

YAĞ DOKU KÖKENLİ KÖK HÜCRELER VE PLASTİK CERRAHİDE UYGULAMA ALANLARI

ADIPOSE TISSUE DERIVED STEM CELLS AND THEIR USES IN PLASTIC SURGERY

*A.Özlem Gündeşlioğlu, *Zeynep Altuntaş, *Bilsev İnce, *Mehmet Dadacı, **Murad Aktan, **Selçuk Duman

* Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD

**Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD

ÖZET

Kök hücre tedavileri son yıllarda üzerinde sıklıkla çalışılan ve gelecekte organ nakillerinin yerini alma potansiyeli taşıyan uygulamalar olarak görülmektedir. Yağ doku kökenli kök hücreler kolayca, bol miktarda elde edilebilmeleri ve hematopoetik kök hücreler kadar etkin olmaları nedeniyle plastik cerrahi dışında tıbbın diğer branşları tarafından da halen yaygın olarak kullanılmaktadır.

Plastik cerrahi pratiğinde; yumuşak doku hacimlendirilmesi, yara iyileşmesi ve doku mühendisliği alanlarında kullanımına dair yayınlar mevcuttur. Bununla birlikte, kök hücrelerin elde edilmesi ve kullanımında henüz standardizasyonun sağlanamamasından kaynaklanan sorunlar yanı sıra güvenilirlikleri konusunda da akıllarda hala soru işaretleri mevcuttur.

Bu derlemenin amacı kök hücre kavramı, yağ doku kökenli kök hücrelerin özellikleri, etki mekanizmaları, plastik cerrahide kullanımları ve güvenilirlikleri konusunda bilgi vermek ayrıca konuya plastik cerrahların ilgisini çekmektir.

Anahtar Sözcükler: Yağ doku kökenli kök hücreler, yumuşak doku hacimlendirilmesi

ABSTRACT

Stem cell treatments have become one of the most studied area in recent years and and it is seen that they will take the place of organ transplants in the future. Adipose tissue derived stem cells are also widely used by other branches outside of Plastic Surgery as they can easily be obtained in large quantities and effective as much as haemopoetic stem cells.

Publications related to soft tissue augmentation, wound healing, and tissue engineering have been reported in plastic surgery practice. However, there are still some question marks about their reliability and lack of standardization for obtaining and using stem cells.

The purpose of this review is to give knowledge about the concept of fat tissue derived stem cells, their properties, their mechanisms, also their uses in Plastic Surgery and discuss reliability of them.

Keywords: Adipose tissue derived stem cells, soft tissue augmentation

GİRİŞ

Kök hücre, mitozla çoğalarak hem kendini yenileyebilen, hem de diğer özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip, özelleşmemiş ana hücre tipidir.^{1,2} Kemik iliğinde kök hücrelerin varlığı ilk kez Freindstein tarafından 1976'da tanımlanmıştır. Tarihsel süreçte ilk kullanımı ise deneysel çalışmalarda, radyasyonun kemik iliği üzerindeki etkilerini hafifletmek amacıyla olmuştur.³⁻⁶ İlerleyen zaman içinde kök hücreler, kemik iliği dışında periferik kan, göbük kordonu, deri, diş pulpası, plasentada ve tüm dokularda tesbit edilmiş, yağ dokusu içerisindeki varlıkları ise ilk kez Zuc tarafından 2001 yılında gösterilmiştir.⁷⁻¹¹

Yağ dokusunun 1 gramında yaklaşık 5000 koloni oluşturuca unite (CFU) mevcut iken, 1 ml kemik iliği kökenli materyalde 100-1000 CFU mevcuttur.¹² Yağ dokusunun kolayca elde edilebilmesi, kemik iliğine nazaran bol miktarda kök hücre sağlayabilmesi, ayrıca yağ doku kökenli kök hücrelerin (YDKKH) etkinliğinin in-vivo ve in-vitro çalışmalarda kanıtlanmasını takiben, YDKKH re-

jeneratif tıp ve doku mühendisliği alanında plastik cerrahi yanı sıra nöroloji, üroloji, ortopedi, ve fizik tedavi gibi diğer branşların da ilgisini çekmiştir.¹³⁻²²

Bununla birlikte YDKKH'in etki mekanizmaları, uygulandıkları alanda yerleşim, çoğalma ve farklılaşma özellikleri ve de klinik kullanımlarıyla ilgili henüz netleşmemiş konular mevcuttur. YDKKH'in elde edildikleri vücut alanı, hazırlanmaları sırasında uygulanan teknik, ayrıca kullanılacak kök hücre materyallerinin tipi (kültüre edilmiş kök hücre veya stromal vasküler fraksiyon-SVF) nedeniyle de klinik kullanımda henüz standardizasyon sağlanamamıştır ve optimizasyon çalışmaları devam etmektedir.^{23,24}

Bu çalışmanın amacı, YDKKH'le ilgili temel bilgileri paylaşmak, etki mekanizmalarını literatür eşliğinde gözden geçirmek ve plastik cerrahideki kullanım alanlarına plastik cerrahların ilgisini çekmektir.

Kök Hücre Tanımı

Kök hücreler insan vücudunda zigotun oluşumundan itibaren mevcuttur. Henüz sekiz hücreden oluşan üçüncü gün embriyoda tüm hücreler totipotent embriyonik kök hücreler olarak adlandırılır. Totipotent kök hücreler plasenta ve tüm vücut hücrelerine dönüşebilme potansiyeli taşır. Hücre bölünmesinin devam etmesiyle birlikte 5-8. günlerde blastokist iç hücre kitesinden vücudun farklı dokularını oluşturan ektoderm, mezoderm ve endoderm hücrelerine dönüşebilen pluripotent embriyonik kök hücreler hücreler gelişir.²⁵ Daha sonra bu pluripotent kök hücreler oluşturacakları germinal tabakaya spesifik hale gelir, ve diğer tüm dokulara farklılaşma yeteneklerini kaybeder ve sınırlı sayıda hücre tipine dönebilen erişkin multipotent kök hücrelere dönüşür.^{26,27} Bununla birlikte, Yamanaka ve arkadaşları erişkin, farklılaşmış ve özelleşmiş somatik hücrelerin uygun transkripsiyon faktörlerinin (OCT3/4, Sox2, c-Myc, and Klf4) indüksiyonu ile pluripotent kök hücreye dönüşebileceğini göstermiştir.^{28,29}

Erişkin tip kök hücreler, embriyonik yaşam sonrası dokulardan elde edilen kök hücrelerdir. Bu hücreler, özelleşmemiş ve kültürlerde uzun dönem (37 pasaj boyunca) farklılaşma göstermeksizin çoğalabilen, buna karşın özelleşme potansiyeli taşıyan hücrelerdir.¹² Erişkin kök hücreler temelde üç ana kategoride incelenir: 1. Kan hücrelerini oluşturan hematopoetik kök hücreler, 2. Osteoblast, kondroblast, adipositlerin köken aldığı mezenkimal kök hücreler, 3. Organa spesifik, unipotent kök hücreler.

