



dr n. med. Julita Zaczyńska-Janeczko

Klinika JANE CZKO w Krakowie

## Mikroprzeszczep komórek skóry – leczenie łysienia androgenowego

**Regenera Activa jest mało inwazyjną techniką stosowaną w mikroprzeszczepach skóry, której głównym wskazaniem jest łysienie androgenowe. Obecnie trwają prace dotyczące jej zastosowania w leczeniu bielactwa oraz korekcji blizn i rewitalizacji skóry twarzy. Do chwili pojawienia się urządzenia Regenera Activa na rynku medycyny regeneracyjnej i protokołu do uzyskiwania komórek progenitorowych w procesie dezagregacji skóry, tkanka tłuszczowa stanowiła jedyną tkankę miękką, z której w procesie mechanicznym pozyskiwano frakcję komórek zrębu naczyń krwionośnych. Dzisiaj, dzięki metodzie Regenera Activa, mamy szansę uzyskać znacznie więcej komórek tej frakcji ze znacznie mniejszej ilości tkanki i przy mniejszej traumatyzacji pacjenta. Dzięki temu z mniejszej ilości pobranego mikroprzeszczepu uzyskujemy więcej komórek regeneracyjnych.**

### Nisza regeneracyjna skóry

System *Regenera Activa* i protokół terapeutyczny, został opracowany do metody mikroprzeszczepu komórek; mikroprzeszczep jest w tym przypadku bardzo małą częścią autologicznej skóry (pobieramy biopsję o średnicy 2,5 mm), która zawiera komórki pochodzące z frakcji zrębu naczyń krwionośnych, czynniki wzrostu i dodatkowe białka macierzy międzykomórkowej, przypominające fizjologiczną regeneracyjną niszę skóry. Należy pamiętać, że nie jest to metoda izolacji komórek progenitorowych. Po procesie obróbki pobranego materiału uzyskujemy pełną frakcję komórek z całego przekroju skóry. Możliwe

jest odzyskanie 80% komórek z całej skóry, których przeżywalność wynosi około 92% przy zastosowaniu metody *Regenera Activa*. Frakcja komórek, która jest najbardziej interesująca to komórki zrębu naczyń krwionośnych (ang. *Stromal Vascular Fraction, SVF*), do których zaliczamy, m. in. perycyty, endotelialne komórki progenitorowe, mezenchymalne komórki macierzyste (MSC). W skórze występuje jednak znacznie więcej frakcji komórek progenitorowych, z których najbardziej interesujące są komórki z okolic mieszka włosowego, z gruczołów łojowych i potowych, neomelanocyty oraz mezenchymalne komórki macierzyste. Komórki te stanowią niszę regeneracyjną skóry.

## Komórki progenitorowe w skórze

W przeszłości uważano, że proces regeneracji śródbłonka i tworzenie nowych naczyń u osób dorosłych zachodzi tylko w procesie angiogenezy, gdzie naczynia są tworzone dzięki migracji i różnicowaniu in situ dojrzałych komórek endotelium. Sądzono, że waskulogeneza – proces, w którym nowe naczynia powstają z nie-różnicowanych angioblastów lub endotelialnych komórek progenitorowych zachodzi tylko w czasie embriogenezy. Odkrycie krążących komórek progenitorowych śródbłonka (EPC) przez Asaharę i wsp. w 1997 roku, całkowicie zmieniło ten pogląd. EPC uczestniczą w postnatalnym procesie waskulogenezy przez osadzenie się w naczyniach, różnicowanie, migrację i tworzenie nowych naczyń. EPC odgrywają rolę w tym procesie nie tylko jako podstawowe komórki do tworzenia nowych naczyń, ale również poprzez wpływ na sąsiednie komórki w sposób parakryny.

