



# Kroppsegen transplantation av fett kan minska strålinducerad fibros hos bröstcancerpatienter

En ny studie ger visst biologiskt stöd för att kroppsegen fettransplantation är en kirurgisk metod som kan minska strålinducerad fibros hos patienter med genomgången bröstcancer. Det skriver specialistläkaren **Anna Lindgren** vid Södersjukhuset i en gedigen genomgång av forskningsfältets olika delar. Studien publicerades nyligen i *British Journal of Surgery*.



**A**utolog fettransplantation (AFT), transplantation av fett från en del av kroppen till en annan på samma patient, är en metod som inom bröstrekonstruktionskirurgin oftast används för att förbättra resultatet efter bröstoperationer och strålning. I dagsläget i Sverige är det huvudsakliga ändamålet med AFT till bröst att jämna ut oregelbundenheter, justera volymasymmetri, släta ut rynkningar över bröstproteser och mjuka upp hård ärrvävnad.



I andra länder har man gjort lyckade försök med bröstrekonstruktion enbart med AFT.

Fettransplantationer har använts sedan slutet av 1800-talet då den tyske kirurgen Gustav Adolf Neuber (grundare av det första aseptiska sjukhuset) transplanterade fettvävnad till orbita för att behandla osteomyelit. Många försök har därefter gjorts, men med dåliga och oförutsägbara resultat på grund av absorption av fett och fibrosbildning. Under 1980-talet utvecklades en teknik där fettvävnad skördades genom fettsugning. Resultaten blev då bättre, men absorption var fortfarande ett betydande problem. Sidney R. Coleman beskrev på 1990-talet en teknik med vilken fettcellerna bevarades bättre genom skörd under lågt negativt tryck, preparering av aspiratet genom centrifugering för att avlägsna olja och blod samt injektion av fettcellerna i flera

lager och i fina kanaler för att förbättra diffusion av näringsämnen till transplantatet. Denna teknik är fortfarande den dominerande även om modifieringar har gjorts.

### **Det är välkänt att strålbehandling har en negativ inverkan på resultatet efter bröstkirurgi och bröstrekonstruktioner.”**

#### **FETTSUGNING MED ”VÅT” TEKNIK**

Numera skördas fettcellerna oftast med ”våt” teknik genom fettasugning på till exempel buk eller lår genom att först infiltrera det subkutana fettet med tumescent lösning (Ringier-Acetat/NaCl, lokalanestesimedel och adrenalin).

Fettet prepareras i operationssalen genom till exempel sköljning eller sedimentering, och injiceras sedan åter i fina kanaler i flera lager i det område som ska behandlas. Volymen fett som injiceras beror dels på behovet i mottagarområdet men också på den volym fett som kan skördas. En nackdel med metoden är att det inte går att förutse hur stor del av fett som resorberas och således inte heller det antal operationer som krävs för att uppnå ett gott resultat. Vanligtvis upprepas proceduren en till tre gånger med någon månads mellanrum. Vad ett gott resultat för AFT är, är i mångt och mycket subjektivt och i första hand relevant ur ett patientrapporterat utfallsperspektiv (PRO) eftersom metoden framför allt används för att förbättra resultatet efter indexoperationen. Forskningen inom PRO efter AFT är sparsam och av låg kvalitet. Några av utmaningarna i utförandet av studier med hög kvalitet inom AFT är att det inte finns någon naturlig jämförelsegrupp samt att det inte finns några validerade frågeformulär som är anpassade för att undersöka PRO för AFT. I en prospektiv fallserie har vi visat patientrapporterade förbättringar två år efter AFT av bland annat bröstets estetik, mjukhet och ärr. Men även smärta, vilja att visa sig naken för en partner, se sig själv naken, känsla av att känna sig sexuellt oattraktiv, möjlighet att hitta passande BH samt vilja att delta i fysiska aktiviteter i offentliga miljöer<sup>2</sup>. AFT är en metod med få svåra komplikationer. Komplikationsfrekvensen är 5–10 procent och 80–90 procent är av grad I enligt Clavien-Dindo-klassificering.

