

## **Obecny stan wiedzy**

Komórki macierzyste to najbardziej pierwotne, niedojrzałe i niewyspecjalizowane komórki tworzące struktury żywego organizmu. Ze względu na fakt, że są one samoodnawialne i mają przy tym olbrzymi potencjał do namnażania się i przekształcania w określone, wyspecjalizowane komórki są podstawą budowy wszelkich organów i tkanek ciała. Stosowanie komórek macierzystych to metoda bezpieczna i powszechnie stosowana w ortopedii na całym świecie. Według aktualnego stanu wiedzy tego typu terapia cechuje się wysoką skutecznością mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC, ang. Mesenchymal Stem Cells) w zakresie poprawy funkcji stawu oraz zmniejszenia dolegliwości bólowych. Właściwości tych komórek dają nadzieję na regenerację chondrocytów - komórek budujących chrząstkę, a więc być może częściowe odtworzenie jej powierzchni [1]–[3].

Dorośle komórki macierzyste mogą pochodzić z różnych źródeł takich jak szpik kostny, tkanka tłuszczowa czy tkanki płodowe. Tkanka tłuszczowa jest łatwo dostępnym źródłem komórek macierzystych, które mogą być z niej wyizolowane i przetworzone w celu zastosowania u chorego. Komórki mezenchymalne uzyskane w taki sposób mogą być wykorzystane u chorego w celach regeneracyjnych. Podanie komórek mezenchymalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej prowadzi do poprawy klinicznej i redukcji bólu w zwyrodnieniach stawów [4][5][6][7][8]. MSC mogą być wykorzystane jak wsparcie rutynowych zabiegów operacyjnych w zakresie kolana – przyczyniając się do poprawy wyników leczenia [9][10]. Postulowane mechanizmy działania takich komórek to miejscowa regeneracja chrząstki i wpływ ochronnych na chondrocyty [11] oraz działanie immunomodulujące na układ odpornościowy [12].

Degeneracja i uszkodzenie chrząstki stawowej jest najczęściej wolno zachodzący proces prowadzący do powstania dolegliwości bólowych, zmniejszenia zakresu ruchomości, wysięków i sztywności. Doprowadza to do utraty funkcji danego narządu, zmniejszenia jakości życia. Przewlekłe, wieloletnie dolegliwości doprowadzają do tego, iż Pacjent zmniejsza swoją aktywność fizyczną, często wycofuje się z aktywnego życia społecznego. Zaniechanie aktywności ruchowej bezpośrednio przekłada się na zwiększone ryzyko powstania chorób metabolicznych, sercowo- naczyniowych, psychologicznych a te czynniki powodują pogorszenie jakości życia a nawet mogą doprowadzić do przedwczesnej śmierci [1]. Szczególnie narażone są osoby uprawiające zawodowo sport, u których w nawet stosunkowo młodym wieku dochodzi często do silnego uszkodzenia powierzchni stawów.

Przyczyny degeneracji chrząstki stawowej doprowadzającej do artrozy stawu to: starzenie się i osłabione mechanizmy regeneracji, otyłość, choroby metaboliczne, brak aktywności fizycznej, predyspozycje genetyczne, płeć czy też przebyte urazy (złamania, niestabilności więzadłowe itd.) Wg WHO artroza dotyka od 10 - 15 % całej populacji powyżej 60 roku życia. Problem ten jednak dotyka ludzi w każdym przedziale wiekowym. W zaawansowanych stadiach chorobowych leczeniem z wyboru jest protezoplastyka stawów. Zabiegi te są nieodwracalne i obarczone dużym odsetkiem powikłań infekcyjnych, obluźowania protez itd.. Głównym celem tych zabiegów jest zniesienie bólu i poprawa funkcji kończyny. Cele te według można w dużym stopniu spełnić leczeniem biologicznym opartym na komórkach MSC.

## **Hipoteza badawcza:**

Użycie komórek macierzystych mezenchymalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej pozwala skutecznie leczyć zmiany zwyrodnieniowe dużych stawów, przewlekłe choroby ścięgien i mięśni,

zmiany zapalano -zwyrodnieniowe kręgosłupa oraz korzystnie wpływa na przebieg pooperacyjny, w tym proces gojenia ran.