Perycyty, będące multipotencjalnymi komórkami macierzystymi, współtworzą ściany naczyń krwionośnych włosowatych oraz przed- i pozawłosowatych. Komórki są umiejscowione pod błoną podstawną, ściśle przylegają do komórek śródbłonka. Do najczęściej wymienianych markerów molekularnych perycytów należy NG2 (ang. *neural-gial antigen 2*), receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu  $\beta$  (ang.  *$\beta$ -type platelet-deri-*

*ved growth factor receptor, PDGFR $\beta$* ),  $\alpha$ -aktyna mięśni gładkich, białko regulujące RGS5 (ang. *regulator of G protein signalling 5*), białko adhezyjne CD146 oraz nestyna. Perycytom przypisuje się różne funkcje w procesach fizjologicznych, takich jak utrzymanie integralności i stanu spoczynkowego komórek śródbłonka, regulacja napięcia naczyń krwionośnych czy też potencjał do różnicowania w inne komórki. Perycyty, podobnie jak inne komórki, np. mezenchymalne komórki macierzyste (ang. *mesenchymal stem cells, MSCs*), mogą oddziaływać parakrynnie: przez wydzielanie czynników wzrostu, cytokin i uwalnianie mikropęcherzyków zawierających białka, cząsteczki mRNA i miRNA. Na przykład ludzkie perycyty wyizolowane z mięśni wytwarzają dużo takich czynników jak: HB-EGF, VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) czy HGF (ang. *hepatocyte growth factor*). Poziom ich znacznie przewyższa ten charakterystyczny dla hodowli mezenchymalnych komórek macierzystych wyizolowanych z tkanki tłuszczowej czy krwi pępowinowej.

Kolejną grupą interesujących komórek są komórki macierzyste naskórka. Naskórek bierze udział w regulacji gospodarki wodnej organizmu oraz wchodzi w skład skórno-immunologicznego systemu. Zbudowany jest głównie z keratynocytów, będących na różnym etapie zróżnicowania. Utrzymanie odpowiedniej równowagi i odnowy naskórka możliwe jest dzięki właściwościom regeneracyjnym komórek macierzystych, dającym początek zróżnicowanym keratynocytom. Komórki macierzyste naskórka umiejscowione są w warstwie podstawnej naskórka oraz w rejonie wybrzuszenia mieszków włosowych i w jego macierzy germinalnej. Komórki te wyróżnia wydłużony cykl komórkowy, wysoki potencjał proliferacyjny oraz nieograniczona zdolność do odnowy.

Najciekawsze źródło komórek macierzystych naskórka wykorzystywanych obecnie



Ryc. 1. Przygotowanie zabiegu.



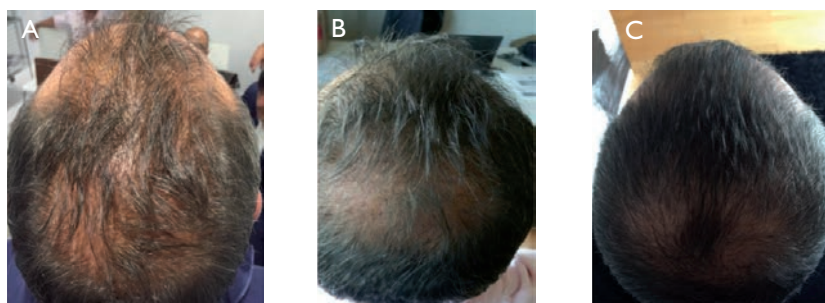
**Ryc. 2.** Terapia łysienia androgenowego za pomocą techniki *Regenera Activa*, przed zabiegiem (A), po zabiegu (B).

