

MEDICINA RIGENERATIVA: INGEGNERIZZAZIONE DEL TESSUTO ADIPOSO PER LE APPLICAZIONI IN CHIRURGIA PLASTICA ED ORTOPEDIA RICOSTRUTTIVA

Guido Libondi, Armando Del Prete

Riassunto

L'ingegneria tissutale e la medicina rigenerativa sono scienze multidisciplinari evolute in parallelo con i recenti progressi della biotecnologia. Esse combinano biomateriali, fattori di crescita e cellule staminali per riparare organi e tessuti difettosi. L'ingegnerizzazione del tessuto adiposo è un approccio emergente che promette di sviluppare sostituti autologhi da utilizzare come alternativa alle correnti tecniche di trapianto di adipe per la riparazione a lungo termine dei difetti dei tessuti molli. Il tessuto adiposo umano dell'adulto rappresenta un'abbondante risorsa di cellule staminali mesenchimali (MSCs). Inoltre rappresenta una fonte di prelievo ideale per reperibilità, considerevole numero di cellule staminali, facilità di accesso e semplicità di prelievo.

Keywords: Adult stem cells, regenerative medicine, adipose tissue engineering, scaffold

Address of the authors:
Facoltà di Medicina e Chirurgia,
Seconda Università degli Studi di
Napoli, Italy

Send correspondence:
Dr. Guido Libondi
email: guido_libondi@alice.it

Received: February 19th, 2010
Revised: March 2nd, 2010
Accepted: March 6th, 2010

Language of the Article: Italian.

No conflicts of interest were declared.

© CAPSULA EBURNEA, 2010
ISSN: 1970-5492

DOI: 10.3269/1970-5492.2010.5.13

Introduzione

Il tessuto adiposo come fonte di cellule staminali
Nel 2001, per la prima volta fu isolata una popolazione di cellule multipotenti dal fluido di drenaggio durante una liposuzione (1). Tale popolazione cellulare fu denominata "cellule processate di lipoaspirato" (PLA). Le cellule PLA sono una popolazione cellulare multipotente del tessuto adiposo, riconosciute come cellule staminali mesenchimali (MSCs). In origine, la denominazione MSCs si riferiva solo a cellule derivate dal midollo osseo; attualmente esistono altre fonti di cellule staminali ed è quindi necessario chiarirne l'origine. Citiamo i seguenti termini: *Adipose Derived Stem/Stromal Cells (ASCs)*, *Adipose-Derived Adult Stromal Cells*, *Adipose-Derived Stromal Cells (ADSCs)*, *Adipose Stromal Cells (ASCs)*, *Adipose Mesenchymal Stem Cells (AdMSCs)*, e *Processed LipoAspirate (PLA) cells*. Ciò nonostante, i differenti termini possono creare confusione nella letteratura. Una proposta è stata quella di utilizzare le definizioni "*MSCs derivate dal tessuto adiposo*" e "*MSCs derivate dal midollo osseo*". Al 2nd annual meeting of International Fat Applied Technology Society (IFATS, Pittsburgh 2004), nell'ambito della discussione sulla terminologia venne accordato che il termine "ASCs" dovesse essere utilizzato per definire le cellule multipotenti prelevate dal tessuto adiposo. Verrà usato il termine ASCs per evitare ambiguità. Come riportato per la prima volta nel 2001 (1) le ASCs sono ideali per molti aspetti: il prelievo, la manipolazione e la moltiplicazione risultano semplici ed efficaci; la loro multipotenzialità e proliferazione non sono inferiori a quelle delle bone marrow-derived MSCs; la morbilità del donatore è

minore di quella delle altre MSCs prelevate da altri siti. Gli adipociti maturi sono particolarmente facili da rimuovere dal tessuto adiposo, richiedendo soltanto l'utilizzo di un trattamento con collagenasi e centrifugazione, in quanto sono meno dense dell'acqua. Da un punto di vista clinico, sufficienti quantità di ASCs possono essere prelevate e messe in coltura partendo da circa 1,0 g di grasso; inoltre, è richiesta solo un'anestesia locale, e la cicatrice del sito donatore guarisce in meno di una settimana. Nel 2002, Zuk et al. descrissero che le cellule staminali derivate dal tessuto adiposo umano esprimono numerosi marcatori antigenici CD (cluster differentiation) simili a quelli osservati sulle MSCs derivate da midollo osseo (2). Essi studiarono le cellule non solo nel loro differenziamento verso linee mesodermiche ma anche in quella neuronale.

Nel 2008, Papaccio et al. hanno caratterizzato due ben distinte popolazioni cellulari all'interno della cosiddetta *Stromal Vascular Fraction* (SVF) del tessuto adiposo: una popolazione di cellule staminali mesenchimali ed una di cellule endoteliali. È stata focalizzata l'attenzione sulle cellule che co-esprimevano i marcatori CD34 e CD90 che sono in grado di formare sfere quando poste in condizioni di crescita non aderente e tali sfere sono tutte positive per CD34; mostrano un'attività telomerasica significativamente maggiore di quella osservata nelle cellule differenziate. Presentano inoltre un'alta capacità proliferativa, e una piccola frazione di esse manifesta il fenotipo della "side population". Quando messe in coltura con terreno adipogenico, le cellule CD34+/CD90+ si differenziano in adipociti, mentre quando poste in metilcellulosa formano strutture simil-capillari. In terreno standard, le cellule CD34+/CD90+ si differenziano *self committed* in cellule endoteliali, positive per VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) e capaci di produrre VEGF nel tempo (3).

La prima applicazione clinica delle ASCs risale al 2004 quando Lendeckel et al.

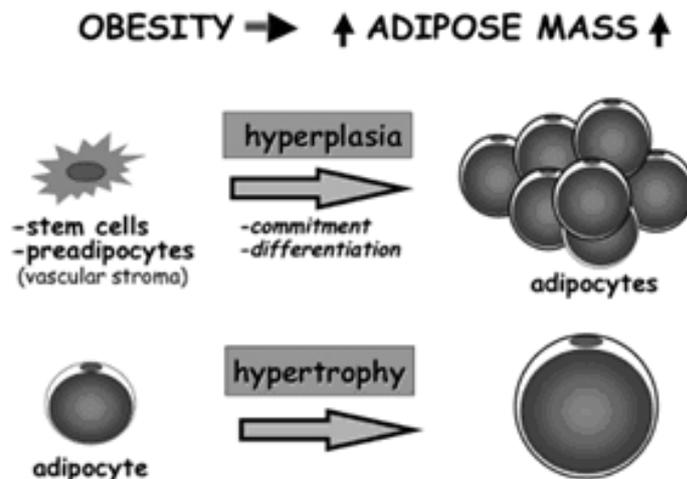


Fig. 1: Differenza tra iperplasia e ipertrofia del tessuto adiposo

riportarono l'utilizzo di cellule staminali e fibrina per il trattamento di traumi cranici (4).

