

Aplicaciones clínicas de las células madre del tejido adiposo

Clinical applications of fat tissue stem cells



Castro, B.

Castro, B.*

Resumen

En la actualidad, las células madre del tejido adiposo (ASC) juegan un papel crucial en las estrategias de reparación o regeneración tisular. Son células mesenquimales multipotenciales que se pueden obtener fácilmente de lipos aspirados. Tras un proceso de digestión enzimática y centrifugación, se recoge la fracción estromal vascular (SVF) en el sedimento obtenido y se purifican las ASC a través del cultivo en plástico y realización de varios subcultivos. Hay diversos aspectos que han convertido a las ASC en una importante opción en terapia celular en los últimos años: su seguridad demostrada en ensayos clínicos; la mayor cantidad de células mesenquimales que se obtienen del tejido adiposo con respecto a la médula ósea, con un proceso menos invasivo y con menor morbilidad; su carácter inmunorregulador, bien a través de la secreción de mediadores moleculares o interacción directa; y finalmente, su gran acción trófica con el objetivo de crear un microambiente adecuado para activar los procesos de reparación del propio tejido.

En este trabajo también se indican las dosis celulares y las vías de administración que se están utilizando para la aplicación de las ASC y la SVF. Los próximos años serán cruciales para determinar, gracias a distintos ensayos clínicos en marcha, el potencial terapéutico de las ASC y sus mecanismos de acción.

Palabras clave Tejido adiposo, Células madre, Regeneración celular.

Código numérico 19-104-15841

Abstract

Adipose stem cells (ASC) play now a crucial role in reparative or regenerative therapeutic strategies. They are mesenchymal multipotent cells that can be easily obtained from adipose tissue following a liposuction procedure. After an enzymatic digestion and centrifugation step, the stromal vascular fraction (SVF) is obtained in the pellet. ASC can be isolated by subsequent cell culture passages, as these cells are plastic adherent. Over the last years, there are several aspects that have become ASC in an increasing option in cell therapy approaches: the safety demonstrated in clinical trials; the higher amount of cells that can be obtained from adipose tissue compared to bone marrow in a much less invasive and morbid procedure; the possibility of an allogenic application; the immunoregulatory capacity through molecular mediators secretion or cell-cell direct interaction; and finally, the strong trophic activity that create a suitable microenvironment for activate repair processes in the host tissue.

Also in this work, cell doses, routes of administration and indications are outlined for both ASC and SVF applications. In the coming years, ongoing clinical trials in a large variety of diseases will elucidate the huge potential of ASC as well as their mechanisms of action.

Key words Adipose tissue, Stem cells, Tissue regeneration.

Numeral Code 19-104-15841

* Doctora en Ciencias Biológicas. Socia fundadora y Directora Científica, Histocell, Derio, Bizkaia, España.

Introducción

Las células madre procedentes del tejido adiposo (ASC) se han convertido en los últimos 5 años en una de las principales herramientas del campo de la terapia celular. Son células multipotenciales de tipo mesenquimal, que tienen la capacidad de diferenciarse hacia otros tipos celulares de sus tejidos de origen mesenquimático, como el hueso, el cartílago, la grasa y el músculo.

Estas células se obtienen del tejido adiposo subcutáneo tras un proceso de lavado, digestión enzimática (colagenasa) y centrifugación que finalmente permiten obtener un *pellet* o sedimento en la zona terminal del tubo que contiene la fracción vascular estromal (*Stromal Vascular Fraction*, SVF). La SVF contiene los diferentes componentes del tejido adiposo excepto la mayoría del volumen de adipocitos y la parte oleosa que se descartan en el sobrenadante. Los tipos celulares que se recogen son: adipocitos residuales, macrófagos, células endoteliales, pericitos, células del músculo liso, fibroblastos, preadipocitos y finalmente ASC (1,2). Dependiendo de la zona de obtención del tejido adiposo, el porcentaje de ASC difiere de forma significativa. El tejido adiposo del abdomen proporciona un 5% de ASC frente a un 1% en la zona de la cadera o muslo. Se estima que se pueden llegar a obtener 0.5-2x10⁸ células mononucleadas/100 g de grasa abdominal obtenida por liposucción, de las cuales 2.6-10 x10⁶ células serían ASC. En el caso de la médula ósea, el porcentaje de células mesenquimales que se obtiene se encuentra en el orden del 0.001-0.01% (3,4).