w medycynie stanowią mieszki włosowe. Rozwijają się jeszcze w trakcie trwania życia płodowego i powstają na skutek oddziaływania komórek epidermalnych i mezenchymalnych. Mieszki włosowe są siedliskiem różnych populacji komórek macierzystych i stanowią główne źródło komórek odpowiedzialnych za regenerację włosów, gruczołów łojowych i naskórka. W warunkach fizjologicznych w regeneracji naskórka uczestniczą komórki macierzyste warstwy podstawnej naskórka, dzięki którym naskórek utrzymuje zdolność do odnowy. Jednakże w przypadku wystąpienia jakichkolwiek urazów czy oparzeń uszkodzony naskórek całkowicie regenerują nabłonkowe komórki macierzyste mieszków włosowych. W wielu badaniach potwierdzono, iż w obrębie mieszka włosowego znajdują się także inne populacje komórek macierzystych. Drugą ważną grupą komórek macierzystych są mezenchymalne komórki macierzyste, które zlokalizowano w torebce włóknistej i w brodawce włosa. Mają one potencjał do regeneracji nie tylko komórek hematopoetycznych, lecz mogą także różnicować się w komórki tłuszczowe, mięśniowe czy kostne. W obrębie mieszka włosowego obecne są również komórki o potencjale zbliżonym do komórek embrionalnych – są to komórki wywodzące się najprawdopodobniej z grzebienia nerwowego. Komórki te wykazują ekspresję nestyny i są

zdolne do regeneracji m.in. neuronów, komórek glejowych, jak i melanocytów.

### Mikroprzeszczep skóry a regeneracja

Każdy mikroprzeszczep wykonany w metodzie *Regenera Activa* stanowi niszę regeneracji, która po infiltracji obszaru dotkniętego chorobą może nie tylko proliferować i tworzyć nową macierz dla siebie, ale także pobudzać otaczające środowisko do regeneracji i odbudowy utraconej aktywności ze szczególnym uwzględnieniem procesów neoangiogenezy. W literaturze naukowej nie znajdziemy odpowiedzi na pytanie, ile komórek progenitorowych potrzebne jest do uzyskania konkretnego efektu terapeutycznego. Należy pamiętać, że mówimy o metodach medycyny regeneracyjnej. W przypadku każdego pacjenta poziom odzyskania komórek z mikroprzeszczepu będzie inny, każdy pacjent ma również inne zdolności regeneracyjne, i wreszcie u każdego z nich poziom zaawansowania procesu chorobowego jest inny. Wiadomo natomiast, że liczba komórek, którą można wyizolować z jednego mikroprzeszczepu to około 80 tys. Pobierając trzy biopsje do dyspozycji pozostaje około 240 tys. komórek, która to liczba, jak wynika z danych klinicznych jest w stanie przynieść znakomite efekty kliniczne.



Ryc. 3. Terapia łysienia androgenowego za pomocą techniki Regenera Activa, przed zabiegiem (A), po zabiegu (B,C).

### Procedura zabiegu terapii łysienia androgenowego

Urządzenie *Regenera Activa*, poprzez skalibrowany proces mechaniczny oraz filtrację pozwala uzyskać wysoką koncentrację komórek zdolnych do regeneracji tkanek. Po podaniu znieczulenia miejscowego, z okolicy karku na linii włosów pobiera się zwykle trzy wycinki skóry o średnicy 2,5 mm. Jest to obszar, który jest najmniej podatny na łysienie androgenowe. Następnie za pomocą specjalnego urządzenia pobrane od pacjenta wycinki poddane są mechanicznej obróbce i filtracji, dzięki czemu odzyskiwane są komórki, które mają zdolności regeneracyjne. Tak przygotowaną zawiesinę wstrzykuje się w skórę głowy pacjenta w okolicy mieszków włosowych, aby zainicjować procesy naprawcze. Zabieg trwa około 30 minut i nie wymaga okresu rekonwalescencji. Miejsca pobrania wycinków skóry

