

# Injertos de tejido adiposo: variables que influyen en la viabilidad del adipocito y de las células madre mesenquimales

## Fat grafting: variables that influence the viability of the adipocyte and mesenchymal stem cells



Benito Ruiz, J.

Benito Ruiz, J.\*

### Resumen

Si bien los injertos de tejido adiposo se han venido utilizando durante décadas a lo largo del siglo pasado, la técnica se venía considerando como poco útil dado que el injerto tendía a la reabsorción. Fue Coleman quien introdujo un sistema de obtención-procesamiento-infiltración atraumático que aumentó el porcentaje de supervivencia del injerto y la obtención de resultados positivos similares en su aplicación en todo el mundo.

Aún así, la publicación de resultados dispares en la literatura respecto a la supervivencia del injerto, con diferentes porcentajes de reabsorción y el descubrimiento de las células madre en el tejido adiposo, han llevado a la realización de numerosos trabajos de investigación encaminados a comprender la biología del injerto de tejido adiposo, a estudiar el papel de las células madre en este proceso y la influencia que sobre la viabilidad celular tienen los distintos pasos a los que los cirujanos plásticos sometemos al tejido adiposo para su trasplante.

Hemos hecho una revisión de la literatura científica al respecto para reunir la información disponible sobre estas controversias.

### Abstract

Though adipose tissue grafts have been used for decades in last century, the technique has been considered as slightly useful provided that the graft was tending to reabsorption. It was Coleman who introduced a system of atraumatic harvesting-processing-infiltration that increased the percentage of survival of the graft obtaining positive similar results in its application all over the world.

Nonetheless, publication of unlike results in the literature regarding survival of the graft with different percentages of reabsorption and the discovery of stem cells in the adipose tissue, have led to the accomplishment of numerous research works directed to understanding the biology of the fat graft, the role of the stem cells in this process and the influence that the different steps for transplantation have on the cellular viability.

We present a review of the scientific literature about the theme to bring together the available information about these controversies.

**Palabras clave** Grasa, Tejido adiposo, Injertos grasos, Lipoestructura, Células madre, Adipocitos, Preadipocitos, Coleman  
**Código numérico** 19-266

**Key words** Fat, Adipose tissue, Fat grafting, Lipostructure, Stem cells, Adipocytes, Preadipocytes, Coleman  
**Numeral Code** 19-266

\* Especialista en Cirugía Plástica, Estética y Reparadora. Clínica Tres Torres, Barcelona, España.

## Introducción

El tejido adiposo se ha empleado como material de relleno desde principios del siglo XX pero los resultados obtenidos con su uso siempre fueron decepcionantes puesto que por lo general, el material injertado se reabsorbía. En 1987 Bircoll (1) introdujo el uso de tejido adiposo como material de aumento para la mama, pero le llovieron las críticas al ir acumulándose malas experiencias y complicaciones por esteatonecrosis. Fue por esto que un panel de expertos de la *American Society for Plastic and Reconstructive Surgery* emitió un comunicado desaconsejando su empleo.

Se debe a Coleman la estandarización de un procedimiento atraumático que permite conseguir resultados buenos y reproducibles con el uso de injertos de tejido adiposo (2) (Fig. 1). Básicamente consiste en una obten-

ción atraumática de la grasa (con cánulas romas de 3 mm y jeringas de 10 mm), centrifugación a 1286 g (3000 rpm con la centrífuga de Coleman) durante 3 minutos, para separar las células adiposas de los componentes sanguíneos y de las células rotas, y transferencia al tejido donde va a ser injertada mediante cánulas romas de unos 2-3 mm en múltiples pases, usando 1 cc en cada pase. La importancia de depositar microinjertos ya había sido apuntada por Bircoll y para Coleman es la parte más importante del procedimiento. Después de los trabajos de Coleman, el número de artículos y experiencias por parte de otros investigadores y cirujanos se multiplicó; aún así, sigue habiendo una gran disparidad de resultados en cuanto a la supervivencia de los injertos, lo que ha incrementado el interés por el "hecho biológico" de cómo sobreviven estos injertos en el tejido receptor y el papel que pueden tener las llamadas células madre mesenquimales.



