

dr n. k. f. Anna Stolecka-Warzecha

Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych Wydziału Farmaceutycznego z OML
w Sosnowcu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Barbara Błońska-Fajfrowska

Terapia komórkami macierzystymi pochodzącymi z tkanki tłuszczowej w medycynie estetycznej i regeneracyjnej

Możliwości wykorzystania komórek macierzystych w medycynie estetycznej, regeneracyjnej, chirurgii plastycznej, leczeniu ran i terapii genowej są ogromne. Komórki macierzyste od dłuższego czasu zyskują na swojej popularności również ze względu na coraz łatwiejsze metody ich pozyskiwania.

Najlepszym poznanym źródłem otrzymywania niezróżnicowanych komórek multipotentnych – czyli posiadających zdolność do różnicowania się w różne typy komórek – jest tkanka tłuszczowa. Metody pobierania szpiku kostnego wymagają w wybranych przypadkach rdzeniowego lub całkowitego znieczulenia, a największą wadą tej procedury jest stosunkowo niewielka liczba otrzymanych w pełni funkcjonalnych komórek mezenchymalnych, tj. około 1 na 105 adherentnych komórek łącznotkankowo-naczyniowego zrębu (Karla 2014).

Najpopularniejszym źródłem pozyskiwania komórek macierzystych jako alternatywy dla dość inwazyjnego zabiegu jest tkanka tłuszczowa. Jest ona doskonałym źródłem komórek macierzystych mogących różnicować się w wyspecjalizowane komórki wielorakiego rodzaju. Dodatkowym jej atutem jest dostępność i obfitość. Komórki macierzyste tkanki tłuszczowej stosunkowo łatwo rozwijają się w hodowli

(przy konieczności pasażowania) oraz powoli się starzeją (Wang 2005). Dodatkowo komórki te w reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi (*graft-versus-host* – GvH) mogą wykazywać właściwości immunosupresyjne (Yanez 2006). Przynajmniej dwa zjawiska potwierdzają istnienie tłuszczowych komórek macierzystych. Pierwszym z nich jest wzrost liczby adipocytów w warunkach nadmiaru energii, co potwierdza istnienie komórek adipogennych oprócz tych ostatecznie zróżnicowanych, niemających zdolności do podziałów komórkowych (Cornelius 1994). Drugim dowodem jest to, że pod wpływem tiazolidinedionu dochodzi do pobudzenia receptorów warunkujących różnicowanie adipocytów, wzrasta ekspresja ich genów markerowych, a także zmniejsza się tempo proliferacji komórek tłuszczakomięsa (*liposarcoma*). Komórki macierzyste tkanki tłuszczowej są umiejscowione w jej podścielisku, gdzie panują warunki beztlenowe. Aktywacja czynnika HIF 1 (*hipoxia*

induced factor 1 – czynnik indukowany przez hipoksję 1) pod wpływem warunków beztlenowych odgrywa główną rolę w inhibicji późniejszego różnicowania i pomaga utrzymać komórki w stanie niezróżnicowanym (Lin 2006).

Komórki macierzyste pozyskane z tkanki tłuszczowej: ADSC (*Adipose Derived Stem Cell*) to komórki potencjalnie nadające się do terapii leczniczych i regeneracyjnych. Podobnie jak te ze szpiku kostnego są mezenchymalnego pochodzenia. Oznacza to, że mogą się różnicować w wyspecjalizowane komórki mezodermalnego pochodzenia, takie jak fibroblasty, adipocyty, miocyty, chondrocyty i osteocyty. Są również w stanie (w odpowiednich warunkach czynników wzrostu) do transdyferencji do komórek innego pochodzenia niż ich własne – różnicowanie neurogenne, transwątrobowe i trzustkowe (hormonalne), cardiomiogenne czy wspomagające hematopoezę. Ludzkie ADSC mają fenotyp immunologiczny podobny do komórek macierzystych szpiku kostnego (Festy 2005).

Identyfikacja markerów powierzchniowych ASC stwarza możliwość izolacji populacji komórek macierzystych bezpośrednio z heterogennej frakcji SVF (*stromal vascular fraction*). (Gimble 2007). Pozyskana frakcja zrębowa SVF to swoista mieszanina komórek tkanki tłuszczowej (adipocytów). Oprócz adipocytów SVF zawiera wiele innych komórek, takich jak pre-adipocyty, komórki śródbłonna, komórki mięśni gładkich, pericyty, fibroblasty, komórki układu immunologicznego (np. limfocyty oraz makrofagi), komórki progeniterowe i dorosłe komórki macierzyste (ADSC). Ponadto SVF, oprócz wydzielin dokrewnych adipocytów, zawiera między innymi czynniki wzrostu, takie jak beta transformujący czynnik wzrostu (TGF- β), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) oraz czynnik wzrostu fibroblastów (FGF). Fibroblasty odgrywają

kluczową rolę w procesie starzenia się skóry. Są najważniejszymi komórkami skóry właściwej, odpowiedzialnymi za produkcję podstawowych substancji strukturalnych skóry: kolagenu, elastyny i kwasu hialuronowego.