**Cel eksperymentu medycznego:**

Celem eksperymentu medycznego jest określenie skuteczności zastosowania komórek macierzystych mezenchymalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej w leczeniu schorzeń ortopedycznych wraz z oceną procesów regeneracji oraz gojenia w oparciu o analizę stężeń wybranych markerów stanu zapalnego oraz ocenę stanu klinicznego pacjenta.

**Metody:**

Wstępnie zakłada się rekrutację po około 50 pacjentów w każdej z wymienionych poniżej odmiennych populacji ortopedycznych, a w razie potrzeby oraz korzystnych efektów leczenia liczebność wybranych populacji zostanie zwiększona do 100 pacjentów. Ze względu na brak wystarczającej wiedzy na temat monitorowania procesu leczniczego z wykorzystaniem komórek mezenchymalnych z tkanki tłuszczowej oraz obserwacyjny charakter eksperymentu medycznego przyjęto powyższe założenia liczebności populacji posiłkując się dotychczasowymi doświadczeniami dotyczącymi wykorzystania miRNA do monitorowania leczenia (minimum 10-12 pacjentów na grupę).

Do eksperymentu medycznego zostaną włączeni wyłącznie pacjenci, u których dotychczasowy proces leczniczy nie przyniósł spodziewanych efektów terapeutycznych, lub też inne dostępne metody leczenia zachowawczego zgodne z aktualną wiedzą dotyczącą leczenia poszczególnych stanów chorobowych zostały wyczerpane. Ponadto pacjenci przed ostatecznym włączeniem do eksperymentu medycznego zostaną poinformowani o kosztach wytworzenia oraz zakupu preparatu macierzystych komórek mezenchymalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej (MSC) leżących po stronie pacjenta oraz zostaną szczegółowo poinformowani o fakcie, że z uwagi na eksperymentalny charakter badania nie ma możliwości przewidywania oczywistych korzyści.

**Piśmiennictwo:**

1. M. Krajewska-Włodarczyk, A. Owczarczyk-Saczonek, W. Placek, A. Osowski, and J. Wojtkiewicz, "Articular Cartilage Aging-Potential Regenerative Capacities of Cell Manipulation and Stem Cell Therapy.," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 2, Feb. 2018.

