

Diferenciación de la célula madre derivada de tejido adiposo a estirpe ósea

Osteogenic differentiation of adipose derived stem cell

Leiva Gea, Antonio¹
Oliva Olivera, Wilfredo²
Navas Zamora, Plácido¹

¹Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, España

²Unidad de Gestión Clínica Endocrinología y Nutrición, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Complejo Hospitalario de Málaga (Virgen de la Victoria). CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn)

antonioleiva@yahoo.es

Rev. S. And. Traum. y Ort., 2015; 33 (2/2): 31-40

Recepción: 10/03/2015. Aceptación: 27/07/2015

Resumen

La limitación que existe en la capacidad de diferenciación de las células madre derivadas de médula ósea ha generado la necesidad de buscar diferentes fuentes de células madre multipotenciales.

Tras el estudio de la obesidad y otras enfermedades metabólicas, el tejido adiposo se ha constituido como fuente celular alternativa para la aplicación clínica, y en concreto, la célula madre derivada del tejido adiposo (ASC –adipose-derived stem cell–) se ha convertido en objetivo prioritario de investigación al destacar su capacidad de proliferación y diferenciación osteogénica.

Líneas de investigación han aportado conocimiento sobre la teoría de que toda la grasa no es igual y enfatiza en la importancia de valorar el potencial osteogénico de las células mesenquimales multipotenciales residentes en el tejido adiposo teniendo en cuenta la variabilidad entre depósitos ad-

Abstract

The limitation in bone marrow mesenchymal stem cell – BMSCs – differentiation has raised up the necessity to find alternative sources of stem cells.

After recent studies on obesity and some other metabolic diseases, the adipose tissue has become an alternative cell source for clinical application and, particularly, adipose-derived stem cell – ASC – has emerged as a main point in this research because of their osteogenic differentiation and proliferation properties.

Current research emphasizes that all fat is not the same and points out the need to take into account fat depots variability, role of gender, donors and their metabolic profile, and time of culture in the osteogenic potential of adipose mesenchymal stem cells.

Although the ability towards bone lineage differentiation of ASCs has been corroborated, the in vitro generation of bone tissue at an adequate volumen

iposos, donantes, perfil metabólico de los mismos y tiempo óptimo de cultivo.

Aunque la capacidad de diferenciación a estirpe ósea de las ASCs ha sido contrastada, aún continúa siendo un desafío la generación *in vitro* de suficiente material óseo con las características adecuadas para uso clínico.

Palabras clave: célula madre derivada de tejido adiposo, diferenciación osteogénica, osteogénesis.

Introducción

Actualmente existe la necesidad de regenerar el tejido óseo para reparar defectos tisulares en el campo de la Cirugía Ortopédica y Traumatológica. Dichas situaciones se producen a consecuencia de patología ósea con relevancia clínica como las fracturas, la osteoporosis, las malformaciones y los tumores.

En las últimas décadas, el interés en este campo de la investigación se ha centrado principalmente en el estudio y manejo de las células madres, los medios de cultivo biodegradables “scaffolds” y las citoquinas y factores de crecimiento que contribuyen a la diferenciación de dichas células a diferentes estirpes celulares y en especial a la osteogénica.

La principal línea de estudio se ha focalizado en las células madre derivadas de la médula ósea (bone marrow mesenchymal stem cell –BMSCs–). Dichas células han sido usadas para la regeneración tisular, pero su uso no se ha generalizado a la práctica clínica debido a su limitada capacidad de proliferación y diferenciación osteoblástica, asociada a la morbilidad de la zona dadora.⁽¹⁾ Además, el número de células obtenidas es limitado, siendo necesarios numerosos cultivos para obtener un número adecuado de células viables.⁽²⁾ Esto ha generado la necesidad de buscar fuentes alternativas para la obtención de estas células.

Desde que la obesidad y las enfermedades metabólicas son objetivo preferente en el campo de la investigación médica, el tejido adiposo y los adipocitos se han convertido en línea relevante de investigación durante los últimos años. Estas investigaciones hacen referencia a la célula madre derivada de tejido adiposo (ASC –adipose-derived stem cell–) caracterizada por ser fácil de obtener, provocar mínima morbilidad para el paciente y tener una capacidad

and with suitable characteristics for clinical use still remains as a challenge.

