

*На правах рукописи*

**СМЫШЛЯЕВ**  
Иван Александрович

**ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ  
КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ  
ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЛЕННОГО СУСТАВА**

14.01.15 – травматология и ортопедия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва 2018 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Гильфанов Сергей Ильсуверович,**  
доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Мурылев Валерий Юрьевич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры травматологии и ортопедии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова». Руководитель Московского городского центра эндопротезирования костей и суставов ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница имени С.П.Боткина» департамента здравоохранения города Москвы,

**Волошин Виктор Парфентьевич** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО "Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского".

Заведующий отделением травматологии и ортопедии ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского».

**Ведущее учреждение:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «19» ноября 2019 года, на заседании диссертационного совета Д 212.203.37 Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета кандидат медицинских наук

**Персов Михаил Юрьевич**

## **Общая характеристика работы.**

**Актуальность работы.** Остеоартроз (ОА) представляет собой хроническое заболевание суставов. Во всем мире ОА страдает более 250 миллионов человек. Высокая заболеваемость ОА оказывает существенное влияние на социально-экономическое благополучие населения и влияет на работу системы здравоохранения (Hunter et al., 2014; Vos et al., 2012; Vos et al., 2015). Согласно данным Мировой Организации Здравоохранения (World Health Organization (WHO)) ОА коленного и тазобедренного суставов является 11-й ведущей причиной инвалидности, заболеваемость ОА неуклонно растет (Lohmander, 2013). Vos et.al сообщает, что ОА коленного сустава составляет 83% от общей заболеваемости ОА (Vos et al., 2012). Демографическая тенденция к старению населения увеличивает распространенность ОА. Женщины подвержены ОА в большей степени, чем мужчины. Кроме того, женщины, как правило, имеют более серьезные проявления ОА чем мужчины, особенно после 55 лет (Srikanth et al., 2005).

Помимо коленного сустава, ОА поражает голеностопный сустав, пояснично-крестцовый отдел позвоночника и суставы верхних конечностей. По мере прогрессирования ОА, в патологический процесс вовлекаются все компоненты сустава, что приводит к дисбалансу в функционировании опорно-двигательного аппарата и влечет за собой нарушение функции конечности (Kleemann et al., 2005; Loeser et al., 2012a; Morrison, 1970). В то время как ОА может быть наследственным, существует целый ряд факторов риска, связанных с его развитием. Старение, индекс массы тела и пол являются прямыми факторами риска развития ОА. Кроме того, чрезмерная механическая нагрузка, интенсивная физическая активность, наряду с недостаточным питанием, являются факторами, способствующими дегенерации сустава (Yucesoy et al., 2015). Из-за своей мультифакторной природы, патогенез и течение заболевания могут значительно варьировать. Соответственно ОА может быть разделен на несколько подтипов (Karoo et al., 2011). В качестве первичного заболевания, он имеет больше генетический или биохимический профиль. Но ОА также может развиваться в

качестве вторичного заболевания, как результат перенесенной травмы или повреждения, хронического воспаления, или вызваться нарушением обмена веществ (Guilak, 2011; Kapoor et al., 2011; Litwic et al., 2013; Loeser, 2009; Mueller and Tuan, 2011; Sandell, 2012; Vincent et al., 2012b; Zhuo et al., 2012). Симптомы ОА включают в себя боль, воспаление синовиальной оболочки, тугоподвижность и потерю функции сустава. ОА также может прогрессировать бессимптомно. Рентгенологические признаки заболевания включают в себя сужение суставной щели, склероз субхондральной кости и наличие остеофитов (Crema et al., 2011). На более поздних стадиях заболевания к сильной хронической боли добавляется снижение уровня физической активности, потеря работоспособности и снижение качества жизни пациента. К сожалению, на данный момент нет способов ранней диагностики и полного излечения ОА. Лечение ограничивается облегчением боли путем сочетания фармакологического и немедикаментозного способов лечения. (Turk et al., 2011). Незначительное улучшение может быть достигнуто путем снижения веса и физической активности пациентов (Messier et al., 2004). На фоне этого, в тяжелых случаях для восстановления функции сустава приходится прибегать к хирургическому лечению. Чтобы избежать такого инвазивного лечения, основной упор делается на профилактику заболевания, персонализированную терапию и улучшение диагностики (Braun and Gold, 2012; Karsdal et al., 2014; Tonge et al., 2014; Vincent et al., 2012). Еще более сложной задачей является восстановление уже поврежденного сустава. Таким образом, все усилия направлены на развитие стратегий по регенерации тканей с применением клеточных продуктов и стволовых клеток (Johnstone et al., 2013; Luyten and Vanlauwe, 2012; Veronesi et al., 2013; Wylie et al., 2015). До недавнего времени основным источником мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) был костный мозг. Но выделение ММСК из костного мозга было связано с различными трудностями, такими как проведение трепанобиопсии и низкое содержание ММСК в полученном пунктате. Современные исследования показали, что жировая ткань в своем стромальном компоненте содержит большое количество ММСК, по своим характеристикам схожими с ММСК костного мозга. Было доказано, что стволовые клетки,

выделенные из жировой ткани, могут дифференцироваться в клетки различных типов, в том числе хрящевую ткань. Комплекс клеток, полученных после ферментативной обработки жировой ткани называется стромально-васкулярная фракция (СВФ). Клетки, входящие в состав СВФ оказывают мощную паракринную стимуляцию хондробластов к пролиферации и стимулируют синтез межклеточного матрикса хондроцитами, тем самым восстанавливая хрящевую ткань.

Вышеперечисленные аспекты явились побуждающим мотивом к выполнению данного исследования, предопределив его цель и задачи.

### **Цель исследования**

1. Оценить безопасность и эффективность внутрисуставного введения аутологичных регенеративных клеток из жировой ткани для лечения дегенеративно-дистрофических повреждений суставного хряща коленного сустава.