Oggi, oltre ai difetti ed alle fratture ossee, l'infarto miocardico, l'infarto cerebrale e le lesioni del midollo spinale vengono considerati target di una terapia clinica che utilizza le cellule staminali del tessuto adiposo. Ci sono molte patologie dell'uomo, come l'obesità, che supportano il concetto che il tessuto adiposo contenga progenitori cellulari multipotenti.

L'obesità presenta diverse evidenze che supportano l'esistenza di cellule staminali all'interno del tessuto adiposo. L'incidenza di soggetti sovrappeso ed obesi nei paesi industrializzati è cresciuta, e continua ad aumentare, a livelli allarmanti. Diversi fattori a livello genetico, epigenetico e comportamentale potrebbero contribuire a questa epidemia. Modelli *in vivo* dell'adipogenesi suggeriscono che gli adipociti maturi sono cellule terminalmente differenziate, con limitate capacità proliferative e replicative (5). Tuttavia, studi con traccianti radioattivi hanno evidenziato che il tempo di turnover cellulare nei depositi di adipe varia, nell'uomo e nei roditori, tra i 6 e 15 mesi (6). Presumibilmente, una popolazione di cellule staminali all'interno del tessuto adiposo è responsabile della sostituzione delle cellule adipose mature lungo tutto l'arco di vita di un individuo. Alcuni scienziati hanno proposto che esista un meccanismo omeostatico o *adipostat* che mantie-

ne il volume totale del tessuto adiposo a livelli costanti (7). Con la rapida perdita di peso risultante da una dieta, dall'esercizio fisico, o dalla liposuzione, l'*adipostat* interviene per riportare il volume totale di tessuto adiposo di nuovo ad un livello iniziale (8). Per esempio, la rimozione di un cuscinetto adiposo nel ratto innesca segnali per la generazione di nuovo tessuto adiposo (8). Questi sono diretti ad aumentare il volume degli adipociti preesistenti ma anche verso la generazione di nuovi adipociti da progenitori o dal pool di cellule staminali. Entrambe le cellule, staminali e preadipociti, sono presenti nella frazione stromale vascolare del tessuto adiposo (SVF) (Fig. 1).

Il *commitment* delle cellule staminali verso la linea adipocitaria e il differenziamento successivo dei preadipociti verso

gli adipociti si presenta durante la vita adulta. La maggior parte delle nostre conoscenze attuali sullo sviluppo adiposo è stata scoperta usando vari modelli di *commitment* e colture cellulari. In coltura, il *BMP4* stimola le cellule staminali mesenchimali verso la linea adipocitaria (fig 2A). I preadipociti quiescenti, ricevendo appropriate induzioni ormonali, cominciano il programma differenziativo (fig 2B).

Questo processo è caratterizzato da un rapido incremento della fosforilazione di *CREB*. *CREB*, a sua volta, attiva *C/EBPβ* attraverso la cascata del cAMP. Da questo momento i preadipociti rientrano nel ciclo cellulare per iniziare l'espansione clonale. In concomitanza con l'entrata nella fase S, *C/EBPβ* viene fosforilato dalla MAP-chinasi e successivamente da *GSK-3β* (*glycogen synthase kinase 3 beta*). *C/EBPβ* può ora attivare i due fattori chiave della trascrizione

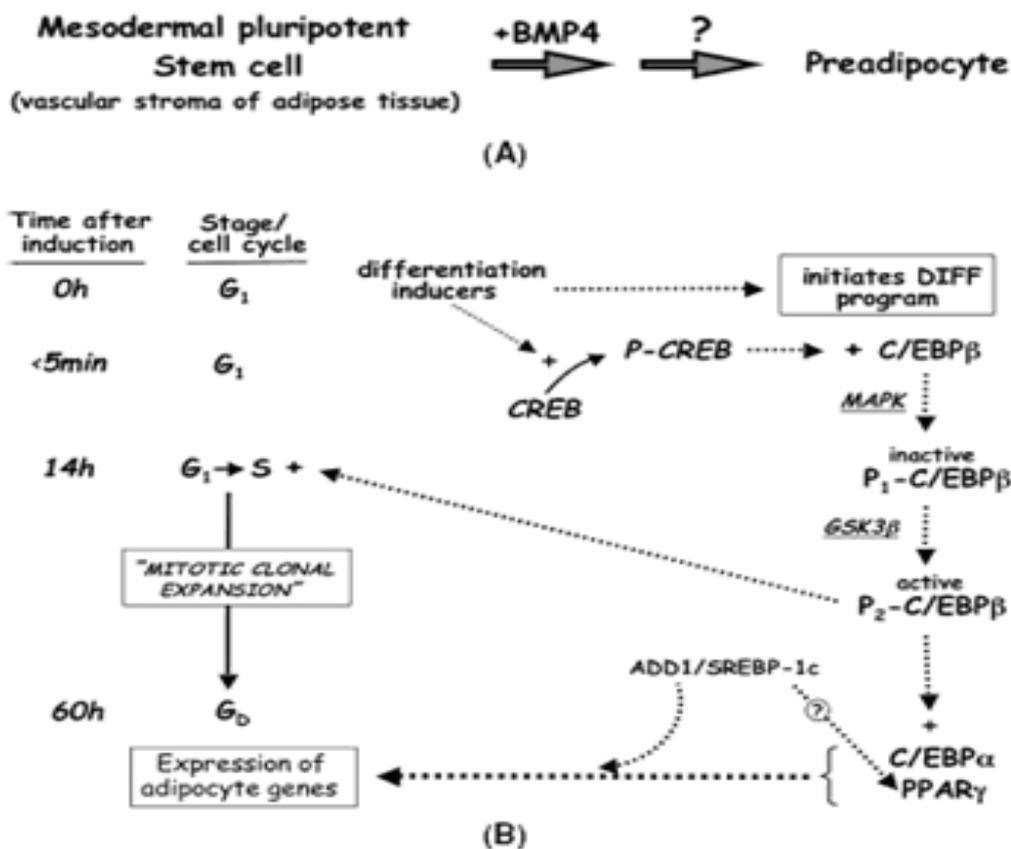


Fig. 2: Eventi chiave dello sviluppo adipocitario. A. Commitment delle cellule staminali verso la linea adipocitaria. BMP = bone morphogenetic protein. B. Differenziamento adipocitario. P = phosphoryl group. C/EB= CCAAT/enhancer binding protein; CREB = cAMP regulatory element

zione adipogenica, *C/EBP α* e *PPAR- γ* . Questi fattori, insieme, attivano i geni responsabili del fenotipo adipocitario.