Fig. 1: Aumento mamario con tejido adiposo; se puede conseguir un aumento equivalente a una copa de sujetador: 250 cc en cada lado.

Zuk y col. descubrieron una población celular con características de pluripotencialidad en el tejido adiposo (3). Estas células se obtienen a partir del lipoaspirado y tienen capacidad de diferenciación en varias líneas celulares mesodérmicas (adipogénicas, osteogénicas y condrogénicas), así como la propiedad de clonogenicidad (diferenciación en varias líneas celulares de clones de células madre individuales). En la Reunión de la IFATS del 2004 (*International Federation of Adipose Therapeutics and Science*) se acordó denominarlas ASC (*Adipose-Derived Stem Cells*).

La digestión enzimática y el centrifugado del lipoaspirado liberan una población heterogénea de células que se denominan *Stromal Vascular Fraction* (SVF) o Fracción estromal vascular. Esta fracción vascular se puede usar directamente o bien se pueden seleccionar las ASC y cultivarlas. Tanto la SVF como las ASC se han ensayado y se están probando en numerosos estudios experimentales y clínicos. Para los ensayos clínicos se han tenido que desarrollar buenas prácticas de producción (GMP o *Good Manufacturing Practices*) y diversas au-

toridades reguladoras han desarrollado guías para la producción de ASC (considerado como producto biológico). Estos productos se dividen en aquellos que son mínimamente manipulados (por ejemplo, la obtención y uso de la SVF) y los que son más que mínimamente manipulados (que incluyen la expansión celular de las ASC). Algunas de estas directivas se encuentran recogidas en:

- Legislación relativa a la Investigación con Células Troncales (R.D. 2132/2004 Normas y Procedimientos de la Comisión de Seguimiento Control de la Donación y Utilización de Células y Tejidos Humanos).
- Directiva 2006/17/CE de la Comisión de 8 de Febrero de 2006, por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a determinados requisitos técnicos para la donación, la obtención y la evaluación de células y tejidos humanos.
- Ley 29/2006 de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.
- Propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y

del Consejo sobre medicamentos de terapia avanzada y por la que se modifican la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) n° 726/2004. Bruselas, 16.11.2005.

La SVF entra en la categoría de productos mínimamente manipulados y que se puede procesar en quirófano. Este procesado puede ser manual o mediante máquinas diseñadas, como Cellution® (Cytori Therapeutics, San Diego, EEUU) (Fig. 2) o Tissue Genesis® (Tissue Genesis Inc, Hawai, EEUU). Estos aparatos pueden proveer de SVF en un plazo de entre 1 y 2 horas. El principal problema es su elevado coste.

Este artículo pretende resumir los conocimientos, hasta la fecha, en cuanto a las células madre y lo que se conoce y desconoce en cuanto a los efectos que los diversos pasos de obtención, procesamiento y transferencia tienen en la viabilidad de los adipocitos y de las propias células madre.



Fig. 2: Máquina Cellution® (Cytori Therapeutics, San Diego, EEUU) utilizada para obtención de la fracción vascular estromal en quirófano.

## Preadipocitos o células madre mesenquimales (ASC - Adipose Stem Cells)

La SVF que se obtiene del lipoaspirado es un conglomerado de células (Tabla I) en el que encontramos ASCs, células endoteliales progenitoras (CD31+/CD34+/CD45-/CD90+/CD105-/CD146+), pericitos (CD31-/CD34+/CD45-/CD90+/CD105-/CD146+), macrófagos, linfocitos T y células progenitoras. Las características de las ASC son (4):

- Se adhieren al plástico
- Expresan los marcadores de superficie CD34+ (lo pierden al hacer expansión celular en cultivo), CD31-, CD90+, CD105+ y CD45-. El marcador CD31+ es típico de las células endoteliales y el CD45+ de las células hematopoyéticas. El marcador CD105+ corresponde a las células mesenquimales y el CD90+ a las células progenitoras. En cultivo, las ASC expresan CD31+ que es típico de

las células endoteliales. Otros marcadores que expresan las ASC son: CD29 (B-integrina que participa en la angiogénesis), CD44 (receptor de hialuronato que es crucial en el desarrollo de matriz extracelular), CD49e (alfa-5 integrina, importante para la adhesión celular con fibronectina) y altos niveles de CD54 (ICAM-1, de la familia de los supergenes de inmunoglobulinas y que puede aumentar en presencia de fenómenos inflamatorios y citoquinas). Menos del 1% de las ASC expresan HLA-DR y la mayoría expresan MHC Class 1, lo que sugiere su uso en trasplantes alogénicos.

