

prof. dr hab. n. med. Halina Car

Zakład Farmakologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Halina Car

Zakład Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Kierownik Zakładu: p.o. prof. dr hab. n. med. Halina Car

Czynniki wzrostu i komórki macierzyste w regeneracji skóry – zasadność stosowania *Concentrated Growth Factors* (CGF)

Wieloaspektowa efektywność komórek macierzystych (SC ang. *stem cells*) i nowe możliwości techniczne pozyskiwania SC stworzyły podstawy do zastosowania ich w procesach regeneracji skóry. Najmniej skomplikowanym sposobem otrzymywania komórek macierzystych jest ich pozyskiwanie z krwi obwodowej.

Metoda zaproponowana przez Sacco w 2006 roku^[1] umożliwia uzyskanie zarówno SC, jak i czynników wzrostu (GF ang. *Growth Factors*) w formie CGF (ang. *Concentrated Growth Factors*)^[2]. W metodzie tej pobrana krew żylna poddawana jest procedurze wirowania z prędkością 2400-3000 rpm w ciągu 14 minut w tzw. Separatorze Komórkowym, który – dzięki precyzyjnie utrzymywanym parametrom oraz właściwościom antystatycznym i antymagnetycznym – pozwala na zachowanie w formie aktywnej większości SC i czynników wzrostu. Tym sposobem otrzymywane są koncentraty licznych czynników wzrostu oraz komórki macierzyste wyznakowane antygenem powierzchniowym CD34 (CD34+). Jest on charakterystyczny dla komórek macierzystych szpiku kostnego i komórek progenitorowych^[3]. Komórki CD34+ są obecne tylko w określonym

obszarze uzyskiwanego preparatu – pomiędzy warstwą złożoną głównie z erytrocytów a warstwą osocza bogatopłytkowego. Zaletą tej metody separacji jest możliwość wykorzystania zarówno CD34+, osocza bogatopłytkowego, jak i ubogopłytkowego. Otrzymane naturalne, synergistycznie działające składniki organizmu człowieka wspomagają procesy regeneracyjne skóry.

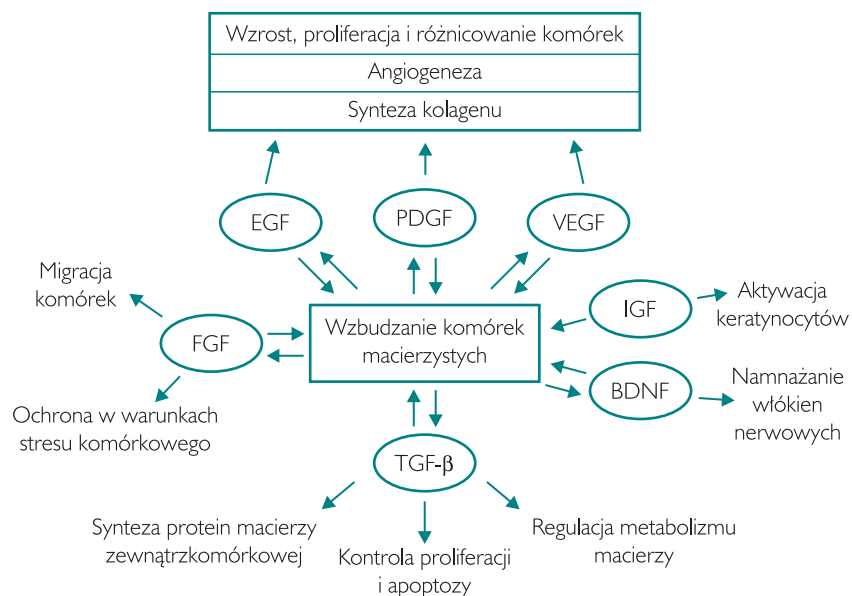
Komórki CD34+ w szpiku kostnym zdrowych, dorosłych osób stanowią około 1-3% komórek, natomiast we krwi obwodowej stanowią do 0,06% całkowitej liczby komórek i ich liczba maleje wraz z wiekiem^[4]. Dzięki metodzie CGF uzyskuje się preparat zawierający jednocześnie komórki CD34+ i czynniki wzrostu w skoncentrowanej ilości ok. 16-krotnie większej niż we krwi obwodowej. Komórki te wykazują zdolność przekształcania się w dowolne

