаж *in vitro* для получения адекватного количества клеток обычно требуется в МСККМ, а не в МСКЖТ. Недостатками длительного пассирования *in vitro* являются возможное загрязнение, длительные, трудозависимые и возможные генные мутации во время пассирования. Следовательно, стромально-вазкулярную фракцию жировой ткани можно считать наиболее хорошим источником СК, чем костный мозг [21, 22, 27, 30].

Внедрение жировой ткани в хирургическую практику как трансплантата началось еще в 1893 г. немецким хирургом Густавом Ньюбером (Gustav Neuber, 1850-1932). Он использовал жировой ауто-трансплантат для коррекции нижнего края орбиты [34]. Параллельно немецкий хирург Юджин Холландер (Eugene Hollaender, 1867-1932) предложил коктейль из человеческого и бараньего жира, чтобы избежать реабсорбции и, как следствие, предотвратить осложнения после трансплантации [28]. Однако большинство подобных операций не увенчались успехом, так как жировая ткань приживалась не полностью и в зонах ее отмирания образовывались масляные кисты, плавно переходящие в зону некроза под влиянием нарушения микроциркуляции [36].

Позже Ерих Лексер (Erich Lexer, 1867-1937) опубликовал работу, посвященную клиническому применению пересадки жировой ткани для

коррекции посттравматических деформаций лица, асимметрии молочных желез и контрактуры Дюпюитрена; и он стал одним из первых, кто указал в работе на правильность забора аллотранспонганта для его успешного приживления [19].

После подробного изучения жировой ткани М. Родбеллу (M. Rodbell) удалось разделить ее на две фракции: зрелые адипоциты и стромально-васкулярную, состоящую из фибробластов, перицитов, эндотелиальных клеток и преадипоцитов [39].

На сегодняшний день выделение и пересадка жирового трансплантата стала не только возможна, но и безопасна [46]. Более того, бесценным опытом стало определение индукторов, влияющих на дифференцировку стволовой клетки в остальные ткани (табл.) [2, 4, 5, 7, 17, 21, 48, 50].

Рассматривая остеогенную дифференцировку МСКЖТ и МСККМ, следует отметить, что МСККМ обладают намного лучшими характеристиками в создании костного матрикса для будущего клинического применения. Детерминантный фактор основывается на вопросе, обладают ли МСКЖТ такой же или намного лучшей остеогенной способностью, чем МСККМ? Если ответ «да», то МСКЖТ могут заменить роль МСККМ в образовании костного матрикса без каких-либо сомнений [3].

В 2001 году Zuk P.A. с соавторами впервые описал выделение МСКЖТ из жировой ткани и провел несколько экспериментов для характеристики их фенотипа и мультипотентности. В своем исследовании они обнаружили, что активность щелочной фосфатазы регистрировалась значительно выше в остеиндуцированных МСКЖТ человека, чем в МСККМ при индукции в течение 3 недель, тогда как при индукции 6 недель кальцификация матрикса отмечалась в 35 раз выше в МСКЖТ и в 68 раз — в МСККМ. Кроме того, авторы осуществляли экспрессию генов (специфический остеогенный ген остеокальцин, субъединица альфа-1, связанный с Runt фактор транскрипции 2, остеоонектин, остеоопонтин, костный морфогенный

белок-2) как на остеиндуцированных МСКЖТ, так и на МСККМ и показали эффективность использования МСКЖТ в восстановлении не только костной (в виде заполненных внутрикостных кист или для ускорения консолидации костной ткани в послеоперационном периоде), но и хрящевой ткани [14, 16, 31, 50].

Положительные результаты при лечении хрящевых дефектов поверхностей крупных суставов также отмечают и другие исследователи. После введения МСКЖТ в полость сустава, через месяц по данным магнитно-резонансного томографического исследования регистрировалось полное закрытие дефекта однородной тканью, по структуре схожей с хрящевой. Кроме того, фиксировалось восстановление гомеостаза внутрисуставной системы в виде резкого снижения воспалительного фактора, а как следствие — устранение болевого синдрома [32, 38].

Эффективность консервативной терапии также отмечена и в исследовании О.И. Старцевой и соавт. (2016) при комбинированном внутрисуставном введении МСКЖТ и тромбоцито-обогащенной фракции крови [39].