### **Задачи исследования**

1. Оценить влияние стромально-васкулярной фракции из жировой ткани на динамику заживления дефектов хрящевой ткани в поврежденном суставе.

2. Изучить исходы лечения пациентов с повреждением суставного хряща коленного сустава стромально-васкулярной фракцией из жировой ткани.

3. Оценить степень противовоспалительного эффекта от введения стромально-васкулярной фракцией из жировой ткани в коленный сустав.

4. Сравнить эффективность применения данной методики у пациентов с различными степенями ОА.

5. Выявить факторы, влияющие на эффективность лечения пациентов с ОА при помощи СВФ.

6. Разработать систему показаний и противопоказаний и алгоритм применения данной методики в клинической практике.

**Научная новизна.** Впервые проведена оценка эффективности и безопасности применения стромально-васкулярной фракции, полученной из

жировой ткани для лечения повреждений суставного хряща коленного сустава у пациентов.

Впервые дана характеристика клинических групп пациентов с наиболее выраженным клиническим эффектом от лечения СВФ.

Впервые оценена степень противовоспалительного эффекта от введения стромально-васкулярной фракции в полость коленного сустава.

Впервые разработана и внедрена в практическое здравоохранение методика лечения дегенеративных заболеваний коленного сустава аутологичными регенеративными клетками из жировой ткани и даны практические рекомендации.

**Практическая значимость.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют об эффективности и безопасности данного метода лечения. Поэтому данная методика рекомендована для практического использования в учреждениях здравоохранения стационарного и амбулаторного типа для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава.

Определены показания и противопоказания для к использованию данного метода лечения ОА коленного сустава.

**Внедрение результатов исследования.** Полученные результаты внедрены в лечебный процесс на базе ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой», а также используются в учебном процессе и дальнейшее работе на кафедре травматологии и ортопедии на теоретических занятиях с клиническими ординаторами и аспирантами. Данные полученные в результате настоящего несравнительного клинического исследования послужили основой для проведения дальнейших сравнительных клинических исследований.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

Использование интраартикулярного введения стромально - васкулярной фракции у пациентов с повреждением суставного хряща коленного сустава является безопасной методикой, и оказывает положительное влияние на течение заболевания.

Стромально-васкулярная фракция оказывает выраженный терапевтический эффект при дегенеративно-дистрофических заболеваниях суставного хряща коленного сустава. Однако степень выраженности и продолжительность терапевтического эффекта напрямую коррелирует со степенью повреждения суставного хряща. Наибольшую эффективность данная методика показала при лечении пациентов с ОА 1-2 степени. У пациентов с ОА 3 степени наблюдается выраженный эффект от лечения, но его продолжительность значительно ниже чем у пациентов с ОА 1-2 степени.

Стромально-васкулярная фракция оказывает выраженный противовоспалительный эффект на ткани коленного сустава, не зависимо от степени его проявления на момент начала исследования.

Установлена высокая удовлетворенность больных результатами проведенного лечения, улучшение функции коленного сустава и повышение уровня качества жизни пациентов после внутрисуставного введения СВФ.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 5 печатных работы, из них 3 - публикации в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования РФ для публикаций, основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

**Апробация работы.** Основные положения работы представлены на круглом столе «Регенеративная медицина» 21.12.2016 Клиническая больница УДП РФ г. Москва, I съезд травматологов-ортопедов Центрального федерального округа г. Смоленск 14-15 сентября 2017г., III Национальный конгресс по регенеративной медицине г. Москва, МГУ 15-18 Ноября 2017г., III научно-практическая конференция «Перспективы развития технологий регенеративной медицины» с участием российских и зарубежных специалистов г. Оренбург 8-9 февраля 2018г., XI всероссийский съезд травматологов-ортопедов 11-13 апреля г. Санкт-Петербург.

**Личный вклад автора.** Автором лично проводился отбор пациентов для участия в исследовании, проверялось соответствие пациентов критериям включения и невключения в исследование. Проводилось наблюдение за

пациентов в течение всего исследования, а также сбор и документация всех данных полученных от пациента на всех контрольных визитах (физикальный осмотр, сбор анамнеза, анализ и оценка лабораторных данных и данных инструментальных методов исследования). Проводилась процедура введения СВФ в коленный сустав. Проводился обсчет, статистическая обработка и анализ всех данных занесенных в ИРК.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 151 странице, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 194 источника, из них 194 иностранные работы. Работа иллюстрирована 50 рисунками и 1 таблицей.

### **Содержание работы**

Работа проводится в формате инициативного многоцентрового открытого несравнительного клинического исследования, фаза IIb, протокол № RU-LYO-OA2-11-17. Исследование соответствует этическим стандартам комитетов по биомедицинской этике, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией, и правилам Надлежащей клинической практики (ГОСТ Р 52379-2005). Пакет документов получил одобрение Независимого междисциплинарного Комитета по этической экспертизе клинических исследований (протокол № 07 от 22.04.2016). Изучаемый метод исследования - Внутрисуставное введение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани.

За период с 2015 по 2018 на клинических базах, где проводилось исследование было пролечено 48 пациентов в соответствии с протоколом исследования. Возраст пациентов составил 56 (45-65) лет, при этом пациентов в возрасте 20-39 лет было 10 (20,1%), пациентов в возрасте 40-50 лет было 8 (16,6%), пациентов в возрасте 50-65 лет было 18 (37,5%), пациентов в возрасте 65-85 лет было 12 (25,0%) .

При классификации степени ОА использовалась классификация по рентгенологическим признакам Kellgren and Lawrence. В зависимости от



индекса массы тела (BMI) пациенты были разделены на 4 группы: 18,5—24,99 норма 6 (12,5%), 25—30 избыточная масса тела (предожирение) 21 (43,7%), 30—35 ожирение первой степени 8 (25,0%), 35—40 ожирение второй степени 6 (18,8%), больных с ИМТ 40 и более – ожирением третьей степени (морбидным) в исследование включено не было.