- Son capaces de diferenciarse en osteoblastos, condroblastos y adipocitos *in vitro* con el medio adecuado. Existen evidencias de que hay diferentes subpoblaciones de ASC que expresan diferentes marcadores y con diferente capacidad de diferenciación. En condiciones adipogénicas, las células CD105- exhiben más genes de tejido adiposo, mientras que las CD105+ son más osteogénicas y condrogénicas.

Estas células son capaces de elaborar factores de crecimiento, con lo cual se sabe que ejercen una importante función paracrina.

La hipoxia aumenta la secreción de proteína liganda de factor de crecimiento insulina-like (IGFBP 1 y 2), de factor estimulante de crecimiento de colonias de macrófagos (M-CSF), receptor de M-CSF, de PGFbeta y de factor de crecimiento vascular endotelial (5). El tejido adiposo aspirado tiene también factores de crecimiento y se han aislado bFGF, IGF-1, PDGF-BB y VEGF. Pallua y cols (6) han estudiado el centrifugado a temperatura ambiente y a los 3 y 5 días y estos factores permanecen. Las propiedades de algunos de estos factores son:

- bFGF (*Basic Fibroblastic Growth Factor*): induce neovascularización y se ha visto que añadido a una muestra de tejido adiposo, aumenta la supervivencia.
- VEGF: aumenta la viabilidad del tejido transplantado y la angiogénesis; su expresión aumenta en hipoxia.
- PDGF-BB (*Platelet Derived Growth Factor*): inducido en el proceso inflamatorio, estimula la proliferación de preadipocitos, aumenta la supervivencia del trasplante y es quimiotáctico.

Parece pues que tanto los factores presentes como la hipoxia del trasplante favorecen la conversión de las ASC en células endoteliales, aumentando la vascularización y favoreciendo la angiogénesis. No sólo contribuyen a la supervivencia del implante, sino también a la vascularización de la dermis donde se implantan (validado en la experiencia clínica). El tejido adiposo también contiene células endoteliales progenitoras que participan en la formación de vasos sanguíneos (7).

El conjunto de las células de la fracción vascular estromal se caracteriza pues por su capacidad para generar nuevo tejido adiposo y vasos sanguíneos, así como por

producir factores de crecimiento que ayuden a sobrevivir a los adipocitos y a la formación de la red vascular (8). El principal mecanismo de acción de las ASCs parece deberse a su acción paracrina y a la sinergia con células endoteliales para formar nuevos vasos. No parece que la diferenciación en otras líneas celulares sea el principal mecanismo de actuación.

### Proporción de ASC en el tejido adiposo

Un gramo de tejido adiposo aspirado tiene  $6.9 \times 10^5$  adipocitos y  $2.1 \times 10^6$  de células no-adipocitos. Considerando factores como la distinta concentración en las distintas fases del centrifugado y el tamaño de adipocitos (entre 90 y 100  $\mu$ ), se calcula que hay 1.000.000 de adipocitos en 1 ml. El 37% de las células no adipocitos que están en la fracción estromal vascular y que ocupan la parte baja del centrifugado son células madre derivadas del adipocito (9). Se calculan unas 400.000 células de la fracción estromal por ml y de ellas un 1-5 % son ASCs. Procesar 300 ml de lipoaspirado puede dar entre  $1 \times 10^7$  y  $6 \times 10^8$  células ASC con más de un 90% de viabilidad.

