

## RÓŻNICOWANIE KOMÓREK PREKURSOROWYCH IZOLOWANYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ – NOWE MOŻLIWOŚCI DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ I TERAPII KOMÓRKOWEJ

DIFFERENTIATION OF ADIPOSE TISSUE-DERIVED STEM CELLS –  
NOVEL POSSIBILITIES FOR TISSUE ENGINEERING AND CELL-BASED  
THERAPY

Joanna OLKOWSKA-TRUCHANOWICZ

Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek, Centrum Biostruktury,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny

*Streszczenie:* W pracy przedstawiono najważniejsze aspekty różnicowania *in vitro* komórek prekursorowych izolowanych z tkanki tłuszczowej, w kierunku tkanek pochodzących z mezodermy, a także endo- i ektodermy, świadczące o ich szerokim potencjale do naprawy uszkodzonych tkanek. Dzięki swoim cechom komórki te mogą znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej i terapii komórkowej.

*Słowa kluczowe:* somatyczne komórki macierzyste, tkanka tłuszczowa, multipotencja, pluripotencja, różnicowanie *in vitro*, inżynieria tkankowa, terapia komórkowa.

*Summary:* The most important aspects of adipose tissue-derived stem cells *in vitro* differentiation into tissues of mesodermal, endodermal and ectodermal origin were summarized in the paper, showing their wide potential to repair damaged tissues. Thanks to their characteristic, the cells may be applied in tissue engineering and cell-based therapy.

*Key words:* adult stem cells, adipose tissue, multipotency, pluripotency, *in vitro* differentiation, tissue engineering, cell-based therapy.

*Wykaz skrótów:* **ADD1/SREBP1c** (*adipocyte determination- and differentiation-dependent factor-1/sterol regulatory element binding protein-1*) – czynnik transkrypcyjny związany z określeniem i różnicowaniem adipocytów/ białko wiążące elementy regulatorowe genów enzymów biorących udział w syntezie steroli; **ADSC** (*adipose-derived stem cells, adipose-derived stromal cells, adipose-derived mesenchymal progenitor cells*) – mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące ze zrębu tkanki tłuszczowej; **aP2** (*adipocyte fatty acid-binding protein 2*) – białko wiążące kwasy tłuszczowe; **BMMSC** (*bone marrow mesenchymal stem cells*) – mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące ze szpiku kostnego; **BMP-2, -4, -6, -7** (*bone morphogenic protein 2, 4, 6, 7*) – białko morfogenetyczne kości 2, 4, 6, 7; **C/EBP  $\alpha, \beta, \delta$**  (*CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha, \beta, \delta$* ) – białko  $\alpha, \beta, \delta$  wiążące sekwencję wzmacniającą CCAAT; **CD** (*cluster of differentiation*) – gronko różnicowania; **COX-2** (*cyclooxygenase 2*) – cyklo-

oksygenaza 2; **Dkk-1** (*Dickkopf1*) – białko sekrecyjne, inhibitor szlaku Wnt/ $\beta$ -katenina; **Dlx5** (*distal-less homeobox*) – czynnik transkrypcyjny z motywem homeodomeny; **DMSO** (*dimethyl sulfoxide*) – sulfotlenek dimetylu; **EGF** (*epidermal growth factor*) – czynnik wzrostu naskórka; **ERK** (*extracellular signal-regulated kinase*) – kinaza zależna od sygnału zewnątrzkomórkowego; **FGF-2** (*fibroblast growth factor 2*) – czynnik 2 wzrostu fibroblastów; **GFAP** (*glial fibrillary acidic protein*) – kwaśne białko fibrylarne gleju; **GLP-1** (*glucagon-like peptide-1*) – peptyd glukagonopodobny 1; **GVHD** (*graft-versus-host disease*) – choroba „przeszczep przeciwko gospodarzowi”; **HGF** (*hepatocyte growth factor*) – czynnik wzrostu hepatocytów; **HUVEC** (*human umbilical vein endothelial cells*) – ludzkie komórki śródbłonka żyły pępowinowej; **IBMX** (*isobutylmethylxanthine*) – izobutylometryloksantyna; **IGF-1** (*insulin-like growth factor 1*) – insulinopodobny czynnik wzrostu 1; **IL-3**, **IL-6** (*interleukins 3, 6*) – interleukiny 3, 6; **JNK** (*c-jun N-terminal kinase*) – kinaza domeny N-końcowej białka Jun; **KLF-5** (*Krüppel-like transcription factor*) – czynnik transkrypcyjny z motywem palca cynkowego; **KROX-20** (*Krox-20 homolog Drosophila*) – czynnik transkrypcyjny z motywem palca cynkowego; **LDL** (*low density lipoproteins*) – lipoproteiny o niskiej gęstości; **MAP-2** (*microtubule-associated protein-2*) – białko 2 związane z mikrotubulami; **MRFs** (*myogenic regulatory factors*) – rodzina czynników regulatorowych miogenezy, np. MyoD, Myf5, MRF4; **MSC** (*mesenchymal stem cells*) – mezenchymalne komórki macierzyste; **NeuN** (*neuron specific enolase*) – neuronalna enolaza; **Osx** (*osterix*) – czynnik transkrypcyjny osteriks, z motywem palca cynkowego; **PAI-1** (*plasminogen activator inhibitor-1*) – inhibitor 1 aktywatora plazminogenu; **Pax-3**, **-7** (*paired box domain proteins*) – czynniki transkrypcyjne z rodziny Pax; **PLA** (*processed lipoaspirate cells*) – komórki otrzymane drogą lipoaspiracji; **PLGF** (*placental growth factor*) – łożyskowy czynnik wzrostu; **PPAR- $\gamma$**  (*peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$* ) – receptor jądrowy  $\gamma$  aktywowany przez proliferatory peroksysomów, odpowiedzialny za anabolizm i lipogenezę kwasów tłuszczowych; receptor dla glitazonów; **R-Smad** (*receptor-regulated Smads*) – jedna z klas białek Smad, białka sygnałowe szlaku TGF- $\beta$  i czynnik transkrypcyjny; **Runx-2** (*runt-related transcription factor 2*) – osteogeny czynnik transkrypcyjny; **RXR $\alpha$**  (*retinoid X receptor  $\alpha$* ) – receptor  $\alpha$  kwasu retinowego; **SCF** (*stem cell factor*) – czynnik wzrostu komórek macierzystych; **Shh** (*Sonic hedgehog*) – czynnik transkrypcyjny z rodziny *hedgehog*; **Smad-1**, **-4** i **-5** (białka Smad 1, 4, 5, kombinacja nazw MAD i SMA) – białka sygnałowe szlaku TGF- $\beta$  i czynniki transkrypcyjne; **STRO-1** – marker komórek prekursorowych zrębu szpiku kostnego; **SVF** (*adipose stromal-vascular cell fraction*) – frakcja podporowonaczyniowa tkanki tłuszczowej; **TAZ** (*transcriptional coactivator with PDZ-binding motif*) – koaktywator transkrypcyjny z motywem wiążącym domenę PDZ; **Tbx3** (*T-box transcription factor 3*) – czynnik transkrypcyjny 3 rodziny T-box; **TGF- $\beta$**  (*transforming growth factor  $\beta$* ) – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ ; **VCAM-1** (*vascular cell adhesion molecule 1*) – cząsteczka adhezyjna komórek śródbłonka 1, CD106; **VEGF** (*vascular endothelial growth factor*) – śródbłonkowy czynnik wzrostu; **Wnt** – szlak Wnt, kombinacja nazw homologicznych genów *Wg* (*wingless*) i *Int*.