Potenzialità delle ASCs

In coltura, le ASCs esprimono i marcatori di superficie che sono espressi dalle MSCs, compresi CD105, SH3, Stro-1, CD90 e CD44, ma non esprimono il marcatore ematopoietico CD45. Inoltre le ASCs esprimono anche i marcatori endoteliali come CD31, al contrario di quello che è stato affermato in molti studi (9-11) (Tab. 1). Le ASCs e le MSCs sono immunoprivilegiate, *in vitro* ed *in vivo*. Ciò suggerisce che le ASCs, così come le MSCs, possono essere considerate cellule con la potenzialità di essere adoperate nella regolazione allogenica e nel ridurre la graft-versus-host-disease (12). Alcuni autori, hanno dimostrato la capacità delle cellule staminali derivanti da tessuto adiposo di subire il differenziamento secondo le linee mesenchimali: adipogenesi, condrogenesi, osteogenesi e miogenesi. Inoltre le ASCs hanno anche capacità transdifferenziativa (13) (Fig. 3).

Surface marker	Expression pattern	
	ADSCs	MSCs
CD9	+	+
CD10	+	+
CD13	+	+
CD29	+	+
CD31	-	-
CD34	-	-
CD44	+	+
CD45	-	-
CD49d	+	-
CD49e	+	+
CD54	+	+
CD55	+	+
CD59	+	+
CD90	+	+
CD105	+	+
CD106	-	+
CD117	+	+
CD146	+	+
CD166	+	+
STRO-1	+	+

Fig. 3: Comparazione di marker di membrana delle ASCs con MSCs9.

Biomateriali applicati nell'ingegneria del tessuto adiposo

Quando le cellule staminali del tessuto adiposo umano dell'adulto sono impiantate su di un carrier per la rigenerazione di tessuto adiposo, la composizione chimica, la stabilità meccanica e l'architettura 3D del costruito sono fattori cruciali. Essi garantiscono la penetrazione all'interno di esso, una sufficiente proliferazione ed un completo differenziamento dopo il trapianto. Negli anni recenti, trials *in vivo*, in particolare, hanno permesso la comprensione del potenziale, delle prospettive, ma anche delle correnti difficoltà nell'ingegnerizzazione del tessuto adiposo. L'efficacia *in vivo* del costruito appare essere dipendente dall'efficienza dell'inoculo *in vitro* delle cellule staminali nello scaffold e dalla struttura e tipo di biopolimero utilizzato (14). In particolare fin tanto che le cellule staminali non si differenziano verso cellule contenenti lipidi vacuolizzati, preadipociti, esse subiscono un considerevole aumento di volume; da qui la necessità di una struttura che non impedisca la crescita, il differenziamento delle cellule impiantate e dei precursori adipogenici. Inoltre il carrier dovrebbe mantenere la stabilità e la morfologia generale fino alla sostituzione con tessuto adiposo maturo, quindi idealmente biodegradarsi senza elicitare una risposta infiammatoria dannosa. L'interazione tra angiogenesi e adipogenesi è un altro rilevante aspetto in aggiunta alle proprietà di cellule e materiale. La matrice di un potenziale carrier deve favorire l'angiogenesi per minimizzare l'ischemia cellulare. Questo ostacolo impedisce a promettenti soluzioni di approcciare lo stadio clinico, poiché molti costrutti generati sono semplicemente troppo piccoli per essere usati nella ricostruzione dei tessuti molli. Comunque l'angiogenesi e le cellule endoteliali non sono solo un pathway della vascolarizzazione ma anche un supporto alla proliferazione e differenziamento adipocitario (15,16). Al contrario le cellule staminali della SVF stimolano la vascolarizzazione secernendo ed aumentando i livelli di VEGF durante l'ipossia (17) e la formazione di tessuto adiposo (18). Al momento non esiste matrice biologica o sintetica e nessuno scaffold che abbia tutte le su citate pro-

prietà e che supporti sufficientemente i processi cellulari richiesti.

Scaffold di biopolimeri

Spugne porose di collagene bovino

Il collagene, uno dei primi carrier biodegradabili, è un materiale largamente utilizzato nella rigenerazione tissutale in quanto la matrice porosa di collagene supporta la crescita cellulare e la sintesi di nuova matrice (19,20). Nonostante ciò, i primi biomateriali di collagene presentavano delle difficoltà poiché non mostravano un alto grado di riproducibilità (21) in quanto contenevano pori di dimensioni irregolari, molti dei quali chiusi, non adatti all'impianto e alla crescita delle cellule. Per cui sono stati prodotti carriers di collagene che, grazie ad un metodo di solidificazione direzionale (22) e ad una successiva asciugatura a freddo (23) risultano in un'architettura regolare e quindi presentano una maggiore riproducibilità rispetto ai vecchi scaffold con struttura irregolare. Dopo l'impianto, i preadipociti differenziano in adipociti maturi *in vivo* (24). Le cellule impiantate rivelano una significativa neovascolarizzazione dell'impianto. La penetrazione delle cellule staminali raggiunge una profondità nella spugna superiore ai 1400µm mentre gli adipociti maturi si ritrovano solo ad una profondità di 350µm. Ciò poiché le dimensioni dei pori di questi scaffold è di 100µm e gli adipociti crescono con un diametro maggiore, quindi un'ulteriore crescita viene ad essere impedita dalle dimensioni dei pori stessi dello scaffold. Il maggior problema rimane la penetrazione all'interno della matrice da parte di cellule mature.

Scaffold formati da biopolimeri di acido ialuronico

L'acido ialuronico, presente nella matrice extra-cellulare di molti tessuti, è un nuovo materiale impiegato nell'ingegneria tissutale, si assume sia di supporto al differenziamento, quindi stimolante la riparazione tissutale (25). Il diametro dei pori in questo scaffold varia dai 50 ai 340µm. Comparando i diversi scaffold di acido ialuronico, il tipo spugnoso è risultato essere superiore in termini di peso, omogenea distribuzione dei precursori cellulari e massa di tessuto adiposo differenziato. Le principali ragioni del miglioramento dei

risultati sono la larghezza dei pori di interconnessione (120µm) e la resistenza al rigonfiamento, permettendo così di formare tessuto adiposo tra le 3 e 8 settimane (26). In alcuni trials sono state testate spugne di collagene con pori di una sola dimensione, 400µm, *in vivo* in topi immunizzati (27), dopo aver mostrato buoni risultati negli esami *in vitro* (28). Studi precedenti con spugne di collagene con pori di diametro compreso tra 65 e 100µm hanno mostrato un'elevata perdita di peso, maggiore del 50%, e un aumento di spessore maggiore del 25%, tra l'impianto e l'espanto. Al contrario, il scaffold costruito con pori di 400µm ha mostrato migliori risultati in termini di vascolarizzazione, diffusione cellulare e proliferazione, così come stabilità della struttura. È stata dimostrata *in vivo* la presenza di vasi strettamente connessi in tutti i piani della spugna dopo 12 settimane. I progenitori adipocitari non solo inducono la formazione di vasi ma hanno un ruolo positivo sulla stabilità della struttura. Le cellule staminali andando ad occupare tutti i siti nella matrice di acido ialuronico garantiscono la stabilità e lo spessore dell'innesto, che altrimenti sarebbe compresso e soggetto ad una maggiore degradazione (27). Nonostante ciò, il tessuto neoformato non è totalmente costituito da adipociti maturi. Una possibile spiegazione risiede nel fatto che il diametro di 400µm sia troppo elevato per favorire un adeguato stimolo per le cellule staminali a seguire il differenziamento adipocitario poiché l'inibizione da contatto rappresenta lo stimolo chiave per le cellule staminali per avviare il differenziamento (29,30) e ciò non può essere garantito da pori così grandi. Una soluzione per ottenere lo stimolo necessario potrebbe essere o l'aumento del numero di cellule impiantate nella spugna o la sintesi di una struttura 3D ove il diametro dei pori vari tra i 100 e i 400µm. Questa variabilità di dimensioni può essere promettente dal momento in cui le iniziali spugne di acido ialuronico, con dimensione dei pori che variavano dai 50 ai 340µm, mostravano un sostanziale differenziamento, anche se soltanto nelle porzioni più periferiche dello scaffold. Nel complesso, i risultati sugli scaffold di acido ialuronico rivelano che la formazione di tessuto adiposo è fortemente correlata con le dimensioni

