

dr hab. n. med. Monika Paul-Samojedny

Katedra i Zakład Genetyki Medycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Jan Kowalski

# Zastosowanie komórek macierzystych izolowanych z tłuszczu w gojeniu się ran

**Komórki macierzyste – inaczej komórki pnia (ang. stem cells) to komórki zdolne do potencjalnie nieograniczonej liczby podziałów, samoodnawiania się i do różnicowania się do innych typów komórek.**

Wyróżnia się komórki macierzyste embrionalne (ang. *embryonic stem cells*, *ES cells*), płodowe (ang. *foetal stem cells*) oraz dorosłego organizmu (ang. *adult stem cells*). Pierwsze z wymienionych pochodzą z wewnętrznej masy blastocysty. Z kolei do płodowych komórek macierzystych zalicza się komórki tkanek płodowych oraz komórki krwi pępowinowej, płynu owodniowego, w tym komórki hemopoetyczne, komórki łożyska oraz mezenchymalne komórki macierzyste. Obecność komórek macierzystych w przypadku dorosłego człowieka stwierdza się w większości tkanek i jako tkankowo specyficzne mogą to być komórki multi-, di-, oraz unipotencjalne. Dodatkowo w szpiku kostnym i tkance tłuszczowej w dużej ilości obecne są komórki hemopoetyczne i mezenchymalne<sup>[1-12]</sup>. Biorąc pod uwagę stopień potencji, komórki macierzyste dzieli się z kolei na toti-, pluri-, multi- i unipotencjalne.

Ludzkie komórki macierzyste mogą być potencjalnie pozyskiwane z embrionów ludzkich uzyskiwanych metodą zapłodnienia *in vitro* lub uzyskiwanych metodą klonowa-

nia, z tkanki płodu po poronieniu czy aborcji, z krwi pępowinowej, łożyska lub płynu owodniowego podczas porodu oraz z tkanek dorosłego organizmu. Istotne znaczenie regeneracyjne w medycynie, w tym w procesie gojenia się ran, odgrywają mezenchymalne komórki macierzyste.

## **Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC)**

Mezenchymalne komórki macierzyste (ang. *mesenchymal stem cells* – MSC) stanowią, jak wspomniano, cenne narzędzie medycyny regeneracyjnej i mogą być wykorzystane m.in. w leczeniu zmian zwyrodnieniowych stawów czy do rekonstrukcji tkanek kostnych i chrzęstnych, w terapii chorób układów sercowo-naczyniowego oraz dokrewnego. Wykorzystuje się je również w chirurgii plastycznej i medycynie estetycznej. Cechą wymienionych komórek jest multipotencjalność – zdolność do różnicowania się w różne typy wyspecjalizowanych komórek ludzkiego ciała, a także zdolność do

szybkiego namnażania i regeneracji. Do zabiegów z wykorzystaniem komórek macierzystych należą: przeszczepy własnej tkanki tłuszczowej, uzupełnianie ubytków tkanki podskórnej uwarunkowanych występowaniem zespołu Romberga czy terapią przeciwnowotworową, przeszczepy tkanki kostnej (np. kranioplastyka – uzupełnianiu ubytków pokrywy czaszki), ortopedyczne operacje rekonstrukcyjne, wypełnianie ubytków tkanki kostnej (np. po resekcji nowotworów żuchwy), operacje rozszczepu podniebienia, przeszczepy skóry, a w przypadku medycyny estetycznej także operacje piersi, wypełnianie ubytków po usunięciu implantów, rekonstrukcja gruczołu piersiowego po mastektomii czy leczenie łysienia. Warto podkreślić, że MSC mają również zastosowanie w leczeniu niegojących się ran przewlekłych, takich jak odleżyny, zmiany skórne u chorych na cukrzycę czy rany powstałe z powodu niedokrwienia lub infekcji, a także w terapii głębokich oparzeń.