## WSTĘP

Inżynieria tkankowa oferuje potencjalne metody naprawy uszkodzonych tkanek ludzkich i jest dynamicznie rozwijającą się dziedziną medycyny rekonstrukcyjnej. Poszukiwane są nowe źródła komórek, które mogłyby znaleźć zastosowanie w regeneracji tkanek i narządów. Pozyskiwanie komórek embrionalnych, które zdolne są do przekształcania się w komórki dowolnego rodzaju, jest kontrowersyjne z etycznego punktu widzenia. Obecne badania koncentrują się zatem na możliwości zastosowania somatycznych komórek macierzystych (ang. *adult stem cells*), obecnych w organizmie dorosłego człowieka w różnych narządach i odpowiadających m.in. za ich naprawę. Mezenchymalne komórki macierzyste – MSC (ang. *mesenchymal stem cells*) izolowane z tkanek dorosłych mają zdolność do różnicowania *in vitro* w kierunku m.in. kości, chrząstki, tkanki tłuszczowej, mięśni szkieletowych

[2]. MSC obecne w zrębie tkanki tłuszczowej, w tzw. frakcji podporowo-naczyniowej tkanki – SVF (ang. *stromal-vascular fraction*), określane są jako PLA (ang. *processed lipoaspirate cells*), komórki macierzyste lub stromalne tkanki tłuszczowej – ADSC (ang. *adipose-derived stem cells*, ang. *adipose-derived stromal cells*) lub mezenchymalne komórki prekursorowe tkanki tłuszczowej (ang. *adipose-derived mesenchymal progenitor cells*) [39].

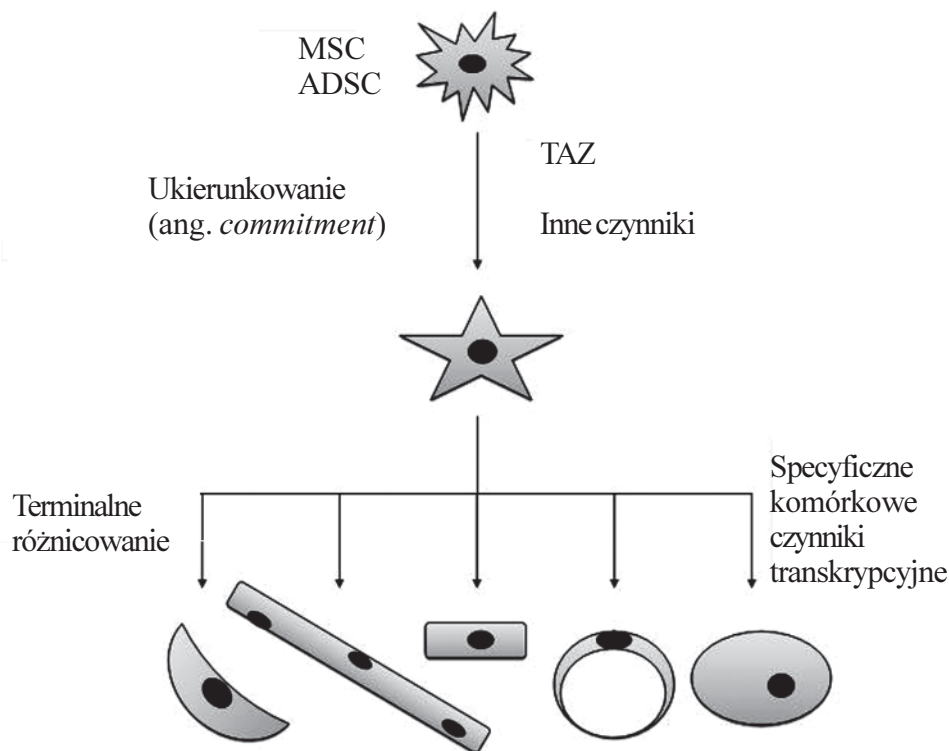
Jako źródło komórek prekursorowych tkanka tłuszczowa budzi ogromne nadzieje, szczególnie ze względu na dostępność materiału w dużej ilości, małą inwazyjność metody pobrania, prostą izolację i hodowlę komórek z pobranej tkanki [51], a jednocześnie zdolność wyizolowanych komórek do powielania i różnicowania w wiele typów tkanek [39].

## RÓŻNICOWANIE ADSC

Mezenchymalne komórki macierzyste wykazują multipotencję, ponieważ zdolne są do różnicowania w obrębie jednego listka zarodkowego, w tym przypadku mezodermy. W wyniku tego procesu powstają, w zależności od warunków środowiska, adipocyty, fibroblasty, miocyty, osteocyty, chondrocyty, a więc zachodzi różnicowanie tkankowo specyficzne (ang. *lineage-specific differentiation*). Różnicowanie może być także „przełączone” pomiędzy komórkami o mezodermalnym pochodzeniu, tzn. może dojść do ekspresji czynników transkrypcyjnych specyficznych dla innych tkanek i różnicowaniu np. fibroblastów czy miocytów w kierunku adipocytów (transdyferencjacja z ang. *trans-differentiation*) [33, 51]. Zjawisko to jest związane z plastycznością komórek w obrębie tkanek jednego listka zarodkowego.

Wiele danych potwierdza, że ADSC mają wielokierunkową plastyczność rozwojową [23, 39, 55, 64]. Wykazano ich zdolność do różnicowania w komórki pochodzenia mezodermalnego, porównywalną z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi ze szpiku kostnego – BMMSC (ang. *bone marrow mesenchymal stem cells*) [60, 64]. Potwierdzono także zdolność komórek prekursorowych tkanki tłuszczowej lub pewnej grupy komórek w ich populacji do pluripotencji, czyli różnicowania w kierunku komórek pochodzących ze wszystkich trzech listków zarodkowych, np. neuronów, komórek endokrynowych trzustki, hepatocytów, komórek śródbłonna i kardiomiocytów [51].

Podłoże molekularne i czynniki transkrypcyjne uruchamiane w trakcie różnicowania poszczególnych tkanek o pochodzeniu mezodermalnym zostały szeroko opisane [3, 4, 28, 32, 40, 51, 52, 57]. Stwierdzono jednak, że zanim komórka wejdzie na drogę takiego specyficznego różnicowania (ang. *lineage-specific differentiation*) zostaje ukierunkowana, czy „przeznaczona” (ang. *commitment*) w kierunku swojego pochodzenia, za pomocą niezidentyfikowanych regulatorów molekularnych (ang. *molecular rheostats*), które modulują sygnał molekularny (ryc. 1). Zaproponowany model zakłada, że cząsteczki te, prawdopodobnie będące czynnikami transkrypcyjnymi, decydują o „przeznaczeniu” MSC w określonym kierunku, hamując przy tym ich rozwój w innym kierunku i w ten sposób zachowują równowagę pomiędzy różnymi programami różnicowania [19, 51].