Перед началом лечения, каждый пациент проверялся на соответствие критериям включения и не включения, после чего проводилось подписание информированного согласия

Согласно протоколу исследования каждый пациент прошел 12 визитов, где визит № -5 – скрининг и включение пациента, визит № -4 – физикальное обследование пациента и выполнение артроскопической санации коленного сустава. Артроскопическая санация включала в себя осмотр всех отделов коленного сустава, при наличии дегенеративно-дистрофических или посттравматических повреждений менисков выполняется их экономная резекция с последующей обработкой краев дефекта шейвером и аблятором. Визит № -3, -2 – перевязка послеоперационных ран, Визит № -1 – перевязка послеоперационных ран, снятие послеоперационных швов, Визит № 0- контрольный осмотр перед процедурой липосакции, дозированное увеличение нагрузки, Визит №1 -манипуляция (забор жировой ткани, выделение и паспортизация аутологичных регенеративных клеток из жировой ткани, интраартикулярное введение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани).

**Забор биоматериала.** Жировая ткань забирается методом стандартной шприцевой тумесцентной липосакции. Липосакция проводилась в условиях чистой перевязочной. Область забора жировой ткани предварительно инфильтрировалась раствором Кляйна содержащим адреналин, лидокаин и физиологический раствор через инфильтрационную канюлю диаметром 2 мм, длиной 30 см. Липоаспират собирался в стерильные шприцы объемом 50 мл, в которых производилось его отстаивание до полного разделения на фракции. Объем жировой ткани составлял 150 (110-150) мл.

**Получение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани.** В условиях ламинарного шкафа жировую ткань переносили из шприцев в стерильную одноразовую емкость и промывали 3 раза раствором Хартмана (Nemofarm, Сербия). Для ферментативной обработки в емкость добавляли 0,15% раствор коллагеназы 2 типа (Sigma, США) в количестве, равном объему отмытой жировой ткани. Емкость закрывали крышкой и инкубировали на шейкере в течение 30 минут при 37.0С. В дальнейшем полученную суспензию клеток фильтровали через сито с диаметром пор 100 мкм, переносили в стерильные пробирки и 3 раза отмывали от коллагеназы раствором Хартмана с последующим центрифугированием в течение 7 минут при 300g. Затем клеточный осадок растворяли в 5 мл раствора Хартмана и отбирали 0,5 мл для паспортизации образца. Оставшиеся 4,5 мл суспензии клеток переносили в стерильный шприц, который маркировали и помещали в стерильную вторичную упаковку.

**Внутрисуставное введение СВФ.** Манипуляцию производили в положении пациента лежа на спине. После трехкратной обработки операционного поля (области коленного сустава, нижней трети бедра и верхней трети голени) растворами антисептиков (йодинол, спирт), выполняли анестезию кожи и подкожной клетчатки в нижне-латеральной области коленного сустава 2,0 мл 0,5% раствора новокаина. Далее через прокол нижне-латеральным доступом иглой 20G (0,9\*70 мм.) в наружный отдел полости коленного сустава производили введение 4,5 мл суспензии СВФ. После удаления иглы накладывали асептическую и фиксирующую повязки. Дополнительную иммобилизацию не проводили. Пациент соблюдал ограничительный режим физической активности в течении 7 дней с момента введения, далее вел привычный для него образ жизни.

**Паспортизация образца СВФ.** Паспортизация образцов производилась в соответствии с разработанной Стандартной операционной процедурой и включала в себя обязательное описание общего числа клеток, жизнеспособности и субпопуляционного состава.

Подсчет клеток проводили по стандартной методике с использованием гемоцитометра и окраской трипановым синим для определения жизнеспособности. Общее число ядродержащих клеток составляло 36 (22-54) млн, жизнеспособность более 92%. Количество выделенных клеток на единицу объема жировой ткани составило 0,273(0,207-0,400) млн/мл.

Для определения субпопуляционного состава полученных клеточных продуктов суспензию клеток окрашивали флюорохромно мечеными антителами к поверхностным маркерам (CD3, 4, 14, 31, 34, 45, 90, 105, 146, все - Vecton Dickinson, США) в соответствии с инструкциями производителя. Затем проводили иммунофенотипирование образцов на проточном цитометре BD FACS CantoII (Vecton Dickinson, США).

Визиты №2-6 – физикальные, лабораторные, инструментальные методы обследования, которые состоят из: физикального обследования (пульс, артериальное давление, наличие сопутствующих заболеваний), с целью выявить наличие возможных нежелательных явлений и нежелательных реакций, выполняется общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, заполнение вопросника по оценке качества жизни SF-36, вопросника по оценке состояния коленных суставов по шкале KOOS, вопросника по ВАШ, вопросника KSS. Ультразвуковое исследование коленного сустава проводится на 2, 3, 4 и 6 визите с целью контроля динамики снижения воспаления в коленном суставе и количества внутрисуставной жидкости. В дополнение ко всему на последнем визите проводится МРТ и Рентгенография коленного сустава.

**Оценка эффективности. Данные физикального обследования.** Клиническое обследование проводится на каждом визите. Регистрируется общее состояние пациента. С этой целью проводится тщательный опрос, сбор жалоб. После этого определяется локальный статус.