Keywords: *adipose derived stem cell, osteogenic differentiation, bone formation.*

proliferativa mayor a las células multipotenciales con origen en médula ósea.⁽³⁾

Junto con estos datos, investigaciones recientes en dicho campo sugieren que la célula madre humana derivada de tejido adiposo (human adipose-derived stem cells –HASCs–) es la fuente celular idónea para su aplicación en Ingeniería Tisular debido a su capacidad de proliferación y diferenciación adiposa, osteogénica, condrogénica y muscular bajo las condiciones apropiadas.⁽⁴⁾

1. Concepto de célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo (“adipose-derived stem cell –ASC–”)

ASCs es el acrónimo propuesto en el año 2004 por la IFATS (International Federation for Adipose Therapeutics and Science) para describir la población celular multipotencial y proliferativa aislada de la fracción vasculo-estromal del tejido adiposo.⁽⁴⁾

Con anterioridad fue usada otra terminología para definir el concepto de ASC. Entre ellas destaca: ADAS: “adipose-derived adult stem cells”, ADSCs: “adipose-derived stromal cells”, ATSC: “adipose tissue stem cells”, AdMSCs: “adipose mesenchymal stem cells”, “lipoblast and processed lipoaspirate cells (PLAs)”.⁽⁴⁾

Son cuatro los factores clave descritos por Ong⁽⁵⁾ que caracterizan a las ASC. *Primero:* aproximadamente el 1% de las células adiposas derivada del tejido adiposo blanco (WAT) son ASCs con capacidad proliferativa multipotencial. En contraste, sólo el 0.001-0.002 % de la celularidad de la médula ósea son células mesenquimales multipotenciales.⁽⁶⁾ *Segundo:* dicha célula se considera inmunoprivilegiada y tiene la capacidad de migrar a zonas lesionadas

tras la administración sistémica. *Tercero*: la liberación paracrina de citoquinas por las ASCs promueve la regeneración tisular teniendo un papel terapéutico fundamental en la Medicina Regenerativa. *Cuarto*: las ASCs pueden ser cultivadas tras una liposucción mínimamente invasiva de los depósitos subcutáneos. De esta manera, dicha estirpe celular es considerada la célula madre mesenquimal encontrada en la fracción vasculo-estromal del tejido graso.⁽⁵⁾

Por tanto, las ASCs son una fuente atractiva de células madre con ventajas respecto a otras fuentes de células madre mesenquimales (MSC).⁽⁷⁾ Entre ellas destaca una capacidad de diferenciación segura, fácil y más eficiente que las procedentes de médula ósea.⁽⁶⁾

En resumen, se puede considerar a las ASCs como células multipotentes derivadas del tejido adiposo con capacidad de diferenciación tanto a estirpe celular mesodérmica (adipogénica, osteogénica y condrogénica) como a no mesodérmica (miogénica, endotelial, hepática, pancreática y neurogénica).^(4,8)

1.1. Inmunofenotipo de la célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo (ASCs)

Las ASCs son muy similares a las BMSCs en términos de antígenos de membrana, transcriptoma y proteoma; sin embargo, tienen propiedades diferentes que las hace células mesenquimales multipotentes exclusivas debido a sus características intrínsecas, localización y condiciones de cultivo.⁽⁹⁾

Según la Sociedad Internacional de Terapia Celular (International Society for Cellular Therapy)⁽¹⁰⁾ las células madre mesenquimales incluyendo las ASCs se caracterizan por ser adherentes en los cultivos celulares, multipotentes (capacidad de diferenciación a adipocitos, osteoblastos y condrocitos in vitro) y con un inmunofenotipo característico.⁽⁵⁾ Entre los marcadores de membrana (CD “cluster of differentiation”: moléculas de superficie comúnmente utilizadas para la identificación inmunofenotípica de tipos de células específicos) que destacan en las ASC se encuentran un marcaje positivo para CD9, CD13, CD29, CD44, CD51, CD59, CD90, CD105, HLA-1, D7-FIB; y ausencia de marcadores hematopoyéticos y endoteliales como CD14, CD31, CD34, CD45, CD133, HLA-DR. Dichos marcadores indican la naturaleza mesenquimal de las ASC.⁽¹⁰⁾

Sin embargo y en base a estos datos se empieza a valorar que las MSCs con diferentes orígenes pueden tener distintos marcadores celulares en su

superficie. Aún así, son pocos los estudios que han analizado su diferente expresión de forma íntegra.⁽¹¹⁾ De hecho, es necesaria una investigación extensa y comprensiva para establecer un consenso sobre los marcadores inmunofenotípicos que identifiquen a las MSC de diferentes localizaciones y en concreto a las ASC.⁽¹²⁾

1.2. Origen celular de la célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo (ASCs)

El tejido adiposo es un órgano endocrino complejo y activo constituido por una población celular heterogénea formada por preadipocitos, adipocitos maduros, células del sistema inmune, células hematopoyéticas (eritrocitos, monocitos, macrófagos), células endoteliales y músculo liso y un pequeño porcentaje de células precursoras denominadas ASCs.