МСКЖТ, полученные из жировой ткани, также нашли применение в восстановлении функции двуглавой мышцы посредством ремоделирования плечевого нервного сплетения. На нервный шов наносилась данная фракция, что не только позволило ускорить регенераторный процесс, но и увеличило гиперэкспрессию нейротрофических факторов в зоне шва [18].

Следует отметить, что колоссальный потенциал к дифференцировке в разные ткани создает риск в вопросе об онкологической предрасположенности данного типа клеток. Согласно мнению авторов, это всегда было камнем преткновения для широкого использования СК в области медицины. Одно из немногих исследований, посвященных изучению влияния МСКЖТ на клетки рака молочной железы (in vitro и in vivo модель), показало, что МСКЖТ действительно увеличивают рост активных, но не отдыхающих клеток рака молочной

железы. Авторы утверждают, что экстраполяция этих результатов может указывать на способность МСКЖТ стимулировать регенерацию ткани молочной железы, но не должна влиять на состояние дремлющих остаточных раковых клеток [49]. Несмотря на отсутствие увеличения образования новых опухолевых сосудов, снижение скорости апоптоза в присутствии МСКЖТ может указывать на предпочтение росту опухоли в среде, дополненной МСКЖТ [47].

В отдельной «мышинной модели» совместная трансплантация МСКЖТ с активными клетками рака предстательной железы приводила к более чем трехкратному увеличению объема опухоли по сравнению с теми, которые были привиты без добавления МСКЖТ [33].

В других исследованиях показано, что человеческие МСКЖТ, культивированные с «тройными отрицательными» клеточными линиями рака молочной железы, не влияли на рост в культуре, но стимулировали метастазы в другие мышечные органы in vivo, которые не наблюдались в контроле без МСКЖТ. В одном случае наблюдалось увеличение фактора роста эндотелия сосудов и плотности микрососудов, что свидетельствует об усилении тканевого ангиогенеза, который может вызывать беспокойство в ложе опухоли [15, 35].

Краткий обзор исследований, оценивающих влияние МСК (включая МСКЖТ человека) на опухолевый рост и метастазы, выявил трудности в установлении безопасности даже на доклинической стадии. Имея перечень данных, свидетельствующих о том, что МСК могут стимулировать или альтернативно ингибировать рост опухоли, авторы приходят к выводу, что наши современные знания о механизмах, с помощью которых МСК могут оказывать свое влияние, все еще плохо изучены, так что достоверно невозможно прогнозировать поведение клеток. Авторы подчеркивают, что не было никаких признаков образования и роста опухоли, непосредственно связанного с использованием МСК, у всех пациентов, которые проходили лечение до настоящего времени [26].

Индукторы, влияющие на дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток из стромально-васкулярной фракции жировой ткани в другие ткани

Table

The inducing factors influencing on differentiation of multipotent mesenchymal stromal cells of stromal-vascular fraction of adipose tissue in other tissues