Ze względów etycznych embrionalne komórki macierzyste nie mają obecnie zastosowania klinicznego. Podobnych dylematów nie dostarcza na pewno stosowanie komórek macierzystych pochodzących z dorosłego organizmu, zaś dzięki autologicznemu pochodzeniu stanowią one doskonały materiał dla terapii komórkowej.

Obecność komórek mezenchymalnych potwierdzono w większości tkanek ludzkich takich jak krew pępowinowa, płyn owodniowy, łożysko, szpik kostny, serce i tkanka tłuszczowa<sup>[13-15]</sup>.

Mezenchymalne komórki macierzyste można pozyskiwać z miazgi zębów, błon płodowych, szpiku kostnego oraz tkanki tłuszczowej. Dotychczas pierwszym i głównym źródłem MSC był szpik kostny. Niestety jego pobieranie jest związane z dość inwazyjną i bolesną procedurą. Obecnie duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem odkrytych w 2000 roku multipotencjalnych MSC

w tkance tłuszczowej<sup>[15-23]</sup>. Warto zaznaczyć, że tkanka tłuszczowa charakteryzuje się dużą zawartością komórek macierzystych, które można w dość łatwy sposób pozyskać, wyizolować i namnożyć<sup>[24]</sup>. Ponadto tkanka tłuszczowa jako źródło komórek macierzystych spełnia także kryteria, jakie stawia się komórkom macierzystym wykorzystywanym do celów klinicznych, a mianowicie komórki takie powinny cechować duża dostępność i minimalnie inwazyjny proces pobierania, żywotność i możliwość różnicowania się w wyspecjalizowane typy komórek potomnych niezależnie od wieku dawcy oraz możliwość skutecznych i bezpiecznych przeszczepów autologicznych i allogenicznych.

### **Tkanka tłuszczowa – źródło mezenchymalnych komórek macierzystych**

Jak wspomniano wcześniej, komórki macierzyste w największej ilości są obecne w tkankach płodowych i jednocześnie to one cechują się największymi zdolnościami do regeneracji, jednakże ze względów etycznych komórki macierzyste wykorzystywane w zabiegach pozyskiwane są od osób dorosłych. Do tych celów wykorzystuje się przede wszystkim mezenchymalne komórki macierzyste, których najlepiej dotychczas poznanym źródłem jest szpik kostny. Jednak z uwagi na specyfikę metody pobierania szpiku kostnego i konieczność rdzeniowego lub całkowitego znieczulenia oraz ze względu na możliwość uzyskania tą drogą niewielkiej liczby komórek mezenchymalnych (około 1 na 105 adherentnych komórek łącznotkankowo-naczyniowego zrębu) alternatywnym źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych zrębu, oprócz szpiku kostnego, okostnej, tkanki mięśniowej czy błony stawowej, stała się tkanka tłuszczowa, którą można pozyskiwać drogą liposukcji lub lipektomii (chirurgicznego wycięcia tkanki) pod-