Se han descrito dos tipos de tejido adiposo, denominados tejido adiposo blanco (WAT) y tejido adiposo marrón (BAT). Dichas modalidades difieren en su color, morfología, funciones metabólicas, características bioquímicas y patrones de expresión génica.⁽¹³⁾

El tejido adiposo blanco se encuentra distribuido por todo el organismo y se puede subclasificar en visceral (vWAT) y subcutáneo (sWAT). Su función primordial es el almacenamiento y movilización de reservas energéticas en forma de lípidos. En el tejido adiposo visceral o grasa abdominal dependiendo de su localización encontramos grasa mesentérica, retroperitoneal, perigonadal y tejido adiposo omental. La sWAT se encuentra localizada debajo de la piel y en área intramuscular proporcionando aislamiento térmico ante el calor y el frío.

El tejido adiposo marrón (BAT) se encuentra localizado en las regiones supraclavicular, interescapular, axilar, paravertebral y suprarrenal; teniendo por función oxidar los depósitos y disipar la energía en forma de calor, regulando la temperatura corporal.

Recientemente se ha descrito un precursor adipocítico denominado “beige/brite” or “brow-like cells” con un patrón de expresión génica diferente a los adipocitos blancos y marrones.⁽¹⁴⁾ Dicha población celular se encuentra incluida principalmente en el tejido adiposo blanco de la zona inguinal. En determinadas áreas, el tejido adiposo blanco tiene la capacidad de intercambiar su función de almacena-

miento de energía por la del gasto de la misma. Dichos depósitos pueden diferenciarse de un fenotipo propio del tejido adiposo blanco a otro semejante al tejido adiposo marrón en términos de características morfológicas, patrón de expresión génica y actividad mitocondrial bajo estímulos específicos.⁽¹⁵⁾ La inducción de esta transformación es denominada “browning” y las células “beige /brite” de la grasa blanca son capaces de dicha diferenciación.

Park⁽¹⁶⁾ introdujo la idea en la que el tejido adiposo marrón clásico participa en el control de la homeostasis energética permaneciendo como un mecanismo fijo de la misma. Tanto, las células “beige/brite” que se encuentran en la grasa blanca mantienen un mecanismo más flexible en la regulación de la temperatura corporal y en el balance energético. Estos hallazgos indican la necesidad de un análisis más completo de los depósitos humanos de tejido adiposo marrón, distinguiéndolo del tejido adiposo “beige/brite”.⁽¹⁶⁾

De esta manera, la existencia de diferentes precursores adipocíticos nos orienta hacia que no toda la grasa es igual. Por tanto, en el desarrollo del tejido adiposo como fuente celular para la aplicación clínica es fundamental considerar los efectos de la variabilidad entre los diferentes depósitos de tejido adiposo, variabilidad entre donantes y tiempo óptimo de cultivo.

A pesar de los hallazgos que revelan diferencias entre las ASC y BMSC, teóricamente se establece la idea de la equivalencia de las MSC con diferentes orígenes tisulares. Basado en la proximidad de las ASC a los vasos sanguíneos; y la importancia del sistema vascular en el desarrollo del tejido adiposo, Lin postula la idea de la célula madre vascular “vascular stem cell theory”, que sugiere la identidad de un precursor vascular de las ASC.⁽¹⁷⁾

Esta teoría explicaría la disponibilidad y abundancia de ASC en zonas altamente vascularizadas como el tejido adiposo, la variabilidad en el potencial de diferentes ASC y la inconsistencia en los antígenos de superficie celular en función de los distintos grados de diferenciación de las VSC –*vascular stem cell*–.⁽⁷⁾

Definitivamente, múltiples líneas de investigación sugieren el origen y la localización de las células madre derivadas de tejido adiposo en el espacio perivascular del tejido adiposo blanco.^(18,19)

1.3. Función y potencial terapéutico de la célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo (ASCs)

Las ASCs tienen capacidad de osteogénesis, condrogénesis y diferenciación a otras células con origen mesodérmico, tales como miocitos (cardiomocitos, músculo liso y esquelético) y tenocitos mediante inducción in vitro.⁽⁵⁾ También es conocida su capacidad de diferenciarse in vitro a células endocrinas pancreáticas, neuronas, epitelio y endotelio.^(20,21) Esta multidiferencialidad a células especializadas tendría utilidad en las terapias de reparación y regeneración tisular.