dei pori (26,27). Le spugne con acido ialuronico con pori di 50-340µm hanno una maggiore penetrazione delle spugne di collagene (26) ma continuano comunque a soffrire di una insufficiente penetrazione dello scaffold. I pori di dimensioni uniche di 400µm di diametro favoriscono una migliore penetrazione ma prevenendo la conversione di cellule staminali in cellule adipose (27).

Scaffold di acido poli (lattico-co-glicolico) (PLGA) e acido poliglicolico (PGA)

Risultati incoraggianti sono stati raggiunti anche utilizzando le ASCs con supporti sintetici. Patrick e colleghi hanno impiantato cellule staminali di tessuto adiposo isolate dall'epididimo di ratti di Lewis su dischi di PLGA (31). Come negli studi precedenti, hanno riscontrato adipociti maturi e nevasi all'interno degli impianti. Comunque, sebbene il tessuto adiposo si sia formato in un breve periodo (dalle 2 alle 5 settimane) con un picco a 2 mesi, sia il volume di massa grassa che lo scaffold sono stati completamente riassorbiti tra i 5-12 mesi dopo l'impianto (32,33). Perciò la vitalità dell'innesto ingegnerizzato potrebbe soffrire delle stesse difficoltà osservate clinicamente negli innesti liberi di adipe. Un più recente studio ha indagato la combinazione di un supporto sintetico con un complesso naturale matrice-cellule staminali (34), una struttura ovale-

re di PLGA all'interno della quale sono state iniettate cellule staminali sospese in una matrice di fibrina è stata posizionata in una tasca sottocutanea di topi atimici. Come risultato di questo studio, si è dimostrata la stabilità del tessuto adiposo formato all'interno del supporto di PLGA per un periodo di 6 settimane. Al contrario del PLGA, il PGA non ha permesso uno spontaneo differenziamento delle cellule staminali impiantate. Da qui, Fischbach e colleghi hanno coltivato cellule 3T3-L1 (mouse embryonic fibroblast-adipose like cell line) in scaffold 3D di PGA, inducendone il differenziamento *in vitro* per 35 giorni prima dell'impianto *in vivo*. Hanno trovato un migliore diffusione delle cellule nello scaffold. Dopo 3 settimane *in vivo*, le cellule predifferenziate sono state sostituite interamente da cellule adipose mature con una uniforme estensione e l'infiltrazione di piccoli vasi sanguigni. Al contrario né gli scaffold vuoti né i costrutti di cellule indifferenziate hanno prodotto tessuto adiposo (35).

Matrici di idrogel e microsferi

Colla di fibrina e matrigel™

A differenza degli scaffolds di biopolimeri, le matrici biologiche di idrogel, come la fibrina ed il Matrigel™, hanno una minima rigidità strutturale e quindi una facile deformità. Comunque diverse matrici di idrogel sono utilizzabili per

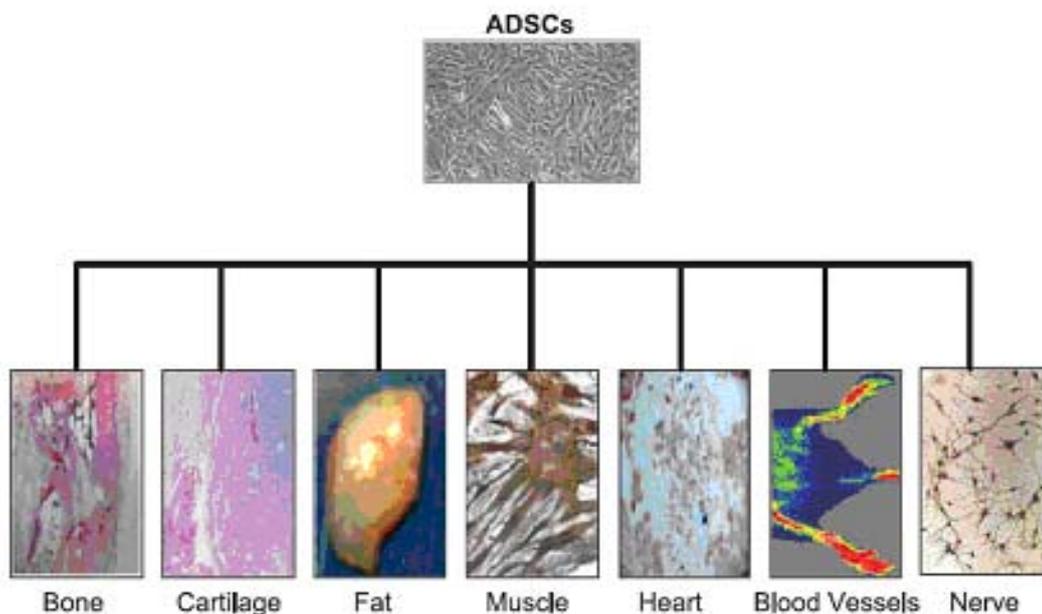


Fig. 4: Cellule Staminali derivanti da tessuto adipose (ASCs) sono multipotenti e si trasformano lungo le tradizionali linee mesenchimali.