При осмотре пациента в вертикальном положении регистрируются и заносятся в ИРК следующие клинические параметры: вальгусная деформация, Варусная деформация, Genu recurvatum, задний подвывих голени, Подколенная киста. При осмотре пациента в горизонтальном положении регистрируются и заносятся в таблицу следующие клинические параметры: Общий осмотр (колени)

разогнуто), Изменения кожи – отмечается наличие или отсутствие гиперемии, при ее наличии- степень выраженности. Припухлость (выпот, бурсы, жировые подушки) – отмечается наличие и локализация отечных областей, измеряется окружность конечности на уровне средней трети надколенника. Атрофия квадрицепса – измерение окружности бедра на уровне средней трети, на 15-20 см. выше верхнего полюса надколенника. Деформация - отмечается наличие контрактур и деформаций. Пальпация (при разогнутом колене) – отмечаются особенности. Повышение температуры сустава - отмечается наличие областей гипертермии и их локализация. Болезненность бедренно-надколенникового сочленения – измеряется в степени выраженности: «отсутствует», «легкая», «умеренная», «сильная», «очень сильная». Хруст, щелчки в коленном суставе при сгибании и разгибании – отмечается наличие. Пальпация во время сгибания – отмечаются особенности Пассивное разгибание – оценивается угол разгибания. Пальпация при согнутом колене - отмечаются особенности. Болезненность бедренно-большеберцового сочленения – наличие боли в проекции латеральной или медиальной суставной щели. измеряется в степени выраженности от «отсутствует», «легкая», «умеренная», «сильная», «очень сильная». Болезненность периартикулярных тканей – отмечается локализация и измеряется в степени выраженности от «отсутствует», «легкая», «умеренная», «сильная», «очень сильная» (оценивается в области надмышцелков бедренной и большеберцовой костей). Энтезопатия коллатеральных связок – отмечается наличие или отсутствие и локализация. Бурсит сухожилий Hamstring мышц - отмечается наличие или отсутствие. Синдром подвздошно-большеберцового тракта отмечается наличие или отсутствие и степень выраженности. Энтезопатия сухожилий Hamstring мышц отмечается наличие или отсутствие. Подколенная ямка (киста, болезненность) - отмечается наличие или отсутствие и измеряется в степени выраженности от «отсутствует», «легкая», «умеренная», «сильная», «очень сильная»

**Инструментальные методы исследования.** Диагностические обследования будут проведены с использованием имеющегося в клинике оборудования. Желательно, чтобы МРТ, УЗИ и рентгенологические исследования у всех

пациентов проводились с помощью одного и того же аппарата МРТ, УЗИ и рентген и с использованием одних и тех же методик.

**МРТ.** При проведении МРТ исследования использовался аппарат МРТ мощностью не менее 1.5ТЛ. Коленный сустав описывался согласно стандартному алгоритму. Он включал в себя оценку количества избыточной жидкости в заворотах коленного сустава, наличие краевых остеофитов на бедренной, большеберцовой костях и надколеннике, наличие субхондрального склероза. Оценка объема жидкости проводилась в режиме PD+FS. В зависимости от объема внутрисуставной жидкости пациенты были разделены на 3 группы. 1 группа – незначительное количество жидкости- отсутствие жидкости в боковых заворотах, толщина слоя жидкости в верхнем завороте до 0.5см в сагиттальной плоскости, диаметр кисты Беккера, содержащей жидкость до 10мм. 2 группа- средний объем жидкости – признаки скопления жидкости в боковых заворотах, толщина слоя жидкости в верхнем завороте 0.5-1.0 см., диаметр кисты Беккера, содержащей жидкость 10-20мм. 3 группа- большой объем жидкости – наличие большого объема жидкости в боковых заворотах, толщина слоя жидкости в верхнем завороте более 10мм., диаметр кисты Беккера, содержащей жидкость более 20мм. Краевые остеофиты менее 3мм расценивались как малые, более 3мм как большие. Оценивался суставной хрящ на нагружаемых поверхностях мыщелков бедренной и большеберцовой кости, отмечалось наличие хондромалиции, измерялась толщина хряща в пораженной области в режиме T1 в сагиттальной и коронарной проекции в точке с наименьшей толщиной хряща. При наличии хондральных язв оценивались их размеры, глубина хрящевого дефекта и степень изменения субхондральной кости и отек костного мозга. При оценке объема костной ткани в состоянии отека в режиме PD+FS к очагу незначительного объема относились очаги, занимавшие меньше 1/3 мыщелка или очаги, сосредоточенные только в области хондральной язвы, к очагу среднего объема – от 1/3 до 2/3 объема мыщелка, и к крупным относились очаги более 2/3 объема мыщелка. При оценке степени повреждения менисков использовалась классификация по Stoller. Отдельно описывались

коллатеральные связки, и собственная связка надколенника, наличие энтезопатий и признаков воспаления.

**Рентгенография.** При оценке рентгенограмм коленного сустава оценивалось, наличие краевых остеофитов, степень субхондрального склероза, сужение суставной щели в латеральном и медиальном отделах, заострение межмышцелкового возвышения, уплощение суставных поверхностей, признаки теннопатии коллатеральных связок и собственной связки надколенника, наличие эктопической оссификации. Ось конечности оценивалась по стандартной методике- измерялся угол между механической осью бедра (линии проведенной от вершины большого вертела до центра надколенника) и осью большеберцовой кости.

**Ультразвуковое исследование коленного сустава.** Во время проведения УЗИ коленного сустава оценивалось сухожилие 4-х главой мышцы в месте прикрепления к надколеннику, надколенник, наличие свободной жидкости в верхнем и боковых заворотах коленного сустава, ее количество и консистенция, толщина синовиальной оболочки в указанных областях, внутренняя и наружная боковые связки, наличие воспалительных изменений и теннопатии в местах их прикрепления, наличие и объем кисты Бейкера в подколенной области.

**Вопросники.** Вопросник по оценке качества жизни SF-36 (сумма баллов).

Вопросник по оценке состояния коленных суставов по шкале KOOS (сумма баллов). Вопросник по оценке функции коленного сустава по KSS (сумма баллов). Часть 1 должна быть заполнена врачом-исследователем после осмотра пациента на визите. Часть 2 должна быть заполнена пациентом самостоятельно, во время того же визита к врачу-исследователю. Вопросник по оценке боли по ВАШ.

**Статистическая обработка.** Статистическая обработка результатов выполнялась в программе R 3.2.4 (R foundation, Австрия).