Dicha capacidad es mayor a la encontrada en fibroblastos del ser humano, debido a la secreción por parte de las ASCs de factores que favorecen su diferenciación y autorregulación, tales como FGF2 (factor de crecimiento fibroblástico), LIF (factor inhibitorio leucémico), fibronectina y vitronectina.⁽²²⁾ De esta manera, se promueve la reparación tisular gracias a la interacción directa con la célula o mediante la secreción de factores como las prostaglandinas E2 (PGE2) y el factor inhibitorio leucémico.⁽²³⁾

Aparte de la aplicación de las ASCs como precursores de células diferenciadas, su inmunología singular permite un incremento del espectro de su potencial terapéutico. Al igual que otras células madre mesenquimales, las ASCs son inmunoprivilegiadas ya que carecen de Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II y de moléculas coestimuladoras en la superficie celular.⁽²¹⁾ Esta capacidad permite el trasplante alogénico de dichas células en receptores inmunocompetentes, con una reacción mínima del huésped, previniendo de esta manera la enfermedad injerto huésped.

Además de las moléculas inmunosupresoras, las ASCs poseen propiedades inmunomoduladoras al secretar factores solubles con capacidad de promover la regeneración tisular en la zona lesionada mediante una acción paracrina. Las moléculas secretadas incluyen factores angiogénicos (factor de crecimiento de endotelio vascular –VEGF–), factores antiapoptóticos (factor de crecimiento insulínico -IGF1-), factores hematopoyéticos (interleuquinas) y factor de crecimiento hepático (HGF).⁽²⁰⁾ De hecho, cada vez más estudios corroboran que la capacidad terapéutica de las ASCs in vivo se debe más a su función paracrina e inmunomoduladora que al reemplazamiento celular por sí mismo.⁽²⁴⁾

2. Célula Madre derivada de tejido adiposo (ASC) y diferenciación osteogénica

Como se ha descrito anteriormente, las ASCs poseen una capacidad multipotencial que le permite en condiciones apropiadas poder diferenciarse hacia la línea osteogénica.

Numerosos estudios han comparado la capacidad de diferenciación osteoblástica entre las células madre multipotenciales de médula ósea y las células madre derivadas de tejido adiposo. Algunos de ellos no han encontrado diferencias entre ambas líneas celulares.⁽²⁵⁾ Sin embargo, otros han encontrado una mayor capacidad de diferenciación osteogénica de las células madre de origen en médula ósea, en cuanto a la actividad de la fosfatasa alcalina, mineralización y expresión génica.⁽²⁾

Hans et al⁽³⁾ contradicen estos estudios acerca de la superioridad de diferenciación osteogénica de las BMSCs respecto a las ASCs. En estas investigaciones se utilizan células madre de médula ósea y tejido adiposo procedentes de conejo, apreciando una capacidad de mineralización y diferenciación a osteoblastos mayor en las células derivadas de médula ósea, pero no apreciando diferencias en la capacidad de regeneración ósea entre ambas líneas celulares.⁽³⁾

De acuerdo a estudios recientes, la capacidad de expresión de colágeno tipo 1, osteocalcina, osteopontina y BMP-2 de las ASCs es muy destacada,⁽²⁾ sugiriendo que el potencial terapéutico de las ASCs podría radicar no solamente en su contribución directa mediante la propia diferenciación osteogénica sino también en los efectos indirectos asociados más bien a la expresión de dichas proteínas.⁽³⁾ Por ello, se ha planteado que los niveles elevados de secreción de proteínas formadoras de hueso y factores de crecimiento por las ASCs podrían compensar su menor capacidad osteogénica respecto a las células madres derivadas de la médula ósea.⁽³⁾

En estudios referentes al metabolismo y la obesidad se ha investigado sobre las diferencias en la estructura y función del tejido adiposo tanto en adipocitos maduros como en ASCs, dependiendo del depósito adiposo, así como del donante del que provienen.⁽²⁶⁾

2.1. Diferenciación osteogénica depósito-dependiente

En 1989 Hauner⁽²⁷⁾ estableció por primera vez la hipótesis de que el territorio de las ASC puede verse

influenciado por procedimientos quirúrgicos, edad y condiciones fisiológicas del paciente.