Uluslararası hücre tedavileri topluluğunun mezenkimal kökenli kök hücreler için tanımladığı kriterler şu şekilde sıralanabilir; 1. Plastik ve cam yüzeylere yapışabilme, 2. Hücre yüzeyinde minimum CD73, CD90, CD105 ekspresyonu yanı sıra hematopoetik kök hücre belirteçleri olan CD45, CD34, CD14 or CD11b, CD79 alfa veya CD19 ve HLA-DR yüzey moleküllerinin negatifliği, 3. Bu hücrelerin in-vitro adiposit, kondrosit veya osteoblast gibi mezenkimal hücrelere dönüşebilme yeteneğinin bulunmasıdır.³⁰ İlerleyen zaman içinde bu hücrelerin mezoderm dışında, endoderm ve ektoderm kökenli hücrelere de dönüşebildikleri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir.³¹⁻³³

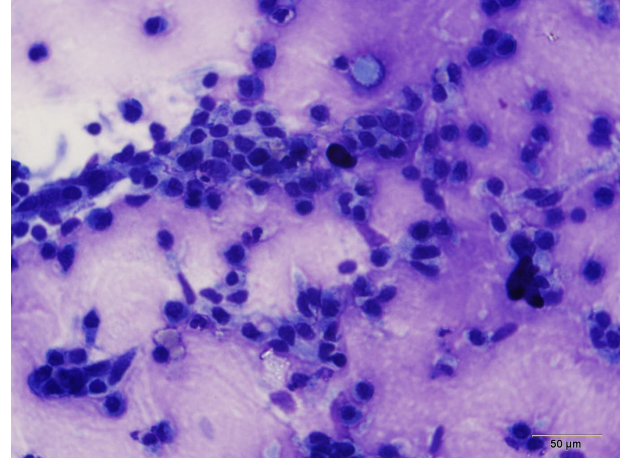
Yağ Doku Kaynaklı Kök Hücrelerin Tanımlanması

Yağ dokusunu oluşturan hücrelerin % 90'ı adiposit olmakla birlikte flow-sitometri ile yapılan incelemeler sonucunda yağ dokusu içerisinde; matür adiposit, pre-adiposit, post-adiposit (Obesite sırasında yağ hücresine dönüşen ve kilo kaybıyla yeniden eski hücre tipi olan fibroblast yerine adiposit olarak kalan hücreler), mezenkimal kökenli kök hücre, makrofaj, fibroblast, retikülosit, vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri ve sinir sistemi elemanlarının da bulunduğu tesbit edilmiştir.³⁴⁻³⁶ Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada intakt

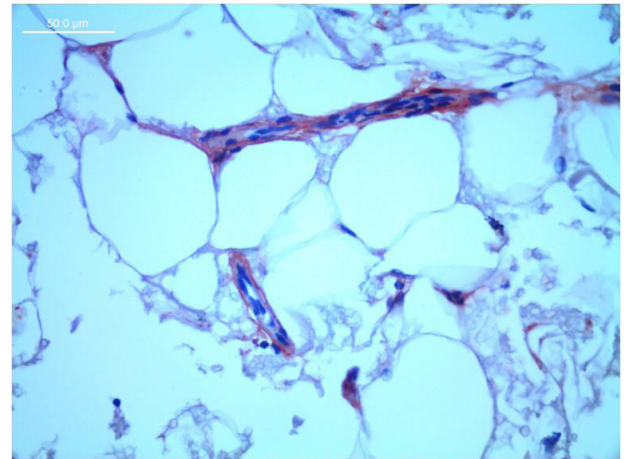
yağ dokusunun % 16 adiposit, % 30 adipoz kökenli kök hücre, % 15 endotel, % 9 kan orijinli hücreler ve % 30 diğer hücrelerden oluştuğu bildirmiştir.³⁷

Kök hücrelerin yağ dokusu içerisinde kan damarları çevresindeki perisitler olduğu veya fibroblastların bir subpopulasyonu olabileceği şeklinde yorumlar mevcut olmakla birlikte henüz kökenleri net olarak tanımlanamamıştır.³⁸⁻⁴³ Son dönemde yağ dokusu içinde, adipositler arasında SSEA-3 (Stage specific embryonic antigen) olarak tanımlanan ve diğer adipoz kökenli kök hücrelerden farklı yeni multipotent master hücre türü keşfedilmiştir.⁴⁴⁻⁴⁵ Bu bilgi, biri yağ dokusu içinde lokalize ve sadece acil durumlarda aktive olan multipotent kök hücrelerin varlığını, diğeri ise kapillerler çevresinde yerleşen ve dokunun fizyolojik dönüşümünü düzenleyen progenitor hücrelerin varlığını ortaya koyması bakımından önemlidir.

Yağ doku kökenli kök hücreler, diğer endotel hücrelerinden, makrofajlardan ve periferik monositlerden minimum CD105, CD73 ve CD90 olmak üzere taşıdıkları farklı fakat stabil yüzey ayırıcılarının varlığıyla ayrılırlar. (Şekil 1a,1b).⁴⁶⁻⁵²



Şekil 1a. Yağ doku kökenli kök hücrelerin CD 90 ile boyanması sonrası kök hücreler (kırmızı) olarak görülüyor.



Şekil 1b. Yağ dokusunda CD 73 boyası almış (kırmızı) kök hücreler görülmekte

Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerin Doku Onarımında Etki Mekanizmaları

Kök hücrelerin doku onarımına katkıları özellikle doku yaranılmasının var olduğu durumlarda ortaya çıkar. Normalde sağlıklı doku içerisinde sessiz bulunan kök hücreler, yaranılma sonrası ortaya çıkan endokrin ve parakrin çağrılar (selektin, kemokin, integrin etkileşimleriyle) sonucu çevre dokulardan ve kemik iliğinden yaranılmış dokuya doğru göç eder.⁵³ Kök hücreler, aldıkları sinyal mekanizmaların etkisi ile ortamdaki progenitor hücreleri çoğalma ve farklılaşmaya stimüle etmeleri yanı sıra salgıladıkları büyüme faktörleri ve mediatörler yoluyla da anti-inflamatuar ve immunomodulatuvar etki gösterirler ve matriksin yeniden şekillenmesine katkıda bulunurlar.⁵⁴⁻⁵⁸ Kök hücrelerin, transfer edildikleri ortamlarda bulunan hücre türlerinin yüzey işaretçilerini sunabildikleri immünolojik boyama yöntemleri ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilmiştir. Fakat temelde etkilerini ortam hücrelerine dönüştürerek mi veya parakrin fonksiyonlarıyla mı yaptıkları konusundaki tartışma halen devam etmektedir.⁵⁹⁻⁶⁶

Doku hasarının ilk gününde ortama, yaranılmış dokulardan ve aktive olan plateletlerden; temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor, bFGF), trombosit kökenli büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF), epidermal büyüme faktörü (epidermal growth factor, EGF), dönüştürücü büyüme faktörü- β (transforming growth factor- β , TGF- β) ve tümör nekrozis faktör α (tumor necrosis factor α , TNF α) salınır.^{67,68} Yoshimura ve arkadaşlarının, yağ dokusunda iskemi ve reperfüzyon yaranılmasıyla ilgili yaptıkları deneysel çalışmada; yaranılmanın 1. gününde ortama salınan bFGF faktöre ve iskemiye cevap olarak, YDKKH'lerin, çoğalmakla kalmayıp aynı zamanda kuvvetli damarlanma stimülanı ve fibrogenezis inhibitörü olan hepatosit büyüme faktörü (hepatocyte growth factor, HGF) salgıladıkları tespit edilmiştir.⁶⁹ Ortamdaki apoptotik endotel hücrelerinden salınan EGF'ün de kök hücrelerin antiapoptotik cevabını arttırdığı gösterilmiştir.⁷⁰ YDKKH'lerin ortamdaki büyüme faktörleri ve stimülanlara cevap olarak hem adipositlere hem de vasküler endotelial hücrelere dönüştüğü düşünülmeyle birlikte,⁷¹⁻⁷³ vasküler endotel hücrelerine dönüşüm deneysel çalışmalarda gösterilmiş fakat in vivo çalışmalarda nadiren tespit edilmiştir.^{74,75} Ayrıca, kök hücrelerin yaranılmış ortama infiltrate olan lökositlerden salınan pro-inflamatuar sitokinlerin (interleukin-1 β (IL-1 β), TNF- α , interferon- γ ve nitrik oksit sentetaz (nitric oxide synthase) salınımını azaltıp, anti-inflamatuar sitokinlerin (IL-1beta, IL-10, bFGF, TGF- β ve antipitotik gen Bcl-2) salınımını arttırdığı da gözlenmiştir.^{76,77}