czas operacji chirurgicznych okolic brzucha planowanych i laparoskopowych. Tkanka tłuszczowa, podobnie jak szpik kostny, jest pochodzenia mezodermalnego i zawiera heterogenną populację komórek zrębu, a jej dodatkową zaletą jest dostępność i obfitość. Co więcej, komórki macierzyste tkanki tłuszczowej stosunkowo łatwo rozmnaża się w hodowli, a same komórki powoli się starzeją (nawet do 15 i więcej pasaży)<sup>[25]</sup>. Szacuje się, że z tkanki tłuszczowej można pozyskać nawet 100 do 1000 razy więcej komórek macierzystych (z 300 ml tkanki tłuszczowej uzyskuje się 2–3 razy 10<sup>8</sup> ADSCs) niż ze szpiku kostnego. Tkanka tłuszczowa jest jednocześnie tanim i nieograniczonym rezerwuarem komórek macierzystych<sup>[26,27]</sup>. Liczba komórek macierzystych uzyskiwanych z tkanki tłuszczowej jest w znacznym stopniu zależna od miejsca pobierania tkanki – jeśli jest to tkanka sutka, to wydajność wynosi około 300 tys. komórek na 1 g tkanki, a w przypadku tkanki okolicy brzucha nawet 700 tys. na 1 g tkanki<sup>[28,29]</sup>. Szacuje się, że komórki macierzyste tkanki tłuszczowej występują średnio w stężeniu ~50 tys. komórek na ml tkanki tłuszczowej (około 7% komórek w tkance rozpuszczonej enzymatycznie), co stanowi 100 razy większą liczbę niż liczba mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) izolowanych ze szpiku kostnego<sup>[30]</sup>. Wspomniane wcześniej zabiegi liposukcji są dobrze tolerowane i nie wiążą się z wysokim ryzykiem powikłań (tylko ~0,1%)<sup>[31]</sup>, zaś pobieranie tkanki tłuszczowej tą metodą nie wpływa bezpośrednio na przeżywalność komórek – komórki przeżywają w 98–100%<sup>[32-34]</sup>. Jak wspomniano, tkanka tłuszczowa w porównaniu do szpiku kostnego może być pobierana w dużych ilościach i zawierać tym samym dużą liczbę komórek macierzystych<sup>[30]</sup>.

W tkance tłuszczowej białej i brunatnej obecne są somatyczne komórki macierzyste pochodzenia mezenchymalnego<sup>[35]</sup>. Komórki zrębu pozyskiwane z tkanki tłuszczowej cha-

rakteryzują się zdolnością do adhezji do plastiku, tworzenia form przypominających kolonie fibroblastów, a przede wszystkim dużą zdolnością do proliferacji i różnicowania się w adipocyty, chondrocyty, mioblasty i osteoblasty. Ponadto komórki te wykazują ekspresję wielu wspólnych antygenów powierzchniowych z komórkami pochodzącymi ze szpiku kostnego<sup>[36]</sup>. Do markerów powierzchniowych wspólnych dla komórek ASC i komórek macierzystych zrębu szpiku należą CD9 (białko tetraspan), CD10 (neuralna endopeptydaza), CD13 (aminopeptydaza), CD29 (integryna b1), CD49d (integryna a4), CD44 (receptor kwasu hialuronowego), CD54 (ICAM-1, cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1), CD55 (czynnik przyspieszający rozkład), CD59 (układ dopełniacza), CD71 (receptor transferyny), CD73 (ekto-5-nucleotydaza), CD90 (Thy-1), CD105 (endoglin), CD106 (cząsteczka adhezji komórkowej naczyń), CD144 (VE-cadheryna), CD146 (MUC-18), CD166 (cząsteczka adhezji komórek aktywowana limfocytami; ALCAM), aktywna mięśni gładkich, wimentyna, markery hematopoetyczne CD14, CD31 i CD45 oraz VEGFR-2 i białka I klasy głównego układu zgodności tkankowej HLA-ABC. W odróżnieniu od komórek macierzystych pochodzących ze szpiku kostnego komórki macierzyste tkanki tłuszczowej nie zawierają markerów CD11b (integryna ab), CD18 (integryna b2), CD50 (ICAM-3, cząsteczka adhezji międzykomórkowej 3), CD56 (NCAM, cząsteczka adhezji komórek nerwowych), CD62 (selektyna E), CD104 (integryna a4), CD116 (receptor Fc) oraz białka II klasy głównego układu zgodności tkankowej<sup>[13,18,50]</sup>. Obserwowano także różnice w ekspresji dwóch markerów – CD49d (komórki ASC pozytywne) i CD106 (komórki ASC negatywne). W przypadku komórek MSCs zależności te były odwrotne. Porównanie immunofenotypów ludzkich ASC i MSC wskazuje, że są one w 90% jednakowe<sup>[37]</sup>.

