

CÉLULAS MADRE DE TEJIDO ADIPOSO EN MEDICINA REGENERATIVA.

Minireview

Autores: Miana, Vanesa Verónica; Prieto González, Elio A.

Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud. (CAECIHS)

Universidad Abierta Interamericana. Av. Montes de Oca 745. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Email. Elio.Prietto@vaneduc.edu.ar

RESUMEN

Las células madre del tejido adiposo son células de origen mesenquimatoso que tienen la capacidad de autorenovación y de diferenciación multipotencial. Esta multipotencialidad permite que puedan convertirse en adipocitos, condrocitos, miocitos, osteoblastos y neurocitos entre otros linajes celulares. Por otra parte, su utilización en la medicina reconstructiva o de ingeniería tisular tiene en las células madre y en particular en las de tejido adiposo un elemento central a partir del cual desarrollar tratamientos que ya han demostrado su eficacia. El propósito del presente trabajo es revisar las aplicaciones de las células madre de tejido adiposo en diversas áreas de la Medicina Regenerativa, así como algunos de los riesgos asociados al tratamiento con células madre de tejido adiposo en la enfermedad neoplásica.

Palabras Clave: células madre tejido adiposo, cirugía reconstructiva, secretoma, tratamiento células madre, cáncer.

INTRODUCCIÓN

Las células madre pueden clasificarse por su origen en: i) embrionarias, ii) fetales, iii) adultas iv) inducidas pluripotenciales. La clasificación puede simplificarse en embrionarias y mesenquimales adultas. (1).

Las células madre embrionarias humanas (CMEH) se derivan de la capa interna del blastocito y debido a su pluripotencialidad son utilizadas en ingeniería tisular y medicina regenerativa. Las células madre fetales humanas (CMFH) pueden obtenerse a partir de células madre presentes en el líquido amniótico o del cordón umbilical. Son multipotentes pero al igual que las embrionarias presentan dificultades para su obtención en razón de su limitada disponibilidad y también por cuestionamientos éticos. Las células madre adultas pluripotenciales inducidas (CMAPI) no presentan limitaciones importantes en su obtención y la mayor dificultad para su utilización clínica es la relacionada con los procedimientos de inducción en el laboratorio para diferenciarlas en células específicas necesarias para el tratamiento de ciertas enfermedades (2). Por tal razón, las células madre adultas son las más promisorias para su empleo en la práctica clínica y en las investigaciones sobre los aspectos básicos de este compartimento celular.

Las células madre del tejido adiposo (CMTA) son células de origen mesenquimatoso, que tienen capacidad de auto renovación y que además pueden diferenciarse en adipocitos, condrocitos, miocitos, osteoblastos y neurocitos entre otros linajes celulares (3), lo que ha traído como consecuencia su utilización en ensayos clínicos para el tratamiento de afecciones como la

diabetes mellitus, las hepatopatías, las lesiones corneales, las articulares y cutáneas entre otras (4 - 10) Por otra parte, la medicina reconstructiva o de ingeniería tisular tiene en las células madre y en particular en las de tejido adiposo un elemento central a partir del cual desarrollar nuevos tratamientos.(11).

Entre las ventajas de las CMTA está la mayor facilidad de acceso y obtención por medios como la lipoaspiración subcutánea, un procedimiento mucho menos doloroso que el necesario para la obtención de células madre de medula ósea y su empleo, está menos asociado a controversias éticas porque son obtenidas a partir de grasa autóloga, a diferencia de lo que ocurre con las células madre embrionarias (12).

El tejido adiposo ha sido uno de los más estudiados en la última década por su actividad endocrina que se manifiesta en la liberación de adipocitoquinas, citoquinas, factores transcripcionales y de crecimiento, lo que configura un secretoma (11,13,14). El tejido adiposo ya no se considera solamente como un reservorio energético, aislante térmico o amortiguador mecánico, sino que se ha puesto de relieve su participación en una compleja red de interacciones con los sistemas endocrino, nervioso y cardiovascular. Es un tejido que se origina en el mesodermo y está formado por adipocitos y una fracción de células estromales que incluyen, células de músculo liso vascular, células del endotelio, fibroblastos, monocitos, macrófagos, linfocitos pre adipocitos y CMTA. Estas últimas pueden sufrir diferenciación a linajes mesodérmicos o trans mesodérmicos y dar lugar a células que son naturalmente de origen ectodérmico (1).