Bu mediatörlerden özellikle TGF- β mezenkimal kök hücrelerin doku hasarı üzerindeki etkilerinin yönetilmesinde önemli rol oynar ve çevre yağ dokuda sessiz pozisyonda bulunan veya kemik iliğinden orijin alan

diğer kök hücreleri aktive ederek ortama çağırır. Yaranılmanın 2-4. (inflamatuar faz) günlerinde yağ dokusu içinde yerleşmiş mast hücreleri ve trombositler de diğer hücreler gibi TNF alfa, VEGF, PDGF, TGF-B salgılayarak iyileşmeye katkıda bulunur. (78) Yaranılmanın 5-7. günlerinde (proliferasyon fazı) ise VEGF, HGF, IL-8 ve matriks metalloproteinaz-8'in (MMP-8) yara sıvısında arttığı gösterilmiştir.⁷⁹ Kompansatuar proliferasyon olarak da adlandırılan bu dönemde yağ doku kökenli kök hücrelerin yeni yağ dokusu hücrelerini oluşturduğu gösterilmiştir.⁸⁰

Bu şekilde bir taraftan iskemiye bağlı bir grup hücre apoptoza giderken bir taraftan da yeni nesil adipositler oluşturularak remodeling sürecine girilmiş olur ve yaklaşık 2 hafta içerisinde yaranılmış yağ dokusu iyileştirilir.⁸⁰ Ortamda bulunan kök hücrelerin sayısı ve kök hücrelerin yerleştiği mikroçevreyi oluşturan matriks bileşenleri sürecin yeni dokunun rejenerasyonu mu yoksa fibrozis ve kalsifikasyonla mı sonuçlanacağını belirler.⁷⁹

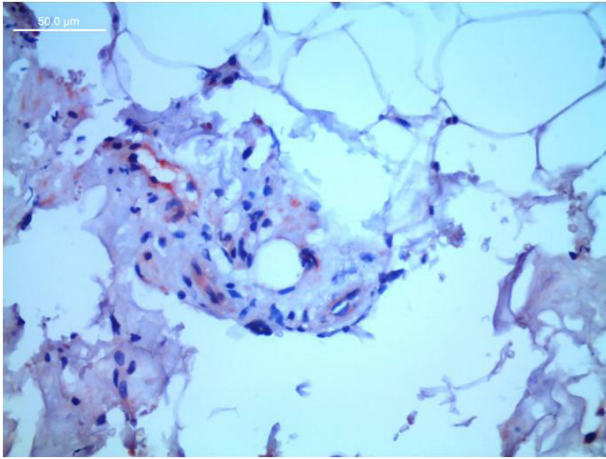
Kök hücrelerin bir diğer özelliği de insan lökosit antijenlerini (HLA-DR) eksprese etmemeleri ve allojenik, aktive olmuş lenfositleri (T reg) suprese edebilmeleridir. (81,82) YDKKH immunmodulator özellikleri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir.⁸³⁻⁸⁵

Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerin Elde Edilmesi ve Kullanım Şekilleri

Yağ doku kaynaklı kök hücreler direk yağ dokusu-nun eksizyonu ve parçalanması sonrası veya lipoaspirat materyallerinin kollajenaz ile enzimatik parçalanma sonrası santrifüj işlemlerinden geçirilme ve kültüre edilerek çoğaltılmasıyla elde edilir.^{86,87} Ullman ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada karın, uyluk, bel ve diz bölgelerinden elde edilen yağ dokularının transfer edildikleri alan açısından karşılaştırıldıklarında yaşayabilirlik oranları arasında istatistiksel fark bulunamamıştır.⁸⁸ Bir diğer çalışmada ise karın bölgesi yüzeyel bölümünde (skarpa fasyası) yerleşmiş olan YDKKH'in apoptoza diğer anatomik bölgelerde yerleşen kök hücrelere nazaran daha dayanıklı olduğu tesbit edilmiştir. (89) Daha sonra bu gözlemi destekleyen bir başka çalışma daha yayınlanmıştır.⁹⁰

Deneysel amaçlı kullanımlar için kök hücrelerin kültür metodları standardize edilmiştir.⁹¹ Parçalanmış veya lipoaspirat içinde bulunan yağ dokusu tüm kan ve fazla sıvılardan temizleninceye kadar fosfatlanmış serum fizyolojik (PBS- Phosphate Buffered Saline) yıkanır. Daha sonra bu yağ dokusu 37°C de 1 saat boyunca manyetik karıştırıcıda bekletilir ve hemen ardından Tip A kollajenaz, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal inek serumu (Bovine Fetal Serum), streptomisin ve penisilin ilavesiyle enzimatik parçalanmaya bırakılır. Elde edilen materyal santrifüje edilir ve üst tarafta kalan bölüm

atılır. Santrifüj tüpünün altta kalan hücre topluluğu stromal vasküler fraksiyon olarak bilinir ve içinde eritrosit, fibroblast, perisit, endotel hücreleri, makrofajlar ve yağ dokudan köken alan kök hücreler bulunur (Şekil 2).⁹²⁻⁹⁷ Bu hücre kümesi, kültür kaplarına aktarılır ve 37°C de 5% CO₂ ile inkube edilir. Kültür kapları içindeki sıvılar günlük değiştirilir ve diğer hücrelerden farklı olarak kök hücreler plastik kültür materyallerine yapıştıklarından birkaç gün içinde izolasyon ve çoğaltılmaları sağlanmış olur.¹² Bu hücreler, özelleşmemiş kök hücreler olup, yeterli ekspansiyona ulaştıklarında tripsin ve EDTA kullanılarak ortamdan ayrılır pasajları yapılarak deneysel veya klinik kullanıma hazır hale getirilirler. Doku mühendisliği amacıyla kullanılmak istendiğinde YDKKH'lerin adi-pojenik farklılaşma potansiyellerini arttırmak amacıyla kültür ortamına insulin, deksametazon, indometazin eklenirken, osteojenik potansiyellerini arttırmak için as-



Şekil 2. Toluidin blue ile boyanmış yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyon hücrelerinin lam üzerindeki görünümü.