Schipper y col. demostraron que las ASC de las regiones superficiales del abdomen son más resistentes a la apoptosis que las del brazo, cara interna de muslos, área trocántera y regiones profundas del abdomen (10). Hay diferencias también en cuanto a edad (mayor proliferación en las obtenidas de jóvenes) y en diferenciación (la tendencia a diferenciación osteogénica es mayor en hombres). Kishi y col. han mostrado que las concentraciones de ASC (CD31-/CD34+) son mayores en el tejido adiposo de zona torácica y abdomen bajos (11).

## Estudios clínicos con SVF y ASC

A la hora de confeccionar este artículo hay unos 20 ensayos clínicos en activo en los Estados Unidos que utilizan las ASC en campos diversos como Traumatología, Neurología, Cirugía Cardiovascular y Cirugía Plástica. En España destaca la experiencia del Hospital Gregorio Marañón en Madrid, con los estudios Restore en reconstrucción de cuadrantectomías de mama y Precise en Infarto agudo de miocardio (12).

A continuación, resumimos la experiencia acumulada en algunos campos.

### Cirugía Plástica y Estética

Una de las primeras aplicaciones de la SVF ha sido en cirugía estética y reconstructiva de la mama. Yoshimura y col. han demostrado que la adición de SVF mejora la supervivencia del injerto de tejido adiposo cuando éste se usa para dar volumen a la mama (13). Lo han denominado CAL o *Cell Assisted Lipotransfer*. También se ha usado para rellenos en cara. La hipótesis de trabajo es que en la liposucción hay una pérdida de ASC (ya que éstas se encuentran en el tejido perivascular principalmente) y que el enriquecimiento del lipoaspirado hace

que el tejido adiposo injertado tenga una concentración similar a la del tejido normal *in vivo*. Además las células madre injertadas aumentarían la red vascular favoreciendo la "toma" del injerto. Lo cierto es que se desconoce el proceso real que ocurre *in vivo* y de hecho, la SVF también tiene células endoteliales progenitoras y células hematopoyéticas residentes CD45+/CD206+/CD34+. Recientemente, el grupo de Yoshimura ha demostrado que estas células macrófagos CD45+/CD206+/CD34+ tienen mayor capacidad *in vitro* de adipogénesis y angiogénesis que las ASC. El 10% de la SVF son CD45+ y de éstas, un 60% son CD14+/CD206+ y de ellas, un 11% son CD34+.

También se ha observado la mejoría de la piel irradiada tratada con injertos de tejido adiposo (14); la piel adopta un aspecto mucho más normal y se vuelve más elástica.

Otras aplicaciones descritas son la reconstrucción de un defecto craneal en una niña usando fibrina y ASC y la de un grupo de cirujanos maxilofaciales en Finlandia que han mostrado buenos resultados usando ingeniería tisular (armazón de B-fosfato tricalcico + ASC + pro-teína morfogenética osea).

Altman y col. (15) en un estudio experimental de hernias en ratas han demostrado que el grupo tratado con matriz dérmica con ASC tenía mayor infiltración vascular y más infiltración celular en la interfaz músculo-injerto que los tratados con una matriz sin enriquecimiento.

Finalmente, las ASC podrían tener un efecto antioxidante, reductor de arrugas cutáneas y blanqueador. Algunos estudios en animales han mostrado reducción de arrugas creadas con radiación UVB. Las ASC estimulan la síntesis de colágeno y la migración de fibroblastos en el proceso de cicatrización. También tienen un efecto inhibidor de la melanogénesis ya que regulan a la baja de la expresión de la tirosinasa y de la proteína relacionada con la tirosinasa (TRP-1) en células de melanoma B16. Además, la inyección intradérmica de lipoaspirado procesado (con un 25-30% de ASC) provoca un incremento del grosor de la dermis y la reducción de las arrugas.

Uno de los campos en los que se está trabajando actualmente es en el desarrollo de rellenos bioartificiales usando un andamio en el que sembrar las ASC. El andamio se iría degradando mientras las ASC construyen el tejido que necesitamos. Para ello, se están utilizando biomateriales como el ácido poliláctico-poliglicólico, el ácido poliglicólico, PTFE, alginatos, matrigel, colágeno, fibrina, ácido hialurónico, tejido adiposo decelularizado, *silk-fibrin-chitosan*, etc.