Fettnekros och oljecystor står troligen för över hälften av alla komplikationer. Hematom, förkalkningar och striae har också rapporterats. Mindre vanliga komplikationer är infektioner, serom och pneumothorax<sup>3</sup>. Det ökade behovet av radiologiska undersökningar efter AFT tycks ligga runt 20 procent. 13–18 procent av patienterna har postoperativa radiologiska förändringar. <5 procent av förändringarna behöver utredas vidare med biopsi. De vanligaste radiologiska fynden är cystor (10–30 procent), fettnekros (cirka 10 procent), förkalkningar (<10 procent), suspekta knölar (cir-

ka 5 procent) och cancerrecidiv (<5 procent)<sup>3,4</sup>. Det är inte ovanligt att patienter som genomgått AFT söker för knöl i bröstet i efterförloppet. I utredningen av dessa bör förstahandsvalet vara ultraljud. Det har visats, som för övrig befolkning, att ultraljud bäst identifierar cystor efter AFT<sup>3,4</sup>. Man har också kunnat visa att ultraljud är en tillförlitlig metod för att skilja mellan godartade och maligna förändringar efter AFT.

#### **MOTSTRIDIG EVIDENS**

Det har länge diskuterats huruvida AFT ökar risken för bröstcancerrecidiv. I experimentella studier i annan vävnad än bröst, har transplantation av mesenkymala stamceller (MSC) *in vivo* och *in vitro* undersökts och man har visat att MSC verkar främja tumörtillväxt och stimulera ett inflammatoriskt mikroklimat som är gynnsamt för tumörceller. Motsatt har andra studier visat att MSC hämmar tumörbildning och framkallar apoptos vid hud- och blodcancer. Evidensen är också motstridig i bröstvävnad. MSC och AFT har visat sig ha en immunosuppressiv effekt som möjliggör tumörtillväxt och metastaskapacitet i djurstudier och i *in vitro*-experiment<sup>5-8</sup>. Det har föreslagits att fettcellsderiverade MSC (AD-MS)C) främjar en inflammatorisk miljö som stimulerar tumörväxt men att MSC inte inducerar neoplas i frisk fettvävnad<sup>9</sup>. Det finns inga publicerade studier om effekten av MSC på tumörceller i strålad bröstvävnad men i en ny studie på möss stimulerade AFT inte tumörtillväxt och dessutom sågs det en minskning av tumörcellernas proliferationshastighet<sup>10</sup>. Recidivrisken har undersökts i ett litet antal kliniska studier med god kvalitet i vilka man inte har kunnat se någon ökad frekvens.

Genomgående för studierna är dock ett för litet antal patienter för att kunna dra några direkta slutsatser. 2018 gjordes en metaanalys av onkologisk säkerhet för AFT. Man undersökte incidens rate för lokoregionalt recidiv (LRR) och 59 studier och 4 292 patienter inkluderades. Genomsnittlig uppföljningstid var 5,7 år för AFT-patienter. En metaanalys av sju matchade kohorter visade en LRR incidens rate skillnad på -0,15 procent (95 % C.I. -0,36 - 0,07, p = 0,419) per år mellan fall och kontroller. Metaanalys av omatchade kohorter visade en signifikant incidens rate skillnad på -0,27 procent (95 % C.I. -0,43 - -0,11, p = 0,004) per år, vilket indikerar att AFT skyddar mot LRR. Det senare resultatet är förmodligen en effekt av suboptimal studiedesign med omatchade kontroller. Poolad data från fallserier och kohortstudier användes för att beräkna incidens rates för LRR. Den totala incidensen var 0,73 procent per år. Metaanalyser av subgrupper visade en årlig incidens rate på 0,79 procent för mastektomerade patienter, 0,57 procent för patienter som genomgått bröstbevarande kirurgi samt 0,83 procent för invasiva tumörer och 0,45 procent för *in situ* karcinom<sup>11</sup>. För några år sedan visade en forskningsgrupp att *in situ* karcinom hade förhöjd risk för LRR men i en ny förfinad studie kunde de dra slutsatsen att detta inte var fallet. Större studier av hög kvalitet är önskvärt för att bekräfta tidigare resultat. Sammanfattningsvis har det befarats att AFT kan främja bröstcancerrecidiv baserat på *in vitro*-studier på huvudsakligen andra vävnader. Klinisk forskning

har inte fullt ut kunnat motbevisa detta men aktuella data tyder på att AFT inte inducerar LRR.