orbik asit ve gliserofosfat ilave edilir.⁹⁷⁻⁹⁸

Son dönemde deneysel ve klinik alanda yapılan çalışmalar, stromal vasküler fraksiyon içindeki kök hücre etkinliğinin saflaştırılmış ve kültüre edilmiş kök hücrelere göre daha etkin ve daha güvenilir olduğunu göstermektedir.^{85,97,99} Chazenbalk ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada adipositlerin, adi-poz kökenli makrofajlarla (CD14+/CD45+7CD206+) birlikte kültüre edilmesi durumunda, adipositler ile makrofajlar arası parakrin etkileşimler sonucu preadiposit oluşumunu ve dokuda lipid birikiminin arttığı sonucuna varılmıştır.⁹⁷ Ayrıca Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları prelinik ve klinik çalışmada, stromal vasküler fraksiyonu kullanarak zenginleştirdikleri yağ greftleriyle yaptıkları kozmetik amaçlı meme büyütme sonuçlarının daha iyi olduğu görülmüştür. Bu durum hücre yardımcı yağ transferi (cell-assited lipotransfer) tanımının plastik cerrahi literatürüne girmesine yol açmıştır.^{100,101} Bu stratejinin geliştirilmesinin temelinde; transfer edilen yağ dokularının uzun dönemde % 40-70 oranda atrofiye uğraması ve bunun teknik nedenler yanı sıra, transfer edilen yağ doku içindeki kök hücre sayısının rölatif

azlığından kaynaklandığı düşüncesi yatmaktadır.¹⁰² Bu uygulamayla, aspire edilen yağ doku materyali içindeki kök hücrelerin sayısının artırılması amaçlanmıştır. Çünkü kök hücrelerin büyük bir bölümünün verici sahadaki kan damarları çevresinde kaldığı ve lipoaspirata gelmediği, diğer bir bölümünün de lipoaspiratın sıvı bölümü içinde kaldığı düşünülmektedir.^{39,42}

Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerin Plastik Cerrahide Kullanımı

YDKKH'ler transfer edildikleri alanda çoğalmaya devam eder ve multipotent özelleşme kapasitesine sahip olduklarından uygulandıkları alanda, alanın gereksinimlerine uygun şekilde manüple olarak ihtiyaca cevap verirler. Plastik cerrahide YDKKH'ler sıklıkla stromal vasküler fraksiyon halinde veya izole edilmiş fakat kültüre edilmemiş hücreler olarak kullanılır. Kök hücrelerin elde edildiği birey yaşının, YDKKH yaşayabilirliği ve adi-pojenik potansiyeli üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir.¹⁰³

a.Yumuşak Doku Hacimlendirilmesi

Otolog yağ doku transplantasyonları, plastik cerrahide rekonstrüktif ve estetik amaçla sıklıkla kullanılan bir tekniktir ve yağ doku transferiyle meme rekonstrüksiyonu son dönemde popülerite kazanmıştır. Bununla birlikte transplante edilen yağ dokusunun % 40-70 oranlarında atrofiye uğraması ve sonucun belirsizliği nedeniyle tekrarlayan seanslara ihtiyaç olur.^{104,105} YDKKH'lere ihtiyaç tam da bu noktada ortaya çıkmaktadır. Matür kök hücrelerin dayanıklı olmaması ve özellikle hipoksiye olan duyarlılıklarının YDKKH'lere göre fazla olması nedeniyle, matür yağ dokusu kök hücreden zenginleştirilerek uygulanır.¹⁰⁶ Yoshimura ve arkadaşlarının YYDKKH'ler ile zenginleştirilmiş yağ transferi uyguladıkları klinik çalışmalarda, sonuçlarının klasik lipoenjeksiyonlara göre daha başarılı olduğu, yağ birikimini arttırdığı, seans sayısını azalttığı tesbit edilmiştir.^{99,107,108} Tiryaki ve arkadaşları daha önce yağ grefti uygulanmış ama yeterli düzelme gözlenmeyen sekonder olgularda YDKKH ile zenginleştirilmiş yağ greftlemesinin daha başarılı sonuçlar verdiğini bildirmişti.¹⁰⁹

Kim ve arkadaşları lipoaspirat yoluyla elde edilen YDKKH'leri kültür ortamında çoğalttıktan sonra deprese skarlı alanlara uygulanmış ve bu bölgelerde hücrelerin matür adipositlere dönüştüğünü gözlemlemiştir.¹¹⁰ Bununla birlikte yayınlanan çalışmaların büyük bir bölümü kontrol grubu olmayan çalışmalardır ve YDKKH'lerin klinik potansiyeli hakkında hala belirsizlik devam etmektedir.¹¹¹

b. Yara İyileşmesi

YDKKH'lerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştıran en dikkat çekici çalışma 2007'de Rigotti tarafından yayınlanmıştır.¹¹² Liposakşın sonrası santrifüj edilen ve saflaştırılan yağ dokusunun tekrarlayan seanslarla radyaterapiye bağlı hasarlanmış dokulara uygulan-

masını takiben, radyasyon hasarlı dokunun iyileşmesi lipoaspirat içindeki kök hücrelere bağlanmıştır.

Lendeckel ve arkadaşları YDKKH'ler geniş travmatik kalvarial defekti olan bir hastada kanselöz kemik greftleriyle birlikte uygulanmış ve postoperatif 3. ayda çekilen tomografik incelemelerde belirgin ossifikasyon tespit edilmiştir.¹¹³

2009 yılında Mesimaki ve arkadaşları geniş keratoid nedeniyle hemimaksillektomi uygulanan bir hastada YDKKH'leri ile trikalsiyum fosfat granüllerini titanyum mesh içinde prefabrike etmiş ve daha sonra elde edilen doku mikrovasküler flep olarak maksillaya transplante edilmiştir. Doku biyopsilerde kemiğin yeniden şekillendiği saptanmıştır.¹¹⁴

Son dönemde YDKKH'lerin neovaskularizasyonu arttırarak random patternli fleplerin yaşayabilirliğini olumlu yönde etkilediğine dair yayınlar mevcuttur.¹¹⁵⁻¹¹⁷

c. Doku Mühendisliği

YDKKH'lerin doku mühendisliği alanında kullanımıyla ilgili başarılı olgu sunumları yayınlanmış olsa da literatür incelendiğinde deneysel amaçlı uygulamaların yaygın olduğu görülür.

Doku mühendisliği uygulamasının başarılı olabilmesi için kök hücreler ve bu hücrelerin yaşamlarını sürdürebilecekleri uygun üç boyutlu biyolojik mikro çevre ve biyomoleküllere (sinyal sistemleri) ihtiyaç vardır. Bu nedenle seçilecek iskelet yapının kök hücrelerin ortama yapışabilme (adezyon) ve bütünleşmelerini sağlayabilmesi yanı sıra çoğalma ve farklılaşmalarına da imkân tanıyabilir olması gerekmektedir. Literatürde, kollajen mikro boncuklar, Tip I kollajen, hyaluronik asit bazlı sünger yapılar, hücreden arındırılmış plasental matriks (placental decellular matrix), enjekte edilebilir poli-laktik ve glikolik kürecikler, ipek-çitosanın (Silk fibroin-chitosan scaffold) ve de poliglikolik ve polipropilen doku mühendisliği amacıyla kullanılan biyomateryallerdir.¹²⁸⁻¹²⁵ Bununla birlikte, tip 1 kollajen içeren süngerimsi matriks yapıların, poliglikolik asit veya hyaluronik asit bazlı gel matrikslere göre daha fazla yağ doku benzeri yapı oluşturabildiği bildirilmiştir.¹²⁰