SVF zawiera również wiele białek obecnych w macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki tłuszczowej w tym m.in. laminie, która jest znacząca ze względu na jej zdolności regeneracyjne (Hakki 2017).

Klinicznie komórki macierzyste pozyskane z własnej tkanki tłuszczowej (AT-SVF) posiadają istotną przewagę nad komórkami ze szpiku kostnego z powodu ich dostępności i dużej liczby, eliminując potrzebę hodowli tkankowej dla osiągnięcia tzw. progu terapeutycznego. Równocześnie sama procedura pobrania jest mniej bolesna i stanowi minimalne ryzyko dla pacjenta (Beane 2012).

Badania prowadzone nad zastosowaniem komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej wskazują na ich ogromny potencjał ze względu na możliwości ich przekształceń w komórki uszkodzonych tkanek czy narządów (komórki docelowe). Wytwarzając specyficzne czynniki wzrostu, stymulują odnowę i regenerację. Zastosowania kliniczne komórek macierzystych dotyczą m.in. leczenia uszkodzonej tkanki nerwowej i regeneracji rdzenia kręgowego, regeneracji miocytów mięśnia sercowego, leczenia cukrzycy insulinozależnej przebiegającej z uszkodzeniem komórek β wysp Langerhansa trzustki, terapii pacjentów ze zwyrodnieniem plamki żółtej (AMD) czy regeneracji ścięgien i więzadeł, np. w przypadku ich naderwania. Ponadto dają nadzieję w regeneracji ubytków skóry (oparzenia), leczeniu rozległych blizn czy regeneracji wytworów skóry (włosy i paznokcie), np. w przebiegu łysienia plackowatego czy chorób androgenozależnych (Tabata 2009).

Duże znaczenie w procesie kształtowania nowych komórek danej tkanki mają hormony, morfogeny, czynniki wzrostu przekazujące sygnały do wzrostu komórek oraz elementy białkowe macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Czynniki wzrostu wiążą się ze specyficznymi receptorami komórek docelowych i wpływają w ten sposób na ich migrację, proliferację i różnicowanie.

Do najważniejszych czynników wzrostu biorących udział w specyficznej regeneracji uszkodzonych komórek budujących poszczególne tkanki należy transformujący czynnik wzrostu TGF- β , który wywołuje reakcję migracji fibroblastów do miejsca uszkodzenia i stymuluje do syntezy kolagenu, jednocześnie hamując aktywność metaloproteinaz. Kolejną cząsteczką sygnałową jest płytko-pochodny czynnik wzrostu PDGF, który stymuluje neutrofile, makrofagi i fibroblasty, a następnie przyczynia się do ich aktywacji. Indukuje także powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Czynnikiem wzrostu fibroblastów FGF rekrutuje natomiast makrofagi, fibroblasty i komórki endotelialne, stymulując tym samym angiogenezę. Czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyniowego VEGF oddziałuje silnie na komórki endotelium, przyspieszając tworzenie nowych naczyń krwionośnych. Na etapie regeneracji i gojenia ran ważna jest obecność czynnika martwicy nowotworów TNF i interleukiny-1 (Kamieniarz 2006).

Powyższe reakcje zachodzą specyficznie dla danego obszaru podlegającego działaniu komórek macierzystych. Tempo ich przebiegu wykazuje osobnicze różnice i w przypadku np. regeneracji uszkodzonej chrząstki stawowej trwa przeciętnie 2-3 miesiące, choć znaczną poprawę (szczególnie redukcję bólu) można obserwować już w ciągu pierwszych dwóch tygodni. Po około 5-6 tygodniach dokonuje się po-

wtórnej obrazowej analizy klinicznej i w przypadku rozległych zmian zabieg można powtórzyć. Komórki macierzyste stanowią rewolucyjną i całkowicie nową metodę leczenia, która prowadzi do regeneracji i odnowy chrząstki po miejscowej aplikacji bezpośrednio do stawu. Skuteczność metody jest wysoka, a efekt terapeutyczny, w związku z zastosowaniem komórek macierzystych, występuje u 90% pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów w stadium II-III. Efekty uboczne stosowania komórek macierzystych są znikome (ewentualne zaostrzenie stanu zapalnego po iniekcji), a u większości pacjentów nie są obserwowane wcale. Wśród czynników mogących wpływać na tempo zmian regeneracyjnych wymienić można m.in. alkohol, niesterydowe leki przeciwzapalne (wydłużenie czasu) oraz witaminy, wyciąg z zielonej herbaty czy wyciąg z borówki (skrócenie czasu).