#### FÖRBÄTTRAD HUDKVALITET

Det är välkänt att strålbehandling har en negativ inverkan på resultatet efter bröstkirurgi och bröstrekonstruktioner. Kronisk stråldermatit och strålinducerad fibros (RIF) ökar komplikationsfrekvensen, antalet havererade rekonstruktioner och försämrar det estetiska resultatet<sup>12</sup>. Patienter som har genomgått strålbehandling rapporterar sämre resultat och tillfredsställelse efter bröstrekonstruktion. Vidare behöver dessa patienter ofta fler AFT-procedurer med mindre fettvolymer för att uppnå önskat resultat. Inte långt efter att AFT började användas i bröstrekonstruktionssyfte såg man att de patienter som hade strålbehandlats inte bara fick effekt av fett som utfyllnad. Det visade sig att många patienter även fick förbättrad hudkvalitet i strålade områden efter AFT. Följaktligen började man studera om AFT kan användas för att behandla RIF och stråldermatit.

Strålskadorna uppstår ofta tidigt efter behandlingen, men kan komma långt senare och kvarstå i flera år. Det finns nu flera human- och djurstudier som visar en regenerativ effekt i den vävnad som behandlats med AFT<sup>13,14</sup>. Man har tydligt kunnat påvisa färre telangiektasier, minskad atrofi, ödem och fibros efter AFT till strålade och rekonstruerade bröst. Vidare har man kunnat minska smärta avsevärt och ökat livskvaliteten för mastektomerade och strålade kvinnor<sup>14</sup>. I en italiensk studie behandlades 20 kvinnor med LENT-SOMA (graderingsverktyg för strålskador) grad 3 (svåra symtom) eller grad 4 (irreversibel funktionell skada) med AFT, och de lyckades sänka LENT-SOMA-graden avsevärt. Fyra av patienterna med preoperativ grad 4 minskade till 0, vilket innebär att de blev botade<sup>15</sup>.

De biologiska mekanismerna som sker vid AFT till strålskadad vävnad har primärt undersökts i djurmodeller och är ofullständigt kartlagda. Då huvudorsakerna till RIF och stråldermatit tycks vara kronisk hypoxi och inflammation finns det skäl att tro att AD-MSC spelar en nyckelroll för de positiva effekterna av AFT som vi ser kliniskt. I djurstudier har man kunnat visa att humana AD-MSC kan utsöndra VGF (vascular endothelial growth factor) när de injiceras i möss, speciellt i en hypoxisk miljö. Vidare har AD-MSC-berikad AFT visats kunna ge en fullständig återhämtning av epidermis, tidigare lymfocytinfiltrering (tecken på läkning) och ökad vaskularisering vilket var helt frånvarande hos obehandlade<sup>15</sup>. Även AFT utan berikning har visats ge ökad mikrocirkulation samt minskad dermisförtjockning och kollagenmängd vilket leder till bättre hydrering och mindre fibros<sup>13,16</sup>. Det råder fortfarande en brist på kunskap på molekylär och genetisk nivå.

#### HYPOTESGENERERANDE STUDIE

Vi genomförde en humanstudie där strålningens inverkan på bröstfettvävnad och AFTs inverkan på strålad bröstfettvävnad undersöktes på genexpressionsnivå<sup>17</sup>. Vår hypotes var att strålskador i bröst kan orsakas av patologiska genuttrycksförändringar i subkutana fett och att AFT till området kan påverka genuttryck i vävnaden. Detta var, oss ve-

terligen, inte tidigare gjort och studien är i stor utsträckning hypotesgenererande. Trettio unilateralt strålbehandlade patienter inkluderades. Fettvävnadsbiopsier togs vid samma tidpunkt från både det strålbehandlade bröstet och det kontralaterala bröstet, det senare som intern kontroll. Proceduren upprepades med bilaterala biopsier ungefär ett år efter att patienterna genomgått AFT till det strålbehandlade bröstet. RNA från biopsierna extraherades och analyserades med microarray för att göra en global genuttrycksanalys för biopsierna. För att få så robusta resultat som möjligt exkluderades alla patienter med avsaknad av en eller flera biopsier alternativt otillräcklig RNA-kvalitet eller -kvantitet i en eller flera biopsier. Tio patienter och 40 biopsier kvarstod för slutlig analys.

Global genuttrycksanalys (global gene expression profiling) är en effektiv analys av vilka gener som uttrycks och uttrycksnivåer för tusentals gener samtidigt. För att identifiera relevanta biologiska signaleringsvägar som de uttryckta generna ingår i gjordes Gene Set Enrichment Analysis (GSEA). Genuppsättningar som är involverade i specifika signaleringsvägar har tidigare kategoriserats i stora databaser som sedan går att samköra med resultaten från en microarrayanalys, GESA.