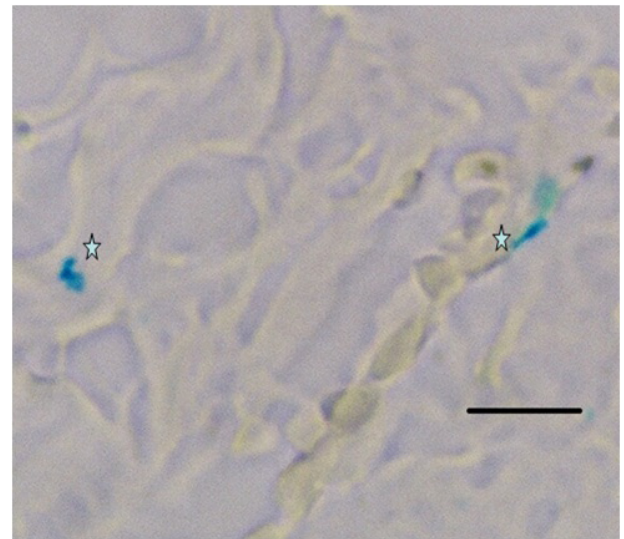
Kök hücrelerin üç boyutlu matrikslere tutunması sonrası bu yeni ortamda çoğalmaları ve istenilen tipte hücrelere dönüşebilmeleri ayrıca yeni damar dokularının oluşabilmesi, kök hücrelerle birlikte ortama eşzamanlı olarak uygulanan biyomoleküllerle de ilişkilidir. Son dönemde yapılan çalışmalar trombositten zengin plazmanın içerdiği yoğun büyüme faktörleri sayesinde YDKKH lerin çoğalma ve parakrin fonksiyonları üzerinde olumlu etki yaptığını göstermektedir.¹²⁶ Pickard ve arkadaşlarının, biyomateryaller çevresinde oluşan biyofilm tabakasını kök hücreler kullanarak önlemeye yönelik yaptıkları bir çalışmada damar endoteli büyüme

faktörlerinin (Vascular endothelial growth factor-VEGF), YDKKH lerle birlikte uygulandığında kök hücrelerin poliüretan implant yüzeyine yapışabilirliklerini ve implantın çevre dokuya entegrasyonunu arttırdığını tespit etmiştir.¹²⁷ Bu çalışmada plastik cerrahi açısından ilginç olabilecek bir başka sonuç daha ortaya çıkmıştır. YDKKH'lerin her ne kadar poliüretan ve poliamid üzerindeki biyofilm tabakasının oluşumunu azaltıyor ve entegrasyonu arttırıyorsa da, silikon materyaller çevresine yapışmadıkları ve kapsül formasyonunu önlemeye katkıları olmadığı tespit edilmiştir.¹²⁷

Literatürde YDKKH lerle doku mühendisliği uygulamalarında, hücrelerin çoğalma ve değişime uğrama veya damarlanmanın arttırılması amacıyla üzerinde çalışılan büyüme faktörleri su şekilde sıralanabilir; FGF2, PDGF, TGFβ, VEGF, HGF, granülosit ve makrofaj koloni stimüle edici faktör, stroma kökenli faktör-1 alfa (stromal-derived factor-1 alpha).¹²⁶⁻¹³⁰

YDKKH lerin Dokularda Takibi

YDKKH lerin dokuya infüzyonu sonrası takibinin sağlanabilmesi için çeşitli teknikler uygulanmaktadır. Dokuların histopatolojik olarak incelenmesi ile kök hücrelerin görüntülenmesi zorluklar içerdiğinden, in vivo çalışmalarda yeşil flüoresan protein (GFP) ile transfekte edilen ve flüoresans yayan hücrelerin dokularda takibi sık kullanılan yöntemlerden olmuştur.¹³¹ Diğer teknikler ise lusiferaz ile işaretlenerek biyoluminesans cihazı ile veya demir oksit nanopartülleri ile hücrelerin işaretlenerek manyetik rezonans (MR) altında in vivo görüntülenmesidir (Şekil 3).¹³²



Şekil 3. Yağ doku kökenli kök hücrelerin demir nanopartikül ile işaretlenmesi ve tavşan kalp dokusuna transfer edilmesi sonrası doku içinde takibi (hücre yıldızla gösterilmektedir ve prusya mavisi ile boyama yapılmıştır, bar: 20 mikron.)

Kök Hücre Tedavilerinin Güvenilirliği

Mezenkimal kökenli kök hücrelerin kanser hücreleri üzerine etkileriyle ilgili yoğun şüpheler mevcuttur. YDKKH lerin immünsupresif özellikleri ve yoğun anjiyogenik potansiyelleri nedeniyle tümör cerrahisi sonrası uygulanan rekonstrüksiyonlarda kanser gelişimini aktive edebileceği yönünde yayınlar yanı sıra, YDKKH'lerin tümör supresif özellikleri olduğunu ileri süren yayınlar da mevcuttur.¹³³⁻¹⁴² Altman ve arkadaşları, deri altına meme kanseri implante edilmiş ratlara flüoresanla işaretlenmiş YDKKH'leri farklı şekillerde (tümör hücresiyle beraber deri altına, uzak bir alanda deri altına, intravenöz, asellüler insan dermal matriksi içinde tümörden uzak alana) enjekte ettikleri ve tümör hacimlerini değerlendirdikleri deneysel çalışmada; YDKKH'lerin yara mikro çevresinde tutulduğu ve uzak alandaki tümör hücrelerin mikro çevresine katkıda bulunmadığı sonucuna varmışlardır.¹⁴²

SONUÇ

YDKKH ler kolay ve bol miktarda elde edilebilmeleri nedeniyle plastik cerrahların olduğu kadar diğer branşların da ilgisini çekmektedir. Bununla birlikte konuyla ilgili yapılan klinik yayınların büyük bir bölümü olgu serileri şeklindedir. Ayrıca elde edilen YDKKH lerin kullanım şekilleri, tedavi için gerekli hücre sayısı ve tedavi seanslarının sayısı konusunda standardizasyon mevcut değildir. Bu nedenle klinik kullanımlarını destekleyecek geniş, randomize, kontrollü çalışmalar gerekmektedir.

Dr. A.Özlem GÜNDEŞLİOĞLU

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD, 42080 Konya
E-posta: ozlemgundes@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. Wagers AJ, Weisman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell* 2004;116: 639-48.
2. Aranda P, Agirre X, Ballaestar E, Andreu EJ, Roman-Gomez J, Prieto I, et al. Epigenetic signatures associated with different levels of differentiation potential in human stem cells. *PIS One*. 4 e: 7809, 2009.
3. Friedenstien AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet*.1970; 3: 393-03.
4. Jacobsen LO, Marks EK, Robson MJ, et al. Effect of spleen protection on mortality following x-irradiation. *J. lab. Clin. Med.* 1949; 34:1538.
5. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J. Natl. Cancer Inst.* 1951;12: 197.
6. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Res*,1961;14: 213.
7. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell.* 2002;13:4279-95.
8. Bosch P, Musgrave DS, Lee JY, Cummins J, Shuler T, Ghivizzani, TC, et al. Osteoprogenitor cells with in skeletal muscle. *J. Orthop. Res* 2000; 8: 933-44.
9. Lee RH, Kim B, Choi I, Kim H, Choi HS, Suh A, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell.Physiol.Biochem.* 2004; 14: 311-24.
10. Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G, Edwards CJ, Moss J, Burger JA, et al. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res* 2000; 2: 477-88.
11. Lu LL, Liu YJ, Yang SG, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica* 2006; 91:1017-26.
12. Stocchero IN, Stocchero GF, Isolation of stem cells from human adipose tissue: technique, problems and pearls. Y-G.Illouz and Sterodimas A. (eds).*Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine*. Chapter 2, pp 13-18, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2011.
13. Cai L, Johnstone BH, Cook TG, Tan J, Fishbein MC, Chen PS, et al. 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(1):230-7.
14. Vanikar AV, Dave SD, Thakkar UG, Trivedi HL. Cotransplantation of adipose tissue-derived insulin-secreting mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells: a novel therapy for insulin-dependent diabetes mellitus. *Stem Cells Int*. 2010;20: 582382
15. Omori K, Nakamura T, Kanemaaru S, et al. Regenerative medicine of the trachea: the first human case. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006; 114(6): 429-33.
16. Snykers S, DeKock J, TamaraV, Rogiers V. Hepatic differentiation of mesenchymal stem cells: in vitro strategies. *Methods Mol. Biol.* 2011;698:305-14.
17. Zawan B, Micheletto L, Lancerotto L, Della Puppa A, D'Avella D, Abatangelo K, et al. Neural potential of stem cell population in the adipose and cutaneous tissues. *Neurol. Res.* 2010;32:47-54.
18. Yamamoto T, Gotoh M, Hattori R, Toriyama K, Kamei Y, Iwaguro H, et al. Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells for the treatment of stress urinary incontinence in patients undergoing radical prostatectomy: report of two cases.

