

EXPERIENCIA PERUANA EN EL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS MADRE DERIVADAS DEL TEJIDO GRASO

PERUVIAN EXPERIENCE IN THE STUDY OF STEM CELLS DERIVED FROM FATTY TISSUE

Patricio Centurion

RESUMEN

Las células madre tienen capacidad de auto renovarse mediante divisiones mitóticas o bien continuar la vía de diferenciación para la que están programadas. El potencial terapéutico que tienen las células madre originando múltiples linajes, en la aplicación de terapia celular, ingeniería de tejidos y terapia génica, es de gran relevancia. El tejido adiposo es otra fuente alternativa para aislar células madre mesenquimales (ASC). Se describe la técnica convencional de lipoaspiración (disrupción mecánica), y se presenta la experiencia de una nueva técnica con aplicación de nuevas tecnologías estudiadas desde el 2010: Prototipo de láser diodo con longitud de onda 1210-nm. (desnaturalización del tejido conectivo), con claras diferencias cuantitativas y cualitativas de las células madre cosechadas, presentando una nueva propiedad que es la estimulación selectiva de las ASC con láser. Diversas aplicaciones clínicas han sido realizadas, inicialmente en cirugía plástica, pero con potencial de aplicación a diversas áreas biomédicas.

Palabras clave (DeCS): Células madre adiposas; Láser; Fotoestimulación (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Stem cells can self-renew through mitotic divisions or to continue the path of differentiation for which they are programmed. The therapeutic potential of stem cells originating multiple lineages, in the application of cell therapy, tissue engineering and gene therapy, is of great relevance. Adipose tissue is another alternative source for isolating mesenchymal stem cells (ASCs). The conventional technique of liposuction (mechanical disruption) is described, and the experience of a new technique with application of new technologies studied since 2010 is presented: Prototype diode laser with 1210-nm wavelength. (Denaturation of the connective tissue), with clear quantitative and qualitative favorable differences of the harvested stem cells, presenting a new property that is the selective stimulation of ASC with laser. Various clinical applications have been made, initially in plastic surgery, but with potential for application in several biomedical areas.

Key words (MESH): Adipose stem cells; Laser; Photostimulation (source: MeSH NLM).

LÁSER: NUEVOS CONCEPTOS EN LA TÉCNICA DE COSECHA DE CÉLULAS MADRE DERIVADAS DE LA GRASA (ASC)

Nuevos conceptos del tejido graso y las células madre derivadas del mismo (ASC)

Una célula madre o célula indiferenciada es una célula que tiene capacidad de auto renovarse mediante divisiones mitóticas o bien de continuar la vía de diferenciación para la que está programada y, por lo tanto, producir uno o más tejidos maduros, funcionales y plenamente diferenciados en función de su grado de multipotencialidad. La mayoría de tejidos de un individuo adulto poseen una población específica propia

de células madre que permiten su renovación periódica o su regeneración cuando se produce algún daño tisular. Algunas células madre adultas son capaces de diferenciarse en más de un tipo celular como las células madre mesenquimales y las células madre hematopoyéticas, mientras que otras se cree que son precursoras directas de las células del tejido en el que se encuentran, como las células madre de la piel o las células madre gonadales (células madre germinales).

El potencial terapéutico que tienen las células madre originando múltiples linajes, en la aplicación de terapia celular, ingeniería de tejidos y terapia génica, es de gran relevancia. Es la medicina del futuro ahora en el presente.

Correspondencia: Patricio Centurion. Dirección: Instituto de Investigación Da Vinci. Celular: 992 777 052. Correo: pccenturion@gmail.com

Citar como: Patricio Centurion. Experiencia peruana en el estudio de las células madre derivadas del tejido graso [Artículo de Revisión]. Rev. Fac. Med. Hum. 2016;16(2):53-56. DOI 10.25176/RFMH.v16.n2.669

Aunque teóricamente el carácter de pluripotencialidad de las células madre embrionarias las hace las mejores candidatas, su uso práctico se limita debido a los problemas éticos que éstas provocan. En contraste, las células madre derivadas de tejido adulto autólogas, son compatibles con la persona de quien provienen y no tienen ningún problema ético en cuanto a la obtención y a su uso terapéutico.

Así mismo, para que las células madre puedan ser utilizadas en medicina regenerativa deberán cumplir los siguientes criterios: 1) deberán encontrarse en cantidades abundantes; 2) pueden ser colectadas y cosechadas por procedimientos invasivos mínimos; 3) pueden ser diferenciadas a lo largo de múltiples vías de linajes celulares en una forma reproducible; 4) pueden ser trasplantadas de manera segura y eficiente en un hospedero autólogo o alogénico.