komórki krwi. Ponadto są one również źródłem czynników wzrostu uwalnianych stopniowo i aktywujących komórki macierzyste obecne w skórze – inicjują wzbudzenie SC w niszy, ich proliferację poprzez uruchomienie cyklu podziału tzw. „uśpionych komórek”. Komórki CD34+ zwiększają pulę dostępnych komórek macierzystych, pozwalają na uruchomienie ich działania natychmiast w miejscu aplikacji, a wydzielane z nich oraz z płytek krwi czynniki wzrostu stymulują proces odnowy, który przebiega w czasie, naśladując fizjologicznie zachodzące procesy regeneracji^[5].

Skuteczność działania komórek macierzystych jest zależna od czynników wzrostu, wyspecjalizowanych białek działających za pośrednictwem receptorów, które znajdują się na powierzchni komórek docelowych. Uwolnione czynniki wzrostu pobudzają szlaki sygnałowe uczestniczące w biosyntezie wielu funkcjonalnych białek, stymulują migrację, namnażanie oraz różnicowanie komórek. Najistotniejszym we

krwi źródłem czynników wzrostu są trombocyty. W odpowiedzi na uszkodzenie tkanek, w trakcie procesu krzepnięcia krwi, z ziarnistości płytek krwi są uwalniane GF, osiągając w danym obszarze wysokie miejscowe stężenia^[6].

Do głównych czynników wzrostu obecnym w preparacie uzyskanym metodą CFG należą: płytkowy czynnik wzrostu (PDGF, ang. *platelet-derived growth factor*), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF, ang. *epidermal growth factor*), naczyniowy czynnik wzrostu (VEGF, ang. *vascular endothelial growth factor*), transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β , ang. *transforming growth factor- β*), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, ang. *fibroblast growth factor*), insulinowy czynnik wzrostu (IGF, ang. *insulin growth factor*) oraz neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF, ang. *brain-derived neurotrophic factor*)^[5,7]. Efekty działania ww. czynników wzrostu i zależność współdziałania z komórkami macierzystymi zostały przedstawione na rycinie 1.



Ryc. 1. Schemat współdziałania komórek macierzystych i czynników wzrostu.

Wykazano, że uwalnianie GF, np. podczas procesów naprawczych, jest zależne od wielu czynników. Należy do nich m.in. wiek pacjenta, co ma klinicznie istotne znaczenie ze względu na różnie długi okres półtrwania czynników wzrostu oraz receptorów je wiążących, dzięki którym rozwijają one swoją efektywność^[8]. Ponadto w różnym czasie uwalnianie są ilościowo i jakościowo różne GF, co w głównej mierze zależy od potrzeb i wydolności organizmu.

Dotychczas preparaty osocza bogatopłytkowego, mające około 7-krotnie większą koncentrację trombocytów niż we krwi, były jedną z nielicznych opcji pozyskiwania cennych białek w postaci GF. Po aplikacji osocza bogatopłytkowego czynniki wzrostu uwalniane są w dużym stężeniu w stosunkowo krótkim czasie, stymulują fibroblasty oraz mezenchymalne komórki macierzyste, nasilają ich proliferację, czego efektami są m.in. stymulacja tworzenia kolagenu, nasilenie procesu angiogenezy i regeneracja skóry^[9]. Efektywność preparatów osocza bogatopłytkowego, oceniona jako znacznie satysfakcjonująca (zarówno wśród pacjentów, jak i lekarzy) wskazała, że celowe jest stosowanie preparatów pozyskiwanych z własnej krwi do regeneracji skóry.