RYCINA 1. Różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych: etap ukierunkowania pod wpływem nadrzędnych czynników regulujących (czynników transkrypcyjnych komórek macierzystych) i etap terminalnego różnicowania pod wpływem specyficznych czynników różnicujących  
 FIGURE 1. Mesenchymal stem cell differentiation: commitment stage and terminal differentiation

Dotąd jedynie czynnik transkrypcyjny, produkt genu *TAZ*, został zidentyfikowany jako wczesny regulator tego rodzaju. Koaktywuje on transkrypcję genów zależną od innego czynnika transkrypcji, *runx-2*, kluczowego dla osteogenezy. Jednocześnie hamuje transkrypcję genów zależną od *PPAR-γ*, aktywowanego podczas adipogenezy (ryc 2). Poprzez modulację ekspresji *TAZ* w hodowli pierwotnych MSC kierowano je na drogę osteo- lub adipogenezy [19, 51].

Do tej pory nie zidentyfikowano innych nadrzędnych czynników, determinujących losy komórek w określonym kierunku i sprowadzających je na drogę tkankowo specyficznego różnicowania [51].

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU OSTEOLASTÓW

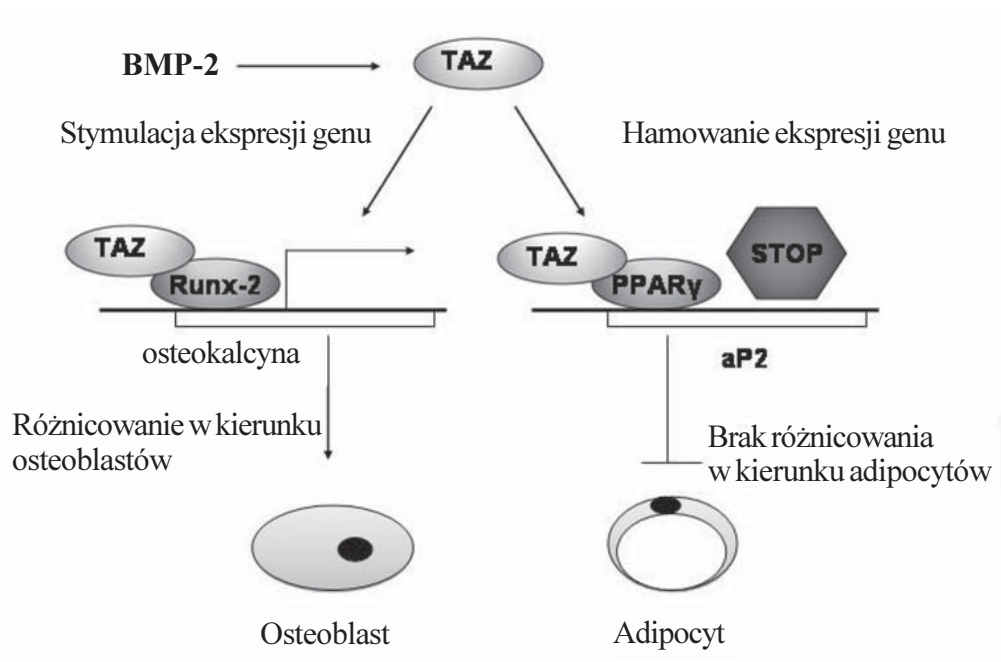
Różnicowanie ADSC *in vitro* uzależnione jest od stworzenia odpowiedniego środowiska poprzez dodanie do pożywek, np. różnych czynników wzrostu, najczęściej zestawu kilku substancji (tab. 1). Różnicowanie w kierunku osteoblastów wymaga dodania do pożywki hodowlanej deksametazonu, witaminy  $D_3$ , BMP-2, fosforanu

TABELA 1. Czynniki różnicujące i specyficzne cząsteczki uruchamiane podczas wybranych programów różnicowania DSC [19, 51, 64]

TABLE 1. Factors triggering the differentiation and specific molecules activated during selected ADSC differentiation programs

Kierunek różnicowania ADSC	Czynniki różnicujące	Specyficzne czynniki transkrypcyjne uruchamiane podczas różnicowania
Adipocyt	Insulina, IBMX, deksametazon, rozyglitazon, indometacyna	PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ , ADD1/SREBP1c, C/EBP $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , KROX-20, KLF-5
Osteoblast	Deksametazon, 1 $\alpha$ ,25-dihydroksycholekalcyferol (witamina D <sub>3</sub> ), kwas askorbinowy (witamina C), $\beta$ -glicerofosforan, BMP-2, kwas walproinowy	Runx-2, BMP-2, Osx, Tbx3, Notch-1, Menin, Shh, Dlx5, Msx2
Chondrocyt	Insulina, deksametazon, kwas askorbinowy (wit.C), TGF $\beta$ -1, -2, -3, BMP-6, -7, FGF-2	BMP-4, -6, -7, TGF $\beta$ -3, FGF-2, Brachyury, Sox-9
Miocyt	Deksametazon, hydrokortyzon	MyoD, Myf5, miogenina, MRF4, MEF2, Pax3, Pax7

glicerolu, kwasu askorbinowego lub kwasu walproinowego. Wczesna aktywacja ERK, a następnie JNK, kinaz aktywowanych mitogenami, powoduje różnicowanie MSC w kierunku osteoblastów, blokuje zaś różnicowanie w kierunku adipocytów [51].

RYCINA 2. Działanie „molekularnego regulatora” na przykładzie czynnika TAZ. TAZ aktywuje Runx-2, czynnik transkrypcyjny kluczowy dla osteogenezy, a hamuje PPAR $\gamma$ , kluczowy dla adipogenezy, co doprowadza do różnicowania w kierunku osteoblastówFIGURE 2. Molecular rheostat activity – the example of TAZ. TAZ coactivates Runx-2-dependent osteogenic differentiation and inhibits PPAR $\gamma$ -dependent adipogenic differentiation

W jednej z prac, porównującej bezpośrednio BMMSC i ADSC, wykazano słabszą zdolność ADSC do różnicowania w kierunku osteoblastów i chondroblastów [20]. Jednak większość doniesień sugeruje, że ADSC i BMMSC mają taką samą zdolność do różnicowania w kierunku komórek kości [51, 54]. W przypadku ADSC ta zdolność utrzymuje się bez względu na wiek dawcy [54]. Podczas porównania komórek progenitorowych z dwóch różnych źródeł wykazano, że ADSC izolowane z tkanki tłuszczowej trzewnej mają większą zdolność do różnicowania w kierunku osteoblastów niż te z tkanki tłuszczowej podskórnej [41].

Ludzkie [51, 58] oraz mysie [15] ADSC nabywają podczas różnicowania cech osteoblastów: uczestniczą w mineralizacji macierzy zewnątrzkomórkowej, produkują osteokalcynę i fosfatazę zasadową [51], reagują także na obciążenie mechaniczne [58]. W dalszym procesie różnicowania zdobywają właściwości typowe dla komórek osteogennych, takie jak: odpowiedź na naprężenie ścinające płynu [26], dalszy wzrost ekspresji genu fosfatazy zasadowej, a pod wpływem obciążenia mechanicznego wykazują wzrost ekspresji genów osteopontyny, kolagenu typu I i cyklooksygenazy COX-2. Wyniki te sugerują, że ADSC mają zdolność do różnicowania w kierunku wrażliwych na siły mechaniczne komórek kości i tym samym mogą być wykorzystane do celów inżynierii tkankowej. Stwierdzono, że ADSC hodowane na trójwymiarowych rusztowaniach, zarówno kolagenowych [17], polimerowych, jak i ceramicznych [31] prezentowały cechy charakterystyczne dla osteoblastów: ekspresję fosfatazy zasadowej, sekrecję osteokalcyny i odkładanie fosforanów wapnia [17, 31].