Komórki macierzyste pozyskiwane z tkanki tłuszczowej określa się mianem ADSC (ang. *adipose derived stem cell*), ADAS (ang. *adipose derived adult stem*), ADSC (ang. *adipose derived stroma cells*), ASC (ang. *adipose stroma cells*), AdMSC (ang. *adipose mesenchymal stem cells*, *lipiblasty*, *pericyty*, *pre-adipocyty*) czy PLA (ang. *processed lipoparaspirate cells*). W celu ujednoczenia nazewnictwa International Fat Applied Technology Society wskazuje na termin *adipose-derived stem cells* (ASCs) jako właściwy dla komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej, co pozwala na odróżnienie ASCs od adherentnych komórek macierzystych/komórek progenitorowych szpiku kostnego, mezenchymalnych komórek macierzystych i multipotentnych mezenchymalnych komórek zrębu (MSCs)<sup>[38]</sup>. Mogą one być wykorzystywane zarówno w terapii leczniczej, jak i regeneracyjnej. Udowodniono ponadto, że komórki te w reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi mogą wykazywać właściwości immunosupresyjne<sup>[39]</sup>. Dzięki identyfikacji markerów powierzchniowych ASC możliwa jest izolacja populacji komórek macierzystych bezpośrednio z heterogennej, a do tego celu wykorzystuje się cytometrię przepływową i immunomagnetyczne kulki<sup>[40]</sup>.

Terapie z wykorzystaniem komórek macierzystych w chorobach skóry są nadal eksperymentalne, choć prowadzone są intensywne badania nad ich wykorzystaniem w leczeniu dystroficznej odmiany pęcherzowego oddzielania się naskórka, tocznia rumieniowatego układowego, bielactwa, różnych typów łysienia, owrzodzeń i trudno gojących się ran<sup>[41]</sup>.

### Zastosowanie komórek macierzystych w leczeniu ran

Dzięki enzymatycznemu trawieniu tkanki tłuszczowej i usunięciu adipocytów uzyskuje się frakcję SVF, która dotychczas była stosowana z sukcesem, np. w uzupełnianiu przet-

szczepów tłuszczu, leczeniu nietrzymania moczu czy ran przewlekłych<sup>[42-45]</sup>.

Jedną z podstawowych funkcji komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej jest stymulacja angiogenezy przez różnicowanie w komórki śródbłonka. Ponadto ADSCs mogą stymulować powstawanie fibroblastów, jak i same przekształcać się w fibroblasty, a w odpowiednich warunkach także w keratynocyty. Wiadomo, że ich podanie mobilizuje również inne komórki macierzyste, w tym komórki macierzyste naskórka, co jest warunkowane m.in. wytworzeniem określonych czynników wzrostu – np. czynnika wzrostu naskórka (EGF), czynnika wzrostu dla fibroblastów (bFGF), czynnika wzrostu dla hepatocytów (HGF), transformującego czynnika wzrostu (TGF- $\beta$ ), czynnika wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), czynnika wzrostu dla keratynocytów (KGF), a także różnych cytokin (m.in. IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, TGF- $\alpha$ )<sup>[46]</sup>.

Proces gojenia się rany jest złożony i jednocześnie uzależniony od obecności określonego typu komórek, czynników wzrostu, cytokin oraz elementów macierzy zewnątrzkomórkowej. Szczególnie istotne znaczenie w procesie gojenia ran odgrywają komórki macierzyste dające początek komórkom progenitorowym i zróżnicowanym, a wśród najważniejszych wymienić należy komórki macierzyste naskórka, skórne prekursorzy fibroblastów, komórki macierzyste pochodzące ze szpiku kostnego oraz z tkanki tłuszczowej. Aktywność wspomnianych komórek jest regulowana przez mikrośrodowisko, a konkretnie obecne w nim czynniki wzrostu (EGF, FGF, PDGF, TGF i VEGF)<sup>[47]</sup>. Okazuje się, że istotne znaczenie ma także rusztowanie tkankowe powstałe z pozbawionych komórek tkanek, które wpływa na różnicowanie komórek macierzystych w komórki i struktury charakterystyczne dla tkanki, z której przygotowano taką matrycę. Stąd też wszczepiając rusztowania tkankowe wzbogacone dodat-

kowo w odpowiednie cytokiny i ligandy dla molekuł adhezyjnych, możliwe jest odtwarzanie tkanek i narządów *in vitro*. Tego rodzaju strategia jest również stosowana w przypadku leczenia ran skóry<sup>[48]</sup>.