El tejido adiposo es otra fuente alternativa para aislar células madre mesenquimales (ASC), las cuáles son obtenidas por un método menos invasivo (liposucción) y en cantidades superiores a las obtenidas a partir de medula ósea. Se ha demostrado que el tejido adiposo contiene células madre similares a las células madre mesenquimales derivadas de medula ósea, las cuales se dominan células procesadas por liposucción (PLA). La proporción de células mesenquimales obtenidas es de 1:500 a favor de las células madre derivadas de la grasa. Estas células se pueden aislar por liposucción convencional (LC) en grandes cantidades y pueden crecer con facilidad bajo condiciones normales de cultivo. La técnica de liposucción convencional (LC) tiene como mecanismo de acción "Una disrupción mecánica" del tejido celular subcutáneo. Es decir que arranca el TCSC, lo que crea una importante respuesta inflamatoria. Esta técnica (LC) además utiliza una solución de infiltración en grandes volúmenes, lo que aumenta el trauma del TCSC, el material aspirado presenta un infranadante de un 30 a 50% del volumen total aspirado, compuesto de sangre, solución infiltrada.

Es importante resaltar que la presencia de este porcentaje de infranadante en la liposucción convencional obliga al uso de manipulación, aplicadas al material aspirado (TCSC), de centrifugación, decantación y eliminación, maniobras todas, que dañan e incrementan la apoptosis, exponen al aire del medio ambiente, llevan a la eliminación de ASC, factores antigénicos, SVF, disminuyendo la concentración de ASC, lo que es llamada "ASC-poor aspirated fat."

Nosotros cuestionamos la LC y su mecanismo de acción y decidimos estudiar nuevas tecnologías, esto desde el 2010.

Nuevas tecnologías fueron creadas este siglo XXI para tratar el TCSC, con el objetivo de disminuir la gran morbilidad de la LC. Es así como aparecen los equipos laser. Las propiedades que se observaron del laser (Luz con afinidad/absorción al agua) eran: lisis del tejido adiposo, debido al incremento de la permeabilidad de los adipocitos que con el ingreso de agua a la célula provocaba su destrucción, alteraba la fibra colágena, todas esto relacionada a su propiedad foto-térmica (calor). Es decir, creaban lisis de los adipocitos por acción phototermica, lo que imposibilita el uso del material aspirado^{1,2}.

Sabemos de las propiedades foto-químicas, foto-acústicas, foto-mecánicas, descritas por investigadores de la tecnología láser, pero no se sabía acerca de su acción al aplicarlas en el tejido adiposo. En la literatura científica aplicada al tejido sub cutáneo no existía trabajo que hable de otra acción del láser que no sea foto-térmica^{3,4}.

Estudiando las propiedades de la luz/laser de crear vida a través de una acción fotoquímica, como sucede en las plantas y la clorofila donde la energía lumínica se transforma en energía química estable y no tiene relación alguna al efecto térmico (calor), hallamos el trabajo del Dr. Rox Anderson del 2006, quien describía por primera vez una longitud de onda de luz con afinidad/absorción (target) por el tejido rico en lípidos, resaltando la onda de longitud 1210-nm, estudio realizado en laboratorio⁵. Los resultados de Anderson fueron corroborados por el estudio sobre longitudes de Onda de Wassmer et al. (2009), en el que se estudiaba el comportamiento de longitudes de onda de entre 920 nm y 1320 nm⁶.

TÉCNICA DE COSECHA DE LAS ASC (del tejido celular subcutáneo)

En 2010 con la adquisición de un prototipo de laser diodo con longitud de onda 1210-nm es que iniciamos nuestra investigación de interacción con el TCSC. Describimos por primera vez el concepto de **desnaturalización del tejido conectivo** como nuevo mecanismo NO traumático, por la acción fotoquímica del láser 1210-nm, frente al antiguo concepto de **disrupción mecánica** de la liposucción convencional causada por las cánulas⁷. Este nuevo concepto fue presentado en el Laser Innsbruck Congress en 2012, presentando la " Selective photostimulation on ASC " ⁸.

En nuestra técnica en el momento que aplicamos la energía de láser 1210-nm debajo de la piel en el TCSC, al desnaturalizar el tejido conectivo, se libe-

ran los adipocitos que por otro lado su membrana citoplasmática es estabilizada, las ASC presentes en el TCSC son estimuladas, facilitando su aspiración con jeringas y su inmediata aplicación (en cirugía plástica), sin manipulación alguna y en circuito cerrado por lo que la denominamos "One step technique" no eliminamos nada, no procesamos el tejido aspirado y simplemente se aplica en lipoinyección +ASC estimuladas por láser, una vez obtenido por sus características físicas (sin grumos, homogéneo, partículas finas).