2. C. J. Centeno *et al.*, "Safety and complications reporting update on the re-implantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique.," *Curr. Stem Cell Res. Ther.*, vol. 6, no. 4, pp. 368–378, Dec. 2011.
3. H. Wang, X. Yan, Y. Jiang, Z. Wang, Y. Li, and Q. Shao, "The human umbilical cord stem cells improve the viability of OA degenerated chondrocytes.," *Mol. Med. Rep.*, vol. 17, no. 3, pp. 4474–4482, Mar. 2018.
4. S. Lee, S. Park, and Y. Choi, "Mesenchymal Stem Cell Injections Improve Symptoms of Knee Osteoarthritis," *Arthrosc. J. Arthrosc. Relat. Surg.*, vol. 29, no. 4, pp. 748–755, 2018.
5. C. H. JO *et al.*, "Intra-Articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Proof-of-Concept Clinical Trial," *Stem Cells*, vol. 32, pp. 1254–1266, 2014.
6. Y.-M. PERS *et al.*, "Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapy for Severe Osteoarthritis of the Knee: A Phase I Dose-Escalation Trial," *STEMCELLS Transl.*, no. 5, pp. 847–856, 2016.
7. A. Russo, V. Condello, V. Madonna, M. Guerriero, and C. Zorzi, "Autologous and micro-fragmented adipose tissue for the treatment of diffuse degenerative knee osteoarthritis," *J. Exp. Orthop.*, vol. 4, no. 33, pp. 1–7, 2017.
8. C. H. Jo *et al.*, "Intra-articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee. A 2-Year Follow-up Study," *Am. J. Sports Med.*, vol. 45, no. 12, pp. 2774–2783, 2017.
9. Y. S. Kim and Y. G. Koh, "Comparative Matched-Pair Analysis of Open-Wedge High Tibial Osteotomy With Versus Without an Injection of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells for Varus Knee Osteoarthritis: Clinical and Second-Look Arthroscopic Results.," *Am. J. Sports Med.*, vol. 46, no. 11, pp. 2669–2677, Sep. 2018.
10. Y.-G. Koh, O.-R. Kwon, Y.-S. Kim, Y.-J. Choi, and D.-H. Tak, "Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells With Microfracture Versus Microfracture Alone: 2-Year Follow-up of a Prospective Randomized Trial," *Arthrosc. J. Arthrosc. Relat. Surg.*, vol. 32, no. 1, pp. 97–109, 2018.
11. M. Maumus *et al.*, "Adipose mesenchymal stem cells protect chondrocytes from degeneration associated with osteoarthritis," *Stem Cell Res.*, vol. 11, no. 2, pp. 834–844, 2013.
12. R. Baharlou, A. Ahmadi-vasmehjani, F. Faraji, and M. Reza, "International Immunopharmacology Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in rheumatoid arthritis : Regulatory effects on peripheral blood mononuclear cells activation," *Int. Immunopharmacol.*, vol. 47, pp. 59–69, 2017.
13. D. Zwolanek *et al.*, "Tracking mesenchymal stem cell contributions to regeneration in an immunocompetent cartilage regeneration model.," *JCI insight*, vol. 2, no. 20, Oct. 2017
14. Y. B. Park *et al.*, "Single-stage cell-based cartilage repair in a rabbit model: cell tracking and in vivo chondrogenesis of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid hydrogel composite.," *Osteoarthr. Cartil.*, vol. 25, no. 4, pp. 570–580, Apr. 2017.
15. D. Cantinieaux *et al.*, "Conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell transplantation.," *PLoS One*, vol. 8, no. 8, p. e69515, 2013.
16. E. Amann, P. Wolff, E. Breel, M. van Griensven, and E. R. Balmayor, "Hyaluronic acid facilitates chondrogenesis and matrix deposition of human adipose derived mesenchymal