### Enfermedades autoinmunes

Investigadores del Hospital Universitario La Paz en Madrid (España) han realizado un ensayo clínico en fístulas por enfermedad de Crohn (16). Obtuvieron ASC con cultivo celular e inyectaron 50% de las células bajo el epitelio de la fístula, el resto lo mezclaron con pega-

mento de fibrina y rellenaron el conducto. Con este tratamiento consiguieron un 75% de cierre de fístulas frente a un 25% usando sólo SVF. Esta diferencia posiblemente se debe a que las ASC muestran características inmunosupresoras y carencia de expresión de antígenos de superficie inmunorreactivos *in vitro*, mientras que las células SVF estimulan la proliferación de linfocitos T y no tienen actividad inmunosupresora.

### Enfermedades cardiovasculares

Existen numerosos estudios preclínicos que demuestran que tanto la SVF como las ASC ejercen una acción protectora contra las lesiones vasculares agudas y que sugieren que se podrían usar en pacientes con enfermedades vasculares periféricas (17,18). Así mismo, estudios en infarto de miocardio muestran que hay menor lesión muscular histológica cuando hay un tratamiento precoz con ASC, aunque no está claro que las células puedan convertirse en cardiomiocitos. Lo que sí hay es una mejor recuperación funcional del miocardio.

Se ha comprobado también, a nivel experimental, que injertos vasculares de PTFE (7 cm de longitud y 4 mm de diámetro interno) sembrados con ASC (mediante presión, unas 300.000 células/cm<sup>2</sup>) muestran una permeabilidad mayor de la luz (del 40% frente al 8% de los controles) y la presencia de endotelio en la cara interna del injerto.

## Luces y sombras en el procedimiento de injerto de tejido adiposo

### 1. Obtención

#### a. ¿Cuál es la mejor zona donante?

Ésta es una pregunta habitual en los cursos sobre la materia. No hay uniformidad de opiniones ni de resultados en cuanto a los distintos trabajos realizados. Para unos es el abdomen; sobre todo la parte baja del mismo es la zona más rica en células madre (hay que tener en cuenta que se supone que a mayor concentración de ASC, mayor supervivencia del injerto). Para Fraser (19), la mejor zona donante es la cadera y para Rohrich y col. (20) no hay diferencia entre zonas donantes.

#### b. Efecto de la anestesia local

La anestesia local (lidocaína) parece afectar negativamente al metabolismo de los adipocitos, con una reducción del transporte de la glucosa, de la lipólisis y de la viabilidad y diferenciación de los preadipocitos (ASC) (21). La articaina/epinefrina y la lidocaína al 2% son especialmente lesivas. El tiempo entre infiltración y aspiración puede ser relevante en cuanto al contacto más prolongado entre células y anestésico (21). Hay que tener en cuenta en cualquier caso, que estos trabajos están realizados *in vitro* y no tienen en cuenta la concentración real del anestésico en el fluido que se infiltra. Consideran en estos trabajos unos 30 minutos de

exposición y es posible que muchos cirujanos esperen mucho menos tiempo para obtener la grasa una vez realizada la infiltración.

### c. Daño mecánico

¿Hay realmente una menor viabilidad celular debido al daño producido por la liposucción? Los autores tampoco se ponen de acuerdo en este aspecto. Para algunos no hay diferencia entre el tejido aspirado y el obtenido por escisión. Para el grupo de Yoshimura sin embargo, el tejido aspirado es más pobre en ASC y adipocitos y por ello defienden la necesidad de enriquecer el aspirado con células madre (lo que denominan CAL o *Cell Assisted Lipotransfer*) (22). Para Pu y col. lo que ocurre es que el número de células es el mismo, pero la función de los adipocitos en el tejido aspirado es menor (medido con actividad de la G3PDH) (23).