Szacuje się, że nawet do 50% ciężkich, przewlekłych ran skóry nie poddaje się leczeniu dostępnymi obecnie metodami. Wiadomo, że fizjologicznie za odnowę naskórka odpowiedzialne są komórki macierzyste zlokalizowane w jego warstwie podstawnej. W przypadku uszkodzenia skóry w jej regeneracji uczestniczą dodatkowo, szczególnie w pierwszym etapie, komórki macierzyste regionu „wybrzuszenia” mieszka włosowego. Komórki mogą być podawane pacjentom w postaci zawiesiny, nowego naskórka lub też w postaci złożonego substytutu skór nego<sup>[47]</sup>. Wiadomo, że komórki macierzyste mogą być wykorzystane w procesie gojenia ran towarzyszących cukrzycy, w przebiegu niewydolności krążenia, rozległych oparzeń. Mezenchymalne komórki macierzyste poza tym, że wykazują zdolność do proliferacji i wydzielania czynników wzrostu (VEGF, bFGF, KGF), wykazują także działanie przeciwzapalne dzięki stymulowaniu uwalniania cytokin przeciwzapalnych oraz hamowaniu aktywności cytokin prozapalnych. Jest to szczególnie istotne w przypadku długotrwałego leczenia ran, ponieważ nasilenie stanu zapalnego może znacząco utrudniać proces regeneracji tkanek. Ponadto, oprócz stymulacji gojenia ran, komórkom tym przypisuje się zdolność do zmniejszania tendencji do tworzenia zniekształcającego bliznowacenia i blizn przerostowych<sup>[49,50]</sup>. W chwili obecnej w procesie gojenia się ran wykorzystywane są komórki macierzyste naskórka, szpiku kostnego oraz pochodzące z tkanki tłuszczowej. Możliwe jest podawanie pacjentowi populacji komórek wzbogaconych w komórki macierzyste i progenitorowe w różnej postaci – bezpośredniej aplikacji na ranę (np. jako zawiesina), iniekcji (naczynia obwodowe),

dożylnie oraz na odpowiednim rusztowaniu biologicznym. Najczęściej stosowanymi komórkami są namnożone *in vitro* autologiczne komórki progenitorowe naskórka, ale prowadzone są także intensywne badania z wykorzystaniem MSCs (głównie pochodzenia szpikowego), ASCs lub HSCs w leczeniu ran<sup>[47]</sup>. W wielu badaniach przedklinicznych i klinicznych wykazano, że podawanie ADSC poprawia gojenie się ran dzięki zwiększonemu przyspieszeniu zamykania rany, redukuje bliznowacenie, sprzyja syntezie kolagenu, angiogenezie i poprawia wytrzymałość na rozciąganie. We wspomnianych próbach klinicznych ADSC wykazały duży potencjał w leczeniu przewlekłych ran ze względu na zwiększone wydzielanie czynników wzrostu indukujących angiogenezę<sup>[51]</sup>. Zarówno badania *in vitro*, jak i *in vivo* wykazały, że ASC nie tylko różnicują się do keratynocytów, fibroblastów i komórek śródbłonna, czego dowodem są morfologia, ekspresja markerów powierzchniowych i ekspresja określonych genów, ale także wydzielają kilka rozpuszczalnych czynników, pozytywnie wpływających na proces gojenia się ran w sposób parakrynowy<sup>[52]</sup>. Wyniki eksperymentu przeprowadzonego przez lekarzy z Japonii wskazują, że w przypadku 18 z 20 pacjentów doszło do całkowitego zagojenia ran, podczas gdy zastosowanie tradycyjnych metod wiązało się z jedynie 50% skutecznością<sup>[52-55]</sup>.