Автор Author	Фенотип Phenotype	Дифференцировка Differentiation	Факторы, индуцирующие дифференцировку Differentiation-inducing factors
Gronthos S. et al. (2001)	Позитивны по / Positive: HLAABC, CD9, CD10, CD13, CD29, CD34, CD44, CD59, CD105, CD49e, CD54, CD55, CD166 Негативны по / Negative: HLADR, CD11a, CD11b, CD11c, CD14, CD18, CD31, CD45, CD50, CD56	In vitro: остеогенная / osteogenic, адипогенная / adipogenic	<b>Остеогенные / Osteogenic:</b> Витамин D3 / Vitamin D3, Дексаметазон / Dexamethasone <b>Адипогенные / Adipogenic:</b> Инсулин / Insulin, Дексаметазон / Dexamethasone 1метилЗизобутилксантин / 1-methyl-3-isobutylxanthine BRL49653
Zuk P.A. et al. (2001)	Позитивны по / Positive: CD13, CD29, CD44, CD49d, CD71, CD90, CD105, SH3, STRO1 Негативны по / Negative: CD31, CD34, CD45, CD14, CD16, CD56, CD61, CD62E, CD104, CD106	In vitro: остеогенная / osteogenic, хондрогенная / chondrogenic, миогенная / myogenic, нейрогенная / neurogenic	<b>Остеогенные / Osteogenic:</b> Витамин D3 / Vitamin D3, Аскорбат / Ascorbate, В-глицерофосфат / $\beta$ -glycerophosphate <b>Хондрогенные / Chondrogenic:</b> Инсулин / Insulin, TGF $\beta$ 1, Аскорбат / Ascorbate <b>Миогенные / Myogenic:</b> Сыворотка КРС и человека / Bovine and human serum, Гидрокортизон / Hydrocortisone <b>Нейрогенные / Neurogenic:</b> В-меркаптоэтанол / $\beta$ -mercaptoethanol
Brzoska M. et al. (2005)	Позитивны по / Positive: CD10, CD13, CD44, CD90 виментин / vimentin Негативны по / Negative: CD31, CD34, CD45, vWF	In vitro: эпителиальная / epithelial	<b>Эпителиальные / Epithelial:</b> Ретиноевая кислота / Retinoic acid
Cao Y. et al. (2005)	Позитивны по / Positive: CD29, CD44, CD105, CD166, Flk1, HLAABC Негативны по / Negative: CD31, CD34, CD45, CD106, CD184	In vitro: остеогенная / osteogenic, адипогенная / adipogenic In vitro, in vivo: эндотелиальная / endothelial	<b>Остеогенные / Osteogenic:</b> Аскорбат / Ascorbate, В-глицерофосфат / $\beta$ -glycerophosphate, Дексаметазон / Dexamethasone, Сыворотка / Serum <b>Адипогенные / Adipogenic:</b> Гидрокортизон / Hydrocortisone, 1метилЗизобутил ксантин / 1-methyl-3-isobutylxanthine, Индометацин / Indomethacin <b>Эндотелиальные / Endothelial:</b> VEGF, bFGF, EST
Astori G et al. (2007)	Позитивны по / Positive: CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD166 Негативны по / Negative: CD34, CD38, CD45, CD133, CD31, CD271	In vitro: остеогенная / osteogenic, адипогенная / adipogenic хондрогенная / chondrogenic	<b>Остеогенные / Osteogenic:</b> Аскорбат / Ascorbate, В-глицерофосфат / $\beta$ -glycerophosphate, Дексаметазон / Dexamethasone <b>Адипогенные / Adipogenic:</b> Инсулин / Insulin,, Дексаметазон / Dexamethasone, 1метилЗизобутилксантин / 1-methyl-3-isobutylxanthine, Индометацин / Indomethacin <b>Хондрогенные / Chondrogenic:</b> TGF $\beta$ 3, Аскорбат / Ascorbate, Дексаметазон / Dexamethasone, пируват / Pyruvate

Очевидно, что необходимы дальнейшие воспроизводимые исследования, минимизирующие расхождения в донорской ткани, реципиентных клетках, времени добавления МСК и параметрах мониторинга. Однако имеющихся данных, по-видимому, достаточно, чтобы исключить применение трансплантатов с добавлением МСКЖТ, пока не станет известно больше о возможности рецидива онкообразования и метастазирования. Также к минусам использования МСКЖТ можно отнести и его довольно трудоемкое получение. На сегодняшний день известны два вида его получения. Первый способ — выделением вручную, путем отмывания в физиологическом растворе на фосфатном буфере для удаления клеток крови, обработки коллагеназой (что облегчает последующее выделение разных типов клеток) и центрифугированием для получения осадка, состоящего из сосудистой стромы и стволовых клеток [8, 9, 23], либо использование специальной колонки с неткаными вискозными и полиэтиленовыми тканями для выделения клеток стромальной сосудистой фракции из растворов. В отличие от центрифугирования, данный метод исключает обширный процесс гемолиза, что обеспечивает качество и чистоту выделенного материала [10]. Другой метод включает в себя использование автоматизированного оборудования, объединенного в изолированную систему, что практически полно-

стью исключает воздействие человеческого фактора на процесс. Это снижает риск пагубного воздействия факторов внешней среды, а также исключает кантоминацию микроорганизмами [11, 41]. Активное митотическое деление полученной фракции начинается после трех суток, более того, для ускорения данного процесса необходимо состояние «физиологической гипоксии клетки», когда внутриклеточная концентрация кислорода составляет 5 % [1].