La diferencia evidenciada macroscópicamente entre las muestras aspiradas de Liposucción convencional con las tratadas con el láser 1210-nm son más que evidentes.

En los estudios histológicos comparando la liposucción convencional a la Lipolaser 1210-nm, se evidencio que en las muestras de liposucción convencional había alteración de la morfología de los adipocitos y una gran presencia de partículas inflamatorias, estas últimas responsables de la baja integración de los injertos obtenidos por esta técnica. En las muestras obtenidas por la Lipolaser 1210-nm se evidencio conservación de la morfología y buena definición (estabilización de las membranas citoplasmáticas) de los adipocitos y la ausencia de partículas inflamatorias.

En los estudios histológicos con coloración para estudio de tejido conectivo se evidenció ausencia de este tejido en las muestras obtenidas por Lipolaser 1210-nm y si presencia de tejido conectivo en las muestras obtenidas por liposucción convencional lo que le da el aspecto de grumos y dificulta su aspiración e inyección posterior.

Se realizaron estudio de las mitocondrias aplicando el test de MTT, para medir la actividad de las ASC obtenidas por ambos métodos. El proceso se hizo siguiendo la digestión enzimática de las muestras con colagenasa para el aislamiento de las ASC. Se trabajó con iguales volúmenes de aspirado.

Se midió el número de ASC en muestras frescas de volúmenes iguales, obteniéndose un número mayor en las muestras de Lipolaser 1210-nm (372 células) comparado a la liposucción convencional¹⁴ células, en ambos casos con viabilidad de un 90%).

Posteriores estudios se realizaron midiendo la actividad mitocondrial (MTT) en muestras frescas y a las 24 horas de obtenidas (medio de cultivo), en muestras de ambas técnicas.

Los resultados mostraron en las muestras de liposucción convencional un índice de MTT de 0,68 en las muestras frescas y que baja a 0.65 a las 24 horas en cultivo. Mientras que en las muestras de Lipolaser 1210-nm se encontró un índice de 4,8 en muestras frescas y 8,2 a las 24 horas en cultivo, estos resultados nos demuestran la presencia de apoptosis en el tejido tratado con liposucción convencional (disrupción mecánica) comparada a la estimulación causada por la acción del láser sobre las ASC. Con nuestra técnica obtenemos 600% mas y 1100% veces más en muestras frescas y a las 24 horas de cultivo respectivamente.

Esta nueva tecnología para la obtención de ASC del tejido adiposo, con el uso de laser de longitud de onda 1210-nm, presentan una nueva propiedad que es la estimulación selectiva de las ASC con láser (selective photostimulation on ASC). Dicha tecnología basada en el mecanismo de desnaturalización del tejido conectivo, nos permite obtener muestras con un número mayor de ASC cuando comparamos con las muestras obtenidas por la liposucción convencional.

Todos los estudios de laboratorio que hemos realizado comparando el material obtenido por la liposucción convencional y la lipolaser 1210-nm, nos confirman la hipótesis de que el láser 1210-nm estimula las ASC incrementando cuantitativa y cualitativamente su presencia en la cosecha del TCSC.

Podemos concluir en nuestra experiencia, que existen nuevo concepto de preservar los tejidos (TCSC) y sus importantes componentes (ASC, Factores de crecimiento, citoquinas) con el uso de adecuada tecnología^{9, 10}, que nos abre al nuevo horizonte de la medicina humana, como es el caso de la Medicina Regenerativa.

APLICACIONES CLÍNICAS

En nuestra experiencia en aplicaciones clínicas, inicialmente ha sido en el área de cirugía plástica¹¹, hemos aplicado las ASC con la grasa como vehículo (lipoinyecciones), dado que nuestro objetivo era regenerar el tejido celular sub cutáneo (TCSC) y los tejidos vecinos. Las lipoinyecciones con ASC son un procedimiento mínimamente invasivo por lo que el trauma es mínimo para las diversas aplicaciones.

En el rostro aplicamos este material tratado con el láser 1210-nm, para regenerar la calidad de la piel. Es aplicado en un plano profundo alrededor de los ojos (periorbitaria), en los surcos faciales, en el mentón y en la frente. Los cambios se observan a

partir del 2do mes, mejorando la calidad de la piel de todo el rostro, disminuyendo las manchas, las arrugas los surcos, devolviendo la lozanía.

En las **manos**, revierte la hipotrofia del TCSC, mejorando las manchas, el color y la calidad de la piel.

Para el tratamiento de la caída de **cabello**, la aplicación en el cuero cabelludo permite dar mayor densidad, grosor y color natural en la zona aplicada.