Para la obtención de las ASC, la SVF se dispone en cultivo en medio de estándar y suero bovino fetal (10%), y se van seleccionando en sucesivos lavados las células adherentes al plástico. A medida que se realizan subcultivos, la población de ASC se va purificando de los otros tipos celulares presentes en la SVF (5,6). La ISCT (*International Society of Cell Therapy*) propuso en 2006 los siguientes criterios para caracterizar de forma consensuada a las células madre mesenquimales de cualquier fuente, fueran o no adherentes al plástico: expresar los antígenos de superficie CD105, CD73 y CD90 y no expresar los antígenos de superficie hematopoyéticos CD45, CD34, CD14, CD19 y HLA-DR y, por último, tener la capacidad de diferenciarse hacia cartílago, hueso y tejido adiposo (7). Todos estos criterios se cumplen en el caso de las ASC, incluso los estudios en los que se comparan ASC obtenidas de tejido adiposo de diferentes zonas y con distintas técnicas de lipoaspiración, no han encontrado diferencias fenotípicas ni de capacidad de diferenciación hacia las estirpes mesenquimáticas. Sin embargo, existen grandes diferencias en cuanto al rendimiento en la obtención de ASC y su capacidad de diferenciación, dependiendo de la edad y del estado del paciente (diabetes, fumador) (8). Este aspecto es importante tenerlo en cuenta cuando un paciente es candidato a un tratamiento con ASC, pudiendo ser más adecuado plantearse una terapia alogénica. De

hecho, las ASC se están aplicando en varios ensayos clínicos de forma alogénica puesto que son células inmunoprivilegiadas gracias a su baja o nula expresión del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (9).

Los mecanismos de acción de las ASC están en permanente estudio, pero cada vez toma más relevancia su acción trófica en las zonas de reparación. Las ASC a través de la secreción de moléculas de señalización, son capaces de generar un microambiente que activa las rutas de reparación de un tejido y además, interviene en la regulación de la inflamación que se produce en las zonas lesionadas a través de su acción inmunorreguladora. Estas células, bien de forma directa o a través de mediadores moleculares (óxido nítrico, prostaglandina, IDO, HLA), son capaces de disminuir la proliferación y citotoxicidad de las células NKs, la diferenciación y maduración de las células dendríticas, la proliferación y activación de los linfocitos T efectores, y en cambio aumentar la proliferación de las células T reguladoras (10-12). Además, las ASC secretan diversos factores de crecimiento como HGF, VEGF, PGF, FGF IGF, entre otros, que activan la proliferación de las propias células del tejido, la neovascularización o bien los mecanismos de supervivencia en el tejido receptor (13,14).

En España, el marco legislativo de la aplicación de células madre viene definido por el Reglamento 1394/2007 del Parlamento Europeo sobre Medicamentos de Terapia Avanzada. En vigor desde el 30 de diciembre de 2008, establece qué terapias avanzadas son consideradas Medicamento de Uso Humano, y por lo tanto tienen que cumplir una serie de requisitos tanto de fabricación como de registro por la EMA (*European Medicines Agency*), para obtener la autorización de comercialización. De modo general, serán considerados Medicamentos de Terapia Avanzada aquellas terapias en las que las células son sometidas a manipulación sustancial y/o no están destinadas a emplearse para la misma función en el tejido receptor y en el donante. La amplificación de las ASC constituye ya una manipulación sustancial, por lo que cualquier terapia que incluya esta tecnología se considera un Medicamento. Esto implica una fabricación del medicamento bajo GMP (*Good Manufacturing Practices*), en la que es indispensable la utilización de una sala blanca en la que cada uno de los procedimientos deben ser autorizados por la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), dependiente de la EMA. No se consideran de momento manipulaciones sustanciales los siguientes procedimientos: cortar, trocear, moldear, centrifugar, embeber en antibiótico, esterilizar, irradiar, filtrar, liofilizar, congelar, criopreservar y vitrificar. Por este motivo el uso de ASC expandidas, para cualquier aplicación, solo puede aplicarse en el ámbito de un ensayo clínico, bajo uso compasivo previa autorización de la Agencia del Medicamento (AEMPS) o en un producto ya autorizado por la EMA.

Los ensayos clínicos llevados a cabo con ASC, revelan que estas células son seguras cuando se aplican tanto de forma autóloga como alogénica (15). Las enfermedades en las que se están aplicando son muy diversas y muchas de ellas se relacionan con su acción trófica más que con la generación propiamente dicha de nuevo tejido (Tabla I).

Las dosis celulares empleadas se han ido incrementando exponencialmente a medida que no se han observado efectos adversos tras su aplicación y al iniciarse su implantación por vías de administración sistémicas. Algunos ejemplos son los siguientes (*clinical trials.gov*) (Tabla II).