Komórki macierzyste tkanki tłuszczowej są zazwyczaj pozyskiwane w trakcie zabiegów chirurgicznych z okolicy brzucha lub zabiegów liposukcji (Ueberreiter 2010). Pierwsze metody izolacji komórek z tkanki tłuszczowej opracowane zostały w latach sześćdziesiątych ubiegłego stulecia (Rodbell 1964, Rodbel 1966).

Aby zabieg był skuteczny, konieczne jest uzyskanie z tkanki tłuszczowej jak największej liczby nieuszkodzonych pojedynczych komórek – co w ogromnej mierze zależy od metody ich pobrania. Najnowszą i najbardziej efektywną metodą jest liposukcja przy użyciu mało inwazyjnego urządzenia, np. Body Jet Eco, Evo. W połączeniu z separatorami Q-graft powstaje zamknięty system do poboru i separacji komórek macierzystych, który pozwala na wysokojakościowe przeprowadzenie procesu pozyskania komórek macierzystych – od momentu pobrania tłuszczu, do uzyskania zawiesiny. Pobrane tak komórki macierzyste charakte-

ryzuje nie tylko wysoka jakość, ale – co istotne – uzyskuje się ich znacznie więcej niż w przypadku innych metod. Liczba pozyskanych komórek jest zależna od indywidualnych predyspozycji pacjenta i kondycji organizmu.

Istotną przewagę komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej nad innymi ich typami stanowi fakt, że – ze względu na ich dużą dostępność – nie ma potrzeby stosowania laboratoryjnej hodowli tkankowej dla uzyskania tzw. „progu terapeutycznego” (osiągnięcie odpowiedniej do zabiegów leczniczych liczby komórek). Dodatkowo, jak wspomniano wcześniej, pozyskane w ten sposób komórki starzeją się wolniej niż komórki pochodzące ze szpiku kostnego.

Zastosowanie komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej jest bardzo szerokie. Szczególnie często wykorzystuje się je w procedurach medycyny estetycznej, w tym w zabiegach lipofillingu, czyli modelowania ciała autologicznym przeszczepem tłuszczu. Taka procedura stanowi podwójną korzyść dla pacjenta: z jednej strony, dzięki liposukcji, przy pomocy której pobiera się bogatą w komórki macierzyste tkankę tłuszczową, można pozbyć się jej nadmiaru z okolic brzucha czy talii, z drugiej natomiast – przeszczep własnego tłuszczu pozwala w sposób bezpieczny, naturalny i minimalnie inwazyjny powiększyć i ujędrnić piersi, poślądki oraz usta, wypełnić zmarszczki czy zmniejszyć widoczność blizn. Pochodzące z tkanki tłuszczowej komórki macierzyste podawane są do tkanek drogą iniekcji, co ma zastosowanie w leczeniu licznych schorzeń ortopedycznych, takich jak zaburzenia wzrostu kostnego czy zapalenie ścięgna Achillesa oraz w regeneracji stawów. Otrzymane tą metodą komórki, w połączeniu m.in. z autologiczną tkanką tłuszczową, wykorzystuje się również do wypełniania ubytków tkanek miękkich po zabiegach chirurgicznych,

na przykład mastektomii (Brey 2000). Mezenchymalne komórki macierzyste wykorzystuje się ponadto w terapii nadmiernego wypadania włosów, łysienia, usuwaniu blizn, korekcie rozstępów, odbudowie czerwieni wargowej oraz w rewitalizacji (odmładzaniu) skóry. Efekt zabiegowy narasta stopniowo, począwszy od pierwszych tygodni po zabiegu aż do roku, ze względu na fakt, że tkanki potrzebują czasu, aby w pełni wykorzystać potencjał regeneracyjny komórek macierzystych. Mezenchymalne komórki macierzyste wykorzystywane są również w leczeniu trudno gojących się ran i owrzodzeń (dermatologia). Podanie komórek macierzystych np. podczas iniekcji inicjuje ich przekształcanie się i namnażanie dzięki specyficznym czynnikom wzrostowym, tj. TGFbeta (transformujący czynnik wzrostu) czy VEGF (czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego). Ponadto komórki macierzyste mają zdolność hamowania procesów zapalnych, które często towarzyszą defektom skórnym czy zmianom zwyrodnieniowym. W przypadku ubytków w obrębie chrząstek stawowych komórki macierzyste są umieszczane w obrębie uszkodzonej struktury na specjalnym kolagenowym nośniku. Zadaniem błony kolagenowej jest wypełnienie ubytków, natomiast komórki macierzyste odbudowują na niej funkcjonalną tkankę. Umieszczenie komórek macierzystych na kolagenowej membranie ma tę przewagę, że ich koncentrat pozostanie we właściwym miejscu i nie ulegnie przemieszczeniu, co dodatkowo usprawni procesy naprawcze (Brey 2000).