- stem cells and human chondrocytes co-cultures.," *Acta Biomater.*, vol. 52, pp. 130–144, Apr. 2017.
17. T. S. de Windt, L. A. Vonk, I. C. M. Slaper-Cortenbach, R. Nizak, M. H. P. van Rijen, and D. B. F. Saris, "Allogeneic MSCs and Recycled Autologous Chondrons Mixed in a One-Stage Cartilage Cell Transplantation: A First-in-Man Trial in 35 Patients.," *Stem Cells*, vol. 35, no. 8, pp. 1984–1993, Aug. 2017.
  18. J. L. Puetzer, J. N. Petite, and E. G. Lobo, "Comparative review of growth factors for induction of three-dimensional in vitro chondrogenesis in human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and adipose tissue.," *Tissue Eng. Part B. Rev.*, vol. 16, no. 4, pp. 435–444, Aug. 2010.
  19. J. Shang, H. Liu, J. Li, and Y. Zhou, "Roles of hypoxia during the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells.," *Curr. Stem Cell Res. Ther.*, vol. 9, no. 2, pp. 141–147, Mar. 2014.
  20. M. Maumus *et al.*, "Adipose mesenchymal stem cells protect chondrocytes from degeneration associated with osteoarthritis," *Stem Cell Res.*, vol. 11, no. 2, pp. 834–844, 2013.
  21. K. J. Campbell and R. E. Boykin, "Treatment of a hip capsular injury in a professional soccer player with platelet-rich plasma and bone marrow aspirate concentrate therapy," 2012.
  22. C. Pascual-garrido and A. Rol, "Treatment of Chronic Patellar Tendinopathy with Autologous Bone Marrow Stem Cells : A 5-Year-Followup," vol. 2012, 2012.
  23. Y. Liu, L. Lin, R. Zou, C. Wen, Z. Wang, and F. Lin, "MSC-derived exosomes promote proliferation and inhibit apoptosis of chondrocytes via lncRNA-KLF3-AS1/miR-206/GIT1 axis in osteoarthritis.," *Cell Cycle*, vol. 17, no. 21–22, pp. 2411–2422, 2018.
  24. F. Duygulu *et al.*, "Effects of intra-articular administration of autologous bone marrow aspirate on healing of full-thickness meniscal tear : an experimental study on sheep \*," *Acta Orthop Traumatol Turc*, vol. 46, no. 1, pp. 61–67, 2012.
  25. C. P. Prieto *et al.*, "Netrin-1 acts as a non-canonical angiogenic factor produced by human Wharton's jelly mesenchymal stem cells (WJ-MSC).," *Stem Cell Res. Ther.*, vol. 8, no. 1, p. 43, Feb. 2017.
  26. Z.-Q. Zhang, C.-S. Wang, P. Yang, and K.-Z. Wang, "Mesenchymal Stem Cells Induced by Microencapsulated Chondrocytes on Repairing of Intervertebral Disc Degeneration.," *Orthop. Surg.*, vol. 10, no. 4, pp. 328–336, Nov. 2018.
  27. F. Migliorini, B. Rath, M. Tingart, A. Baroncini, V. Quack, and J. Eschweiler, "Autogenic mesenchymal stem cells for intervertebral disc regeneration.," *Int. Orthop.*, Nov. 2018.
  28. G. Q. Teixeira *et al.*, "Immunomodulation of Human Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Intervertebral Disc Degeneration: Insights From a Proinflammatory/Degenerative Ex Vivo Model.," *Spine (Phila. Pa. 1976)*, vol. 43, no. 12, pp. E673–E682, Jun. 2018.
  29. G. La Rocca, M. Lo Iacono, T. Corsello, S. Corrao, F. Farina, and R. Anzalone, "Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells maintain the expression of key immunomodulatory molecules when subjected to osteogenic, adipogenic and chondrogenic differentiation in vitro: new perspectives for cellular therapy.," *Curr. Stem Cell Res. Ther.*, vol. 8, no. 1, pp. 100–113, Jan. 2013.26.
  30. Park, S. H. Kim, and H.-J. Lee, "Intra-articular Mesenchymal Stem Cells in Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of Clinical Outcomes and Evidence of Cartilage Repair.," *Arthroscopy*, vol. 35, no. 1, p. 277–288.e2, Jan. 2019
  31. Berebichez-Fridman R, *et al.*, The Holy Grail of Orthopedic Surgery: Mesenchymal Stem

- Cells-Their Current Uses and Potential Applications. *Stem Cells Int.* 2017;2017:2638305. doi: 10.1155/2017/2638305.
32. Ogata Y, *et al.*, Anterior cruciate ligament-derived mesenchymal stromal cells have a propensity to differentiate into the ligament lineage. *Regen Ther.* 2018 Jan 23;8:20-28. doi: 10.1016/j.reth.2017.12.001.
  33. Chew E, Prakash R, Khan W. Mesenchymal stem cells in human meniscal regeneration: A systematic review. *Ann Med Surg (Lond).* 2017 Oct 5;24:3-7. doi: 10.1016/j.amsu.2017.09.018.
  34. Sadlik B, *et al.*, Cartilage Repair in the Knee Using Umbilical Cord Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells Embedded Onto Collagen Scaffolding and Implanted Under Dry Arthroscopy. *Arthrosc Tech.* 2017 Dec 25;7(1):e57-e63. doi: 10.1016/j.eats.2017.08.055.
  35. Bajwa AS, Villar RN. Mesenchymal Stem Cells (MSC) Use In Hip Arthroscopy: Medium Term Results In Case-Control Study Of Patients With ICRS Grade 2-4 Defects?. *J Hip Preserv Surg.* 2016;3(Suppl 1):hnrw030.043. Published 2016 Sep 14. doi:10.1093/jhps/hnrw030.04
  36. McIntyre JA, Jones IA, Han B, Vangsness CT Jr. Intra-articular Mesenchymal Stem Cell Therapy for the Human Joint: A Systematic Review. *Am J Sports Med.* 2018 Dec;46(14):3550-3563. doi: 10.1177/0363546517735844.
  
  37. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Care Res.*, 2012; 64 (4): 465–74