I denna studie använde vi oss av databasen Molecular Signatures Database Hallmark Gene Set Collection. Resultaten från microarray analyserades i två steg. Analys I: effekten av strålning på bröstfettvävnad. Analys II: effekten av AFT på strålbehandlad bröstfettvävnad. I den första analysen jämfördes genuttryck i de strålade och icke-bestrålade preoperativa biopsiparen och skillnaden i uttryck (fold change) beräknades. Cirka 30 000 gener hade signifikant förändrat uttryck (var dysreglerade) jämfört med den icke-strålade kontrollsidan. De 3 000 mest dysreglerade gentranskripten valdes ut för GSEA-analys. Denna selektion gjordes för att skala bort irrelevanta, lågt signifikanta gener från analysen.

I den andra analysen utgick vi från de 3 000 gener som identifierats i analys I. Fold change beräknades återigen men nu för gentranskripten från de postoperativa biopsiparen. Vi jämförde fold change för de preoperativa och de postoperativa biopsiparen. Parat t-test användes och beräkningar gjordes för varje patient och gentranskript i syfte att detektera gener som signifikant påverkats av strålning och dysreglerats och därefter påverkats av AFT och normaliserats jämfört med kontrollsidan. De gener som var påverkade i båda stegen (hög eller låg preoperativ fold change jämfört med postoperativ fold change nära 1) analyseras vidare med GESA för att identifiera biologiska signaleringsvägar som är förknippade med en effekt orsakad av AFT. I den första analysen var genen för connective tissue growth factor (CTGF) bland de mest dysreglerade ( $p = 0,0003$ ). CTGF ingår i signaleringsvägen för epitelial-mesenkymal transition (EMT) som var den mest signifikanta av de 45 signaleringsvägarna som GESA genererade. Interferon gamma respons (IFN $\gamma$ ) var den näst mest strålpåverkade signaleringsvägen och längre ned på listan återfanns även hypoxi ( $p$ -värdet sträckte sig från  $1,29 \times 10^{-24}$  till  $0,023$  för 45 signaleringsvägar). I analys II fann vi att 575 (19 pro-

cent) av de 3 000 gentranskripten som undersöktes hade signifikant normaliserats i uttrycksnivå efter AFT (p-värdet sträckte sig från  $1,02 \times 10^{-4}$  till 0,013). CTGF återfanns bland de normaliserade gentranskripten ( $p = 0,004$ ). GESA av de 575 generna avslöjade 13 signifikanta signaleringsvägar. Den mest påverkade var IFN $\gamma$  ( $p = 1,02 \times 10^{-5}$ ) följt av hypoxi ( $p = 6,38 \times 10^{-5}$ ) och längre ner även EMT.

### **Patologin är oerhört komplex. Denna studie visar att dessa kroniska cell-signaleringsmönster kvarstår flera år efter att strålbehandlingen givits, men att mönstren kan brytas med AFT.**

#### **INTRESSANTA FYND**

Samtliga vägar som påverkats av AFT fanns också bland de 45 som påverkats av strålning. Fynden är intressanta då EMT, IFN $\gamma$  och hypoxi har en stark koppling till RIF. CTGF är involverad i fibrosutvecklingen bland annat genom fibroblastrekrytering och myofibroblastutveckling. Dessa celler deponerar stora mängder extracellulär matrix vilket leder till fibros. Efter strålning uppstår en kronisk inflammation som delvis styrs av IFN $\gamma$ . Den inflammatoriska miljön bidrar till hypoxi som vidmakthåller inflammationen. Inflammationen påverkar epitelceller att genomgå EMT och i slutändan bli fibroblaster. Patologin är oerhört komplex. Denna studie visar att dessa kroniska cell-signaleringsmönster kvarstår flera år efter att strålbehandlingen givits, men att mönstren kan brytas med AFT.