Zidentyfikowano czynniki transkrypcyjne *Menin*, *Shh* i *Notch-1* aktywne podczas nabywania fenotypu osteogennego. Nie są natomiast znane nadrzędne czynniki je regulujące. BMP-2 w pożywce stymuluje osteogenezę [11, 27, 49, 51], pobudza ekspresję genu osteopontyny, najobficiej występującego niekolagenowego białka macierzy zewnątrzkomórkowej kości oraz genu *Runx-2* (poprzez TAZ), który jest czynnikiem transkrypcyjnym dla osteokalcyny [19, 27]. Aktywacja receptora BMP-2 wywołuje efekt pleiotropowy: aktywację białek R-Smad, aktywację kinaz, modulowanie aktywności osteogennych czynników transkrypcyjnych, m.in. *Runx-2* i *Osx* [49]. *Runx-2* jest zatem centralnym regulatorem kościotworzenia i wpływa na wzrost komórek i ekspresję genów charakterystycznych dla fenotypu komórki podlegającej różnicowaniu osteogennemu [32]. Czynnikiem transkrypcyjnym *Tbx3* odgrywa istotną rolę w różnicowaniu w kierunku osteoblastów i proliferacji ludzkich ADSC [29] według nieznanego mechanizmu. Kwas walproinowy hamuje deacetylazę histonów, wpływając na rozluźnienie chromatyny i różnicowanie ludzkich progenitorów z tkanki tłuszczowej w sposób zależny od dawki. W różnicujących komórkach ADSC traktowanych tym kwasem zwiększa się ekspresja genów dla osteriks, osteopontyny, BMP-2, *runx-2* [7]. Natomiast FGF-2 hamuje różnicowanie ADSC w kierunku komórek kości [44], stymulując jednocześnie różnicowanie w komórki chrząstki.

Kanoniczny szlak sygnalizacyjny *Wnt/β*-katenina odgrywa istotną rolę w dojrzewaniu osteoblastów z komórek prekursorowych kosztem adipogenezy oraz w zwiększaniu masy kości. Jednak pożywka z dodatkiem czynnika *Wnt3a*, działającego poprzez ten szlak zwiększała proliferację ludzkich BMMSC i ADSC [6] hamując równocześnie ich różnicowanie w kierunku osteoblastów. Białko *Dkk-1* (*Dickkopf1*),

hamujące szlak kanoniczny Wnt, zwiększało natomiast proliferację ludzkich BMMSC. Może to sugerować, że Wnt3a daje różnorodne wyniki w zależności od poziomu aktywacji szlaku sygnałowego [6]. W kontekście regulacji różnicowania za pomocą jakiegoś nadrzędnego czynnika transkrypcyjnego Wnt3a i  $\beta$ -katenina wydają się być istotnymi mediatorami biorącymi udział w hamowaniu różnicowania ADSC w kierunku osteogennym [6, 51].

Komórki pobudzone do przekształcania się w osteoblasty mogą znaleźć zastosowanie w regeneracji szkieletu w przypadku dziedzicznych wad kości (np. *osteogenesis imperfecta* – wrodzona łamliwość kości), osteoporozy lub uszkodzeń spowodowanych nowotworem lub urazem [35, 51].

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU CHONDROCYTÓW

ADSC mogą różnicować w kierunku komórek mających fenotyp zbliżony do chondrocytów, produkujących agrekan i kolagen typu II, specyficznych dla chrząstki w obecności pożywek zawierających BMP-6, BMP-7, FGF-2, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, deksametazon i IGF-1 [51]. Wykazano, że ADSC izolowane z tkanki podskórnej, hodowane wstępnie w pożywce dla chondrocytów, syntetyzują cząsteczki macierzy chrząstki: kolagen typu II, typu VI i siarczan chondroityny, a także utrzymują tę zdolność po przeniesieniu na rusztowaniach z alginianu do myszy bezgrasicych [51]. Ponadto wykazano, że komórki mezenchymalne ze stawowej tkanki tłuszczowej wykazują większy potencjał chondrogeny niż MSC z tkanki tłuszczowej podskórnej (większa ekspresja STRO-1 i CD106, wyższy odsetek proliferacji i wydajność tworzenia kolonii, większa ilość produkowanej macierzy chrząstki) [37].

Podczas różnicowania ADSC w kierunku chondrocytów aktywacji ulegają geny następujących czynników: Brachyury (członek rodziny czynników transkrypcyjnych T-box), BMP-4, TGF- $\beta$ 3, Smad-1, -4 i -5. Natomiast nieznanne są nadrzędne regulatory dla tych cząstek, sprowadzające ADSC na drogę chondrogenną. BMP-6 dodany do pożywki pobudza ekspresję agrekanu-1 i łańcucha  $\alpha$ 1 kolagenu typu II [12], dlatego wydaje się być ważnym z punktu widzenia inżynierii tkankowej czynnikiem wzrostu. BMP-7, także należący do nadrodziny TGF- $\beta$ , indukuje różnicowanie chondrocytów, pobudza ekspresję genu agrekanu [27], uważanego za marker różnicowania tych komórek. Jednocześnie FGF-2 stymuluje chondrogenezę, a także proliferację komórek ADSC [5].

Oprócz specyficznych czynników niezbędnych do różnicowania w kierunku komórek chrząstki, znaczenie mają zastosowane sztuczne substytuty macierzy zewnątrzkomórkowej oraz trójwymiarowe środowisko w hodowli. Do otrzymania chrząstki i kości z ADSC najlepsze wydają się być rusztowania fibrynowe, z ortofosforanu wapnia oraz z aglomeratu cząsteczek chitozanu, naturalnej pochodnej chityny, otrzymywanego z pancerzy skorupiaków morskich [16, 20, 34].

Różnicowanie ADSC w kierunku chondrocytów może dostarczyć komórek do reperacji chrząstki w połączeniach kości, np. w chorobie zwyrodnieniowej stawów oraz w rekonstrukcji ucha i nosa [35, 51].

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU ADIPOCYTÓW

Ten typ różnicowania zachodzi *in vitro* pod wpływem insuliny, izobutylo-metyloksantyny (IBMX), deksametazonu, rozyglitazonu i indometacyny. ADSC poddane działaniu tych czynników wykazują cechy typowe dla dojrzałych adipocytów: zdolność lipolityczną po stymulacji katecholaminami, aktywność antylipolityczną przez  $\alpha 2$ -adrenoreceptory, sekrecję typowych adipokinin (adiponektyna, leptyna). Ponadto zdolność różnicowania utrzymuje się przez wiele pasaży [10]. Wykazano w tym procesie udział specyficznych dla powstawania tkanki tłuszczowej czynników transkrypcyjnych: PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ /retinoid X receptor  $\alpha$* ), ADD1/SREBP1c (ang. *adipocyte determination- and differentiation-dependent factor-1/sterol regulatory element binding protein-1*) czy C/EBP  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  (CCAAT/*enhancer binding protein  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$* ) [51].