l'ingegnerizzazione del tessuto adiposo. La colla di fibrina usata da sola, senza il supporto di una matrice carrier, ha dimostrato buoni risultati a lungo termine da quando i preadipociti precoci sono stati impiantati nella colla di fibrina ed è stato notato una notevole stabilità di volume fino ad un anno postimpianto. Scholler and Wechselberger hanno creato una capsula intramuscolare utilizzando un tubo di silicone in un modello di ratto (36,37). Monitorando la formazione della capsula e rimuovendo il tubo sono stati impiantati, all'interno del lume creatosi, preadipociti autologhi sospesi nella colla di fibrina. In 4 settimane è stata osservata la formazione di un tessuto adiposo ben organizzato, che ha mantenuto il suo volume e l'architettura istologica per la durata di un anno. Rimane poco chiaro, comunque, se questa capacità era dovuta all'iniziale supporto nutritivo della fibrina prima della formazione della capsula o al sito di impianto, al muscolo scheletrico, con la sua abbondante vascolarizzazione (36). Il Matrigel™ si è dimostrato essere un ottimo substrato per l'angiogenesi, così come per la proliferazione dei preadipociti e il loro differenziamento, sia *in vitro* che *in vivo* (38). Questo idrogel si caratterizza per essere costituito in larga parte da laminina, collagene-IV, entactina e perlecan. *In vivo* l'aggiunta di FGF-2 (*Fibroblast Growth Factor*) al Matrigel™ induce la neovascolarizzazione e il reclutamento di preadipociti endogeni, che migrano nella matrice e si differenziano. Kawaguchi e colleghi hanno iniettato Matrigel™ supplementato da 1ng/ml di FGF-2 per via sottocutanea in un topo di 6 settimane. La neovascolarizzazione indotta nella prima settimana è stata seguita dalla migrazione di precursori adipocitari endogeni ed è stata osservata la formazione di una massa adiposa. Tale massa è cresciuta fino a 3 settimane dopo l'iniezione ed è persistita fino a 10 settimane. Un totale di 1ng/ml di FGF-2 è stato sufficiente ad indurre l'adipogenesi nel Matrigel™ e la massima risposta si è osservata a 1µg/ml. L'adipogenesi *de novo* potrebbe essere riprodotta iniettando Matrigel™ supplementato con FGF-2 nella regione addominale, nella cartilagine auricolare, nel muscolo e nella testa (38). Questi risultati hanno portato alla conclusione che vi sia un'abbondante popolazio-

ne di precursori adipocitari distribuiti nel tessuto connettivo del corpo dell'adulto che possono migrare nella massa neovascolarizzata di Matrigel per proliferare e maturare.

Cassell ed altri hanno ovviato alla limitata integrità strutturale della matrice di idrogel, come il Matrigel™, includendolo con un appropriato peduncolo vascolare in una camera rigida (39). Le camere sono generalmente composte di polycarbonato o di silicone, ma Cho e colleghi hanno prodotto recentemente un costrutto adiposo immerso in una matrice di fibrina protetta da un rivestimento di PGA bioassorbibile non reticolato (34). Hanno prodotto una matrice di fibre di PGA rinforzata con acido poly-L-lattico (PLLA) e posizionato il costrutto in una tasca sottocutanea di topi atimici e quindi iniettato preadipociti umani, sospesi in una matrice di fibrina arricchita di FGF-2, nella porzione al di sotto della struttura di supporto. Il rivestimento delle fibre di PGA con PLLA è stato rivolto ad aumentare la resistenza alle forze di compressione del carrier e consentire una lenta biodegradazione del polimero, evitando la rapida perdita dell'integrità strutturale *in vivo*. La matrice di fibrina da sola ha mostrato ben poche proprietà meccaniche e non oppone un'adeguata resistenza alle forze di compressione poiché non consente la stabilità necessaria alla formazione di una massa adiposa. Al contrario, la matrice di PGA fornisce una stabilità meccanica, allo spazio rivestito, che consente una generazione di tessuto adiposo ottimale. Sebbene la stabilità vada decrescendo nel tempo, il tessuto di nuova formazione potrebbe compensare la riduzione delle proprietà meccaniche dello scaffold. Il volume maggiore di tessuto adiposo è stato trovato nella colla di fibrina arricchita di FGF-2 combinata con preadipociti umani supportata dalla struttura di PGA. Come mostrato dall'immunoistochimica, questo tessuto adiposo deriva per la maggior parte dai preadipociti umani impiantati. Comunque, sebbene con minore estensione, anche la colla di fibrina con l'FGF-2 e il PGA, ma senza i preadipociti umani, ha supportato la formazione di tessuto adiposo. Si è dedotto che questo tessuto sia stato generato dalla migrazione dei preadipociti autologhe dal tessuto sottocutaneo sottostante all'impianto, un

processo dimostrato prima da altri ricercatori (39).

La colla di fibrina è certamente una promettente matrice di idrogel nell'ingegnerizzazione del tessuto adiposo. L'opportunità di eliminare i rischi connessi ad una reazione da corpo estraneo è data dalla possibilità di produrla direttamente dal sangue del paziente, consentendone un promettente utilizzo clinico (40). Al contrario l'uso del Matrigel™, sebbene sia un efficiente matrice nell'ingegnerizzazione del tessuto adiposo, è limitato alle sole indagini sperimentali causa la sua origine da cellule di sarcoma murino. Di conseguenza vi è la necessità di sintetizzare matrici alternative che racchiudino le proprietà del Matrigel™, testarle su altre specie ed infine utilizzarle nell'uomo.

Idrogel di acido ialuronico (Hyal)

Sono ben note le proprietà angiogeniche dei derivati dell'acido ialuronico. Il maggior ostacolo è che esso, così come si trova in natura, è un fluido viscoso con limitate proprietà ritentive. Recentemente, due forme di gel con diversi gradi di amidazione sono state testate in un modello suino, entrambe innestate con e senza cellule staminali autologhe di tessuto adiposo (41). I gel sono stati iniettati nel sottocute delle orecchie dei suini ed espianate dopo 6 settimane per analisi istologiche.

Entrambi i tipi di campioni contenenti le cellule hanno mostrato un leggero effetto volume con una stabilità limitata dopo 6 settimane. Nei gel controlli non è stato identificato nulla al momento dell'espianato. L'esame istologico dei campioni positivi ha rivelato la presenza di isole di adipociti maturi e vasi integrati nel tessuto adiposo circondato dal gel. I saggi istologici dimostrano che i gel di acido ialuronico sono efficienti nel generare tessuto ed incoraggiano ulteriori esperimenti del materiale in trial clinici.

Microsfere di acido poli (lattico-glicolico)

Nell'ingegneria tissutale, spesso sono richiesti fattori di crescita per promuovere la proliferazione e il differenziamento e indurre l'angiogenesi per sopperire alle esigenze di ossigeno e nutrienti delle cellule trapiantate. Comunque *in vivo* i

fattori di crescita hanno una bassa stabilità che molto spesso non garantisce l'effetto biologico richiesto, da qui la necessità di un "drug delivery sistem" che controlli il rilascio e prolunghi la degradazione. Uno di questi supporti di rilascio prolungato di fattori di crescita sono le microsfere anche chiamate "microbeads". Esse possono essere utilizzate per somministrare fattori di crescita in quantità controllate per lunghi periodi di tempo, con range di giorni o mesi. I fattori possono essere rilasciati dalle microsfere grazie alla lisciviazione del farmaco applicato al polimero o alla degradazione della matrice delle microsfere. Fin tanto che il rilascio è controllato da questi due fattori, le proprietà chimico-fisiche del mezzo definiscono la cinetica di rilascio. Le microsfere utilizzate nel contesto dell'ingegnerizzazione del tessuto adiposo sono formate da PLGA, destrano, poli (etilene glicolico) (PEG) e collagene.