Tabla I

ASC expandidas en la clínica
Indicaciones
Fístulas perianales complejas
Enfermedad de injerto contra huésped
Isquemia de extremidades
Daño cerebral
Esclerosis múltiple
Daño medular
Artritis
Regeneración disco intervertebral
Necrosis de cabeza femoral
Fallo cardíaco
Incontinencia
Defectos condrales
Artritis reumatoide
Osteoartrosis

Tabla II

ASC expandidas en la clínica	
Vías de administración	Dosis celulares
Local	10-30 x 10 ⁶ células
Intravenosa	1-3 x 10 ⁶ células/kg 100 x 10 ⁶ células
Intra-arterial	0.5-1 x 10 ⁶ células/kg 100-300 x 10 ⁶ células
Intramuscular	10 x 10 ⁶ células/kg 100 x 10 ⁶ células
Intratecal	90 x 10 ⁶ células
Intra-articular	10-50-100 x 10 ⁶ células
Infusión intravertebral	40 x 10 ⁶ células/kg

Por otro lado, recientemente se han iniciado ensayos con la SVC en diversas enfermedades y vías de administración (16) (*clinical trials.gov*) (Tabla III).

Tabla III

SVC en la clínica	
Indicaciones	Vías de administración
Lipodistrofia	Local
Diabetes tipo II	Intravenoso
Dolor en lugares de amputación	Arteria renal
Enfermedad obstructiva pulmonar	Arteria carótida
Infarto de miocardio	Arteria intrahepática
Parkinson	Percutánea endomiocardio
Lesiones cerebrales difusas	
Fallo renal	
Ictus	
Esclerosis múltiple	
Hígado	
Reconstrucción mama	

La mayoría de los ensayos clínicos que se están llevando a cabo con las células madre adultas se encuentran en fase clínica II-III, por lo que los próximos años serán clave para determinar hasta donde llega la eficacia de los tratamientos, y para definir nuevas áreas de aplicación que en la actualidad están aún en fase preclínica.

Dirección del autor

Dra. Begoña Castro
Histocell. Parque Tecnológico de Bizkaia.
Derio (Bizkaia) España
e-mail: bcastro@histocell.com

Bibliografía

1. **Riordan NH, Ichim TE, Min WP et al:** Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *Journal of Translational Medicine* 2009, 7:29.
2. **Zimmerlin L, Vera S, Donnenberg ME. Et al.:** Stromal Vascular Progenitors in Adult Human Adipose Tissue. *Cytometry* 2010.Part A _ 77A: 22-30.
3. **Oedayrajsingh-Varma MJ, van Ham SM, Knippenberg M et al.:** Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue- harvesting procedure. *Cytotherapy* 2006, 8 (2): 166-177.
4. **Wouter JFM, Jurgens MJ, Oedayrajsingh-Varma MJ, 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, 332:415-426.
5. **Almeida, K.A. et al.:** Fracción vascular estromal de tejido adiposo: cómo obtener células madre y su rendimiento de acuerdo a la topografía de las áreas donantes: estudio preliminar. *Cir. plást. iberolatinoam.*, 2008, 34 (1): 71-77.
6. **Locke M, Windsor J, Dunbar PR.:** Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ. Surg* 2009, 79:235-244.
7. **Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al:** Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.

- The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006, 8:315-317.
8. **Sethe S, Scutt A, Stolzing A.:** Aging of mesenchymal stem cells. *Ageing Research* 2006, Reviews 5: 91–116.
 9. **Chen PM, Yen ML, Liu KJ, Sytwu HK, and Yen1 BL.:** Immunomodulatory properties of human adult and fetal multipotent mesenchymal stem cells. *J. of Biomed Sci.* 2011, 18:49.
 10. **Abdi R, Fiorina P, Chaker N. et al:** Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells. *Diabetes*, 2008, 57: 1759-1767.
 11. **Ghannam S.A., Bouffi C., Djouad F., Jorgensen C., Noël D.:** Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Research & Therapy* 2010, 1:2.
 12. **Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP.:** Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J. of Inflamm.* 2005, 2:8
 13. **Yang Ch, Li D, Wen Z, et al.:** Transplanted adipose-derived stem cells delay D-galactose-induced aging in rats. *Neural regeneration research* 2011,6(34): 2673-2680.
 14. **Tobita M. Adipose-derived Stem Cells:** Current Findings and Future Perspectives. *Discovery Medicine* 2011; 11 (57): 160-170.
 15. **Lalu M, McIntyre L, Pugliese C, et al.:** Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLOS one.* 2012, 7: 10.
 16. **Ichim TE, Harman RJ, Min WP et al.:** Autologous stromal vascular fraction cells: A tool for facilitating tolerance in rheumatic disease. *Cellular Immunology*, 2010, 264:7–17.