## Podsumowanie

Wykorzystanie w terapii komórek macierzystych pozyskiwanych z organizmów dorosłych nie stanowi problemu etycznego. Dodatkowo komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej spełniają wszystkie wymogi stawiane MSC przez International Society for Cellular Therapy, The International Federation of Adipose Therapeutics and Sciences i inne<sup>[56,56]</sup>. Niewątpliwą zaletą komórek macierzystych pochodzących

z tkanki tłuszczowej jest również stosunkowo łatwy sposób ich pozyskiwania – np. z aspiratów liposukcji lub podskórnych fragmentów tkanki tłuszczowej<sup>[58]</sup>. Tkanka tłuszczowa jest bogatym źródłem dorosłych mezenchymalnych komórek macierzystych wykazujących potencjał regeneracyjny<sup>[59]</sup> i właściwości gojenia ran<sup>[60,61]</sup>. Komórki macierzyste wywodzące się z tkanki tłuszczowej zwiększają gojenie ran, różnicując w endogenne komórki skóry, zwiększając migrację nabłonkową i proliferację fibroblastów, pobudzając angiogenezę, wydzielając cytokiny i czynniki wzrostowe (insulinopodobny czynnik wzrostowy, czynnik wzrostu hepatocytów, czynnik wzrostu śródbłonna naczyń), a także zmniejszając powstawanie blizn<sup>[62]</sup>.

#### Piśmiennictwo:

- Evans MJ, Kauffman MH.: Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos, *Nature* 1981; 292: 154–156.
- Thomson J.A, Itskovitz J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM.: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts, *Science* 1998; 282(5391), 1145–1147.
- Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N.: Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells, *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(21), 11307–11312.
- Int'Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, Kanhai HH.: Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells* 2004;22:1338–1345.
- Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM.: Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow, *Blood* 2001;98:2396–2402.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, et al.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science* 1999;284:143–147.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al.: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow 2002 *Nature*; 418: 41–49.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JJ, Mizuno H, Alfonso ZC, et al.: Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002;13:4279–4295.
- De Coppi P, Bartsch GJr, Siddiqui MM et al.: Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2006; 25:100–106.
- Bieback K, Kern S, Kluter H, Eichler H.: Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004;22:625–634.
- Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. 2004.: Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 103:1669–1675.
- Beltrami AP, Cesselli D, Bergamin N et al.: Multipotent cells can be generated in vitro from several adult human organs (heart, liver, and bone marrow). *Blood* 2007;110:3438–3446.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, et al.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science* 1999;284:143–147.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al.: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow 2002 *Nature*; 418: 41–49.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JJ, Mizuno H, Alfonso ZC, et al.: Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002;13:4279–4295.
- Banaś A, Yamamoto Y, Teratani T, Ochiya T. Stem cell plasticity: Learning from hepatogenic differentiation strategies. *Developmental Dynamics* 2007;236:3228–3241.
- Banaś, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kawamata M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. IFATS Collection: In vivo therapeutic potential of human Adipose Tissue Mesenchymal Stem Cells (AT-MSCs) after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008; 26:2705–2712.
- Seo MJ, Suh SY, Bae YC, Jung JS.: Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Co* 2005; 328:258–264.
- Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso ZC, Schreiber RE, Fraser JK, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005;54: 132–141.
- Dicker A, Le Blanc K, Astrom G, Van Harmelen V, Gotherstrom C, Blomqvist L, Arner P, et al.: Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. *Exp Cell Res* 2005;308:283–290.
- Safford KM, Hicok KC, Safford SD, Halvorsen YD, Wilkison WO, Gimble JM, Rice HE.: Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294:371–379.
- Cao Y, Sun Z, Liao L, Meng Y, Han Q, Zhao RC.: Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;332:370–379.
- Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, Turc-Carel C, Kurzenne JY, Wdziekonski B, Villageois A et al.: Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med* 2005;201:1397–1405.
- Banaś A. Komórki macierzyste – perspektywy i zagrożenia. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego* 2010; 2:117–127.
- Safford K.M., Safford S.D., Gimble J.M., Shetty A.K., Rice H.E.: Characterization of neuronal/glial differentiation of murine adipose-derived adult stromal cells. *Exp. Neurol.*, 2004; 187: 319–328.
- Ogliari K.S., Marinowicz D., Brum D.E., Loth F.: Stem cells in dermatology. *An Bras Dermatol* 2014, 89, 286–292.
- Koźlik M., Wójcicki P.: The use of stem cells in plastic and reconstructive surgery. *Adv Clin Exp Med* 2014, 23, 1011–1017.
- Fraser J.K., Zhu M., Wulur I., Alfonso Z.: Adipose-derived stem cells. *Methods Mol. Biol.*, 2008; 449: 59–67.
- van Harmelen V., Skurk T., Hauner H.: Primary culture