MSC poddane wstępnie różnicowaniu w kierunku adipocytów przyczepione do sfer (kul) z polimeru kwasu mlekowego i glikolowego, wszczepione do myszy bezgrasiczych, formują z powodzeniem w miejscu implantacji tkankę tłuszczową [8].

Terapia komórkowa z wykorzystaniem ADSC może znaleźć zastosowanie w leczeniu przetok jelita u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (przewlekły, nieswoisty proces zapalny ściany przewodu pokarmowego). W doświadczeniu wstępnym z podaniem autologicznych ADSC z liposukcji udało się zamknąć 6 z 8 przetok będących wynikiem stanu zapalnego u 5 pacjentów [14].

Zastosowanie komórek, które nie są jeszcze adipocytami, niesie wiele korzyści w porównaniu z dojrzałymi komórkami tkanki tłuszczowej. Komórki progenitorowe przypominają fibroblasty i nie mają dużych kropli tłuszczu w cytoplazmie, są mniejsze niż adipocyty i dzięki temu pozwalają na szybszą rewaskularyzację przeszczepienia. Ze względu na mniejsze zużycie tlenu, a tym samym lepsze dotlenienie i lepsze ukrwienie tkanki, mogą znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej. Przeszczepione utrzymują zdolność do różnicowania w adipocyty *in vivo*, podczas gdy same dojrzałe adipocyty dają gorsze wyniki – dochodzi m.in. do kurczenia się przeszczepionej tkanki lub powstania torbieli (cyst) tłuszczowych [18].

Uszkodzenia tkanek miękkich po urazach, oparzeniach i zabiegach chirurgicznych stanowią wyzwanie dla chirurgii plastycznej i rekonstrukcyjnej. Nadal nieosiągalne są sztuczne ani biologiczne implanty odpowiednie do naprawy tkanek miękkich po rozległych urazach, a wykorzystanie autologicznych komórek progenitorowych tkanki tłuszczowej w połączeniu z adipocytami budzi wielkie nadzieje na zastosowanie ich np. w rekonstrukcji piersi po usunięciu gruczołów z powodu nowotworu lub do poprawy ich symetrii.

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU MIOCYTÓW I KARDIOMIOCYTÓW

W 2005 roku opisano [47] po raz pierwszy zdolność ADSC do regeneracji mięśnia i ekspresji dystrofiny w mysim modelu dystrofii mięśniowej Duchenne'a.



Poprzez użycie mediów indukcyjnych komórki izolowane z tkanki tłuszczowej wytwarzają miotubule charakterystyczne dla komórek mięśnia szkieletowego. Mają ponadto faktyczną zdolność rekonstrukcji tych mięśni. Do tego niezbędny jest jednak bezpośredni kontakt różnicowanych komórek z komórkami mięśniowymi [30, 46]. Podczas różnicowania dochodzi do aktywacji miogennych czynników regulatorowych z rodziny MRF: MyoD, Myf5, MRF4 czy miogeniny [51].

Różnicowanie w kierunku kardiomiocytów indukowano w hodowli w pożywce półpłynnej metylocelulozowej zawierającej interleukiny IL-3 i IL-6 oraz SCF (ang. *stem cell factor*). Komórki zrębu (SVF) tkanki tłuszczowej wykazywały podczas tego procesu fenotyp podobny do kardiomiocytów: ekspresję genów markerowych komórek mięśnia sercowego i aktywność rozrusznikową (stymulatora) serca. Odpowiadały również na pobudzenie adrenergiczne i cholinergiczne [42].

Większość badań jednak, szczególnie *in vivo*, dostępnych jest tylko na mysich modelach. Pokrycie miokardium warstwą komórek ADSC u myszy z wrodzonym uszkodzeniem miokardium, skutkowało ich różnicowaniem w kierunku kardiomiocytów, angiogenezą, ekspresją specyficznych markerów kardiomiocytów i poprawieniem funkcji serca [36, 56]. W mysim modelu zawału serca, gdzie podawano komórki izolowane z mysiej brunatnej tkanki tłuszczowej, region pozawałowy został zredukowany, a wydolność serca usprawniona [62].

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA I NACZYŃ

Wykazano, że ADSC, tak jak BMMSC, mają zdolność do przekształcania się w komórki śródbłonna i naczyń [61]. Komórki śródbłonna i preadipocyty mają wspólne komórki progenitorowe. W trakcie rozwoju, pod wpływem czynników autokrynnych lub parakrynnych, komórki preendotelialne i preadipocyty mogą zamieniać się nawzajem jedne w drugie w rozwijającej się tkance tłuszczowej [1]. Oba typy komórek poprzez ekspresję integryny  $\alpha 5\beta 1$  oraz uwalnianie np. inhibitora PAI-1 wspierają angiogenezę i adipogenezę [24], preadipocyty pobudzają proliferację komórek śródbłonna i wydzielają VEGF w warunkach niedoboru tlenu [1, 45], a komórki śródbłonna zwiększają tempo proliferacji prekursorów adipocytów [1].

Różnicowanie komórek SVF w kierunku śródbłonna jest pobudzane obecnością surowicy (pożywka dla komórek śródbłonna z 2% bydlęcą surowicą płodową) przy nieobecności czynników adipogennych [1]. Wykazano w modelu *in vitro*, że komórki izolowane z frakcji SVF tkanki tłuszczowej biorą udział w tworzeniu sieci naczyń krwionośnych razem z ludzkimi komórkami śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC) [1]. U myszy zaobserwowano inkorporację ADSC do naczyń, neowaskularyzację po niedokrwieniu, tworzenie struktur naczyniopodobnych, świadczące o zdolnościach proangiogennych tych komórek [38, 43]. Ze względu na wydzielanie wielu czynników pobudzających angiogenezę: VEGF, HGF, IGF-1, PLGF, FGF-2, TGF- $\beta$  i angiopoetyny 1 komórki te wydają się odpowiednie do zastosowania w terapii komórkowej

chorób niedokrwienych oraz jako alternatywa dla komórek mezenchymalnych szpiku, w komórkowej terapii regeneracyjnej [39].

## **RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU KOMÓREK NERWOWYCH**

Inkubacja komórek ADSC w obecności kwasu walproinowego, insuliny, hydroksyanizolu, hydroksykortyzonu, EGF i FGF powoduje różnicowanie w kierunku neuronalnym. Komórki wykazują ekspresję tubuliny  $\beta$ III, markera komórek nerwowych [48]. Mysie i ludzkie ADSC nabywają fenotyp neuronalny i produkują kwaśne białko fibrylarne gleju (GFAP), nestynę, neuronalną enolazę (NeuN) i neurofilamenty [51]. W przypadku hodowli komórek w obecności azacytydyny (pochodnej i analogu nukleozydu cytydyny) produkowały one białko związane z mikrotubulami MAP-2 oraz GFAP. Azacytydyna usuwa *in vitro* grupy metylowe DNA, co może powodować aktywację genów wyciszonych poprzez metylację. Komórki różnicowane w ten sposób przywracały *in vivo* czynności ruchowe i funkcje mózgu szczurów ze sztucznie indukowaną chorobą niedokrwinną mózgu [22]. Dożylnie podanie do mózgu szczurów transfekowanych ludzkich komórek ADSC, które produkują w nadmiarze telomerazę, skutkowało przywróceniem funkcji tego narządu po niedokrwieniu [21]. Istnieje zatem potencjalne zastosowanie komórek macierzystych tkanki tłuszczowej w leczeniu skutków urazu mózgu i nerwów obwodowych oraz udaru mózgu [50].