En términos de aplicabilidad clínica en terapias celulares implicando a las ASCs, dichos estudios abren la luz sobre la teoría de que toda la grasa no es igual y enfatiza en la importancia de seleccionar los depósitos adiposos con mayor capacidad proliferativa y potencial osteogénico. Por tanto, un mejor entendimiento de las características de las ASCs de los diferentes depósitos y donantes ayudará a identificar si una fuente específica de grasa es más eficaz para ciertas aplicaciones regenerativas.⁽²⁸⁾

Pocos trabajos han investigado los efectos de la localización del tejido adiposo sobre el potencial osteogénico.^(29,30) Esto hace que no haya un consenso establecido acerca de la diferenciación y proliferación del tejido adiposo y concretamente de cada uno de los depósitos del mismo hacia línea ósea, provocando que los resultados de diferentes grupos de investigación sean contradictorios. Además, existe una carencia importante en la estandarización de protocolos incluyendo mecanismos de extracción, condiciones de los cultivos y clonogenicidad, así como la variabilidad propia en las poblaciones celulares de los donantes, lo cual dificulta la comparación entre los datos.⁽²⁸⁾

Por ello, es necesaria una comprensión amplia de la influencia de la localización del tejido adiposo sobre las poblaciones aisladas de ASCs mediante una comparación sistemática de dichos depósitos grasos. Las diferencias en las funciones y en las propiedades básicas de las células las hacen lo suficientemente autónomas como para ser aisladas de forma separada de cada uno de estos depósitos de forma *in vitro*.⁽³¹⁾

2.1.1. Diferenciación osteogénica de las ASC de depósitos de tejido celular subcutáneo y tejido adiposo visceral

En estudios recientes se han aislado ASCs de diferentes depósitos de tejido celular subcutáneo, incluyendo brazo, costado, muslo y abdomen. La diferenciación osteogénica fue representada por la fosfatasa alcalina (ALP), tinción rojo alizarina, y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados de dichos trabajos mostraron diferente potencial osteogénico entre las poblaciones celulares derivadas de la grasa subcutánea. Se apreció una osteogénesis más marcada en las ASCs derivadas de

las zonas del costado y del muslo comparadas con las del brazo y abdomen, siendo estadísticamente significativa en todos los marcadores evaluados.⁽²⁹⁾

Russo C et al⁽²⁸⁾ investigaron dichos depósitos de forma *in vitro* para analizar la variabilidad depósito-dependiente del tejido adiposo subcutáneo, epiplón, remanente tímico y tejido adiposo pericárdico; así como los efectos de la tensión parcial de oxígeno, durante el cultivo de las ASCs, en el potencial clonogénico, proliferación y diferenciación adipogénica y osteogénica. Variando las condiciones de oxígeno de los cultivos, se observó una mayor capacidad de diferenciación osteogénica de las ASCs procedentes de epiplón, encontrando una inhibición de los depósitos de mineralización cuando las células fueron cultivadas en situaciones de hipoxia (5%) para todos los depósitos (subcutáneo, epiplón, pericárdico y remanente tímico). Además, la falta de mineralización observada en algunas muestras de tejido celular subcutáneo, a pesar de una elevada actividad de la ALP, pone de manifiesto la importancia de analizar la diferenciación osteogénica con múltiples marcadores. Dicho estudio concluye que la mejora en la actividad osteogénica combinada con una reducción en la capacidad adipogénica de las ASCs procedentes de epiplón, puede indicar que la poblaciones heterogéneas incluyen células multipotenciales que tienen una mayor predisposición hacia la línea osteogénica, como ha sido observado en MSCs derivadas de médula ósea.

