

Identificación por citometría de flujo de células madre en el tejido adiposo para lipotransferencia autóloga

Identification by flow cytometry of stem cells in adipose tissue for autologous lipotransfer

Alicia María Tamayo Carbón^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-5006-266X>

Adonis Lima Dorta² <https://orcid.org/0000-0001-8542-490X>

Arturo Chang Monteagudo² <https://orcid.org/0000-0002-0843-372X>

¹Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. La Habana, Cuba.

²Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: aliciatamayo67@gmail.com

Recibido: 19/02/21

Aceptado: 25/06/21

Al Director:

La lipotransferencia es un tratamiento médico con un mínimo de complicaciones que constituye una de las alternativas más empleadas para corregir defectos estéticos. No se trata de un mero procedimiento de relleno, sino que también permite la regeneración tisular por la presencia, en el tejido adiposo de células madre, citocinas y microvesículas extracelulares derivadas de membrana.⁽¹⁾

La identificación de las poblaciones celulares en los lipoaspirados, constituye un reto cuando se emplea con intención científica en la terapia regenerativa. En este sentido, la citometría de flujo es una técnica precisa y rápida para la caracterización de las células madre, siempre que pueda obtenerse una muestra adecuada para su análisis en esta plataforma.^(2,3,4)

Para preparar los injertos de tejido adiposo se han utilizado dos métodos: el enzimático y el mecánico. Con la digestión enzimática se obtiene una población heterogénea de células de estirpe mesenquimal denominada fracción vascular estromal VSF (del inglés stromal vascular fraction), que incluye entre otras, células madre derivadas del tejido adiposo ASC (del inglés Adipose-Derived Stem Cells) y células madre hematopoyéticas HSC (del inglés hematopoietic stem cells).⁽⁵⁾

La metodología de disociación mecánica con emulsificación y filtración del tejido adiposo de mayor aceptación por ser económica y sencilla se conoce como Nanofat. Su principal diferencia en comparación con otras formas de procesamiento del injerto graso radica que en el contenido final no hay adipocitos viables, mientras que las células madre mantienen sus propiedades funcionales.^(5,6)

La mayoría de las publicaciones en las que se han identificado por citometría de flujo las poblaciones celulares en el tejido adiposo, se realizaron partiendo de muestras que se trataron con el método enzimático o de células mesenquimales cultivadas; sin embargo, la tendencia internacional es utilizar el Nanofat para las lipotransferencias.^(2,3,4)

Un grupo de investigadores del Departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología “José Manuel Ballester Santovenia” y del Servicio de Cirugía Plástica y Caumatología del Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”, demostró durante el año 2020, la factibilidad de aplicar en el sistema de salud cubano la citometría de flujo para la identificación de las células madre en una emulsión de tejido adiposo.

De un lipoaspirado de la región abdominal que se procesó por Nanofat, se tomaron 50 µl los que se incubaron durante 10 min a 4 °C con anticuerpos monoclonales anti-CD45 y anti-CD34 conjugados con isotiocianato de fluoresceína y ficoeritrina, respectivamente (Miltenyi Biotec, Alemania). Para precisar la viabilidad celular se utilizó yoduro de propidio (Miltenyi Biotec, Alemania). Se lisaron los hematíes con cloruro de amonio y después del lavado con tampón fosfato salino (PBS, del inglés phosphate buffered saline), las células se resuspendieron con PBS y paraformaldehído al 1 %. La muestra

se filtró a través de una malla de 70 μm para su análisis en un citómetro MACsQuant 10 (Miltenyi Biotec, Alemania).

En las primeras diez muestras que se analizaron a modo de prueba, se encontró un promedio de 4 % de células progenitoras CD34+ con respecto al total de eventos, y más de la mitad de ellas fueron de estirpe hematopoyética CD45+. La viabilidad celular superó el 95 % y se mantuvo invariable entre réplicas que se analizaron con idéntica metodología inmediatamente y 72 horas después de su obtención.