El procedimiento basado en la separación del estroma vascular contenido en el tejido adiposo ha permitido el acceso a células madre sin recurrir al tejido embrionario lo que facilita su empleo en medicina regenerativa (1, 12). Las CMTA del tipo (CD34+) son las que pueden diferenciarse y formar colonias no hematopoyéticas, a su vez estas conforman un compartimento en el que se identifican diversas subpoblaciones: pro endoteliales (CD146+/CD31+/CD34+); pericitos (CD146+/CD31-/CD34-), una subpoblación transitoria (CD146+/CD31-/CD34+); y las células estromales que muestran una mayor potencialidad para formar adipocitos (CD146-/CD31-/CD34+) (15).

En los últimos años ha sido demostrado que mediante el empleo de inductores específicos en el laboratorio, estas células madre de tejido adiposo (ASCs, Adipose-derived stem cells) tienen la capacidad de diferenciarse en la línea celular que se necesite (12,16).

El propósito del presente trabajo es revisar las aplicaciones de las células madre de tejido adiposo en diferentes afecciones que incluyen al cáncer, así como poner de relieve algunos problemas asociados al empleo de estas células en oncología y en especial en la reconstrucción tisular post quirúrgica.

MÉTODOS

Este trabajo de revisión fue realizado mediante la evaluación de revistas biomédicas. Indexadas en MEDLINE, PubMed , Scielo, SIIC y Redalib con la ayuda de términos de búsqueda como "ingeniería de tejidos y oncología", "medicina regenerativa", "biomateriales", "tejido adiposo", "células madre".

La revisión incluyó artículos en inglés y español y publicaciones de los últimos cinco años, así como otras menos recientes que por su importancia o singularidad nos parecieron relevantes.

Células madre de tejido adiposo en Medicina Regenerativa

Características de la obtención de células madre

El adiposo es una variedad específica de tejido conjuntivo; integrado por un grupo de células denominadas adipocitos, especializadas en almacenar grasas. El tejido adiposo se constituye por la unión, mediante fibras reticulares, de los adipocitos formando lóbulos, entre los que discurren numerosos vasos sanguíneos.

Las células madre adultas del tejido adiposo, denominadas células troncales o mesenquimales (MSCs), pueden ser obtenidas mediante cirugía y escisión directa, lipoaspiración en tronco y extremidades así como por la técnica de Coleman para el trasplante de tejido graso y la remodelación. Esta técnica ha demostrado mayor rendimiento de adipocitos viables que la liposucción convencional(1, 17,18). En la liposucción, se toma, mediante aspiración, la grasa no deseada de una parte del cuerpo y se inyecta en las áreas en las que es necesario aumentar su volumen o lograr una mejoría cosmética. (19,20). El aislamiento de CMTA se realiza a partir del material lipoaspirado donde pueden encontrarse las células de la fracción estromal vascular (FEV); a partir de esta fracción pueden aislarse diferentes tipos celulares que se aíslan después del lavado, la digestión enzimática y la centrifugación de las muestras (16, 21, 22). Los tipos celulares que se encuentran en la FEV incluyen: preadipocitos, fibroblastos, células madre mesenquimales adultas, monocitos,

macrófagos, linfocitos, así como pericitos relacionados con la angiogénesis.
(23 -25)

Obtención de líneas celulares

El mantenimiento en cultivo de líneas celulares mesenquimales permite la obtención de mayor cantidad de células madre pluripotenciales (CMP). Aunque por el momento existe mucha controversia acerca de cuáles son los métodos más eficaces de derivación y reprogramación celular y cuáles son las condiciones de cultivo que les permiten mantener su estado indiferenciado de forma ilimitada. Los cultivos que pudieran conservar un fenotipo estable podrían ser inducidos a diferenciarse hacia un linaje/tejido celular concreto de forma específica y reproducible en el momento deseado (12,26,27).

El principal desafío para la aplicación de estas células en futuras terapias de reemplazo celular es poder controlar su diferenciación en tejidos específicos. En tal sentido existe una multitud de métodos de cultivo, estrategias de reprogramación, manipulación genética, modulación epigenética así como de organización en matrices tridimensionales y el direccionamiento de las células madre hacia las zonas donde pueden ser necesarias (12, 28,29).

Las células alimentadoras (feeders) que han sido más empleadas para el cultivo de CMP humanas son los fibroblastos murinos embrionarios (MEFs) (30). Estas células liberan nutrientes al medio y forman una monocapa, actuando como soporte celular sobre el que se colocan las CMP. Recientemente se ha comenzado a descartar el uso de capas de alimentación de origen no humano, así como el empleo de medio condicionado por células

alimentadoras, debido a las sospechas de que pueden ser portadores de virus murinos (31).