Finalmente, la mejora de la capacidad osteogénica de las ASCs con origen en epiplón, combinada con su menor potencial de diferenciación adipogénica, las convierte en una fuente celular útil en las estrategias terapéuticas de regeneración ósea.⁽²⁸⁾

Por tanto y en base a estos resultados, se puede pensar que existen diferencias en la capacidad de diferenciación osteogénica de las ASCs de diferentes localizaciones. Esto indica que la elección del depósito graso puede ser importante ante futuros esfuerzos en ingeniería tisular.⁽²⁹⁾

2.2. Diferenciación osteogénica de las ASCs donante-dependiente

La capacidad de diferenciación osteogénica tanto de las MSCs como de las ASCs disminuye con la edad de los pacientes, observando una relación inversa en la edad del donante y la capacidad osteogénica de las ASC.⁽³²⁾

Estudios recientes han analizado los cambios dependientes de la edad del paciente, tanto en la capacidad de autorenovación de las ASCs como en su potencial de diferenciación osteogénica, así como el papel de la metilación del DNA en este proceso⁽³³⁾ Las modificaciones epigenéticas del genoma son consideradas uno de los mecanismos regulatorios más importantes afectados por la edad de las células madre multipotenciales. Estos cambios dinámicos aparecen fundamentalmente en metilaciones del DNA y remodelado de la cromatina.⁽³⁴⁾

También es de considerar si los cambios edad-dependientes pueden ser revertidos con modificaciones epigenéticas del DNA. El potencial de diferenciación osteogénica se ha medido mediante la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina y la mineralización de la matriz tras la diferenciación, así como los niveles de expresión de marcadores osteogénicos como la osteocalcina y factores de transcripción osteogénica (Runx2). Los resultados muestran un descenso en el potencial de diferenciación osteogénica de las ASCs aisladas en donantes de más de 60 años comparado con pacientes menores de 45 años. Estos datos evidencian por primera vez un descenso de la hidroximetilación del ADN en las ASCs relacionándolo con la edad del donante y con el tratamiento con 5-Azacytidine; aportando dicho tratamiento como terapia que podría ser utilizada para rejuvenecer las ASCs de los donantes adultos.⁽³⁵⁾ Otros autores incluso, sugieren mayor capacidad osteogénica *in vitro* en donantes masculinos que en femeninos.⁽³⁶⁾

2.3. Diferenciación osteogénica de las ASCs dependiendo del estado metabólico del donante

Si bien estudios preclínicos y clínicos sugieren que las ASCs son seguras, eficaces y aplicables en terapia celular, aún no está claro si el Índice de Masa Corporal (IMC) y más concretamente el estado metabólico del paciente afectan a su potencial terapéutico.⁽³⁷⁾ La obesidad está asociada a un estado de inflamación crónica que conduce a la disfunción metabólica sistémica y al desarrollo del Síndrome Metabólico.⁽³⁸⁾ Así, el tejido adiposo de los pacientes con un IMC elevado, y concretamente los pacientes que desarrollan un Síndrome Metabólico, se ve inmerso en cambios en su composición celular (número, fenotipo y localización de las células inmu-

nes, vasculares y estructurales) a consecuencia de la alteración de factores secretados por el estado de inflamación crónico al que se ve sometido.⁽³⁹⁾

Teniendo en cuenta las condiciones tisulares en las que se encuentran las poblaciones celulares residentes en el tejido adiposo durante los períodos de balance energético positivo, es probable que las ASCs derivadas de sujetos obesos con síndrome metabólico tengan afectadas intrínsecamente su capacidad de diferenciación celular, su proliferación y, en especial, su potencial osteogénico.

3. Aplicabilidad Clínica

Hasta ahora, la evidencia relacionada con la capacidad de diferenciación osteogénica de las ASCs se encuentra limitada a una serie de casos clínicos aislados en el campo de la cirugía maxilofacial.

El primer estudio clínico se publicó en 2004 y en él se trató a una paciente de 7 años con un defecto óseo craneal tras un traumatismo craneoencefálico severo. Se realizó un trasplante de la fracción vascular-estromal aislada de tejido graso autólogo procedente de zona glútea e injerto óseo simultáneamente. Los resultados mostraron formación ósea evaluada

con TC y continuidad del defecto tras tres meses de la reconstrucción.⁽⁴⁰⁾

Tras este estudio, se han empleado estrategias de ingeniería tisular para crear hueso maxilar en un paciente de 65 años sometido a maxilectomía. La reconstrucción implicó tres intervenciones en 9 meses, utilizando un soporte (b-tricalcium phosphate-filled titanium) y cultivo autólogo de ASCs para favorecer la osteogénesis. El crecimiento óseo en este caso fue suficiente para permitir la osteointegración de los implantes dentales.⁽⁴¹⁾

Actualmente existe escasez de ensayos clínicos finalizados sobre las ASCs. Sin embargo, realizando una búsqueda en la *Clinical Trials. Gov* del Instituto Nacional del Salud de Estados Unidos sobre los ensayos clínicos que se están llevando a cabo referentes a las ASCs, se aprecia un incremento en el número y calidad de los mismos. Esto indica la relevancia clínica futura del tema que estamos tratando.