### d. Papel de la aspiración: jeringas o liposuctor

No hay datos concluyentes que aseguren que la obtención mediante jeringa sea mejor que mediante liposuctor. La jeringa obtiene una presión de 660 mm (0.86 at). El porcentaje de células de la fracción estromal es mayor cuando se usa aspiración a 350 mmHg que a 700 mmHg y superior en ambos casos que cuando se usa jeringa. La obtención con jeringa de 10 cc y émbolo a 2 cc de aspiración (que es lo que recomienda Coleman) da lugar a una presión negativa de 0.37 at. La jeringa de 50 cc llega a una presión de vacío de 0.76 at. En un trabajo experimental Ould-Ali muestra que, a menor presión de vacío, mayor supervivencia del tejido adiposo y menor fibrosis (24). Por tanto, o se usa la jeringa de 10 cc con el émbolo retirado 2 cc o un liposuctor a 0.5 at.

### e. Las cánulas

Coleman ha diseñado una serie de cánulas para obtención atraumática de grasa y su infiltración segura, reduciendo la posibilidad de inyección intravascular. Erdim y col. (25) han demostrado que la viabilidad es mayor cuando la obtención se realiza con cánulas grandes (6 mm), sin diferencia en cuanto a infiltración entre cánulas de 14, 16 y 20 G (Gauge). No parece que el tipo de cánula para la obtención sea un problema importante, aunque es posible que si exista una relación entre el diámetro de la cánula y la presión de aspiración.

### 2. Procesamiento

#### a. ¿Centrifugación, decantación o lavado?

En la descripción de su técnica que hace Coleman, recomienda el uso de 3.000 rpm (1.286 g) durante 3 minutos. Hay que tener en cuenta que hay que conocer el radio del rotor de la centrífuga que se usa para saber exactamente los g aplicados. La fórmula para conocerlo es:  $g = (1.119 \times 10^{-5}) * \text{rpm}^2 * r$

En un trabajo muy bien realizado, Kurita y col. (26) comparan el efecto en la viabilidad celular de diversas

fuerzas de centrifugación (400 – 800 – 1.200 – 3.000 y 4.200 g) durante 3 minutos. A mayor fuerza centrífuga se produce mayor fracción oleosa y de fluido. A partir de 400 g. ya se produce la separación de la fracción roja. Tanto los adipocitos como las células madre aguantan fuerzas de centrifugación importantes, de hasta 3.000 g. El tejido adiposo nativo es más rico en ASC que el aspirado, pero la centrifugación hace que el tejido se compacte y aumente de forma relativa la concentración de ASC. Calculan que de 140 ml aspirados se obtienen 100 ml una vez centrifugados y de éstos, se consiguen unos 80 ml de aumento. Recomiendan como fuerza óptima los 1.200 g.

Otros estudios sin embargo, vienen a indicar que otros sistemas como la decantación o el lavado pueden ser superiores en cuanto a viabilidad celular, y que la centrifugación reduce el transporte de glucosa y por tanto la viabilidad y supervivencia del adipocito. Recientemente ha aparecido en el mercado un sistema, Puregraft® (Cytori, San Diego, EEUU) que usa un sistema de lavado y filtración a través de membrana, al estilo de una diálisis, para separar el tejido adiposo (Fig. 3).



Fig. 3: Tejido adiposo listo para la transferencia con el sistema Puregraft® (Cytori Therapeutics, San Diego, EEUU).

### b. Temperatura

Matsumoto y col. (27) estudian la degeneración de la grasa y la persistencia de adipocitos y ASC en muestras centrifugadas a 2330g durante 5 minutos a 1-2-4 y 24 horas a temperatura ambiente, 4 °C a 1-2 y 3 días y a -80°C durante 1 mes. Analizan el *oil ratio* y la presencia

de glicerol-3-fosfato dehidrogenasa (una enzima intracelular) así como el porcentaje de ASC. Hasta las 4 horas de preservación a temperatura ambiente, hay aumento progresivo de *oil ratio* y GPDH, muy significativa a las 24 horas. Las ASC parecen mantenerse hasta 4 horas; pero a las 24 horas casi han desaparecido. Si se preserva a 4°C, el número de ASC se mantiene 24 horas, pero luego se reducen. Recomiendan por tanto hacer la transferencia en menos de 4 horas. Si se ha de enviar tejido adiposo para procesar y obtener ASC puede enfriarse a 4 °C, teniendo como plazo 24 horas.

