

## МИНИМАЛЬНО МАНИПУЛИРОВАННЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ ПРОДУКТ В ПЛАСТИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

**А. Мелерзанов**<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук,  
**Н. Мантурова**<sup>2</sup>, доктор медицинских наук

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский  
медицинский университет им. Н.И. Пирогова

**E-mail:** m83071@gmail.com

*Применение минимально манипулированных клеточных продуктов в регенеративной медицине и пластической хирургии открывает новые возможности развития персонализированной медицины. Крупные клиники пластической хирургии наиболее приспособлены для оказания такого рода медицинской помощи благодаря как квалификации персонала, так и возможностям создания лабораторий для работы с клеточными продуктами.*

**Ключевые слова:** минимально манипулированный клеточный продукт, стволовые клетки из жировой ткани, пластическая хирургия, регенеративная медицина.

**А**утологичные стволовые клетки (СК), полученные из жировой ткани (adipose-derived stem cells – ASC), – жировые стволовые клетки (ЖСК) – наиболее доступный в клинике источник мезенхимальных СК (МСК). В жировой ткани содержатся значительные количества ЖСК, которые могут быть получены с помощью сравнительно безопасной процедуры – липосакции [1]. Несмотря на то, что перспективность применения ЖСК для терапии различных состояний и заболеваний человека уже доказана, законодательство РФ значительно тормозит развитие этого направления [2].

В последние 10 лет предпринимались неоднократные попытки урегулирования вопроса о клеточных технологиях. Была опубликована временная инструкция, выпускалось и обновлялось положение о лицензировании видов медицинской деятельности [3–5], появились новые определения клеточных технологий и клеточных продуктов (КП), неоднократно обсуждался и изменялся проект Закона «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов» [6], который в 2015 г. поступил в Государственную Думу РФ [7]. При этом подход к применению аутологичных (собственных) и аллогенных СК в этом законопроекте существенно не отличается от такового в предыдущих нормативно-правовых актах (НПА). Не введено понятие минимально манипулированного КП (ММКП) [8] (как в Европе и США), применение которого также требует иного подхода, нежели общий подход к регулированию применения КП.

Учитывая гораздо меньшие риски применения аутологичных СК, чем иных СК (перенос вирусов и других возбудителей инфекций, аллергические реакции на чужеродные элементы и пр., а также то, что аутологичный продукт по определению не может быть использован у других реци-

пиентов), было бы целесообразно регулировать отдельными НПА применение аутологичных КП [9]. Необходимо создать новый вид лицензируемой деятельности и в случае соблюдения технологии получения ММКП разрешить клиникам, располагающим соответствующими условиями, применение аутологичных СК. Это позволило бы сделать существенный шаг вперед в развитии трансляционной и персонализированной регенеративной медицины и одновременно контролировать несанкционированное применение СК, что представляет собой большую проблему во многих странах [10].

«ЖСК — это мезенхимальные стволовые клетки, получаемые из жировой ткани, прикрепляющиеся к пластику, способные к размножению в условиях *in vitro* и к последующей дифференцировке в многочисленные клеточные линии. ЖСК могут быть получены из избыточной жировой ткани (подкожной жировой клетчатки) при помощи минимально инвазивной процедуры, что приводит к получению значительного количества клеток... Выход СК из жировой ткани выше, чем из костного мозга, как при аспирации, так и при вырезании жировых тканей. 1 грамм аспирированной жировой ткани дает приблизительно  $3,5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$  ЖСК», — говорится в одной из публикаций [11].

Фенотип ЖСК (МСК) определяется наличием и отсутствием определенных поверхностных маркеров, которые могут варьировать, особенно при длительном культивировании. Принято считать, что наличие основных «мезенхимальных» маркеров CD73, CD90, CD105 и отсутствие «гематопоэтических» маркеров CD14, CD31, CD45 и HLA-DR определяет фенотип ЖСК в отличие от гематопоэтических стволовых клеток, обычно получаемых из костного мозга.

ЖСК обладают выраженной секреторной способностью, что имеет огромное значение для регенеративной медицины. Они вырабатывают ряд биологически активных веществ, включая ростовые факторы — bFGF, VEGF, insulin-like growth factor-1, HGF, TGFβ1 (соответственно основной фактор роста фибробластов, эндотелиальный ростовой фактор, инсулиноподобный ростовой фактор, фактор роста гепатоцитов, трансформирующий ростовой фактор-β1). Биологически активные вещества, вырабатываемые ЖСК, способствуют развитию паракринного эффекта, обуславливающего стимулирующее воздействие на окружающие ткани в месте введения ЖСК. В свою очередь, ЖСК чувствительны к воздействию ростовых факторов и медиаторов воспаления, вырабатываемых при повреждении (и реактивном воспалении) тканей. Под воздействием указанных факторов ЖСК принимают участие в репарации повреждения.