- and differentiation of human adipocyte precursor cells. *Methods Mol. Med.*, 2005; 107: 125–135.
30. James AW, Zara JN, Zhang X, i wsp.. Perivascular stem cells: a prospectively purified mesenchymal stem cell population for bone tissue engineering. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(6):510-519.
  31. Housman T.S., Lawrence N., Mellen B.G., George M.N., Filippo J.S., Cerveny K.A., DeMarco M., Feldman S.R., Fleischer A.B.: The safety of liposuction: results of a national survey. *Dermatol. Surg.*, 2002; 28: 971–978.
  32. Oedayringsingh-Varma M.J., van Ham S.M., Knippenberg M., Helder M.N., Klein-Nulend J., Schouten T.E., Ritt M.J., van Milligen F.J.: Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure. *Cytotherapy*, 2006; 8: 166–177.
  33. Lalkos JF, Li YQ, Roth TP, Doyle JW, Matory WE, Lawrence WT. Biochemical assessment of cellular damage after adipocyte harvest. *J Surg Res.* 1997;70 (1):95-100.
  34. Schreml S, Babilas P, Fruth S, i wsp.. Harvesting human adipose tissue-derived adult stem cells: resection versus liposuction. *Cytotherapy*. 2009;11(7):947-957.
  35. Skalska U., Kontny E., Prochorec-Sobieszek M., Maśliński W.: Intra-articular adipose-derived mesenchymal stem cells from rheumatoid arthritis patients maintain the function of chondrogenic differentiation. *Rheumatology (Oxford)* 2012, 51, 1757-1764.
  36. Jezierska-Woźniak K, Nosarzewska D., Tutas A., Mikołajczyk A., Okliński M., Jurkowski MK. Wykorzystanie tkanki tłuszczowej jako źródła mezenchymalnych komórek macierzystych. *Postępy Hig Med Dosw* 2010; 64:326-332.
  37. Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.L., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H.: Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell.*, 2002; 13: 4279–4295.
  38. Gimble J.M., Katz A.J., Bunnell B.A.: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ. Res.*, 2007; 100: 1249–1260.
  39. Yanez R., Lamana M.L., Garcia-Castro J., Colmenero I., Ramírez 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.
  40. Gimble J.M., Katz A.J., Bunnell B.A.: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ. Res.*, 2007; 100: 1249–1260.
  41. Owczarczyk-Saczonek A., Placek W., Maksymowicz W. Znaczenie i wykorzystanie komórek macierzystych w dermatologii. *Przeegl Dermatol* 2016; 103:309–315.
  42. Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Boriani F. Autologous fat transplantation versus adipose-derived stem cell-enriched lipografts: a study. *Aesthet Surg J.* 2011;31(6):682-693.
  43. Yamamoto T, Gotoh M, Kato M, i wsp.. Periurethral injection of autologous adipose-derived regenerative cells for the treatment of male stress urinary incontinence: Report of three initial cases. *Int J Urol.* 2012;19(7):652-659.
  44. Akita S, Yoshimoto H, Akino K, i wsp.. Early experiences with stem cells in treating chronic wounds. *Clin Plast Surg.* 2012;39(3):281-292.
  45. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, i wsp.. Supplementation of fat grafts with adipose-derived regenerative cells improves long-term graft retention. *Ann Plast Surg.* 2010;64(2):222-228.