Все это в настоящее время предполагает наличие крупных лабораторий, что для многих медицинских организаций является неосуществимым. К сожалению, использование автоматизированных блоков для выделения и селекции СК в Российской Федерации станет возможным только с 2020 года. Безусловно, данная методика является перспективным направлением в травматологии и ортопедии, но требует дальнейшего всестороннего изучения, что позволит снизить различные риски к минимуму и успешно использовать эти знания для повышения эффективности лечения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, за последние годы разработаны многочисленные экспериментальные модели для применения СК в регенерации органов и тканей. СК проявляют свой восстановительный потенциал как прямым путем дифферен-

цировки, так и косвенным, за счет влияния на «клеточную нишу». Особый интерес в данном направлении вызывают клетки, выделенные из жировой ткани, другими словами, стромально-васкулярная фракция, содержащая как зрелые, так и мультипотентные клетки. Развитие современных технологий и инструментов позволило обнаружить и охарактеризовать молекулярные механизмы регенерации поврежденных тканей, однако из-за огромного дифференцировочного потенциала невозможно сделать окончательного вывода об их клинической эффективности. Кроме того, исследования способности МСКЖТ к дифференцировке в естественных условиях не показали убедительных результатов в большинстве своем из-за отсутствия стандартов работы с данным материалом. Основной задачей, безусловно, является создание стандартизированных протоколов получения, селекции и дифференцировки данной культуры клеток, что позволит применять данную технологию в травматологии и ортопедии при лечении многих патологических процессов.

### Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Andreeva ER. Multipotent mesenchymal stromal cells in modeling of tissue (physiological) hypoxia in vitro: abstracts of PhD in biology. 03.03.01, 03.03.04 /Andreeva ER. M., 2016, 46 p. Russian (Андреева Е.Р. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки при моделировании тканевой (физиологической) гипоксии in vitro: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.01, 03.03.04. М., 2016. 46 с.)
2. Astori G, Vignati F, Bardelli S, Tubio M, Gola M, Albertini V, et al. «In vitro» and multicolor phenotypic characterization of cell subpopulations identified in fresh human adipose tissue stromal vascular fraction and in the derived mesenchymal stem cells. *J. Transpl. Med.* 2007; 5: 55. DOI: 10.1186/1479-5876-5-55
3. Bara JJ, Richards RG, Alini M, Stoddart MJ. Concise review: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells change phenotype following in vitro culture: implications for basic research and the clinic. *Stem Cells.* 2014; 32(7): 1713-23. DOI: 10.1002/stem.1649
4. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, Redl H, et al. 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; 15(6): 641-648. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006
5. Brzoska M, Geiger H, Gauer S, Baer P. Epithelial differentiation of human adipose tissue derived adult stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 330: 142-150. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.02.141
6. Buehrer BM, Cheatham B. Isolation and characterization of human adipose-derived stem cells for use in tissue engineering. In: *Organ Regeneration. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols.)*. Basu J., Ludlow J. (eds). Humana Press, 2013; P. 1-11. DOI: 10.1007/978-1-62703-363-3\_1
7. Cao Y, Sun Z, Liao L, Meng Y., Han Q, Zhao RC. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in

- vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 332(2): 370-379. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.04.135
8. Cleveland EC, Albano NJ, Hazen A. Roll, spin, wash, or filter? Processing of lipoaspirate for autologous fat grafting: an updated, evidence-based review of the literature. *Plast. Reconstr. Surg.* 2015; 136(4): 706-713. DOI: 10.1097/PRS.0000000000001581
  9. Desai N, Rambhia P, Gishto A. Human embryonic stem cell cultivation: historical perspective and evolution of xeno-free culture systems. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015; 13(1): 9. DOI: 10.1186/s12958-015-0005-4
  10. Doi K, Kuno S, Kobayashi A, Hamabuchi T, Kato H., Kinoshita K, et al. Enrichment isolation of adipose-derived stem/stromal cells from the liquid portion of liposuction aspirates with the use of an adherent column. *Cytotherapy.* 2014; 16(3): 381-391. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.09.002
  11. Doi K, Tanaka S, Iida H, Eto H, Kato H, Aoi N, et al. Stromal vascular fraction isolated from lipo-aspirates using an automated processing system: bench and bed analysis. *J Tissue Eng. Regen. Med.* 2012; 7(11): 864-870. DOI: 10.1002/term.1478
  12. Dubey NK, Mishra VK, Dubey R, Deng YH, Tsai FC, Deng WP. Revisiting the advances in isolation, characterization and secretome of adipose-derived stromal/stem cells. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(8): 2200. DOI 10.3390/ijms19082200
  13. Eaves CJ. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood.* 2015; 125(17): 2605-2613. DOI: 10.1182/blood-2014-12-570200
  14. Fang X, Murakami H, Demura S, Hayashi K, Matsubara H, Kato S. et al. A novel method to apply osteogenic potential of adipose derived stem cells in orthopaedic surgery. *PLoS One.* 2014; 9(2): e88874. DOI: 10.1371/journal.pone.0088874
  15. Fraser JK, Hicok KC, Shanahan R. Zhu M, Miller S, Arm DM. The Celution® System: automated processing of adipose-derived regenerative cells in a functionally closed system. *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2014; 3(1): 38-45. DOI: 10.1089/wound.2012.0408
  16. García-Contreras M, Vera-Donoso CD, Hernández-Andreu JM, García-Verdugo GM, Oltra E. Therapeutic potential of human adipose-derived stem cells (ADSCs) from cancer patients: a pilot study. *PLoS One.* 2014; 9(11): e113288. DOI: 10.1371/journal.pone.0113288
  17. Gronthos S, Franklin DM, Leddy H A, Robey PJ, Storms RW, Gimble JM. Surface protein characterization of human adipose tissue derived stromal cells. *J. Cell. Physiol.* 2001; 189: 54-63. DOI: 10.1002/jcp.1138
  18. Hannanova IG, Masgutov RF, Gallyamov AR, Rizvanov AA, Bogov AA. Restoration of the function of the biceps muscle of the shoulder using the neurotic method in combination with autotransplantation of stromal vascular cells of the adipose tissue. *Practical medicine.* 2015; 4(89): 197-199. Russian (Ханнанова И.Г., Масгутов Р.Ф., Галлямов А.Р., Ризванов А.А., Богов А.А. Восстановление функции двуглавой мышцы плеча методом невротизации в сочетании с аутотрансплантацией клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани //Практическая медицина. 2015. Т. 1, № 4(89). С. 197-199.)
  19. Hofbauer MH, Delmonte RJ, Scripps ML. Autogenous bone grafting. *The Journal of Foot and Ankle Surgery.* 1996; 35(5): 386-390. DOI 10.1016/S1067-2516(96)80056-1
  20. Hong SJ, Jia SX, Xie P, Kai WX, Leung P, Mustoe TA, Galiano RD. Topically delivered adipose derived stem cells show an activated-fibroblast phenotype and enhance granulation tissue formation in skin wounds. *PLoS One.* 2013; 8(1): e55640. DOI: 10.1371/journal.pone.0055640
  21. Huang SJ, Fu RH, Shyu WC, Liu SP, Jong GP, Chiu YW, et al. Adipose-derived stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cell Transplant.* 2013; 22(4): 701-709. DOI: 10.3727/096368912X655127
  22. Johal KS, Lees VC, Reid AJ. Adipose-derived stem cells: selecting for translational success. *Regen. Med.* 2015; 10(1): 79-96. DOI: 10.2217/rme.14.72
  23. Johnson AA, Naaldijk Y, Hohaus C, Meisel HJ, Krystel I, Stolzing A. Protective effects of alpha phenyl-tert-butyl nitron and ascorbic acid in human adipose derived mesenchymal stem cells from differently aged donors. *Aging (Albany NY).* 2017; 9(2): 340-352. DOI: 10.18632/aging.101035
  24. Kim I, Bang SI, Lee SK, Park SY, Kim M, Ha H. Clinical implication of allogenic implantation of adipogenic differentiated adipose-derived stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* 2014; 3(11): 1312-1321. DOI: 10.5966/sctm.2014-0109
  25. Kingham E, Oreffo RO. Embryonic and induced pluripotent stem cells: understanding, creating, and exploiting the nano-niche for regenerative medicine. *ACS Nano.* 2013; 7(3): 1867-1881. DOI: 10.1021/nn3037094
  26. Klopp AH, Gupta A, Spaeth E, Andreeff M, Marini F. Concise review: dissecting a discrepancy in the literature: do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? *Stem Cells.* 2011; 29(1): 11-19. DOI: 10.1002/stem.559
  27. Liao HT, Chen CT. Osteogenic potential: comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells. *World J. Stem Cells.* 2014; 6(3): 288-295. DOI: 10.4252/wjsc.v6.i3.288
  28. Mazzola RF, Mazzola IC. History of fat grafting: from ram fat to stem cells. *Clin. Plast. Surg.* 2015; 42(2): 147-153. DOI: 10.1016/j.cps.2014.12.002
  29. Minteer DM, Marra KG, Rubin JP. Adipose stem cells: biology, safety, regulation, and regenerative potential. *Clin. Plast. Surg.* 2015; 42(2): 169-179. DOI: 10.1016/j.cps.2014.12.007
  30. Mizuno H, Tobita M, Uysal AC. Concise review: Adipose derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells.* 2012; 30(5): 804-810. DOI: 10.1002/stem.1076
  31. Peterson JR, Eboda O, Agarwal S, Ranganathan K, Buchman SR, Lee M, et al. Targeting of ALK2, a receptor for bone morphogenetic proteins, using the Cre/lox System to enhance osseous regeneration by adipose-derived stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* 2014; 3(11): 1375-1380. DOI: 10.5966/sctm.2014-0082
  32. Platas J, Guillén MI, Pérez Del Caz, Gomar F, Castejón MA, Mirabet V, et al. Paracrine effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells in inflammatory stress-induced senescence features of osteoarthritic chondrocytes. *Aging (Albany NY)* 2016; 8(8): 1703-1717. DOI: 10.18632/aging.101007
  33. Prantl L, Muehlberg F, Navone NM, Song YH, Vykoukal J, Logothetis CJ, et al. Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth. *Prostate.* 2010; 70(15): 1709-1715. DOI: 10.1002/pros.21206
  34. Pu LL, Yoshimura K, Coleman SR. Fat grafting: current concept, clinical application, and regenerative potential, part 1. *Clin Plast Surg.* 2015; 42(2). DOI: 10.1016/j.cps.2015.02.001
  35. Rowan BG, Gimble JM, Sheng M, Anbalagan M, Jones RK, Frazier TP, et al. Human adipose tissue-derived stromal/stem cells promote