**Результаты исследования.**

При оценке результатов все пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от степени ОА по Kellgren – Lowrence. Пациентов с деформирующим артрозом коленного сустава степени 1 было 13 (27.1%), 2

степени - 25 (52,0%), 3 степени - 10 (20,8%), пациенты с 4 степенью ОА в исследование включены не были по причине несоответствия критериям включения и не включения.

**Данные физикального обследования.** При оценке данных физикального обследования у пациентов всех трех групп на -5 и 6 визитах были получены следующие результаты (табл. 1).

	1 группа		2 группа		3 группа	
	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит
Отек области сустава (кол-во пациентов)	8 (61,5%)	3 (23,0%)	20 (80,0%)	8 (32,0%)	7 (70,0%)	5 (50,0%)
Окружность бедра	прирост 8,2% (2,2-9,2)		прирост 7,1% (1,8-9,8)		прирост 3,8% (1,5-4,2)	
Наличие крепитации	1 (7,7%)	1 (7,7%)	8 (32,0%)	8 (32,0%)	7 (70,0%)	7 (70,0%)
Разгибательная контрактура	4 (30,7%)	1 (7,7%)	8 (32,0%)	3 (12,0%)	5 (50,0%)	2 (20,0%)
Болезненность обл. надколенника (ВАШ)	нет	нет	нет	нет	5,0 (3,0-6,0)	3,0 (1,0-4,0)
Боль при пальпации в проекции суставной щели (ВАШ)	4,5 (4,0-6,5)	0,0 (0,0-1,0)	5,8 (5,0-6,0)	2,0 (1,0-4,0)	6,0 (6,0-7,0)	2,0 (1,0-4,0)
Боль при пальпации периартикулярных тканей (ВАШ)	4,0 (3,5-5,0)	0,5 (0,0-1,0)	4,0 (3,0-5,0)	1,0 (1,0-1,0)	5,0 (4,0-6,0)	2,0 (1,0-4,0)
Энтезопатия коллатеральных связок	нет	нет	нет	нет	4 (40,0%)	6 (60,0%)

Таблица 1. Данные физикального обследования пациентов на -5 и 6 визитах.

У большинства пациентов отмечается локальная нормотермия мягких тканей области коленного сустава как на момент скрининга, так и при окончании исследования. У одного пациента (7,7%) с ОА 1 степени, двух (4,0%) пациентов с ОА 2 степени и одного (10,0%) пациента ОА 3 степени отмечается

незначительное повышение температуры сустава на 2 визите после введения СВФ.

### Инструментальные методы исследования

**Ультразвуковое исследование коленного сустава.** При анализе данных, полученных во время проведения УЗИ коленного сустава не отмечалось каких-либо изменений сухожилия 4-х главой мышцы в месте прикрепления к надколеннику у пациентов всех групп.

При оценке коллатеральных связок у 7 (70,0%) пациентов ОА 3 степени на скрининговом визите имели признаки воспаления, утолщения, разволокнения и энтезопатии коллатеральных связок как на стороне поражения хряща, так и на контр-латеральной стороне. На момент окончания исследования вышеперечисленные признаки обнаруживались у 4 (40,0%) пациентов. У пациентов с ОА 1 и 2 степени подобных явлений обнаружено не было. Динамика изменения объема внутрисуставной жидкости и толщины синовиальной оболочки показана в таблице 2.

	1 группа		2 группа		3 группа	
	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит
Объем жидкости в области верхнего заворота, мл.	7,8 (6,7-9,0)	1,0 (1,0-2,0)	9,0 (7,0-12,7)	2,0 (0,6-10,0)	7,2 (5,1-10,2)	4,0 (0,0-6,0)
Толщина синовиальной оболочки, см.	0,17 (0,15-0,26)	0,07 (0,06-0,08)	0,25 (0,22-0,28)	0,1 (0,7-0,11)	0,16 (0,10-0,22)	0,12 (0,10-0,14)

Таблица 2. Динамика изменения объема внутрисуставной жидкости и толщины синовиальной оболочки при проведении УЗИ на -5 и 6 визитах.

**МРТ.** У всех пациентов, включенных в исследование при анализе МРТ на визите -5 обнаруживались хондральные дефекты нагружаемых поверхностей мыщелков бедренной или большеберцовой костей. У пациентов с ОА 1 степени площадь дефекта составляла 1,6 (0,62-4,65) см<sup>2</sup>, ОА 2 степени - 2,33 (1,92-2,50) см<sup>2</sup>, ОА 3 степени - 2,8 (2,1-4,3) см<sup>2</sup>. На 6 визите размеры хондральных дефектов не изменялись, но у всех пациентов с ОА 1 степени они были покрыты тканью, по качеству МР-сигнала сопоставимой с хрящевой, во 2й группе - у 20 (80,0%) пациентов, в 3й группе – у 5 (50,0%) пациентов. Динамика изменения остальных показателей, оцениваемых при МРТ отображена в таблице 3.



	1 группа		2 группа		3 группа	
	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит
Избыточная жидкость отсутствует	нет	9 (69,2%)	нет	6 (24,0%)	нет	1 (10,0%)
Незначительный объем избыточной жидкости	9 (69,2%)	4 (30,7%)	7 (28,0%)	12 (48,0%)	6 (60,0%)	7 (70,0%)
Средний объем избыточной жидкости	2 (15,4%)	нет	10 (40,0%)	7 (28,0%)	3 (30,0%)	2 (20,0%)
большой объем избыточной жидкости	2 (15,4)	1 (7,7%)	8 (32,0%)	нет	1 (10,0%)	нет
Толщина хряща на бедренной кости, мм.	2,6 (2,4 - 3,15)	3,4 (2,75-3,45)	1,9 (1,5-2,6)	2,5 (2,1-3,4)	1,3 (1,2-1,5)	1,7 (0,8-2,0)
Толщина хряща на большеберцовой кости, мм.	2,4 (2,2-2,65)	2,5 (2,3-2,75)	1,8 (1,5-2,2)	2,2 (1,6-2,4).	1,7 (1,0-2,2)	2,1 (1,8-2,4)
Площадь хондрального дефекта, см <sup>2</sup>	1,6 (0,62-4,65).		2,33 (1,92-2,50)		2,8 (2,1-4,3)	
Отек костного мозга отсутствует	3 (23,0%)	8 (61,5%)	11 (44,0%)	18 (72,0%)	нет	1 (10,0%)
Отек костного мозга малого объема	6 (46,2%)	5 (19,4%)	13 (52%)	нет	4 (40,0%)	5 (50,0%)
Отек костного мозга среднего объема	4 (30,7%)	нет	нет	7 (28,0%)	3 (30,0%)	3 (30,0%)
Отек костного мозга большого объема	нет	нет	1 (4,0%)	нет	3 (30,0%)	1 (10,0%)
Признаки тендинита коллатеральных связок	нет	нет	нет	нет	4 (40,0%)	3 (30%,0)