Таким образом, ЖСК являются действенным инструментом регенеративной медицины. Правильно сохраненные (включая процесс криоконсервирования, хранения и контролируемого размораживания) аутологичные ЖСК могут являться так называемой биологической страховкой. ЖСК могут быть также основой для персонализированной регенеративной медицины и в перспективе — для трансляционной — при индивидуальном подборе лекарств и прочих приложениях, основанных на применении биоинформатики и создании 3D-инженерных конструкций тканей, включая биопринтинг.

Несмотря на блестящие перспективы применения ЖСК, сегодня еще не все эффекты, распространение в организме и длительность пребывания в нем аутотрансплантированных ЖСК очевидны. Поэтому требуется рациональный подход

к их применению в клинической практике, основанный на создании правильного алгоритма выделения, переработки и применения сертифицированным персоналом в специальных условиях.

При современном состоянии изученности СК создание нового лицензируемого вида медицинской деятельности — персонализированной медицины, помимо соблюдения необходимых требований к оснащению операционной, клеточной лаборатории и криохранилища, требует ограничения степени переработки первичного клеточного материала и обеспечения контроля качества КП. В частности, клиникам персонализированной медицины следует разрешить только применение ММКП, для чего требуется введение понятия ММКП в законодательство с соответствующими определениями.

Сегодня существуют рекомендации Федерального агентства по лекарствам и пищевым продуктам США (Food and Drug Administration — FDA), касающиеся определения понятия минимально манипулированных клеток, тканей и созданных на их основе продуктов:

- ММКП предназначен только для гомологичного применения, что должно быть отражено производителем в маркировке продукта;
- в ММКП не могут быть использованы вещества, кроме воды, растворов, консервантов и веществ, сохраняющих стерильность материала, которые разрешены к применению и в отношении которых не возникают вопросы о безопасности их применения у людей в контексте ММКП;
- ММКП, дающие системный эффект или сохраняющие метаболическую активность в соответствии со своей первичной функцией (дифференцированные клетки), могут быть использованы:
- аутологично;
- аллогенно у родственников I–II степени родства;
- для репродукции.

Аутологичные продукты на основе ЖСК:

- нативные ЖСК;
- дифференцированные клетки, полученные при культивировании ЖСК *in vitro* (хондроциты, остециты и пр.);
- индуцированные плюрипотентные клетки;
- конструкции с применением носителей (scaffold).

По данным FDA, с 2006 по 2012 г. в мире произошел практически 3-кратный рост количества поданных в FDA проектов о применении продуктов на основе МСК. За этот период в мире было зарегистрировано 246 проектов клинических исследований с применением МСК (<http://clinicaltrials.gov>), причем термин «мезенхимальная стволовая клетка» использовался для описания 72% проектов.

Еще более интересен факт роста применения ЖСК от количества всех МСК на 0–50% в течение нескольких лет. Тем не менее в соответствии с определением FDA, даже ЖСК не являются ММКП [12]. Однако, по нашим представлениям, если протокол работы с ЖСК соблюдается, их можно считать ММКП.

Для сохранения безопасности применения, ассоциирующейся со статусом ММКП, протокол должен предусматривать:

- минимальное применение ферментов для выделения ЖСК из жировой ткани;
- культивирование на бессывороточных средах либо с применением аутологичной сыворотки;

- культивирование в течение  $\leq 5$  пассажей при тщательном контроле фенотипа (определение сохранения стволовости клеток – отсутствие дифференцировки и трансформации);
- исключение применения генетической трансформации клеток любым способом.

Фактически речь идет о нативных ЖСК, причем для минимизации системного эффекта предусмотрено локальное их применение – пластическая хирургия, регенеративная медицина при лечении повреждений кожного покрова (трофические и диабетические язвы и т.п.) [13].