La evidencia científica avala la diferenciación osteogénica de las células madre derivadas de tejido adiposo. No obstante, es necesaria una comprensión amplia de la influencia que tienen los depósitos específicos de tejido adiposo, los donantes y el estado metabólico de los mismos sobre las poblaciones aisladas de ASCs.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés relacionado directa o indirectamente con el contenido del artículo.

Bibliografía

1. De Ugarte DA, Morizono K., Elbarbary A et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs*, 2003;174: 101-109.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12835573>
2. Shafiee A, Seyedjafari E, Soleimani M, et al. A comparison between osteogenic differentiation of human unrestricted somatic stem cells and mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *Biotechnol Lett* 2011;33:1257-1264. Doi: 10.1007/s10529-011-0541-8.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21287233>
3. Han DS, Chang HK, Kim KR et al. Consideration of Bone Regeneration Effect of Stem Cells: Comparison of Bone Regeneration Between Bone Marrow Stem Cells and Adipose-Derived Stem Cells. *J Craniofac Surg* 2014;25: 196-201. Doi: 10.1097/SCS.0000000000000378.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24406577>
4. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circulation Research* 2007;100:1249-60.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17495232>
<http://circres.ahajournals.org/content/100/9/1249.long>
5. Ong WK, Sugii S. Adipose-derived stem cells: fatty potentials for therapy. *Int. J. Biochem. Cell Biol* 2013; 45, 1083-1086. Doi: 10.1016/j.biocel.2013.02.013.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23458962>
6. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends in Biotechnology* 2006;24:150-4.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16488036>
7. Uzbass F, May ID, Parisi AM et al. Molecular Physiognomies and Applications of Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cells Rev* 2014,1-11. Doi 10.1007/s12015-014-9578-0
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25504377>
8. Mizuno H. Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *Journal of Nippon Medical School Nippon Ika Daigaku Zasshi* 2009;76:56-66
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/194439909>
9. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/ stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy* 2013;15: 641-648. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23570660>
10. Dominici M, Le Blanc 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.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16923606>
11. Ong, WK, Tan CS, Chan KL et al. Identification of Specific Cell-Surface Markers of Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous and Visceral Fat Depots. *Stem Cell Reports* 2014; 2: 171-179. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.01.002.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24527391>
12. Sousa BR, Parreira RC Fonseca EA, et al. Human adult stem cells from diverse origins: an overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology* 2014;85:43-77. doi: 10.1002/cyto.a.22402.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cyto.a.22402/abstract> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24700575>
13. Bae KH, Kim WK, Lee SC. Involvement of protein tyrosine phosphatases in adipogenesis: new anti-obesity targets? *BMP Rep* 2012;45:700-706
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4133817/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23261055>
14. Wu J, Boström P, Sparks LM et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012;150:366-376. doi: 10.1016/j.cell.2012.05.016.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3402601/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22796012>
15. Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev* 2013;27:234-250. doi: 10.1101/gad.211649.112.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3576510/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23388824>
16. Park A, Kim WK, Bae KH. Distinction of White, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells* 2014;6:33-42. doi: 10.4252/wjsc.v6.i1.33.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927012/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24567786>
17. Lin G, Garcia M, Ning H. Defining stem and progenitor cells within adipose tissue. *Stem Cells and Development* 2008;17:1053-1063. doi: 10.1089/scd.2008.0117.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2865901/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18597617>

18. Locke M, Feisst V, Dunbar PR. Concise review: human adipose-derived stem cells: separating promise from clinical need. *Stem Cells* 2011;29:404-411. doi: 10.1002/stem.593.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21425404>

19. Zimmerlin L, Donnenberg VS, Pfeifer ME et al. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue. *Cytometry A* 2010;77:22-30. doi: 10.1002/cyto.a.20813.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4148047/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19852056>

20. Baer PC, Geiger H. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue characterization, and heterogeneity. *Stem Cells International* 2012;2012:812693. doi: 10.1155/2012/812693.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3345279/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22577397>