goją się samoistnie w ciągu kilkunastu dni. Z ponad trzyletnich obserwacji klinicznych wynika, że zabieg *Regenera Activa* daje bardzo dobre efekty kliniczne jako zabieg jednorazowy – nie ma konieczności wykonywania go w serii. Łysienie androgenowe jest jednak chorobą postępującą, której nie można, na obecnym etapie wiedzy, całkowicie zatrzymać. Przy pomocy tej metody można jednak spowolnić ten proces, a nawet uzyskać odrost części utraconych włosów. Jest to jednak uzależnione od indywidualnych zdolności regeneracyjnych pacjentów. Kolejny zabieg można wykonać po około dwóch, trzech latach. Należy pamiętać, że nie jest to zabieg dla osób zupełnie pozbawionych włosów i mieszków włosowych. Kluczowa jest odpowiednia diagnoza i rozmowa z pacjentem o jego potrzebach i oczekiwaniach. Przy odpowiedniej kwalifikacji pacjenta zabieg ten jest w stanie przynieść bardzo dobre efekty kliniczne.



**KLINIKA JANECKO**

Pojawienie się terapii *Regenera Activa* na polskim rynku dało dermatologom nową broń w walce z łysieniem androgenowym, które nie jest łatwe do leczenia. Wymaga wieloletnich terapii lekami doustnymi na bazie finasterydu lub codziennego wcierania minoksydylu w skórę głowy. Inne, pomocnicze terapie estetyczne, takie jak mezoterapia preparatami wieloskładnikowymi lub terapia osoczem bogatopłytkowym, wymagają serii 4-8 zabiegów. W przypadku *Regenera Activa* wykonujemy pojedynczy zabieg raz na 2-3 lata. Pierwsze doświadczenia z tym nowatorskim zabiegiem są niezwykle obiecujące. Pierwsze efekty można zauważyć u pacjentów już po 6-8 tygodniach, a efekt utrwała się nawet do 6 miesięcy po zabiegu. Zabieg jest przy tym zupełnie bezbolesny dla pacjenta i nie wymaga okresu rekonwalescencji.

Piśmiennictwo:

1. Chen C.W., Montelatici E., Crisan M., Corselli M., Huard J., Lazzari L., Péault B.: Perivascular multi-lineage progenitor cells in human organs: regenerative units, cytokine sources or both? *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2009; 20: 429-434.
2. Birbrair A., Zhang T., Files D.C., Mannava S., Smith T., Wang Z.M., Messi M.L., Mintz A., Delbono O.: Type-I pericytes accumulate after tissue injury and produce collagen in an organ-dependent manner. *Stem Cell Res. Ther.*, 2014; 5: 122.
3. Jahoda C.A., Reynolds A.J.: Hair follicle dermal sheath cells: unsung participants in wound healing. *Lancet*, 2001; 358: 1445-1448.
4. Lako M., Armstrong L., Cairns P.M., Harris S., Jahoda C.A.: Hair follicle dermal cells repopulate the mouse haematopoietic system. *J. Cell. Sci.*, 2002; 115: 3967-3974.
5. Rochat A., Kobayashi K., Barrandon Y.: Location of stem cells of human hair follicles by clonal analysis. *Cell*, 1994; 76: 1063-1073.
6. Trovato L., Monti M., Del Fante C., "A New Medical Device Rigeneracons Allow to Obtain Viable Micro-Grafts from Mechanical Disaggregation of Human Tissues", *Journal of Cellular Physiology*, 2015, 230, 2229-2303.
7. Zantoretta F., Laverazzi E., Trovato L., Adipose Derived Stem Cells And Growth Factors Applied on Hair Transplantation. Follow-Up of Clinical Outcome", *Journal of Cosmetics, Dermatological Science and Applications*, 2014, 4, 268-274.
8. Purpura V., Bondlioli E., Graziano A., Trovato L., Melandri D., Ghetti M., Tissue Characterization after a New Disaggregation Method for Skin Micro-Grafts Generation. *J. Vis. Exp.* (109), e53579, doi: 10.3791/53579 (2016).
9. Giaccone M, Brunetti M, Camandona M, Trovato L, Graziano A. A Ne Medical Device, Based on Rigenera Protocol, in the management of Complex Wounds. *J Stem Cells Res, Rev & Rep.* 2014;1(3):3.