Nel 1992 Eppley e colleghi, nel tentativo di migliorare la procedura di trapianto autologo di adipe, notarono un'umentata stabilità del tessuto adiposo indotta dall'attivazione di microsfere (42). All'innesto di adipe aggiunsero sia FGF-2 da solo che coniugato a microsfere di destrano. Dopo 6 mesi, gli innesti contenenti le microsfere evidenziarono un quasi completo mantenimento del peso ed una forma complessivamente migliore, laddove l'innesto di grasso con FGF-2 non incapsulato mostrò una significativa perdita di peso.

Uno studio di Cho e colleghi suggerisce che le MSCs possano essere impiantate e poste in coltura su microsfere iniettabili di PLGA per generare tessuto adiposo (43). Essi hanno utilizzato, a tal fine, MSCs derivate dal midollo osseo di coniglio coniugate ad una proteina fluorescente, quindi hanno comparato il potenziale adipogenico delle MSCs primarie rispetto a MSCs indirizzate verso la linea adipogenica. Le cellule impiantate nel PLGA sono state iniettate in topi immunizzati per 2 settimane. Dopo l'espianato la formazione di tessuto adiposo è stata osservata solo nel gruppo dei preadipociti. Le MSCs non differenziate non si avviarono verso il differenziamento ma verso l'apoptosi.

Le questioni più rilevanti da affrontare nell'ambito della tecnologia della rigenerazione tissutale sono:

1. come accelerare la formazione di tessuto adiposo

2. come rigenerare una massa di tessuto delle dimensioni adeguate alle esigenze dei difetti dei tessuti molli da riparare.

Una possibilità per ridurre i tempi di rigenerazione tissutale è concertare l'adipogenesi e la vasculogenesi, quindi guidare il graduale rilascio di fattori di crescita angiogenetici (FGF-2) nelle fasi iniziali postimpianto, seguito dal rilascio di fattori adipogenici. Masuda e colleghi hanno elaborato questo concetto combinando i due eventi biologici in maniera sequenziale. Per far ciò hanno associato una cinetica lenta ed una rapida di rilascio di fattori di crescita immobilizzati in microsferi di gelatina (44). Il risultato a cui sono giunti è l'induzione della neoangiogenesi a seguito del rapido rilascio del fattore angiogenetico FGF-2, seguito dalla successiva proliferazione e differenziazione di preadipociti in adipociti, indotti dal prolungato rilascio dei fattori adipogenici insulina e IGF-1 (fattore di crescita insulino simile 1).

Le microsferi cariche dei fattori di crescita sono state iniettate nel sottocute di ratti e hanno indotto la formazione di clusters di adipociti. La quantità di trigliceridi contenuta nel sito di iniezione del gruppo che ha ricevuto la combinazione di fattori FGF-2, insulina e IGF-1, immobilizzati sulle microsferi, era significativamente più elevata rispetto al gruppo che ha ricevuto il pool di fattori incompleti.

In conclusione, sistemi di trasporto di molecole bioattive in microsferi possono permettere la manipolazione dei profili dei fattori di crescita angiogenetici e adipogenici e l'utilizzazione di matrici di idrogel selezionati per le loro proprietà di adesione cellulare.

Rigenerazione 3D di tessuto vascolare

La rigenerazione di tessuto vascolare ha grandi potenzialità nella clinica medica. Per un'appropriata rigenerazione tridimensionale di tessuto, che dia la possibilità di modellarne forma e dimensioni, è richiesta la presenza sia di segnali di crescita che di vascolarizzazione. La vascolarizzazione è richiesta poiché il tessuto necessita di un abbonante flusso sanguigno che ne supporti l'espansione; questo, in parte, poiché le cellule ed il tessuto richiedono ossigeno e nutrienti

per sopravvivere, in parte perché la vascolarizzazione previene la decomposizione o il riassorbimento delle cellule e del tessuto stessi. La necessità di un supporto vascolare può essere facilmente compresa osservando il grande successo che hanno gli innesti d'osso vascolarizzati rispetto agli innesti d'osso non vascolarizzati (45). Una volta che il flusso sanguigno viene ad essere interrotto, mentre una porzione piccola di tessuto può sopravvivere per alcuni giorni, grazie ai fluidi extracellulari (fin tanto che una rete di capillari ne supporta le necessità metaboliche), la maggiore porzione del tessuto, che non può sopravvivere senza grandi vasi sanguigni, si avvia inesorabilmente verso la necrosi cellulare. Nel campo della chirurgia ricostruttiva tessuti di grandi dimensioni possono essere prelevati, assieme ad un sistema vascolare, da una parte del corpo, sito donatore, quindi impiantati in un altro parte, sito ricevente, con una anastomosi dei vasi. Questa tecnica è chiamata "trasferimento di lembo libero" (46). Dal momento in cui aumenta la morbilità del sito donatore, la scelta migliore è quella di rigenerare i vasi lì ove sono necessari. Diversi sono gli studi nei quali si è cercato di ricreare strutture vascolari 3D dalle cellule endoteliali. L'ingegneria vascolare è iniziata quando si è osservata l'epitelizzazione delle protesi vascolari. Nel 1982, Belden et al. (47) hanno riportato l'impianto di cellule endoteliali in un innesto vascolare artificiale di piccolo diametro. Nel loro studio, cellule endoteliali autologhe sono state trovate in un innesto double velour Dacron impiantati nella arteria carotide di cane. Inoltre, evidenziarono che l'impianto di tali cellule aumentava le performance dell'innesto, come mostrato dall'aumento della pervietà, dall'assenza di trombi, dalla copertura endoteliale e dallo spessore della capsula interna. Sono seguiti gli studi clinici di Herring del 1987, che mostrarono l'impianto di cellule endoteliali in un bypass popliteo con un innesto di polytetrafluoroetilene (PTFE) (48). Tale innesto era stato impiantato con cellule endoteliali autologhe, prelevate grazie ad una digestione enzimatica, prima dell'innesto. Nei pochi pazienti che ricevettero tale innesto si notò un aumento della pervietà rispetto ai pazienti senza il costruito innesto-cellule endoteliali.

E' del 2006 il primo lavoro che riporta l'utilizzo di un tessuto vascolare ingegnerizzato esclusivamente mediante l'utilizzo di cellule umane, senza il ricorso di alcun biomateriale sintetico o esogeno. L'Hereux e al. (49) hanno effettuato un esperimento della durata di 8 mesi su un modello canino dimostrando che i vasi riprodotti *in vitro* erano gestibili e con buone caratteristiche di saturabilità.

Questi progetti sono veramente promettenti, comunque ulteriori studi sulla maturazione della neovascolarizzazione, sullo sviluppo di biomateriali operativi e sulla possibilità di utilizzare cellule staminali saranno richiesti prima che queste tecniche vengano utilizzate nella pratica clinica.