- Int J Urol. 2010;17:75-82.
19. Mesimaki K, Lindroos B, Torwall J, et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cell. *Int. J. Oral Maxillofac Surg.* 2009;38:201-9.
 20. Wang Y, Zhao L, Hantash BM. Support of human adipose-derived mesenchymal stem cell multipotency by a poloxamer-octapeptide hybrid hydrogel. *Biomaterials.* 2006;31:538-44.
 21. Vermette M, Trottier V, Menard V, et al. Production of a new tissue-engineered adipose substitute from human adipose-derived stromal cells. *Biomaterials.* 2007;28:2850-60.
 22. Uysal CA, Ogawa R, Lu F, Hyakusoku H, Mizuno H, Effect of mesenchymal stem cells on skin graft to flap prefabrication: an experimental study. *Ann. Plast. Surg.* 2010; 65(2): 237-44.
 23. Conde-Green A, Gontijo de Amorim NF, Pitanguy I, Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue. A comparative study, *J Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2010; 63(8): 1375-81.
 24. Schaffler A, Buchler C, Concise review: adipose tissue derived stromal cells-basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *StemCell.* 2007; 25(4): 818-27.
 25. Evans MJ, and Kaufman MH, Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
 26. Prindull G. Hypothesis: cell plasticity, linking embryonal stem cells to adult stem cell reservoirs and metastatic cancer cells. *Experimental Hematology* 2005;33:738-46.
 27. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell* 2004;116:639-48.
 28. Yamanaka S, Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 25 (126): 663-76.
 29. Okita K, Ischiaki T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007;448: 313-7.
 30. Dominici M, LeBlanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al, Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315-7.
 31. Trzaska KA, Kuzhikandathil EV, Rameshwar P, Specification of a dopaminergic phenotype from adult human mesenchymal stem cells. *StemCells* 2007; 25: 2797-08.
 32. Snykers S, DeKock J, Tamara V, Rogiers V. Hepatic differentiation of mesenchymal stem cells: in vitro strategies. *Methods Mol. Biol.* 2011;698:305-14.
 33. Zawan B, Micheletto L, Lancerotto L, Della Puppa A, D'Avella D, Abatangelo G, et al. Neural potential of stem cell population in the adipose and cutaneous tissues. *Neurol. Res.* 2010;32:47-54.
 34. Astori G, Vignati F, Bardelli S, Tubio M, Gola M, Albertini V, et al. "In vitro" and multicolor phenotypic characterization of cell subpopulations identified in fresh human adipose tissue stromal vascular fraction and in the derived mesenchymal stem cells. *J Transl Med.* 2007;31:5:55
 35. Johnson PR, Greenwood MRC The adipose tissue. In: Weiss L(ed) *Cell and tissue biology: a textbook of histology.* Urban and Schwarzenberg, Baltimore, 1988
 36. Orci L, Cook WS, Ravazzola M et al. Rapid transformation of white adipocytes into fat-oxidizing machines. *PNAS* 2004; 101(7): 2058-63.
 37. Eto H, Suga H, Matsumoto D, et al. Characterization of adipose tissue and cellular components: differences between aspirated adipose tissue and excised adipose tissue. *Plast. Reconstr. Surg* 2009;124:1087-97.
 38. Amos PJ, Shang H, Biley AM, et al. IFATS collection: the role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells.* 2008; 26: 2682-90.
 39. Tractuev DO, Merfeld-Claus S, Li J, et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res* 2008; 102:77-85
 40. Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell* 2008; 3:301-13.
 41. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ, Mesenchymal stem cells: Revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008;2:313-9.
 42. Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, et al, Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development* 2006;133(8),1543-51.
 43. da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB, In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2008;26: 2287-99.
 44. Kuroda Y, Kitado M, Wakao S, et al. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA,* 2010; 107(19);8639-43.
 45. Wakao S, Kitado M, Kuroda Y, et al. Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are a primary source of induced pluripotent stem cells in human fibroblasts. *Proc Nat Acad Sci USA,* 2011;108(24), 9875-80.
 46. Aktan TM, Duman S, Cihantimur B. Cellular and molecular aspects of adipose tissue. Y.-G. Illouz and A. Sterodimas (eds). *Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine.* Chapter 1, pp 1-12, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011.
 47. Dominici M, LeVlanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8: 315-7.
 48. Daher SR, Johnstone BH, Phinney DG, March KL, Adipose stromal/stem cells: basic and translational advances: the ifats collection. *Stem Cells* 2008;26:2664-5.
 49. Gir P, Oni G, Brown SA, Mojallal A, Rochrich RJ, Human Adipose Stem Cells: Current Clinical Applications. *Plast. Reconstr. Surg* 2012;129(6): 1277-90.
 50. Stagg J. Immune regulation by mesenchymal stem cells: two sides to the coin. *Tissue Antigens* 2007; 69(1): 1-9.
 51. Deans RJ, Moseley AB, Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol.* 2000; 28: 875-84.
 52. Yoshimura K, Shiguera T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J. Cell Physiol* 2006;208: 64-76.
 53. Fox JM, Chamberlain G, Ashton BA, Middleton J. Recent advances into the understanding of mesenchymal stem cell trafficking. *Br J Haematol.* 2007;137:491-502.
 54. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol,* 2007; 213: 341-7.
 55. Ucelli A, Pistoia V, Moretta I, Mesenchymal stem cells: A new strategy for immunosuppression? *Trend Immunol.* 2007;28:219-26.
 56. Phinney DG, Prockop DJ, Concise review: Mesenchymal stem/multipotent stromal cells. The state of transdifferentiation and modes of tissue repair- Current views. *Stem cells* 2007; 25: 2896-902.

57. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise review: Mesenchymal stem cells. Their phenotype differentiation capacity, immunologic features, and potential for homing. *Stem Cells* 2007;25: 2739-49.
58. Dazzi F, Horwood NJ. Potential of mesenchymal stem cell therapy. *Curr Opin Oncol.* 2007;19:650-5.
59. Dai W, Hale SL, Martin BJ, Kuang JQ, Dow JS, Wold LE, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short and long term effects. *Circulation* 2005;112 (2):214-23.
60. Li GR, Deng XL, Sun H, Chung SS, Tse HF, Lau CP. Ion channels in mesenchymal stem cells from rat bone marrow. *Stem Cells* 2006;24:1519-28.
61. Pijnapples DA, Schalij MJ, Van Tuyn J, Ypey DL, de Vries AA, van der Wall EE, et al. Progressive increase in conduction velocity across human mesenchymal stem cells is mediated by enhanced electrical coupling. *Cardiovascular Research.* 2006;72: 282-91.
62. Noiseux N, Gnechchi M, Lopez-Illasaca M, Zhang L, Solomon SD, Deb A, Mesenchymal stem cells overexpressing Akt dramatically repair infarcted myocardium and improve cardiac function despite infrequent cellular fusion or differentiation. *Molecular Therapy*, 2006;14: 840-50.
63. Togel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanism. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 2005;289: 31-42.
64. Yu S, Tanabe T, Dewaza M, Ishikawa H, Yoshimura N. Effects of bone marrow stromal cell injection in an experimental glaucoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006; 344: 1071-9.
65. Gnechchi M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nature medicine.* 2005;11:367-8.
66. Gnechchi M, He H, Noiseux N, Liang OD, Zhang L, Morello F, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell mediated cardiac protection and functional improvement *FASEB Journal*, 2006;20:661-9.
67. Muthukrishnan L, Warder E, McNeil PL. Basic fibroblast growth factor is efficiently released from a cytosolic storage site through plasma membrane disruption of endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1991;148: 1-16.
68. Aiba-kojima E, Tsuno NH, Inoue K, et al. Characterization of wound drainage fluids as a source of soluble factors associated with wound healing: comparison with platelet-rich plasma and potential use in cell culture. *Wound Repair Regen* 2007;15: 511-520.
69. Suga H, Eto H, Shigueura T, et al, IFATS collection: FGF-2-induced HGF secretion by adipose-derived stromal cells inhibits post-injury fibrogenesis through a JNK-dependent mechanism. *Stem Cells* 2009;27:238-49.
70. Soulez M, Sirois I, Brassard N, et al. Epidermal growth factor and perlecan fragments produced by apoptotic endothelial cells coordinately activate ERK1/2 dependent antiapoptotic pathways in mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2010;28:810-20.
71. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shigeura T, Sato T, et al. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 2006;12(12):3375-82.
72. Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation.* 2004;110:349-55.
73. Moon MH, Kim SY, Kim YJ, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell Physiol Biochem.* 2006;17: 279-90.
74. Kondo K, Shintani S, Shibata R, et al. Implantation of adipose derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:61-6.
75. Nagakami H, Maeda K, Morishita R, et al. Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25: 2542-7.
76. Cui L, Yin S, Liu W, Li N, Zhang W, Cao Y. Expanded adipose-derived stem cells suppress mixed lymphocyte reaction by secretion of prostoglandin E2. *Tissue Eng.* 2007;13: 1185-95.
77. Niemeyer P, Vohrer J, Schmal H et al. Survival of human mesenchymal stromal cells from bone marrow and adipose tissue after xenogenic transplantation in immunocompetent mice. *Cytotherapy* 2008;10:784-95.
78. Chalsakov B, Tonchev AB, Tuncel N, et al. Adipose tissue and mast cells, adipokines as yin-yang modulation of inflammation. In: Fantuzzi G, Mazzone T (ed) *Adipose tissue and adipokines in health and disease*. Humana Press, New Jersey. 2007
79. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Suga H. Adipose stem cells: from liposuction to adipose tissue engineering. Y.-G. Illouz and A. Sterodimas (eds). *Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine*. Chapter 7, pp 67-81, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2011.
80. Fan Y, Bergmann A. Apoptosis-induced compensatory proliferation. The cell is dead. Long live the cell! *Trends Cell Biol.* 2008;18:467-73.
81. Aust L, Devlin B, Foster SJ, et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*, 2004;6: 7-14.
82. Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, Robey PG, Storms RW, Gimble JM. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J. Cell Physiol.* 2001;189(1):54-63.
83. Yanez R, Lamana MI, Garcia-Castro J, Colmenero I, Ramirez 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;24:2582-91.
84. Puissant B, Barreau C, Bourin P et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells. *Br. J. Haematol* 2005;129:118-129.
85. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, et al. Grading lipospirate: Is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:38-45.
86. Jurgens WJ, Oedayrajsingh-Varma MJ, Helder MN, et al. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Cell Tissue Res.* 2013;332:415-26.
87. Dubois SG, Floyd EZ, Zvonic S, et al. Isolation human adipose-derived stem cells from biopsies and liposuction specimens. *Methods Mol. Biol.* 2008; 449: 69-79.
88. Ullman Y, Shoshani O, Fodor A, Ramon Y, Carmi N, Eldor L, et al. Searching for the favorable donor site for fat injection: in vivo study using nude mice model. *Dermatol Surg.* 2005;31(10):1304-7.
89. Schipper BM, Marra KG, Zhang W et al. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells. *Ann. Plast. Surg.* 2008;60:538-44.
90. Jurgens WJ, Oedayrajsingh-Varma MJ, Helder MN, et al. Effect