## **RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU KOMÓREK ENDOKRYNOWYCH TRZUSTKI**

W przypadku hodowli ludzkich ADSC w obecności aktywiny A, eksendyny 4 (agonista receptora dla peptydu glukagonopodobnego GLP-1), HGF i pentagastryny, zachodziło skuteczne różnicowanie w kierunku komórek endokrynowych trzustki. Tego typu różnicowanie można indukować również za pomocą amidu kwasu nikotynowego (witaminy B<sub>3</sub>) lub dużego stężenia glukozy w pożywce. Komórki takie wykazują ekspresję hormonów trzustki: insuliny, glukagonu i somatostatyny, mogą produkować specyficzne trzustkowe czynniki transkrypcyjne, takie jak: Isl-1 czy czynniki transkrypcyjne biorące udział w rozwoju tego narządu, m.in. Pax-6, Ipf-1, Ngn-3. Komórki te mogą zostać w przyszłości wykorzystane w terapii komórkowej cukrzycy typu I i II, jako komórki wydzielające insulinę [59].

## **RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU KOMÓREK WĄTROBY**

Czynnik wzrostu hepatocytów HGF, onkostatyna M i sulfotlenek dimetylu (DMSO) indukują w ADSC fenotyp hepatocytów, co przejawia się ekspresją albuminy czy

$\alpha$ -fetoproteiny [53]. HGF, który jest mitogenem oddziałującym poprzez receptor c-Met o aktywności kinazy tyrozynowej, odgrywa ogromną rolę w rozwoju zarodkowym i regeneracji wątroby. Onkostatyna M reguluje różnicowanie hepatocytów jako członek rodziny cytokin IL-6 [51]. Jednak molekularne mechanizmy tego różnicowania są nadal niejasne. Różnicowane komórki mają także zdolność pobierania lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) i produkcji mocznika [53]. Podane dożylnie myszom wykazują integrację z wątrobą, szczególnie po usunięciu fragmentu tego narządu w celu pobudzenia regeneracji [25]. Mogą znaleźć zastosowanie przy leczeniu przewlekłych zaburzeń wątroby, do regeneracji i transplantacji hepatocytów [51].

## RÓŻNICOWANIE W KIERUNKU KOMÓREK KRWI

Komórki izolowane z tkanki tłuszczowej nie są postrzegane jako komórki o nieograniczonej zdolności do rozwoju w komórki krwi, lecz raczej jako wspomagające szpik kostny w procesie hematopojezy. Sytuacja taka miała miejsce w przypadku różnicowania hematopoetycznych komórek prekursorowych w mielocyty i limfocyty B, kiedy to ADSC podtrzymywały proces całkowitego różnicowania tych komórek [9, 51]. Dzięki ich obecności przeżywały myszy poddane napromienianiu letalną dawką [9]. Ze względu na immunosupresyjne właściwości ADSC [63] możliwa wydaje się w przyszłości terapia komórkowa przeciw chorobie „przeszczep przeciwko gospodarzowi” – GVHD (ang. *graft-versus-host disease*) [13], kiedy obecne w przeszczepie limfocyty dawcy niszczą tkanki biorcy.

TABELA 2. Przykłady zastosowań terapeutycznych ADSC w przyszłości, w odniesieniu do specyficznych dla poszczególnych tkanek programów różnicowania komórek macierzystych [35, 51]. Wiele z nich pozostaje jak dotąd teoretycznymi

Kierunek różnicowania ADSC	Zastosowanie terapeutyczne (choroby lub zaburzenia)
Osteoblasty	dziedziczne wady kości, urazy szkieletu, nowotwór, osteoporoza
Chondrocyty	zwyrodnienie stawów, rekonstrukcja chrząstki nosa i uszu
Adipocyty	uszkodzenia tkanek miękkich po urazach i zabiegach chirurgicznych, przetoki układu pokarmowego
Miocyty	pourazowa rekonstrukcja tkanek, dystrofie mięśniowe
Kardiomiocyty	regeneracja mięśnia sercowego po zawale
Komórki śródbłonka	neowaskularyzacja, choroby niedokrwienne
Komórki nerwowe	udar, urazy mózgu i nerwów obwodowych
Komórki endokrynowe	cukrzyca typu I i II
Hepatocyty	regeneracja wątroby, przewlekłe zaburzenia wątroby
Komórki hematopoetyczne	wsparcie dla komórek szpiku kostnego, GVHD

## PODSUMOWANIE

Molekularne podstawy różnicowania komórek izolowanych z tkanki tłuszczowej w kierunku tkanek mezodermalnych zostały dobrze poznane, czynniki transkrypcyjne i kluczowe zdarzenia inicjujące te procesy nie są jednak jeszcze w pełni wyjaśnione [51]. W jeszcze mniejszym stopniu poznano podstawy różnicowania w kierunku tkanek pochodzenia innego niż mezodermalne. Chociaż wiele z proponowanych zastosowań medycznych pozostaje jak dotąd jedynie w teorii, komórki ADSC, ze względu na wstępnie wykazaną zdolność rozwoju w kierunku tkanek pochodzących ze wszystkich trzech listków zarodkowych, wykazują duży potencjał dla inżynierii tkankowej (tab. 2). Terapia z wykorzystaniem komórek macierzystych tkanki tłuszczowej może w przyszłości znaleźć zastosowanie w przypadku wielu chorób dziedzicznych i degeneracyjnych, np. kości, chrząstki czy układu mięśniowo-szkieletowego, dystrofiach mięśniowych, chorobach sercowo-naczyniowych i neuronalnych, chorobach wątroby, cukrzycach, jak i w inżynierii tkankowej przy rekonstrukcji tkanek miękkich i układu mięśniowo-szkieletowego po urazach lub nowotworach [35].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] BALWIERZ A, CZECH U, POLUS A, FILIPKOWSKI RK, MIODUSZEWSKA B, PROSZYNSKI T, KOŁODZIEJCZYK P, SKRZECZYNSKA-MONCZNIK J, DUDEK W, KACZMAREK L, KULIG J, PRYJMA J, DEMBINSKA-KIEC A. Human adipose tissue stromal vascular fraction cells differentiate depending on distinct types of media. *Cell Prolif* 2008; **41**: 441–459.
- [2] BONGSO A, LEE EH. Stem cells: their definition, classification and sources. W: Bongso A, Lee EH. [red.] Stem Cells: From Bench to Bedside. New Jersey, London, Singapore, Beijing, Shanghai, Hong Kong, Taipei, Chennai: *World Scientific* 2005: 1–13.
- [3] BRAND-SABERI B. Genetic and epigenetic control of skeletal muscle development. *Ann Anat* 2005; **187**: 199–207.
- [4] CHARGÉ SB, RUDNICKI MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 2004; **84**: 209–238.
- [5] CHIOU M, XU Y, LONGAKER MT. Mitogenic and chondrogenic effects of fibroblast growth factor-2 in adipose-derived mesenchymal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **343**: 644–652.
- [6] CHO HH, KIM YJ, KIM SJ, KIM JH, BAE YC, BA B, JUNG JS. Endogenous Wnt signaling promotes proliferation and suppresses osteogenic differentiation in human adipose derived stromal cells. *Tissue Eng* 2006; **12**: 111–121.
- [7] CHO HH, PARK HT, KIM YJ, BAE YC, SUH KT, JUNG JS. Induction of osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by histone deacetylase inhibitors. *J Cell Biochem* 2005; **96**: 533–542.
- [8] CHOI YS, PARK SN, SUH H. Adipose tissue engineering using mesenchymal stem cells attached to injectable PLGA spheres. *Biomaterials* 2005; **26**: 5855–5863.
- [9] CORRE J, BARREAU C, COUSIN B, CHAVOIN JP, CATON D, FOURNIAL G, PENICAUD L, CASTELLILLA L, LAHARRAGUE P. Human subcutaneous adipose cells support complete differentiation but not self-renewal of hematopoietic progenitors. *J Cell Physiol* 2006; **208**: 282–288.
- [10] DICKER A, LE BLANC K, ASTRÖM G, VAN HARMELEN V, GÖTHERSTRÖM C, BLOMQVIST L, ARNER P, RYDÉN M. Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. *Exp Cell Res* 2005; **308**: 283–290.
- [11] DRAGOO JL, CHOI JY, LIEBERMAN JR, HUANG J, ZUK PA, ZHANG J, HEDRICK MH, BENHAIM P. Bone induction by BMP-2 transduced stem cells derived from human fat. *J Orthop Res* 2003; **21**: 622–629.