Obecność na rynku CGF – nowej metody pozyskiwania w jednym preparacie SC i GF w różnym stężeniu – poszerzyła wachlarz zabiegowy. Oprócz podawania SC i osocza bogatopłytkowego stworzone zostały możliwości podawania osocza ubogopłytkowego. Zastosowanie podgrzewania tej frakcji osocza skutkuje agregacją albumin w formie kompatybilnego polimeru (APAG, ang. *Activated Plasma Albumin Gel*). Pozwoliło to stworzyć preparat, w którym osadzone płytki krwi zachowują swoją żywotność przez około 7 dni, a uwalniane z nich GF są chronione przed proteolizą, co pozwala naśladować fizjolo-

gicznie zachodzące stopniowe działanie czynników wzrostu w czasie regeneracji skóry^[7,10]. Współdziałanie czynników wzrostu i komórek macierzystych zachodzi podczas naturalnie przebiegających procesów regeneracji, co warunkuje zasadność stosowania preparatów zawierających SC i GF w zabiegach odmładzania – spłycenia zmarszczek, poprawy napięcia i sprężystości oraz kolorytu skóry. Ponadto wykazano skuteczność preparatu uzyskanego metodą CGF w zakresie odrastania włosów u kobiet i mężczyzn^[11].

Zastosowanie metody CGF umożliwia uzyskanie preparatu autologicznego, który zawiera jednocześnie czynniki wzrostu i komórki macierzyste i charakteryzuje się bezpieczeństwem stosowania oraz efektywnością działania w procesach regeneracji, w tym odmładzaniu skóry.

Piśmiennictwo:

1. Sacco L.: Lecture, International academy of implantprosthesis and osteoconnection, 2006; 12: 4.
2. Rodella L.F.I., Favero G., Boninsegna R, Buffoli B., Labanca M., Scari G.: Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech.*, 2011; 74(8): 772-777.
3. Stzepourginski I., Nigro G., Jacob J.M., Dulauroy S., Sansonetti P.J., Eberl G. i in. CD34+ mesenchymal cells are a major component of the intestinal stem cells niche at homeostasis and after injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2017; Jan 24; 114(4): 506–513.
4. Gauza M., Urbanowicz I.: Komórki macierzyste i ich zastosowanie w chorobach hematologicznych., *Diagno-*

- styka laboratoryjna, *Journal of Laboratory Diagnostics Diagn Lab.*, 2014; 50(3): 241-248.
5. Piłkuła M., Langa P., Kosikowska P., Trzonkowski P.: Komórki macierzyste i czynniki wzrostu w gojeniu ran. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2015; 69: 874-885.
 6. Staniszewska M., Stuczanowska-Głąbowska S., Drukała J.: Stem cells and skin regeneration. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2011; 49: 375-380.
 7. Mammoto T., Jiang A., Jiang E., Mammoto A.: Platelet rich plasma extract promotes angiogenesis through the angiopoietin1-Tie2 pathway. *Microvasc. Res.*, 2013; 89: 15-24.
 8. Feng Y., Scott V., Starck J.C., Michael C., Jaromir S., Andreas W. i wsp.: Age and growth factors in porcine full-thickness wound healing. *Wound Repair and Regeneration.*, 2001; 9(5): 371-377.
 9. Roubelakis M.G., Trohatou O., Roubelakis A., Mili E., Kalaitzopoulos I., Papazoglou G. i wsp.: Platelet-rich plasma (PRP) promotes fetal mesenchymal stem/stromal cell migration and wound healing process. *Stem Cell Rev.*, 2014; 10: 417-428.
 10. Borsani E., Bonazza V., Buffoli B., Cocchi MA., Castrezzati S., Scari G., Baldi F., Pandini S., Licenziati S., Parolini S., Rezzani R., Rodella LF.: Biological Characterization and In Vitro Effects of Human Concentrated Growth Factor Preparation: An Innovative Approach to Tissue Regeneration. *Biol Med (Aligarh)*, 2015; 7(5): 256.
 11. Kang J.S., Zheng Z., Choi M.J., Lee S.H., Kim D.Y., Cho S.B.: The effect of CD34+ cell-containing autologous platelet-rich plasma injection on pattern hair loss: a preliminary study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, 2014;28(1): 72-9.