A diferencia de la VSF aislada por digestión enzimática, el injerto que se obtiene por Nanofat presenta una población de células estromales organizadas como agregados celulares que permanecen unidas a la matriz celular nativa. De esta forma, se mantiene la viabilidad celular y ocurre una respuesta mejorada a la proliferación y diferenciación en comparación con las células aisladas. Sin embargo, dicha agregación pudiera provocar que se subvaloren las poblaciones de células madre cuando se analizan por citometría de flujo, elemento que debe tenerse en cuenta cuando se interpretan los resultados.⁽³⁾

El éxito de los injertos de tejido adiposo autólogo, no solo depende de la cantidad de células madre, sino que también es clave la proporción entre las ASC y las HSC. Este ratio está determinado por ciertas características del donante tales como: género, edad, índice de masa corporal y de sus condiciones fisiológicas; por lo que pudiera ser predictor de la eficacia del tratamiento en un paciente determinado.⁽⁴⁾

Las ASC tienen una gran potencialidad terapéutica debido a que su obtención es relativamente poco invasiva y su número es mucho mayor que el de los progenitores de la médula ósea.⁽⁷⁾ En este sentido, la citometría de flujo constituye una plataforma factible de introducirse en el sistema de salud cubano, con el objetivo de identificar las células madre en el tejido adiposo para lipotransferencia autóloga.

Referencias bibliográficas

1. Liang ZJ, Lu X, Li DQ, Liang YD, Zhu DD, Wu FX, et al. Precise Intradermal Injection of Nanofat-Derived Stromal Cells Combined with Platelet-Rich Fibrin Improves the Efficacy of Facial Skin Rejuvenation. *Cell Physiol Biochem*. 2018;47(1):316-29. DOI: <https://10.1159/000489809>
2. Borrelli MR, Patel RA, Blackshear C, Vistnes S, Diaz Deleon NM, Adem S, et al. CD34+CD146+ adipose-derived stromal cells enhance engraftment of transplanted fat. *Stem Cells Transl Med*. 2020;9(11):1389-400. DOI: <https://10.1002/sctm.19-0195>
3. Wetzels S, Bijnen M, Wijnands E, Biessen EAL, Schalkwijk CG, Wouters K. Characterization of Immune Cells in Human Adipose Tissue by Using Flow Cytometry. *J Vis Exp*. 2018(133):57319. DOI: <https://10.3791/57319>
4. Kilinc MO, Santidrian A, Minev I, Toth R, Draganov D, Nguyen D, et al. The ratio of ADSCs to HSC-progenitors in adipose tissue derived SVF may provide the key to predict the outcome of stem-cell therapy. *Clin Transl Med*. 2018;7(1):5. DOI: <https://10.1186/s40169-018-0183-8>
5. Copcu HE, Oztan S. Not Stromal Vascular Fraction (SVF) or Nanofat, but Total Stromal-Cells (TOST): A New Definition. Systemic Review of Mechanical Stromal-Cell Extraction Techniques. *Tissue Eng Regen Med*. 2021;18(1):25-36. DOI: <https://10.1007/s13770-020-00313-0>
6. Sesé B, Sanmartín JM, Ortega B, Matas-Palau A, Llull R. Nanofat Cell Aggregates: A Nearly Constitutive Stromal Cell Inoculum for Regenerative Site-Specific Therapies. *Plast Reconstr Surg*. 2019;144(5):1079-88. DOI: <https://10.1097/PRS.0000000000006155>
7. Schneider S, Unger M, van Griensven M, Balmayor ER. Adipose-derived mesenchymal stem cells from liposuction and resected fat are feasible sources for regenerative medicine. *Eur J Med Res*. 2017;22(1):17. DOI: <https://10.1186/s40001-017-0258-9>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de interés.

Contribución de los autores:

Alicia María Tamayo Carbón: concepción del artículo, redacción, revisión crítica de su contenido y aprobación final de la versión que va a publicarse.

Adonis Lima Dorta: selección de la bibliografía utilizada, recopilación de la información, revisión de su contenido intelectual y aprobación de la versión final.

Arturo Chang Monteagudo: concepción de la idea, selección de la bibliografía utilizada, redacción, revisión crítica y aprobación de la versión final.