- [12] ESTES BT, WU AW, GUILAK F. Potent induction of chondrocytic differentiation of human adipose-derived adult stem cells by bone morphogenetic protein 6. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 1222–1232.
- [13] FANG B, SONG YP, LIAO LM, HAN Q, ZHAO RC. Treatment of severe therapy-resistant acute graft-versus-host disease with human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2006; **38**: 389–390.
- [14] GARCÍA-OLMO D, GARCÍA-ARRANZ M, HERREROS D, PASCUAL I, PEIRO C, RODRÍGUEZ-MONTES JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005; **48**: 1416–1423.
- [15] HATTORI H, ISHIIHARA M, FUKUDA T, SUDA T, KATAGIRI T. Establishment of a novel method for enriching osteoblast progenitors from adipose tissues using a difference in cell adhesive properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **343**: 1118–1123.
- [16] HATTORI H, MASUOKA K, SATO M, ISHIIHARA M, ASAZUMA T, TAKASE B, KIKUCHI M, NEMOTO K, ISHIIHARA M. Bone formation using human adipose tissue-derived stromal cells and a biodegradable scaffold. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006; **76**: 230–239.
- [17] HATTORI H, SATO M, MASUOKA K, ISHIIHARA M, KIKUCHI T, MATSUIT, TAKASE B, ISHIZUKA T, KIKUCHI M, FUJIKAWA K, ISHIIHARA M. Osteogenic potential of human adipose tissue-derived stromal cells as an alternative stem cell source. *Cells Tissues Organs* 2004; **178**: 2–12.
- [18] von HEIMBURG D, HEMMRICH K, ZACHARIAH S, STAIGER H, PALLUA N. Oxygen consumption in undifferentiated versus differentiated adipogenic mesenchymal precursor cells. *Respir Physiol Neurobiol* 2005; **146**: 107–116.
- [19] HONG JH, HWANG ES, MCMANUS MT, AMSTERDAM A, TIAN Y, KALMUKOVA R, MUELLER E, BENJAMIN T, SPIEGELMAN BM, SHARP PA, HOPKINS N, YAFFE MB. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation. *Science* 2005; **309**: 1074–1078.
- [20] IM GI, SHIN YW, LEE KB. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; **13**: 845–853.
- [21] JUN ES, LEE TH, CHO HH, SUH SY, JUNG JS. Expression of telomerase extends longevity and enhances differentiation in human adipose tissue-derived stromal cells. *Cell Physiol Biochem* 2004; **14**: 261–268.
- [22] KANG SK, LEE DH, BAE YC, KIM HK, BAIK SY, JUNG JS. Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol* 2003; **183**: 355–366.
- [23] KATZ AJ, THOLPADY A, THOLPADY SS, SHANG H, OGLE RC. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells* 2005; **23**: 412–423.
- [24] KIEC-WILK B, DUDEK W, DEMBINSKA-KIEC A. Nutrigenomics, angiogenesis and obesity. (Nutrigenomika, angiogeneza a otyłość) *Acta Angiol* 2006; **12**: 141–148.
- [25] KIM DH, JE CM, SIN JY, JUNG JS. Effect of partial hepatectomy on *in vivo* engraftment after intravenous administration of human adipose tissue stromal cells in mouse. *Microsurgery* 2003; **23**: 424–431.
- [26] KNIPPENBERG M, HELDER MN, DOULABI BZ, SEMEINS CM, WUISMAN PI, KLEIN-NULEND J. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells acquire bone cell-like responsiveness to fluid shear stress on osteogenic stimulation. *Tissue Eng* 2005; **11**: 1780–1788.
- [27] KNIPPENBERG M, HELDER MN, DOULABI BZ, WUISMAN PIJM, KLEIN-NULEND J. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **342**: 902–908.
- [28] LANE MD, TANG QQ. From multipotent stem cell to adipocyte. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005; **73**: 476–477.
- [29] LEE HS, CHO HH, KIM HK, BAE YC, BAIK HS, JUNG JS. Tbx3, a transcriptional factor, involves in proliferation and osteogenic differentiation of human adipose stromal cells. *Mol Cell Biochem* 2007; **296**: 129–136.
- [30] LEE JH, KEMP DM. Human adipose-derived stem cells display myogenic potential and perturbed function in hypoxic conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **341**: 882–888.
- [31] LEONG DT, KHOR WM, CHEW FT, LIM TC, HUTMACHER DW. Characterization of osteogenically induced adipose tissue-derived precursor cells in 2-dimensional and 3-dimensional environments. *Cells Tissues Organs* 2006; **182**: 1–11.
- [32] LIAN JB, JAVED A, ZAIDI SK, LENGNER C, MONTECINO M, VAN WIJNEN AJ, STEIN JL, STEIN GS. Regulatory controls for osteoblast growth and differentiation: Role of Runx/Cbfa/AML factors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2004; **14**: 1–41.