Таблица 3 Динамика изменения данных МРТ исследования на -5 и 6 визитах.

**Рентгенография.** У всех пациентов 1й группы отмечалась нормальная ось конечности и отсутствие ее деформации, во 2й группе у 7 (28) % пациентов отмечалась варусная деформация оси конечности, у 18 (72%) ось конечности

была правильной, в 3й группе у всех пациентов отмечалась деформация оси конечности. У 3 (30,0%) пациентов угол деформации был вальгусным, у 7 (70,0%) варусным. В 1й группе у всех пациентов краевые остеофиты, сужение суставной щели отсутствовали, во 2й группе мелкие краевые остеофиты определялись у 8 (32%) пациентов, в 3й группе мелкие краевые остеофиты определяются у 4 (40,0%) пациентов, у 6 (60,0%) определяются крупные краевые остеофиты. Субхондральный склероз обнаруживался только у 8 (80,0%) пациентов 3й группы.

Заострение межмыщелкового возвышения наблюдалось у 10 (76,9%) пациентов 2й группы и у всех пациентов 3й группы. Рентгенологических признаков тенотении коллатеральных связок и собственной связки надколенника, а также наличие эктопической оссификации не было обнаружено ни у одного пациента всех групп,

**Опросники.** При анализе данных оценочных шкал получены следующие результаты. У пациентов 1й группы отмечается статистически значимое снижение выраженности боли по ВАШ со 2го визита, улучшение функции коленного сустава по KOOS с 3го визита, по KSS с 4 и 6 визита по первой и второй части опросника соответственно. Также отмечалось статистически значимое улучшение физического компонента здоровья по SF-36 с 3го визита.

У пациентов 2й группы отмечается статистически значимое снижение выраженности боли по ВАШ со 2го визита, улучшение функции коленного сустава по KOOS с 3го визита, по KSS с 3 и 4 визита по первой и второй части опросника соответственно. Также отмечалось статистически значимое улучшение физического компонента здоровья по SF-36 с 4го визита.

У пациентов 3й группы отмечается статистически значимое снижение выраженности боли по ВАШ со 2го визита, улучшение функции коленного сустава по KOOS с 3го визита, по KSS с 2 и 5 визита по первой и второй части опросника соответственно. Также отмечалось статистически значимое улучшение физического компонента здоровья по SF-36 с 3го визита.

Динамика изменения показателей на -5 и 6 визитах отображена в таблице 4.

	1 группа		2 группа		3 группа	
	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит	-5 визит	6 визит
ВАШ (баллы)	5,0 (5,0-5,0)	0,0 (0,0-1,0)	6,0 (5,0-7,0)	1,0 (0,0-2,5)	7,0 (6,0-7,0)	2,0 (0,5-4,0)
KOOS (баллы)	68 (50-70)	88 (82-95)	55 (41-61)	62 (49-92)	50 (45-53)	75 (62-81)
KSS 1 часть (баллы)	54,5 (42,0-72,0)	88,0 (84,0-88,0)	67,0 (65,0-78,0)	90,0 (88,0-93,0)	50,0 (39,0-62,0)	82,0 (61,0-86,0)
KSS 2 часть (баллы)	70,0 (60,0-80,0)	100,0 (90,0-100,0)	50,0 (45,0-60,0)	60,0 (42,0-99,0)	60,0 (60,0-62,5)	79,0 (65,0-83,0)
SF-36 физический компонент здоровья (баллы)	42,4 (42,4-42,6)	52,0 (47,0-54,0)	41,5 (32,0-50,8)	45,0 (33,0-57,0)	32,1 (30,1-35,6)	44,5 (40,6-51,7)

Таблица 4. Динамика изменения баллов по ВАШ, KSS, KOOS, SF-36.

## ВЫВОДЫ

1. Применение стромально-васкулярной фракция из жировой ткани приводит к восстановлению хондральных дефектов на нагружаемых поверхностях мыщелков бедренной и большеберцовой костей, и способствует покрытию поверхности дефекта тканью по качеству МР-сигнала сопоставимой с хрящевой у 100% пациентов с ОА 1 и 2 степени и у 50% пациентов с ОА 3 степени. Также СВФ увеличивает толщину суставного хряща по периферии очага хондрального дефекта на бедренной кости на 30,7%, с 2,6 (2,4-3,15)мм. до 3,4 (2,75-3,45)мм. у пациентов с ОА 1 степени. На 22,2% с 1,8 (1,5-2,2)мм, до 2,2 (1,6-2,4)мм на большеберцовой кости, на 31,5% с 1,9 (1,5-2,6)мм, до 2,5 (2,1-3,4)мм на бедренной кости у пациентов с ОА 2 степени. На 23,5% с 1,7 (1,0-2,2)мм. до 2,1 (1,8-2,4)мм на большеберцовой кости, и на 30,0% с 1,3 (1,2-1,5)мм. до 1,7 (0,8-2,0) на бедренной кости у пациентов с ОА 3 степени.