Parece ser que se puede alargar la supervivencia de las ASC con la adición de PVP (polivinilpirrolidona) al 10% en medio PBS o DMEM (*Dulbecco's modified Eagle's medium*).

Para Carvalho et al. (28) sin embargo, es posible obtener un número adecuado de ASC y mantener viabilidad aceptable de adipocitos hasta 24 horas tras la obtención a temperatura ambiente.

### 3. Infiltración

En este punto parece que hay más uniformidad de criterios y todo el mundo coincide en que los injertos han de ser pequeños para mejorar su supervivencia. Sin embargo, aún desconocemos lo que ocurre con ellos. ¿Sobrevive el adipocito? ¿Hay una regeneración completa a partir de las ASC? Un reciente estudio experimental con un modelo de isquemia en ratones, sugiere una cadena de acontecimientos en los días siguientes de forma que los adipocitos sufren apoptosis en el día 1 y necrosis en los días 3 y 7. Luego se produce un aumento de la angiogénesis alrededor del día 7 y, alrededor del día 14, se evidencian nuevos adipocitos (células con pequeños depósitos de lípidos en su interior). Las células madre no sufren apoptosis y la inmunohistoquímica sugiere que son las responsables de la neoformación vascular y de los nuevos adipocitos.

En isquemia severa hay más fibrosis porque hay una mayor producción de FGF con la hipoxia por parte de las ASC. Sabemos que las ASC producen factores relacionados con la angiogénesis (6,7) y que hay situaciones clínicas que nos dicen que la infiltración de tejido adiposo mejora la vascularización, como en los casos de radiodermatitis (14). ¿Hemos por tanto de enriquecer el tejido que infiltramos con células madre? El equipo de Yoshimura defiende esta opción, ya que han demostrado una deficiencia relativa de ASC en el tejido de liposucción comparado con el obtenido mediante biopsia; pero ya hemos visto que no hay homogeneidad de resultados en este sentido (podría estar relacionado con el procedimiento empleado, es decir que haya o no centrifugación de la muestra, puesto que ésta compacta el tejido y aumenta la concentración relativa de ASC).

## Conclusiones

Uno de los mayores problemas que enfrentamos actualmente para poder comparar los resultados de los diferentes autores y grupos de estudio es la falta de estandarización de los procedimientos. Como hemos visto, existen numerosas variables que pueden alterar los resultados. Lo que sabemos es que la extracción ha de ser a baja presión (0.5 at o menos); que el tipo de cánula de extracción no es importante; que hay que procesar de alguna forma el tejido para eliminar la fracción roja y el fluido y concentrar de alguna forma los adipocitos y las células madre (aunque hay dudas de cuál es el método ideal); que podemos almacenar el tejido a 4 °C durante 24 horas manteniendo la viabilidad celular; que la implantación ha de ser atraumática (fundamentalmente para evitar la inyección intravascular de tejido adiposo) y que desconocemos los procesos biológicos reales que se están produciendo en el lecho receptor. Y surgen muchas dudas: ¿Es necesario enriquecer el tejido que implantamos? ¿Cómo actúan las ASC *in vivo* en este tipo de injertos? ¿Función paracrina, formación de vasos, diferenciación en adipocitos, efecto llamada a otros precursores? ¿Hay mayor supervivencia de injerto de tejido adiposo con ASC? Si es así, ¿Cuál es el porcentaje adecuado de ASC/cc de tejido adiposo para obtener un mejor resultado?.

Quedan por tanto muchas preguntas y mucho camino por recorrer. El tejido adiposo se ha convertido para los cirujanos plásticos de algo tedioso y aburrido, en un objeto fascinante de estudio.