Conclusioni

Dalla loro scoperta le cellule staminali hanno subito palesato l'inizio di una grande evoluzione nell'ambito della ricerca e della terapia clinica.

Nuove sono state le prospettive di lavoro nei diversi campi del sapere scientifico e tra questi si è potuta riformulare l'idea di medicina rigenerativa in chirurgia plastica ed in traumatologia le quali, dagli albori della loro nascita, nel corso del secolo della chirurgia, hanno arricchito ed affinato le soluzioni per un sempre maggiore impiego terapeutico. La parallela innovazione tecnologica nel campo della biochimica e della biotecnologia hanno dato il via ad un nuovo campo d'indagine: l'ingegneria tissutale. Essa è un approccio emergente che promette di sviluppare sostituti autologhi da utilizzare come alternativa alle correnti tecniche di trapianto di adipe per la riparazione a lungo termine dei difetti dei tessuti molli. Cellule staminali, fattori di crescita, citochine e scaffold biocompatibili vengono impiegati al fine di rigenerare *ex novo* sostituti biologici atti a ricostruire le strutture danneggiate. Gimble et al. (50) hanno suggerito i criteri che le cellule staminali dovrebbe avere per l'applicazione nella medicina rigenerativa:

1. Essere disponibili in abbondanti quantità (da milioni a bilioni di cellule)
2. Poter essere prelevate con procedure minimamente invasive
3. Poter differenziare verso linee diverse in maniera regolata e riproducibile.
4. Poter essere trapiantate con procedure

sicure ed efficaci.

5. Poter essere manipolate secondo le correnti guide linea delle Norme di Buona Fabbricazione.

La più grande ghiandola endocrina del nostro organismo, il tessuto adiposo, risponde appieno a tutti i suddetti criteri. L'ubiquitariet  della risorsa, la facile accessibilit , il gran numero di cellule in essa contenute, le loro potenzialit  rendono le *Adipose-derived Stem Cells* (ASCs) pi  di un sostituto alle gi  note cellule staminali del midollo osseo.

Il limite delle cellule staminali midollari si ritrova nella scarsa quantit  di cellule nel prelievo, dal rischio di morbosit  del paziente e dall'elevato costo di espansione delle cellule. Tutte queste limitazioni possono essere, come ampiamente dimostrato, superate dalle cellule staminali derivanti da tessuto adiposo adulto e ci  ha suscitato un enorme interesse da parte di tutto il mondo scientifico (51,52).

Oggi le ASCs sono adoperate per migliorare, a lungo termine, il trasferimento di tessuto adiposo (53). Un'iniezione di adipe con ASCs, isolate mediante lipoaspirazione, denominato, *Cell-Assisted Lipotransfer* (CAL), pu  essere un'alternativa all'utilizzo di protesi artificiali per la mastoplastica additiva. Il potenziale terapeutico delle ASCs nella cicatrizzazione pu  essere utilizzato per il trattamento delle ulcere croniche causate dalla terapia radiante. Confidiamo che molte altre, in un futuro prossimo, saranno le applicazioni delle ASCs.

Bibliografia

1. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW: Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7:211-221.
2. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Uguarte DA, Huang JI : Human adipose tissue as a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13:4279-4295.
3. De Francesco F, Tirino V, Desiderio V, Ferraro G, D'Andrea F, Giuliano M, Libondi G, Pirozzi G, De Rosa A, Papaccio G: Human CD34/CD90 ASCs are capable of growing as sphere clusters, producing high levels of VEGF and forming capillaries. *PLoS One* 2009 Aug 6;4:e6537.
4. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J: Autologous stem

- cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarian defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg* 2004; 32:370-373.
5. Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD: Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr.* 1994; 14:99-129.
 6. Strawford A, Antelo F, Christiansen M, Hellerstein MK: Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in human measured with $^2\text{H}_2\text{O}$. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 286:E577-E588.
 7. Cone RD: The central melanocortin system and energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 1999;10:211-216.
 8. Faust IM, Johnson PR, Hirsch J: Adipose tissue regeneration following lipectomy. *Science.* 1977;197:391-393.
 9. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, Fraser JH, Hedrick MH: Multipotential differentiation of adipose tissue-derived. *Keio J. Med.* 2005; 54:132-141.
 10. Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, Robey PG: Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol.* 2001; 189:54-63.
 11. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M: Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs* 2003; 174:101-109.
 12. Tse WT, Pendleton GD, Beyer WM, Eglka MC, Guinan EC: Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation* 2003; 75:389-397.
 13. De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk PA, Elbarbary A, Zhu M: Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett.* 2003; 89:267-270.
 14. Halbleib M, Skurk T, de Luca C, von Heimburg D, Hauner H: Tissue engineering of white adipose tissue using hyaluronic acid-based scaffolds. I: *In vitro* differentiation of human adipocyte precursor cells on scaffolds. *Biomaterials* 2003; 24:3125-3132.
 15. Fukumura D, Ushiyama A, Duda DG, Xu L, Tam J, Krishna V, Chatterjee K, Garkavtsev I, Jain RK: Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during *in vivo* adipogenesis. *Circ Res.* 2003; 93:88-97.
 16. Hutley LJ, Herington AC, Shurety W, Cheung C, Vesey DA, Cameron DP, Prins JB: Human adipose tissue endothelial cells promotes adipocyte proliferation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 281:1037-1044.
 17. Rehaman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Consideine RV, March KL: Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004; 109:1292-1298.
 18. Neels JG, Thinnen T, Loskutoff DJ: Angiogenesis in an *in vivo* model of adipose tissue development. *Faseb.J.* 2005; 18:983-985.
 19. Li S, Archibald SJ, Krarup C, Madison R: Semipemeable collagen nerve conduits for peripheral nerve regeneration. *Polymeric Mater Sci Eng.* 1990; 62:575-582.
 20. Silver Fh, Pins G. Cell growth on collagen: a review of tissue engineering using scaffolds containing extracellular matrix. *J Bone Joint Surg Am.* 1997; 79:1770-1777.
 21. Freed L, Vunjak-Novakovic G, Biron RJ, Eagles DB, Lesnoy DC, Barlow SK, Langer R: Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Biotechnology* 1995; 12:689-693.
 22. Heschel I, Luckge C, Rodder M, Garberding C, Rau G, Kittel P: Possible application of directional solidification techniques in cryobiology. In: *Advances of Cryogenic Engineering.* Kittel P (Ed.). Plenum Press, NY, USA, 13-19 1996.
 23. Kuberka M, von Heimburg D, Schoof H, Heschel I, Rau G: Magnification of the pore size in biodegradable collagen sponges. *Int J Artif Organs* 2002; 25:67-73.
 24. von Heimburg D, Zazhaiah S, Heschel I: Human preadypocyte seeded on freeze-dried collagen scaffolds investigated *in vitro* and *in vivo*. *Biomaterials* 2001; 22:429-438.
 25. Solchaga LA, Dennis JE, Goldberg VM, Caplan AI: Hyaluronic acid-based polymers as cell carriers for tissue-engineered repair of bone and cartilage. *J Orthop Res.* 1999; 17:205-213.
 26. Von Heimburg D, Zachariah S, Low A, Pallau N: Influence of different biodegradable carriers on the *in vivo* behaviour of human adipose precursor cells. *Plast*