2. Применение внутрисуставной инъекции СВФ у пациентов с ОА разных степеней оказывает выраженный терапевтический эффект в течение всего периода наблюдения:

У пациентов с ОА 1 степени отмечается увеличение окружности бедра на уровне средней трети на 8,2%, снижение болевого синдрома, оцененного по

ВАШ с 5,0 до 0,0 баллов. Улучшение функции коленного сустава, оцененной по шкале KOOS с 65 до 88 баллов, по шкале KSS (1 часть) с 54,5 до 82,0 баллов, KSS (2 часть) с 70,0 до 100,0 баллов. А также отмечается улучшение качества жизни, оцененного по шкале SF-36 с 42,4 до 49,9 баллов.

У пациентов с ОА 2 степени отмечается увеличение окружности бедра на уровне средней трети на 7,1%, снижение болевого синдрома, оцененного по ВАШ с 6,0 до 1,0 балла. Улучшение функции коленного сустава, оцененной по шкале KOOS с 50 до 60 баллов, по шкале KSS (1 часть) с 67,0 до 90,0 баллов, KSS (2 часть) с 50,0 до 80,0 баллов. А также отмечается улучшение качества жизни, оцененного по шкале SF-36 с 41,5 до 48,7 баллов.

У пациентов с ОА 3 степени отмечается увеличение окружности бедра на уровне средней трети на 3,8%, снижение болевого синдрома, оцененного по ВАШ с 7,0 до 2,0 баллов. Улучшение функции коленного сустава, оцененной по шкале KOOS с 50 до 78 баллов, по шкале KSS (1 часть) с 50,0 до 82,0 баллов, KSS (2 часть) с 60,0 до 80,0 баллов. А также отмечается улучшение качества жизни, оцененного по шкале SF-36 с 32,1 до 44,5 баллов.

3. Клетки, входящие в состав СВФ способны оказывать выраженный противовоспалительный эффект на ткани коленного сустава. Это выражается в уменьшении болевого синдрома, оцененного по ВАШ с 5,0 до 0,0 баллов у пациентов с ОА 1 степени, с 6,0 до 1,0 балла у пациентов с ОА 2 степени и с 7,0 до 2,0 баллов у пациентов с ОА 3 степени. Уменьшении толщины синовиальной оболочки и объема внутрисуставной жидкости, оцененными при проведении УЗИ с 0,17см до 0,07см и 7,8мл до 1,0мл у пациентов с ОА 1 степени, с 0,25см до 0,1см и 9,0мл до 2,0мл у пациентов с ОА 2 степени, с 0,16см до 0,12см и 7,2мл до 4,0мл у пациентов с ОА 3 степени соответственно. Отмечается уменьшение количества пациентов с трабекулярным отеком костной ткани среднего объема на 30,7% и малого объема на 27,0% в первой группе. Уменьшение количества пациентов с трабекулярным отеком костной ткани небольшого объема на 24,0%, и большого объема – на 4,0% во второй группе. Уменьшение количества пациентов с трабекулярным отеком костной ткани большого объема на 20,0% в третьей группе.

4. Внутрисуставное введение СВФ оказывает выраженный терапевтический эффект у пациентов с любой степенью ОА при наличии хондромалиции суставных поверхностей и хондральных дефектов. У пациентов всех групп была выявлена положительная динамика при проведении физикального обследования, анализе данных лабораторных и инструментальных методов исследования и анализе данных опросников. Причем степень выраженности эффекта была одинакова у пациентов всех групп. Однако к окончанию исследования у пациентов с ОА 1 и 2 степени удалось достичь практического полного выздоровления, в то время как у пациентов с ОА 3 степени болевой синдром и нарушение функции по-прежнему сохранялись, но степень их выраженности значительно снизилась.

5. У всех пациентов с ОА 1 и 2 степени достигнут хороший клинический эффект, не зависимо от состояния коленного сустава. У пациентов с ОА 3 степени выраженность терапевтического и регенеративного эффекта зависит от индекса массы тела (ВМІ) – не более 35, степени субхондрального склероза и деформации оси конечности более 5 градусов от нормы. Для получения лучших клинических результатов у пациентов с ОА 3 степени требуется повторное внутрисуставное введение СВФ.

6. Проведение лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава при помощи СВФ показано всем пациентам с ОА 1 и 2 степени. Относительным противопоказанием у пациентов с ОА 3 степени является индекс массы тела больше 35,0, выраженный субхондральный склероз и деформация оси конечности более 5 градусов от нормы. Противопоказанием является наличие ОА 4 степени, а также тяжелая сопутствующая патология, влияющая на состав СВФ, и наличие инфекционных заболеваний.

7. Разработанный алгоритм применения стромально-васкулярной фракции из жировой ткани для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава позволяет эффективно применять данную методику не только в условиях многопрофильной больницы, но и в условиях дневного стационара.

## **Практические рекомендации**

В клинической практике данная методика может применяться в рамках дневного стационара, или стационара одного. Первым этапом в условиях операционной или асептической перевязочной выполняется процедура липосакции, затем биоматериал передается в лабораторию, для выделения СВФ (2-3 часа), в это время, при необходимости, пациенту выполняют артроскопическую санацию коленного сустава и парциальную резекцию менисков. После этого пациента переводят в палату наблюдения, где проводится внутрисуставное введение СВФ. Через час после внутрисуставного введения СВФ пациент может быть выписан из стационара. Необходимо проведение контрольных визитов через 1 и 4 недели с момента введения СВФ. Необходимо отметить, что время транспортировки готового клеточного продукта от лаборатории, где было произведено выделение СВФ до учреждения здравоохранения, где находится пациент не должно составлять более 3 часов.