  46. Tobita M., Orbay H., Mizuno H.: Adipose-derived stem cells: current findings and future perspectives. *Discov Med.* 2011, 11, 160-170.
  47. Piķula M., Langa P., Kosikowska P., Trzonkowski P. Komórki macierzyste i czynniki wzrostu w gojeniu ran. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2015; 69:874-885.
  48. Philip D, Chen SS, Fitzgerald W, Orenstein J, Margolis L, Kleinman HK.: Complex extracellular matrices promote tissue-specific stem cell differentiation, *Stem Cells* 2005;23:288–296.
  49. Li X., Hamada T., Ohata C., Furumura M., Hashimoto T.: Potential mesenchymal stem cell therapy for skin diseases. *Exp Dermatol* 2013, 22, 515-516.
  50. Meirelles Lda S., Nardi N.B.: Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Front Biosci* 2009, 14, 4281-4298.
  51. Toyserkani N.M., Christensen M.L., Sheikh S.P., Sorensen J.A. Adipose-Derived Stem Cells: New Treatment for Wound Healing? *Ann. Plast. Surg.* 2015;75:117–123.
  52. Shingyochi Y., Orbay H., Mizuno H. Adipose-derived stem cells for wound repair and regeneration. *Expert Opin Biol Ther.* 2015;15(9):1285-92.
  53. Koźlik, Maciej, and Piotr Wójcicki. The Use of Stem Cells in Plastic and Reconstructive Surgery. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University* 23.6 (2013): 1011-1017.
  54. Reichenberger MA, Mueller W, Schafer A: Adipose Derived Stem Cells Protect Skin Flaps Against Ischemia-Reperfusion Injury. *Stem Cell Rev Rep* 2012, 8, 854–862.
  55. Cai L, Johnstone BH, Cook TG, Tan J, Fishbein MC, Chen PS, March KL: IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function. *Stem Cells* 2009, 27, 230–237.
  56. Yoshimura K, Asano Y, Aoi N, Kurita M, Oshima Y, Sato K, Inoue K, Suga H, Eto H, Kato H, Harii K: Progenitor-enriched adipose tissue transplantation as rescue for breast implant complications. *Breast J* 2010, 16, 169–175.
  57. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, i wsp.. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy.* 2013;15 (6):641-648.
  58. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, i wsp.. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315-317.
  59. Kim E.H., Heo C.Y.: Current applications of adipose-derived stem cells and their future perspectives. *World J Stem Cells* 2014, 26, 65-68.
  60. Kapur S.K., Dos-Anjos Vilaboa S., Llull R., Katz A.J. Adipose tissue and stem/progenitor cells: Discovery and development. *Clin. Plast. Surg.* 2015;42:155–167.
  61. Conde-Green A, Marano A.A., Lee E.S., Reisler T., Price L.A., Milner S.M., Granick M.S. Fat Grafting and Adipose-Derived Regenerative Cells in Burn Wound Healing and Scarring: A Systematic Review of the Literature. *Plast. Reconstr. Surg.* 2016;137:302–312.
  62. Negenborn V.L., Groen J.W., Smit J.M., Niessen F.B., Mullender M.G. The Use of Autologous Fat Grafting for Treatment of Scar Tissue and Scar-Related Conditions: A Systematic Review. *Plast. Surg. Nurs.* 2016;36:131–143.
  63. Tartarini D, Mele E. Adult Stem Cell Therapies for Wound Healing: Biomaterials and Computational Models. *Front Bioeng Biotechnol.* 2016; 3:206.