## Dirección del autor

Dr. Jesús Benito Ruiz  
Antiaging Group Barcelona  
Consultorios de Clínica Tres Torres  
C/ Dr. Carulla 12 Planta 3, Barcelona  
e-mail: drbenito@antiaginggroupbarcelona.com

## Bibliografía

- Bircoll M.:** Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plast. Rec. Surg.* 1987, 79:267.
- Coleman, S. R.:** Structural fat grafts: The ideal filler? *Clin. Plast. Surg.* 2001, 28: 111.
- Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I., Mizuno, H., Alfonso, Z. C., Fraser, J. K., Benhaim, P., and Hedrick, M. H.:** Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell.* 2002, 13: 4279.
- 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.
- Park BS, Kim Ws, Choi JS et al.:** Hair growth stimulated by conditioned medium of adipose-derived stem cells is enhanced by hypoxia: evidence of increased growth factor secretion. *Biomed Res.*, 2010, 31(1): 27.
- Pallua N, Pulsfort AK, Suschek C, Wolter TP.:** Content of the growth factors bFGF, IGF-1, VEGF, and PDGF-BB in freshly harvested lipoaspirate after centrifugation and incubation. *Plast Reconstr Surg.* 2009, 123:826.
- Planat-Benard V, et al.:** Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 2004, 109: 656.
- Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Considine RV, March KL.:** Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004, 109:1292.
- Suga H, Matsumoto D, Inoue K, Shigeura T, Eto H, Aoi N, Kato H, Abe H, Yoshimura K.:** Numerical measurement of viable and nonviable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2008, 122:103.
- Schipper BM, Marra KG, Zhang W, Donnenberg AD, Rubin JP.:** Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells. *Ann Plast Surg* 2008; 60: 538.
- Kishi K, Imanishi N, Ohara H et al.:** Distribution of adipose-derived stem cells in adipose tissues from human cadavers. *J. Plast. Reconstr. Surg.*, 2010, 63:1717.
- Lasso J.M., Cortina E., Goñi E., Arenas L., Nava P., Fernández M.E. et al.:** Estado actual de las terapias con células madre derivadas de tejido adiposo en el ámbito de la Cirugía Plástica. *Cir. plást. iberolatinoam.* 2010, 36: 215.
- Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Hirohi T, Harii K.:** Cell-assisted lipotransfer (CAL) for cosmetic breast augmentation -supportive use of adipose-derived stem/stromal cells". *Aesthetic Plast Surg* 2008, 32:48.
- Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al.:** Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg* 2007, 119:1409.
- Altman AM, Abdul Khalek FJ, Alt EU, Butler CE.:** Adipose tissue-derived stem cells enhance bioprosthetic mesh repair of ventral hernias. *Plast. Reconstr. Surg.*, 2010, 126: 845.
- García-Olmo D, García-Arranz M, García LG, et al.:** Autologous stem cell transplantation for treatment of rectovaginal fistula in perianal Crohn's disease: a new cell-based therapy. *Int J Colorectal Dis* 2003, 18:451.
- Nakagami H, Maeda K, Morishita R, et al.** Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25:2542.
- Nakagami H, Morishita R, Maeda K, et al.:** Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb* 2006, 13:77.
- Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Zhu M, Wheeler ES.** Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots. *Cytotherapy.* 2007, 9:459.
- Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA.:** In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg.* 2004, 113:391.

21. **Keck M, Zeyda M, Gollinger K et al.:** Local Anesthetics Have a Major Impact on Viability of Preadipocytes and Their Differentiation into Adipocytes. *Plast. Rec. Surg.* 2010, 126:1500.
22. **Eto H, Suga H, Matsumoto D et al.:** Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2009, 124:1087.
23. **Pu LL, Cui X, Fink BF, Cibull ML, Gao D:** The viability of fatty tissues within adipose aspirates after conventional liposuction: a comprehensive study. *Ann Plast Surg.* 2005, 54:288
24. **Ould-Ali D.:** Mechanical factors influencing fat cell transplants quality. *IFATS proceedings*, Dallas 2010.
25. **Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A.:** The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009, 62:1210.
26. **Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, Gonda K, Harii K, Yoshimura K.:** Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg.* 2008, 121:1033.
27. **Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, Inoue K, Suga H, Kato H, Aoi N, Murase S, Gonda K, Yoshimura K.:** Influences of preservation at various temperatures on liposuction aspirates. *Plast Reconstr Surg.* 2007, 120:1510.
28. **Carvalho PP, Yu G, Wu X et al.:** Processing and passaging of human adipose-derived stromal/stem cells: use of animal free products and extended storage at room temperature. *IFATS proceedings*, Dallas, 2010.