En la **reconstrucción de la mama** por cáncer, luego de la mastectomía, realizamos un primer tiempo con la aplicación de inyecciones del material aspirado y tratado con el láser 1210-nm para regenerar el TCSC, disolver la fibrosis producida por la mastectomía y su proceso de cicatrización, restituir la elasticidad de los tejidos remanentes posibilitando 2 meses después la utilización de una prótesis de silicona y más lipoinyección para remodelar la mama.

Para las secuelas de **quemaduras**, el láser 1210-nm permite disolver la fibrosis (desnaturalizar el tejido conectivo) y luego inyectar en todas las áreas de secuela para regenerar el TCSC perdido por la quemadura, y devolver la elasticidad de los tejidos.

En el **rejuvenecimiento íntimo**, los tejidos de la vulva afectados por los trastornos hormonales en la menopausia como son hipotrofia, hiperpigmentación, afinamiento de la mucosa, son revertidos favoreciendo la vida íntima con la pareja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Centurion P, Cuba JL, Noriega A. Body Contouring using Laser diode 980-nm assisted Lipolysis: A Safe Procedure" - Journal of Plastic Surgery IberoLatino American 2011. Cir.plast.IberoLatinoam.-Vol 37-N4. Oct-Nov-Dec 2011. 355-364.
2. Dornelles R, Centurion P. Laser Lipolysis with Diode Laser 980-nm: Experience with 400 cases". Rev Bras Cir Plast. 2013; 28 (1): 124-9.
3. Badin A, Moraes L, Gondek L et al: Laser Lypolysis: Flaccidity Under Control. Aesth Plast Surg. 26:335-339, 2002.
4. Tark.K, Jung,J et al: Superior lipolytic effect of the 1,444 nm Nd:YAG laser: Comparison with the 1,064 nm Nd:YAG laser. Lasers in Surgery and Medicine 40:p.721-727, 2009.
5. Anderson R R , Farinelli W , Laubach H , Manstein D , Yaroslavsky A, Gubeli J, et al. Selective photothermolysis of lipid-rich tissues: a free electron laser study . Laser Surg Med. 2006 ; 38 : 913 – 919.
6. Wassmer B, Zemmouri J, Rochon P, Mordon S. Comparative Study of Wavelengths for Laser Lipolysis. Photomedicine and Laser Surgery. Volume 00, Number 00, 2009.
7. Centurion P, Noriega A. Fat Preserving by Laser 1210-nm. Journal of Cosmetic and Laser Therapy, 2013; 15: 2-12.
8. Centurion, P; Noriega, A. Laser Stimulation on Adipose Stem Cells (ASC) and Adipocytes. IPRAS Journal 12th Issue April 2013. ISSN: 2241-1275. 46.75.
9. Centurion P: Carta ao Editor. Boletim Cirurgia Plastica, Journal do Instituto Ivo Pitanguy 171 Jul-ago 2015.
10. Centurion P: Letter to Editor: Studies in Fat grafting. Fat graft retention is dose dependent. Plastic and Reconstructive Surgery 05/2015; PRS-D-15-01125.
11. Centurion P: Fat Grafting – What are we doing in 2016? Global Perspective: South America – Peru. ISAPS News Volume 10 Number 2. Official Newsletter of the Internacional Society of Aesthetic Plastic Surgery pp 44 -46.

NUEVO HORIZONTE

El proceso de aislamiento de ASC del TCSC, es un procedimiento que usualmente se realiza en laboratorio y requiere de manipulación de los tejido aspirados implicando el uso de aislamiento mecánico (centrifugación) o digestión enzimática con colagenasa. En la actualidad, nuestro equipo de investigación cuenta con la tecnología adecuada para realizar este procedimiento con el uso de la digestión enzimática con colagenasa en sala de operaciones y en un procedimiento de solo 60 minutos, siempre con el uso del láser 1210-nm que optimiza la cosecha de ASC por su propiedad de "estimulación selectiva".

Los estudios preliminares nos muestran que obtenemos un 9-7% de ASC del pellet obtenido siendo el resto 91-93% eritrocitos. Las ASC obtenidas con nuestra técnica muestran un importante incremento en su multiplicación en cultivo a las 48 horas.

Es a partir de esta implementación tecnológica, que en el Perú que se abren las puertas para el estudio y aplicación clínica de diversas patologías como parte de la moderna medicina regenerativa.

Financiamiento: Autofinanciado.

Conflicto de interés: El autor declara no presentar conflicto de interés en la publicación de este artículo.

Recibido: 10 de Mayo de 2016

Aprobado: 21 de Junio de 2016