#### **REFERENSER**

1. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19(5):421-5. Epub 1995/09/01.
2. Lindegren A, Schultz I, Wickman M. Improved patient-reported outcomes after autologous fat transplantation and corrective surgery after breast surgery. *Journal of plastic surgery and hand surgery.* 2019;53(2):111-8. Epub 2019/01/18.
3. Groen JW, Negenborn VL, Twisk DJ, Rizopoulos D, Ket JC, Smit JM, et al. Autologous fat grafting in onco-plastic breast reconstruction: A systematic review on oncological and radiological safety, complications, volume retention and patient/surgeon satisfaction. *Journal of plastic reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS.* 2016;69(6):742-64. Epub 2016/04/18.
4. Claro F, Jr., Figueiredo JC, Zampar AG, Pinto-Neto AM. Applicability and safety of autologous fat for reconstruction of the breast. *The British journal of surgery.* 2012;99(6):768-80. Epub 2012/04/11.

5. Kamat P, Schweizer R, Kaenel P, Salemi S, Calcagni M, Giovanoli P, et al. Human Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells May Promote Breast Cancer Progression and Metastatic Spread. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2015;136(1):76-84. Epub 2015/06/26.
6. Ljujic B, Milovanovic M, Volarevic V, Murray B, Bugarski D, Przyborski S, et al. Human mesenchymal stem cells creating an immunosuppressive environment and promote breast cancer in mice. *Scientific reports.* 2013;3:2298. Epub 2013/07/31.
7. Martin-Padura I, Gregato G, Marighetti P, Mancuso P, Calleri A, Corsini C, et al. The white adipose tissue used in lipotransfer procedures is a rich reservoir of CD34+ progenitors able to promote cancer progression. *Cancer research.* 2012;72(1):325-34. Epub 2011/11/05.
8. Massa M, Gasparini S, Baldelli I, Scarabelli L, Santi P, Quarto R, et al. Interaction Between Breast Cancer Cells and Adipose Tissue Cells Derived from Fat Grafting. *Aesthetic surgery journal / the American Society for Aesthetic Plastic surgery.* 2016;36(3):358-63. Epub 2015/10/27.
9. Eterno V, Zambelli A, Pavesi L, Villani L, Zanini V, Petrolo G, et al. Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells (ASCs) may favour breast cancer recurrence via HGF/c-Met signaling. *Oncotarget.* 2014;5(3):613-33. Epub 2013/12/12.
10. Tsuji W, Valentin JE, Marra KG, Donnenberg AD, Donnenberg VS, Rubin JP. An Animal Model of Local Breast Cancer Recurrence in the Setting of Autologous Fat Grafting for Breast Reconstruction. *Stem cells translational medicine.* 2018;7(1):125-34. Epub 2017/12/29.
11. Krastev TK, Schop SJ, Hommes J, Piatkowski AA, Heuts EM, van der Hulst R. Meta-analysis of the oncological safety of autologous fat transfer after breast cancer. *The British journal of surgery.* 2018. Epub 2018/06/07.
12. Eriksson M, Anveden L, Celebioglu F, Dahlberg K, Meldahl I, Lagergren J, et al. Radiotherapy in implant-based immediate breast reconstruction: risk factors, surgical outcomes, and patient-reported outcome measures in a large Swedish multicenter cohort. *Breast cancer research and treatment.* 2013;142(3):591-601. Epub 2013/11/22.
13. Rigotti G, Marchi A, Galie M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2007;119(5):1409-22; discussion 23-4. Epub 2007/04/07.
14. Panetti P, Marchetti L, Accorsi D. The serial free fat transfer in irradiated prosthetic breast reconstructions. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33(5):695-700. Epub 2009/06/02.
15. Forcheron F, Agay D, Scherthan H, Riccobono D, Herodin F, Meineke V, et al. Autologous adipocyte derived stem cells favour healing in a minipig model of cutaneous radiation syndrome. *PLoS one.* 2012;7(2):e31694. Epub 2012/02/22.
16. Garza RM, Paik KJ, Chung MT, Duscher D, Gurtner GC, Longaker MT, et al. Studies in fat grafting: Part III. Fat grafting irradiated tissue--improved skin quality and decreased fat graft retention. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2014;134(2):249-57. Epub 2014/07/30.
17. Lindegren A, Schultz I, Sinha I, Cheung L, Khan AA, Tekle M, et al. Autologous fat transplantation alters gene expression patterns related to inflammation and hypoxia in the irradiated human breast. *The British journal of surgery.* 2019. Epub 2019/02/26.

ANNA LINDEGREN, SPECIALISTLÄKARE,  
VERKSAMHETSOMRÅDE KIRURGI, SÖDERSJUKHUSET, STOCKHOLM,  
ANNA.LINDEGREN@SLL.SE