21. Lindroos B, Suuronen R, Miettinen S. The potential of adipose stem cells in regenerative medicine. *Stem Cell Reviews* 2011;7:269-91. doi: 10.1007/s12015-010-9193-7.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20853072>

22. Sugii S, Kida Y, Kawamura T et al. Human and mouse adipose-derived cells support feeder-independent induction of pluripotent stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010;107:3558-63. doi: 10.1073/pnas.0910172106.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2840462/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20133714>

23. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *Journal of Lipid Research* 2012;53:227-46. doi: 10.1194/jlr.R021089.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3269153/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22140268>

24. Katz A, Mericli A. Stem cells derived from fat. In: Atala A, Lanza R, Thomson J, Nerem R, editors. *Principles of regenerative medicine*; 2011. p. 365-81.

25. Rebelatto CK, Aguiar AM, Moretaño MP et al. A. Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, and adipose tissue. *Exp Biol Med* 2008;233:901-913. Doi: 10.3181/0712-RM-356.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18445775>

26. Baglioni S, Cantini G, Poli G et al. Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell. *PLoS One* 2012;7:e36569. Doi: 10.1371/journal.pone.0036569.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3344924/pdf/pone.0036569.pdf>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22574183>

27. Hauner H, Entenmann G, Wabitsch M et al. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium. *J Clin Invest* 1989;84:1663-70.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC304034/>

28. Russo C, Yu C, Belliveau P et al. Comparison of Human Adipose-Derived Stem Cells Isolated from Subcutaneous, Omental, and Intrathoracic Adipose Tissue Depots for Regenerative Applications. *Stem Cells Transl Med* 2014; 3:206-17. doi: 10.5966/sctm.2013-0125.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3925056/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361924>

29. Levi B, James AW, Glotzbach JP et al. Depot-specific variation in the osteogenic and adipogenic potential of human adipose-derived stromal cells. *Plast Reconstr Surg* 2010;126: 822-834. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181e5f892.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811215>

30. Toyoda M, Matsubara Y, Lin K et al. Characterization and comparison of adipose tissue derived cells from human subcutaneous and omental adipose tissues. *Cell Biochem Funct* 2009;27:440-447. doi: 10.1002/cbf.1591.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19691984>

31. Tchkonina T, Thomou T, Zhu Y et al. Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *CellMetab* 2013; 17: 644-656. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.008.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942783/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23583168>

32. Li Z, Liu C, Xie Z et al. Epigenetic dysregulation in mesenchymal stem cell aging and spontaneous differentiation. *PLoS One* 2011; 6:e20526. doi: 10.1371/journal.pone.0020526.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3111432/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21694780>

33. Yan X, Ehnert S, Culmes M et al. 5-Azacytidine Improves the Osteogenic Differentiation Potential of Aged Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells by DNA Demethylation. *PLoS Ones* 2014; 9: e90846 . doi: 10.1371/journal.pone.0090846.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3946260/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603866>

34. Berdasco M, Melguizo C, Prados J, et al. DNA methylation plasticity of human adipose-derived stem cells in lineage commitment. *The American Journal of Pathology* 2012;181:2079-2093. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.08.016.

[http://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440\(12\)00658-X/abstract](http://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440(12)00658-X/abstract)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23031258>

35. Yoshida CA, Komori H, Maruyama Z et al. SP7 inhibits osteoblast differentiation at a late stage in mice. *PLoS One* 7 2012 :e32364. doi: 10.1371/journal.pone.0032364.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3292551/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22396760>

36. Aksu AE, Rubin JP, Dudas JR et al. Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adiposederived stem cells. *Ann Plast Surg* 2008;60: 306-322. doi: 10.1097/SAP.0b013e3180621ff0.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18443514>

37. Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and re-

generation. *Transl Res* 2014;163:399-408. doi: 10.1016/j.trsl.2013.11.009

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361334>

38. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:85-97. doi: 10.1038/nri2921.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3518031/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21252989>

39. Samaras K, Botelho N, Chisholm D et al. Subcutaneous and visceral adipose tissue gene expression of serum adipokines that predict type 2 diabetes. *Obesity* 2010;18:884-889. doi: 10.1038/oby.2009.443.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20019678>

40. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: Case report. *J Craniomaxillofac Surg* 2004;32:370-373.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15555520>

41. Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009;38:201-209.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19168327>