- migration and early metastasis of triple negative breast cancer xenografts. *PLoS ONE*. 2014; 9(2): e89595. DOI: 10.1371/journal.pone.0089595
36. Sanderson A. Experimental skin grafts and transplantation immunity: a recapitulation. *J R Soc Med*. 1980; 73(7): 534. PMID: PMC1437711.
37. Simonson OE, Domogatskaya A, Volchkov P, Robin S. The safety of human pluripotent stem cells in clinical treatment. *Ann. Med.* 2015; 47(5): 370-380. DOI: 10.3109/07853890.2015.1051579
38. Smyshlyaev IA, Gilfanov SI, Kopylov VA, Gilmutdinov RG, Pulin II, Korsakov IN, et al. Safety and effectiveness of intraarticular administration of adipose-derived stromal vascular fraction for treatment of knee articular cartilage degenerative damage: preliminary results of a clinical trial. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2017; 23(3): 17-31. Russian (Смышляев И.А., Гильфанов С.И., Копылов В.А., Гилмутдинов Р.Г., Пулин А.А., Корсаков И.Н. и др. Оценка безопасности и эффективности внутрисуставного введения стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения гонартроза: промежуточные результаты клинического исследования //Травматология и ортопедия России. 2017. Т. 23, № 3. С. 17-31. DOI 10.21823/2311-2905-2017-23-3-17-31)
39. Startseva OI, Melnikov DV, Zakharenko AS, Kirillova KA, Ivanov SI, Pishchikova ED, et al. Mesenchymal stem cells of adipose tissue: a modern view, relevance and prospects for application in plastic surgery. *Research and practice in medicine*. 2016; 3(3): 68-75. DOI: 10.17709 / 2409-2231-2016-3-3-7. Russian (Старцева О.И., Мельников Д.В., Захаренко А.С., Кириллова К.А., Иванов С.И., Пищикова Е.Д. и др. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: современный взгляд, актуальность и перспективы применения в пластической хирургии //Исследования и практика в медицине. 2016. Т. 3, № 3. С. 68-75. DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-3-7)
40. Stoltz JF, de Isla N, Li YP, Bensoussan D, Zhang L, Huselstein C, et al. Stem cells and regenerative medicine: myth or reality of the 21st century. *Stem Cells Int*. 2015; 734731: 19. DOI: 10.1155/2015/734731
41. Sundarraj S, Deshmukh A, Priya N, Krishnan VS, Cherat M, Majumdar AS. Development of a system and method for automated isolation of stromal vascular fraction from adipose tissue lipoaspirate. *Stem Cells Int*. 2015; 109353: 11. DOI: 10.1155/2015/109353
42. Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells - current trends and future prospective. *Biosci. Rep.* 2015; 35(2): e00191. DOI: 10.1042/BSR20150025
43. Uzbas F, May ID, Parisi AM, Kaya A, Perkins AD, Memili E. Molecular physiognomies and applications of adipose-derived stem cells. *Stem Cell Rev*. 2015; 11(2): 298-308. DOI: 10.1007/s12015-014-9578-0
44. Vapnarsky N, Arzi B, Hu JC, Nolte JA, Athanasiou K. Concise review: human dermis as an autologous source of stem cells for tissue engineering and regenerative medicine. *Stem Cells Transl. Med.* 2015; 4(10): 1187-1198. DOI: 10.5966/sctm.2015-0084
45. Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*. 2000; 287(5457): 1427-1430. DOI: 10.1126/science.287.5457.1427
46. Williams SK, Morris ME, Kosnik PE, Lye KD, Gentzkow GD, Ross CB, et al. Point-of-care adipose-derived stromal vascular fraction cell isolation and expanded polytetrafluoroethylene graft sodding. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017; 23(8): 497-504. DOI: 10.1089/ten.TEC.2017.0105
47. Yu JM, Jun ES, Bae YC, Jung JS. Mesenchymal stem cells derived from human adipose tissues favor tumor cell growth in vivo. *Stem Cells Dev*. 2008; 17(3): 463-473. DOI: 10.1089/scd.2007.0181
48. Zavan B, Vindigni V, Gardin C, D'Avella D, Della Puppa A, Abatangelo G, et al. Neural potential of adipose stem cells. *Discovery Med*. 2010; 50: 37-43. DOI: 10.1179/174313209X385743
49. Zimmerlin L, Donnenberg AD, Rubin JP, Basse P, Landreneau RJ, Donnenberg VS. Regenerative therapy and cancer: in vitro and in vivo studies of the interaction between adipose-derived stem cells and breast cancer cells from clinical isolates. *Tissue Eng. Part A*. 2011; 17(1-2): 93-106. DOI: 10.1089/ten.TEA.2010.0248
50. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001; 7(2): 211-228. DOI: 10.1089/107632701300062859