- of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Cell Tissue Res.* 2008;332:415-26.
91. Rodbell M, Metabolism o isolated fat cells. Effects of hormones on glucose metabolism and lypolysis. *J. Biol. Chem.* 1964;239:357-80.
 92. Gimble JM, Guilak F, Adipose- derivetad adult stem cells: Isolation, characterization, and differantiation potential. *Cytotherapy*, 2003;5:362-9.
 93. Zuk PA. The adipose-derived stem cell:looking back and looking ahead. *Mol. Biol. Cell.* 2009;21:1783-7.
 94. Otto TC, Lane MD.Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2005;40(4):229-42.
 95. Yoshimura K, Suga H, Eto H, Adipose-derived stem/ progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential us efor soft tissue augmentation. *Regen. med.* 2009;4: 265-73.
 96. Brown SA, Levi B, Lequeux C, Wong WW, Mojallal A, Longaker MT. Basic science on adipose tissue for clinicians. *Plast. Reconstr. Surg.* 2010; 126:1936-46.
 97. Chazenbalk G, Bertolotto C, Heneidi S, Jumabay M, Trivax B, Aronowitz J, et al, Novel pathway of adipogenesis through cross-talk between adipose tissue macrophages, adipose stem cells and adipocytes: Evidence of cell plasticity. *PLoS One.* 2011;31:6(3):e17834
 98. Gimble JM, Guilak F. Differentiation potential of adipose derived adult stem (ADAS) cells. *Curr Top Dev Bio.* 2003;58:137-60.
 99. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med.* 2011; 6(6 Suppl.):33-41.
 100. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shigeura T, Sato T, et al. Cell assisted lipotransfer: Supportive use of human adipose- derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 2006;12:3375-82.
 101. Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Hirohi T, Harii K. Cell- assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation. Supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plast Surg*, 2008;32:48-55.
 102. Moseley TA, Zhu M, Hedric MH, Adipose derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 2006;118(3 Suppl):1215-1285.
 103. de Girolamo L, Lopa S, Arrigoni E, Sartori MF, Baruffaldi Preis FW, Brini AT. Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation. *Cytotherapy* 2009;11(6):793-803.
 104. Donofrio LM. Technique in facial fat grafting. *Aesthet Surg J.* 2008;28(6):681-7.
 105. Kaufman MR, Miller TA, Huang C, Roostanien J, Wasson KI, Ashley RK, et al, Autologous fat transfer for facial recontouring: is there science behind the art? *Plast reconstr. Surg.* 2007;119(7):2287-96.
 106. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Suga H. Adipose stem cells: from liposuction to adipose tissue engineering. Y.-G.Illouz and A. Sterodimas (eds).*Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine.* Chapter 7, pp 67-81, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2011
 107. Yoshimura K, Asano Y, Aoi N, et al. Progenitor- enriched adipose tissue transplantation as rescue for breast implant complications. *Breast J.* 2010;16:169-75.
 108. Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Inoue K, Suga H, et al. K.Cell-assisted lipotransfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of adipose-derived stem cells. *Dermatol Surg Sep;* 2008;34(9):1178-85.
 109. Tiryaki T, Fındıklı N, Tiryaki D. Staged stem cell- enriched tissue(SET) injections for soft tissue augmentation in hostile recipient areas: A preliminary report. *Aesthetic Plast Surg*, 2011; 35:965-71.
 110. Kim M, Kim I, Lee SK, Bang SI, Lim SY. Clinical trial of autologous differentiated adipocytes from stem cells derived from human adipose tissue. *Dermatol. Surg.* 2011;37:750-9.
 111. Locke M, Feisst V, Dunbar PR. Concise review. Human adipose-derived stem cells. Separating promise from clinical need. *Stem Cells;* 2011;29:404-11.
 112. Rigotti G, Marchi A, Galie M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr. Surg.* 2007;119:1409-22.
 113. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, et al. Autolous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: Case report. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 2004;32:370-3.
 114. Mesimaki K, Lindroos B, Tornwall J, et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillfac Surg.* 2009;38:201-9.
 115. Uysal CA, Ogawa R, Lu F, Hyakusoku H, Mizuno H. Effect of mesenchymal stem cells on skin graft to flap prefabrication: an experimental study. *Ann Plast. Surg.* 2010;65(2): 237-44.
 116. Runyan CM, Jones DC, Bove KE, Maercks RA, Simpson DS, Taylor JA. Porcine allograft mandible revitalization using autologous adipose –derived stem cells, bone morphogenetic protein-2, and periosteum. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(5):1372-82.
 117. Lu F, Li J, Gao J, Ogawa R, Ou C, Yang B, et al. Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adipose derived stem cells. *Plast Reconstr Surg* 2008;121(1):50-8.
 118. Rubin JP, Bennet JM, Doctor JS, Tebbets BM, Marra KG. Collagenous microbeads as a scaffold for tissue engineering with adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(2):414-24.
 119. Stillaert FB, Di Bartolo C, Hunt JA, et al. Human clinical experience with adipose precursor cells seeded on hyaluronic acid-based spongy scaffolds. *Biomaterial* 2008;29: 3953-9.
 120. Itoi Y, Takatori M, Hyakusoku H, Mizuno H. Comparision of readily available scaffolds for adipose tissue engineering using adipose-derived stem cells. *J. Plast. Reconstr. Aesth. Surg.* 2010;63(5):858-64.
 121. Flynn LE, Prestwich GD, Semple JL, et al. Adipose tissue engineering with naturally derived scaffolds and adipose derived stem cells. *Biomaterials*, 2007;28:3834-42.
 122. Flynn LE, Prestwich GD, Semple JL, et al. Proliferation and differentiation of adipose- tissue derived stem cells on naturally derived scaffolds. *Biomaterials* 2008;29:1862-71.
 123. Choi YS, Cha SM, Lee YY, et al. Adipogenic differentiation of adipose tissue derived adult stem cells in nude Mouse. *Biochem Biophys res. Commun.* 2006;30:345:631-7.
 124. Altman AM, Yan Y, Matthias N, Bai X, Rios C, Mathur AB, et al. IFATS Collection: human adipose-derived stem cells seeded on a silk fibroin-chitosan scaffold enhance wound repair in a murin soft tissue injury model. *Stem Cells* 2009;27(1):250-8.
 125. Enjo M, Terada S, Uehara M, Itani Y, Isogai N. Usefulness of polyglycolic Acid-polypropylene composite scaffolds for three-dimensional cartilage regeneration in a large-animal autograft model. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(3):335-42.
 126. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, et al. Proliferation- promoting effect of platelet- rich plasma on human adipose-derived

- stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122:1352-60.
127. Pichard HL, Reichert WM, Klitzman B. Adult adipose-derived stem cell attachment to biomaterials. *Biomaterials* 2007;28:936-56.
 128. Kakuda N, Shimaotsuma A, Kusumoto K. Fibroblast growth factor-2 stimulates adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;359:239-44.
 129. Suga H, Eto H, Shieura T, Inoue K, Aoi N, Kato H, et al. IFAT series: FGF-2 induced HGF secretion by adipose-derived stromal cells inhibits post injury fibrogenesis through a JNK-dependent mechanism. *Stem Cells* 2009;27(1):238-49.
 130. Liu Zj, Zhuge Y, Velazquez OC. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem*. 2009;106(6):984-91.
 131. Blanton MW, Hadad I, Johnstone BH, Mund JA, Rogers PI, Eppley BL, et al. Adipose stromal cells and platelet-rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123(2):56-64.
 132. Schmidtke-Schrezenmeier G, Urban M, Musyanovych A, Mailänder V, Rojewski M, Fekete N, et al. Labeling of mesenchymal stromal cells with iron oxide-poly (L-lactide) nanoparticles for magnetic resonance imaging: uptake, persistence, effects on cellular function and magnetic resonance imaging properties. *Cytotherapy*. 2011;13(8):962-75.
 133. Zimmerlin L, Donnenberg AD, Rubin JP, Basse P, Landreneau RJ, Donnenberg VS. Regenerative therapy and cancer: In vitro and in vivo studies of the interaction between adipose-derived stem cells and breast cancer from clinical isolates. *Tissue Eng Part A*; 2011; 17: 93-106.
 134. Lin G, Yang R, Banie L, et al. Effects of transplantation of adipose tissue-derived stem cells on prostate tumor. *Prostate* 2010;70:1066-73.
 135. Prantl L, Muehlberg F, Navone NM, et al. Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth. *Prostate* 2010;70:1709-15.
 136. Zhang Y, Daquinag A, Traktuev DO, et al. White adipose tissue cells are recruited by experimental tumors and promote breast cancer growth and metastasis. *Cancer Res* 2009;69:5259-66.
 137. Muehlberg FI, Song YH, Krohn A, et al. Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. *Carcinogenesis* 2009;30:589-97.
 138. Yu JM, Jun ES, Bae YC, Jung JS. Mesenchymal stem cells derived from human adipose tissues favor tumor cell growth in vivo. *Stem Cells Dev*. 2008;17:463-73.
 139. Cousin B, Ravet E, Poglio S, et al. Adult stromal cells derived from human adipose tissue provoke pancreatic cancer cell death both in vitro and in vivo. *PLoS One* 4: 2009; e6278
 140. Grisendi G, Bussolari R, Cafarelli L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells as stable source of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand delivery for cancer therapy. *Cancer Res*. 2010;70:3718-29.
 141. Kucerova I, Altanerova V, Matuskova M, Tyciakova S, Altaner C. Adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells mediated prodrug cancer gene therapy. *Cancer Res*. 2007; 67: 6304-63.
 142. Altman AM, Prantl L, Muehlberg FL, Song YH, Seidensticker M, Butler CE, et al. Wound microenvironment sequesters adipose-derived stem cells in a murine model of reconstructive surgery in the setting of concurrent distant malignancy. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127(4):1467-77.