- Reconstr Surg. 1990; 62:575-582.
27. Hemmrich K, von Heimburg D, Rendchen R, Di Bartolo C, Milella E, Pallau N: Implantation of preadipocyte-loaded hyaluronic acid-based scaffolds into nude mice to evaluate potential for soft tissue engineering. *Biomaterials* 2005; 26:7024-7034.
28. Milella E, Brescia E, Massaro C, Ramires PA, Miglietta MR, Fiori V, Aversa P: Physico-chemical properties and degradability of non woven hyaluronan benzylic esters as tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 2002; 23:1053-1063.
29. Smas CM, Sul HS: Control of adipocyte differentiation. *Biochem J.* 1995; 309:697-710.
30. Gregorie FM: Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med.* 2001; 2256:997-1002.
31. Patrick C, Chauvin PE, Hobley J, Reece GP: Preadipocyte seeded PLGA scaffolds for adipose tissue engineering. *Tissue Eng.* 1999; 5:139-151.
32. Patrick CW Jr, Zheng B, Johnston C, Reece GP: Long-term implantation of preadipocyte-seeded PLGA scaffolds. *Tissue Eng.* 2002; 8:283-293.
33. Patrick CW Jr: Tissue engineering strategies for adipose tissue repair. *Anat Rec.* 2001; 263:361-366.
34. Cho SW, Kim SS, Rhie JW, Cho HM, Choi CY, Kim BS: Engineerign of volume-stable adipose tissue . *Biomaterials* 2005; 26:3577-3585.
35. Fischbach C, Spruss T, Weiser B, Neubauer M, Becker C, Hacker M, Gopferik A, Blunk T: Generation of mature fat pads in vitro and in vivo utilizing 3-D long-term culture of 3T3-L1 preadipocytes. *Exp Cell Res.* 2004; 300:54-64.
36. Schoeller T, Lille S, Wechselberger G, Otto A, Mowlavi A, Piza-Katzer H: Histomorphologic and volumetric analysis of implanted autologous preadipocyte culteres suspended in fibrin glue: a potential new source of tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg.* 2001; 25:57-63.
37. Wechselberger G, Russel RC, Neumeister MW, Schoeller T, Piza-Katzer H, Rainer C: Successful transplantation of three-engineered cell types using capsule induction technique and fibrin glue as a delivery vehicle. *Plast Reconstr Surg.* 2002; 110:123-129.
38. Kawaguchi N, Toriyama K, Nicodemou-Lena E, Iou K, Torii S, Kitagawa Y: De novo adipogenesis in mice at the site of injection of basement membrane and basic fibroblast growth factor. *Proc Nat Acad Sci.* 1998; 95:1062-1066.
39. Cronin KJ, Messina A, Knight KR, Cooper-White JJ, Stevens GW, Penington AJ, Morrison WA: New murine model of spontaneous autologous tissue engineering combining an arteriovenous pedicle with matrix materials. *Plast Reconstr Surg.* 2004; 113:260-269.
40. Ye Q, Zund G, Benedikt P, Jockenhovel S, Hoerstrup SP, Sakyama S, Hubbel JA, Turina M: Fibrin gel as a three dimensional matrix in cardiovascular tissue engineering. *Eur J Cardiothoracic Surg.* 2000; 17:587-591.
41. Hemmrich K, Vam de Sijpe K, Rhodes N, Hunt JA, Di Bartolo C, Pallua N, Blondeel P, von Heimburg P: Autologous in vivo adipose tissue engineering in hyaluronan-based biomaterials. *Int. J. Adipose Tissue* 2007;
42. Eppley BL, Snyders RV Jr, Winkelmann T, Delfin JJ: Auologous facial fat transplantation: improved graft maintenance by microbead bioactivation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 50:477-482.
43. Choi YS, Park SN, Suh H: Adipose tissue engineering using mesenchymal stem cells attached to injectable PLGA spheres. *Biomaterials* 2005; 26:5855-5863.
44. Msud T, Furue M, Matsuda T: Photocured, styrenated gelatin-based microspheres for de novo adipogenesis trough corelease of basec fibroblast growth factor, insulin, and insulin-like growth factor I. *Tissue Eng.* 2004; 10:523-535.
45. Berggren A, Weiland AJ, Dorfman H: Free vascularized bone graft: factor affecting their survival and ability to heal to recient bone defect. *Plast Reconstr Surg.* 1982; 69:19-29.
46. Harii K, Ohmori K: Free groin flaps in children. *Plast. Reconstr. Surg.* 11975; 55:588-592.
47. Belden TA, Schmidt SP, Falkow LJ, Sharp WV: Endothelial cell seeding of small diameter vascular grafts. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1982; 28:173-177.
48. Herring MB, Compton RS, Le Grand DR, Gardner AL, Medison DL, Glover GL: Endothelial seeding of polytetrafluoroethylene popliteal bypasses. A preliminary report. *J Vasc Surg.* 1987; 6:114-118.
49. L'Heureux N, Dusserre N, Koning J,

- Keire P, Wight TN, Chronos NA, Kyles AE, Gregory CR, Hoyt G, Robbins RC, McAllister TN: Human tissue engineered blood vessels for adult arterial revascularization. *Nat Met.* 2006; 12:361-365.
50. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007; 100:1249-1260.
51. Hedrick MH, Daniels EJ: The use of adult stem cells in regenerative medicine. *Clin Plast Surg.* 2003; 30:499.
52. Strem B, Hedrick MH: The growing importance of fat in regenerative medicine. *Trends Biotechnol.* 2005; 23:64.
53. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shiguera T, Sato T, Aiba-Kojima E, Iizuka F, Inoue K, Suga H, Yoshimura K: Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 2006; 12:3375-3382.

REGENERATIVE MEDICINE: ADIPOSE TISSUE ENGINEERING FOR PLASTIC SURGERY AND RECONSTRUCTIVE ORTHOPAEDICS APPLICATIONS

Tissue engineering and regenerative medicine are multidisciplinary sciences which evolved in parallel with the recent biotechnology progresses. They combine biomaterials, growth factors and stem cells to repair organs and loss of tissues. Adipose tissue engineering is an emergent approach that may be able to develop autologous substitutes as an alternative to the current technique of fat transplantation for the repair of soft tissues defects. Human adult adipose tissue represents an abundant source of mesenchymal stem cells (MSCs). Moreover, it is an ideal source of stem cells for its abundant reparability easy access facility to harvest.

Key words: Adult stem cells, regenerative medicine, adipose tissue engineering, scaffold

CAPSULA EBURNEA, 5(13):70-82, 2010