**Сведения об авторах:**

**Мироманов А.М.**, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, главный травматолог-ортопед Минздрава Забайкальского края, г. Чита, Россия.

**Мироманов М.М.**, ординатор кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, г. Чита, Россия.

**Мироманова Н.А.**, д.м.н., доцент, заведующая кафедрой детских инфекций, ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, г. Чита, Россия.

**Адрес для переписки:**

Мироманов А.М., ул. Горького, 39а, г. Чита, 672090, Россия  
ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия»  
Минздрава России, кафедра травматологии и ортопедии  
Тел: +7 (924) 386-18-16  
E-mail: miromanov\_a@mail.ru

**Information about authors:**

**Miromanov A.M.**, MD, PhD, docent, chief of traumatology and orthopedics department, Chita State Medical Academy, chief traumatologists-orthopedist of Health Ministry of Zabaykalsky Krai, Chita, Russia.

**Miromanov M.M.**, resident of traumatology and orthopedics department, Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

**Miromanova N.A.**, MD, PhD, docent, chief of department of pediatric infections, Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

**Address for correspondence:**

Miromanov A.M., Gorkogo St., 39a, Chita, 672090, Russia  
Chita State Medical Academy, traumatology and orthopedics department  
Tel: +7 (924) 386-18-16  
E-mail: miromanov\_a@mail.ru