Реализация пилотного проекта по персонализированной клеточной медицине в рамках клиник пластической хирургии и регенеративной медицины могла бы стать первым шагом на пути внедрения новой технологии. В пластической хирургии фактически осуществляется применение ММКП при пересадке жира, что соответствует существующему порядку оказания помощи по специальности «Пластическая хирургия» [14]. Таким образом, пластическая хирургия является одним из направлений регенеративной медицины, в котором применение ММКП имеет минимальный риск при условии контроля в сочетании с отсутствием менее контролируемого системного эффекта. Требуется только уточнить (расширить) показания к применению ММКП в рамках специальности «Пластическая хирургия», для чего необходимо законодательно утвердить новый вид лицензируемой деятельности – применение ММКП. С этой целью необходимо:

- дать определение ММКП (минимальная обработка клеток, исключая генетическую модификацию, а также изменение фенотипа, меняющего свойства клеток, в том числе культивирование клеток в течение  $>5$  пассажей);
- определить:
  - условия применения ММКП (строго аутологичное применение);
  - условия работы клиник: асептические условия операционной и лаборатории, исключая контаминацию; документированная логистика, исключая ошибку в виде трансплантации КП другому реципиенту (не донору), включая банкированные КП; наличие возможностей фенотипирования клеток;
  - квалификацию персонала (сертификация, дающая право работы с КП как в лаборатории, так и в операционной).

Эти меры установят правила внедрения персонализированного КП в клиническую практику пластической хирургии, что позволит, с одной стороны, контролировать несанкционированное применение КП медицинским персоналом без должной врачебной квалификации, а с другой – развивать данный аспект регенеративной медицины.

## Литература

1. Meyer J., Salamon A., Herzmann N. et al. Isolation and Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells From Adipose Tissue Harvested by Water Jet-Assisted Liposuction // *Aesthet. Surg. J.* – 2015; pii: sjv075.
2. Александрова О.Ю., Мелерзанов А.В. Проблемы лицензирования медицинской деятельности, связанной с разработкой и применением клеточных технологий // *Экономика здравоохранения.* – 2010; 3 (147): 55–60
3. Александрова О.Ю., Мелерзанов А.В. Организационно-правовые проблемы разработки и применения новых клеточных технологий в РФ // *Здравоохранение.* – 2010; 5: 143–50.
4. Александрова О.Ю., Мелерзанов А.В. Организационно-правовые проблемы разработки и применения новых клеточных технологий в РФ (продолжение) // *Здравоохранение.* – 2010; 6: 155–72.
5. Александрова О.Ю., Мелерзанов А.В. Организационно-правовые проблемы разработки и применения новых клеточных технологий в РФ (окончание) // *Здравоохранение.* – 2010; 7: 149–60.
6. Исаев А.А. О законопроекте «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов» <http://genesells.ru/blog/post/148>
7. Кабмин направил в Госдуму законопроект об обращении биомедицинских клеточных продуктов. <http://tass.ru/obschestvo/1748515>
8. Minimal Manipulation of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm427692.htm>
9. Draft Guidance for Industry: Same Surgical Procedure Exception under 21 CFR 1271.15(b): Questions and Answers Regarding the Scope of the Exception <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm419911.htm>
10. Stem cell clinics, FDA, and giant, unapproved for-profit human experiments. <http://www.ipsell.com/2015/01/stemhumanexperiment/>
11. Minter D., Marra K., Rubin J. Adipose stem cells: biology, safety, regulation, and regenerative potential // *Clin. Plast. Surg.* – 2015; 42 (2): 169–79. doi: 10.1016/j.cps.2014.12.007
12. Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/PS) from Adipose Tissue: Regulatory Considerations; Draft Guidance <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm427795.htm>
13. Marino G., Moraci M., Armenia E. et al. Therapy with autologous adipose-derived regenerative cells for the care of chronic ulcer of lower limbs in patients with peripheral arterial disease // *J. Surg. Res.* – 2013; 185 (1): 36–44. doi: 10.1016/j.jss.2013.05.024. Epub 2013 May 28.
14. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 30 октября 2012 г. №555н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "пластическая хирургия"».

### A MINIMALLY MANIPULATED CELLULAR PRODUCT IN PLASTIC SURGERY AND REGENERATIVE MEDICINE

**A. Melerzanov**<sup>1</sup>, Candidate of Medical Sciences; **N. Manturova**<sup>2</sup>, MD

<sup>1</sup>Moscow Institute of Physics and Technology

<sup>2</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

*The use of minimally manipulated cellular products in regenerative medicine and plastic surgery will open up fresh opportunities in the development of personalized medicine. Large plastic surgery clinics are mostly adapted to this type of medical care owing to the qualification of the staff and the possibilities of setting up laboratories to work with cellular products.*

**Key words:** minimally manipulated cellular products, adipose-derived stem cells, plastic surgery, regenerative medicine.