## **Публикации**

1. Смышляев И.А., Гильфанов С.И., Копылов В.А., Гильмутдинов Р.Г., Пулин А.А., Корсаков И.Н., Гильмутдинова И.Р., Петрикина А.П., Еремин П.С., Крючкова О.В., Абельцев В.П., Загородний Н.В., Зорин В.Л., Васильев В.С., Пупынин Д.Ю., Еремин И.И. «Оценка безопасности и эффективности внутрисуставного введения стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения гонартроза: промежуточные результаты клинического исследования». *Травматология и ортопедия России*. 2017;23(3):17-31. DOI:[10.21823/2311-2905-2017-23-3-17-31](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-3-17-31)

2. Смышляев, И.А. et al. «Эффективность применения стромально-васкулярной фракции при лечении повреждений хрящевой ткани коленного сустава. Промежуточные результаты». *Кремлевская медицина. Клинический вестник*, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 70-79, дек. 2017. ISSN 1818-460X. Доступно на: <<http://kremlin-medicine.ru/index.php/km/article/view/1115>>.

3. Смышляев И.А. «Применение стромально-васкулярной фракции для лечения дегенеративно- дистрофических повреждений суставного

хряща коленного сустава». материалы III Национального Конгресса по регенеративной медицине 15-18 ноября 2017г. ISSN 2313-1829 Том XII, № 3, 2017 Гены и клетки Стр. 228

4. Смышляев И.А., Гильфанов С.И., Копылов В.А., Гильмутдинов Р.Г., Пулин А.А., Корсаков И.Н., Гильмутдинова И.Р., Петрикина А.П., Еремин П.С., Крючкова О.В., Абельцев В.П., Загородний Н.В., Васильев В.С., Пупынин Д.Ю., Еремин И.И. «Возможности использования стромально-васкулярной фракции из жировой ткани для лечения дегенеративных изменений хряща коленного сустава». Материалы I съезда травматологов-ортопедов центрального федерального округа. Смоленск 14-15 сентября 2017г. стр 254-255, издательство «Эко-Пресс» ISBN 978-5-906519-70-2.

5. И.А.Смышляев, С.И.Гильфанов, В.А.Копылов, А.А.Пулин, И.Н.Корсаков, И.Р.Гильмутдинова, А.П.Петрикина, П.С.Еремин, О.В.Крючкова, В.С.Васильев, И.И.Еремин. «Возможности лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава при помощи стромально-васкулярной фракции из жировой ткани». Сборник Материалы XI всероссийского съезда травматологов-ортопедов, место издания VVM Publishing Ltd, Санкт-Петербург, том 2, тезисы, с. 821-822.

**Смышляев Иван Александрович (Россия)**

**Применение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения дегенеративных заболеваний коленного сустава**

В работе представлены результаты лечения 48 пациентов с артрозом коленного сустава различных степеней при помощи стромально-васкулярной фракции (СВФ), выделенной из жировой ткани самих пациентов. В работе подробно описана процедура подбора пациентов и их соответствие критериям включения в исследование. Параметры оценки входящих данных каждого пациента, включающие физикальный осмотр, лабораторные данные, данные инструментальных методов исследования, таких как МРТ, рентгенография и УЗИ коленного сустава, а также заполнение опросников. Сроки наблюдения за пациентами составили 24 недели с момента введения СВФ в коленный сустав. Каждый из пациентов прошел 6 контрольных визитов после манипуляции. Разработанная методика лечения дегенеративных заболеваний коленного сустава показала себя эффективной и безопасной для всех исследуемых пациентов. Данный вид лечения оказывал выраженный терапевтический эффект у пациентов всех групп. Применение СВФ позволило снизить болевой синдром в области коленного сустава, увеличить объем движений, снизить степень воспаления в полости сустава, что доказано при проведении УЗИ, МРТ и анализе опросников. А также позволило увеличить объем хрящевой ткани на нагружаемых поверхностях мыщелков бедренной и большеберцовой костей и восстановить хондральные дефекты у пациентов с остеоартрозом различных степеней. Безопасность применения данной методики заключается в отсутствии возникновения побочных эффектов от ее применения и минимальном количестве нежелательных побочных реакций, связанных с общим состоянием коленного сустава у пациентов с остеоартрозом 3 степени.

С учетом полученных результатов разработан эффективный способ лечения пациентов с повреждением хряща коленного сустава, и разработан алгоритм применения данной методики в клинической практике. Результаты данного



исследования внедрены в клиническую практику, а также активно используются во время учебного процесса, во время занятий с ординаторами и аспирантами.

**Smyshlyaev Ivan Alexandrovich**

**The use of autologous regenerative fat cells for the treatment of degenerative diseases of the knee**

In the dissertation regard the results of treatment of 48 patients with knee arthrosis of various degrees by the help of stromal vascular fraction (SVF) isolated from the adipose tissue of this patients . This dissertation describes the procedure of the selection patients in the details and their compliance with the criterion. And also parameters of assessment of the medical history of each patient: physical examination, laboratory information, the results of instrumental methods (MRI, x-ray and ultrasound of the knee), filling the questionnaires. The follow-up period for patients was 24 weeks after the implementation of SVF into the knee joint. Each of the patients was conducted 6 monitoring visits after the procedure. This method of treatment of degenerative diseases of the knee proved to be effective and safety for all studied patients. This type of treatment has proven effective therapeutic effect in all patients.

The use of SVF allowed to reduce pain in the knee joint, increase the level of mobility, reduce inflammation in the joint cavity. This results has been proven by ultrasound, MRI and analysis of the questionnaire lists. And also the use of SVF allowed to increase the size of cartilage tissue on the loaded surfaces of the condyle of the femur and tibia and restore chondral defects for patients with osteoarthritis of various degrees. The safety of this technique is the absence of side effects and a minimum of undesirable side effects associated with the general condition of the knee in patients with osteoarthritis 3 degree. As a result of the dissertation an effective method of treatment of patients with damage to the cartilage of the knee joint and an algorithm of using this technique in clinical practice were developed. The results of this dissertation were implemented Into the clinical practice, and actively used in education, during classes with residents and graduate students.