Na całym świecie od wielu lat trwają nieustannie badania nad nowymi możliwościami wykorzystania poszczególnych rodzajów komórek macierzystych. Pozytywne wyniki terapii eksperymentalnych dają szansę na skuteczne leczenie w obszarach, w których współczesna medycyna napotyka trudności.

Piśmiennictwo:

1. Beane S, Darling E.: Isolation, Characterization, and Differentiation of Stem Cells for Cartilage Regeneration. *Ann Biomed Eng.* 2012 Oct; 40(10): 2079–2097.
2. Brey E.M, Patrick C.W. J.: Tissue engineering applied to reconstructive surgery. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, 2000; 19: 122–125.
3. Cornelius P, MacDougald O.A, Lane M.D.: Regulation of adipocyte development. *Annu. Rev. Nutr.*, 1994; 14: 99–129.
4. Cousin B, Casteilla L, Dani C, Muzzin P, Revelli J.P, Penicaud L.: Adipose tissues from various anatomical sites are characterized by different patterns of gene expression and regulation. *Biochem. J.*, 1993; 292: 873–876.
5. Festy F, Hoareau L, Bes-Houtmann S, Péquin A.M, Gonthier M.P, Munstun A, Hoarau J.J, Césari M, Roche R.: Surface protein expression between human adipose tissue-derived stromal cells and mature adipocytes. *Histochem. Cell Biol.*, 2005; 124: 113–121.
6. Gimble J.M, Katz A.J, Bunnell B.A.: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ. Res.*, 2007; 100: 1249–1260.
7. Hakki SS, Turaç G, Bozkurt SB, Kayis SA, Hakki EE, Aahin E, Subaşı C, Karaoz E.: Comparison of Different Sources of Mesenchymal Stem Cells: Palatal versus Lipoaspirated Adipose Tissue. *Cells Tissues Organs.* 2017 Aug 26.
8. Kalra K, Tomar P.C.: Stem Cell: Basics, Classification and Applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics.* 2014; 2(7): 919-930.
9. Kamieniarz K., Nawrot R., Grajek K., Goździcka-Józefiak A., *Biotechnologia w medycynie regeneracyjnej i reprodukcyjnej.* *Biotechnologia* 2006; 2: 31-48.
10. Lin Q, Lee Y., Yun Z.: Differentiation arrest by hypoxia. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 30678–30683.
11. Mehrabani D, Mehrabani G, Zare S, Manafi A. Adipose-Derived Stem Cells (ADSC) and Aesthetic Surgery: A Mini Review. *World J. Plast. Surg.* 2013; 2(2):65-70.
12. Rodbell M, Jones A.B.: Metabolism of isolated fat cells. 3. The similar inhibitory action of phospholipase C (*Clostridium perfringens* a toxin) and of insulin on lipolysis stimulated by lipolytic hormones and theophylline. *J. Biol. Chem.*, 1966; 241: 140–142.
13. Rodbell M.: Metabolism of isolated fat cells. 1. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J. Biol. Chem.*, 1964; 239: 375–380.
14. Sempolska K, Stupnicki R.: Relative fat content in young women with normal BMI but differing in the degree of physical activity. *Rocz PZH* 2007, 58(1): 333-338.
15. Tabata Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. *J Roy. Soc.*, 2009; 6: S311-S324.
16. Trayhurn P., Wood I.S.: Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nutr.*, 2004; 92: 347–355.
17. Ueberreiter K, von Finckenstein J.G, Cromme F, Herold C, Tanzella U, Vogt P.M. [BEAULI—a new and easy method for large-volume fat grafts]. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 2010;42(6):379-385.
18. Wang D.W, Fermor B, Gimble J.M, Awad H.A, Guilak F.: Influence of oxygen on the proliferation and metabolism of adipose derived adult stem cells. *J. Cell. Physiol.*, 2005; 204: 184–191.
19. Yanez R, Lamana M.L, Garcia-Castro J, Colmenero I, Ramirez M, Bueren J.A.: Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells*, 2006; 24: 2582–2591.