- [33] LIN Y, CHEN X, YAN Z, LIU L, TANG W, ZHENG X, LI Z, QIAO J, LI S, TIAN W. Multilineage differentiation of adipose-derived stromal cells from GFP transgenic mice. *Mol Cell Biochem* 2006; **285**: 69–78.
- [34] MALAFAYA PB, PEDRO AJ, PETERBAUER A, GABRIEL C, REDL H, REIS RL. Chitosan particles agglomerated scaffolds for cartilage and osteochondral tissue engineering approaches with adipose tissue derived stem cells. *J Mater Sci Mater Med* 2005; **16**: 1077–1085.
- [35] MIMÉAULT M, BATRA SK. Recent progress on tissue-resident adult stem cell biology and their therapeutic implications. *Stem Cell Rev* 2008; **4**: 27–49.
- [36] MIYAHARA Y, NAGAYA N, KATAOKA M, YANAGAWA B, TANAKA K, HAO H, ISHINO K, ISHIDA H, SHIMIZU T, KANGAWA K, SANO S, OKANO T, KITAMURA S, MORI H. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 2006; **12**: 459–465.
- [37] MOCHIZUKI T, MUNETA T, SAKAGUCHI Y, NIMURA A, YOKOYAMA A, KOGA H, SEKIYA I. Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: Distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 843–853.
- [38] MOON MH, KIM SY, KIM YJ, KIM SJ, LEE JB, BAE YC, SUNG SM, JUNG JS. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell Physiol Biochem* 2006; **17**: 279–290.
- [39] NAKAGAMI H, MORISHITA R, MAEDA K, KIKUCHI Y, OGIHARA T, KANEDA Y. Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb* 2006; **13**: 77–81.
- [40] OTTO WR, RAO J. Tomorrow's skeleton staff: Mesenchymal stem cells and the repair of bone and cartilage. *Cell Prolif* 2004; **37**: 97–110.
- [41] PEPTAN IA, HONG L, MAO JJ. Comparison of osteogenic potentials of visceral and subcutaneous adipose-derived cells of rabbits. *Plast Reconstr Surg* 2006; **117**: 1462–1470.
- [42] PLANAT-BÉNARD V, MENARD C, ANDRÉ M, PUCEAT M, PEREZ A, GARCIA-VERDUGO JM, PÉNICAUD L, CASTEILLA L. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res* 2004; **94**: 223–229.
- [43] PLANAT-BÉNARD V, SILVESTRE JS, COUSIN B, ANDRÉ M, NIBBELINK M, TAMARAT R, CLERGUE M, MANNEVILLE C, SAILLAN-BARREAU C, DURIEZ M, TEDGUI A, LEVY B, PÉNICAUD L, CASTEILLA L. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: Physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 2004; **109**: 656–663.
- [44] QUARTO N, LONGAKER MT. FGF-2 inhibits osteogenesis in mouse adipose tissue-derived stromal cells and sustains their proliferative and osteogenic potential state. *Tissue Eng* 2006; **12**: 1405–1418.
- [45] REHMAN J, TRAKTUEV D, LI J, MERFELD-CLAUSS S, TEMM-GROVE CJ, BOVENKERK JE, PELL CL, JOHNSTONE BH, CONSIDINE RV, MARCH KL. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004; **109**: 1292–1298.
- [46] DI ROCCO G, IACHININOTO MG, TRITARELLI A, STRAINO S, ZACHEO A, GERMANIA, CREA F, CAPOGROSSI MC. Myogenic potential of adipose-tissue-derived cells. *J Cell Sci* 2006; **119**: 2945–2952.
- [47] RODRIGUEZ AM, PISANI D, DECHESNE CA, TURC-CAREL C, KURZENNE JY, WZIEKONSKI B, VILLAGEOIS A, BAGNIS C, BREITMAYER JP, GROUX H, AILHAUD G, DANI C. 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.
- [48] ROMANOV YA, DAREVSKAYA AN, MERZLIKINA NV, BURAVKOVA LB. Mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue: Isolation, characterization, and differentiation potentialities. *Bull Exp Biol Med* 2005; **140**: 138–143.
- [49] RYOO HM, LEE MH, KIM YJ. Critical molecular switches involved in BMP-2 induced osteogenic differentiation of mesenchymal cells. *Gene* 2006; **366**: 51–57.
- [50] SAFFORD KM, RICE HE. Stem cell therapy for neurologic disorders: therapeutic potential of adipose-derived stem cells. *Curr Drug Targets* 2005; **6**: 57–62.
- [51] SCHÄFFLER A, BÜCHLER C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells – basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 2007; **25**: 818–827.
- [52] SCHÄFFLER A, MÜLLER-LADNER U, SCHÖLMEIRICH J, BÜCHLER C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev* 2006; **27**: 449–467.

- [53] 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 Commun* 2005; **328**: 258–264.
- [54] SHI YY, NACAMULI RP, SALIM A, LONGAKER M. The osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal cells is maintained with aging. *Plast Reconstr Surg* 2005; **116**: 1686–1696.
- [55] STREM BM, HICOK KC, ZHU M, WULURI I, ALFONSO Z, SCHREIBER RE, FRASER JK, HERDICK MH. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005; **54**: 132–141.
- [56] STREM BM, ZHU M, ALFONSO Z, DANIELS EJ, SCHREIBER R, BEYGUI R, MACLELLAN WR, HEDRICK MH, FRASER JK. Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute myocardial injury. *Cytotherapy* 2005; **7**: 282–291.
- [57] TAJBAKHSI S. Skeletal muscle stem and progenitor cells: Reconciling genetics and lineage. *Exp Cell Res* 2005; **306**: 364–372.
- [58] TJABRINGA GS, VEZERIDIS PS, ZANDIEH-DOULABI B, HELDER MN, WUISMAN PIJM, KLEIN-NULEND J. Polyamines modulate nitric oxide production and COX-2 gene expression in response to mechanical loading in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; **24**: 2262–2269.
- [59] TIMPER K, SEBOEK D, EBERHARDT M, LINSCHIED P, CHRIST-CRAIN M, KELLER U, MÜLLER B, ZULEWSKI H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **341**: 1135–1140.
- [60] DE UGARTE DA, MORIZONO K, ELBARBARY A, ALFONSO Z, ZUK PA, ZHU M, DRAGOO JL, ASHJIAN P, THOMAS B, BENHAIM P, CHEN I, FRASER J, HEDRICK MH. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs* 2003; **174**: 101–109.
- [61] URBICH C, DIMMELER S. Endothelial progenitor cells functional characterization. *Trends Cardiovasc Med* 2004; **14**: 318–322.
- [62] YAMADA Y, WANG XD, YOKOYAMA S, FUKUDA N, TAKAKURA N. Cardiac progenitor cells in brown adipose tissue repaired damaged myocardium. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **342**: 662–670.
- [63] YAÑEZ R, LAMANA ML, GARCÍA-CASTRO J, COLMENERO I, RAMÍREZ M, BUEREN JA. 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.
- [64] ZUK PA, ZHU M, ASHJIAN P, DE UGARTE DA, HUANG JI, MIZUNO H, ALFONSO ZC, FRASER JK, BENHAIM P, HEDRICK MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; **13**: 4279–4295.

*Autor prowadzący – Jerzy Kawiak*

*Otrzymano: 20.12. 2008 r.*

*Przyjęto: 12.04.2009 r.*

*Mgr inż. Joanna Olkowska-Truchanowicz*

*Centrum Biostruktury, Warszawski Uniwersytet Medyczny*

*ul. Chalubińskiego 5, 02-004 Warszawa*

*e-mail: jtruch@ib.amwaw.edu.pl*