Las capas de alimentación que las han reemplazado están constituidas por fibroblastos embrionarios humanos (HEF del inglés human embryonic fibroblast) y el medio extra celular condicionado por estas. Es notable el aporte de citoquinas, factores de crecimiento entre otros, que enriquecen o condicionan el medio de cultivo con elementos que proceden de la misma especie. El co-cultivo de células madre y células alimentadoras humanas, es más seguro y resulta un modelo más cercano a las condiciones naturales. Otra aproximación al problema de garantizar la idoneidad de los cultivos es el desarrollo de medio sin suero (serum free) y sin xenobióticos (31).

La regeneración tisular con células madre ha incorporado matrices tridimensionales construidas por diferentes biomateriales para proveer un microambiente más cercano al de la histoarquitectura natural. Las matrices junto a factores de crecimiento, como la proteína morfogenética 2 (BMP-2) y células madre adiposas expandidas en cultivo, son utilizadas en la reconstrucción de tejidos, como las que siguen a la cirugía oncológica (32) .

Los biomateriales son importantes en el cultivo de las CM puesto que (son estructuras poliméricas tridimensionales utilizadas para lograr una organización del crecimiento celular, más cercana a la de los tejidos (33-35). Entre los materiales utilizados para armar las biomatrices tridimensionales, para que aniden las células madre puede mencionarse, la sílice, el colágeno y el ácido hialurónico que interactúa con las CM mediante proteínas de tipo integrina. Las biomatrices formadas por colágeno aumentan el abanico de posibilidades de

diferenciación en diferentes linajes celulares como cartílago, hueso, piel, y pulmón mientras que otras formadas por polisacáridos que no se encuentran en la matriz extracelular limitan sus posibilidades de diferenciación (34). El tamaño de las partículas o la densidad de las redes que se desarrollan por diversos biomateriales como la sílice influyen en el crecimiento y el potencial de diferenciación de las CMTA. Se ha demostrado la participación de los sistemas de quinasas que transducen señales generadas por el contacto de las células con las biomatrices. Las quinasas activadas por mitógenos (MAPK) parecen estar en la base de los efectos proliferativos de tales condiciones de cultivo y pueden guardar relación con la adquisición de fenotipo maligno de las CMTA en modelos experimentales o en la cirugía reconstructiva (36), como veremos más adelante.

Cultivo y alteraciones genómicas de las células madre en cultivo

La aparición de mutaciones en genes de control de la integridad del ADN favorece la inestabilidad genómica, lo que conduce a la diversificación en subpoblaciones celulares que a su vez pueden acumular más mutaciones y dar lugar a genotipos celulares que puedan expresar el fenotipo tumoral (37).

Las células transformadas en cultivo mimetizan el fenotipo tumoral in vivo. Es menester entonces evaluar la estabilidad genética de los cultivos que tengan fines terapéuticos.

Maitra y cols (38) estudió la estabilidad genómica en líneas de células madre embrionarias humanas y comparó la frecuencia de mutaciones entre los pasajes tempranos y los tardíos (después del octavo o noveno pasaje). En los pasajes tardíos observó que se incrementaba el número de alteraciones

genómicas que eran coincidentes con algunas de las que aparecen en los tumores malignos incluyendo aneuploidías, mutaciones en el ADN mitocondrial y alteraciones en la metilación . El hecho de que las líneas de células madre desarrollen *in vitro* alteraciones genéticas y epigenéticas, implica la necesidad de utilizarlas antes de que se produzcan derivaciones en cultivo que pudieran incrementar su potencial oncogénico (37).

Según Gimble y cols (39), se deben respetar cinco criterios para la utilización de estas células con fines médicos: i) Presencia de células en abundancia. ii) Obtención a través de procedimientos mínimamente invasivos. iii) Regulación de la diferenciación de linajes celulares. iv) Posibilidad de su utilización como auto injerto. v) Que sean manipulables dentro de las normas del ejercicio profesional.

CMTA en estudios experimentales y humanos

La manipulación en el laboratorio y su transferencia e inoculación en el quirófano deben realizarse cumpliendo las normas de bioseguridad y respetando las relativas a la ética de los procedimientos terapéuticos.

Los antecedentes en ensayos en modelos animales son abundantes, por tal motivo se seleccionan algunos, a manera de ilustración, en un campo creciente en el que no puede pretenderse ser exhaustivo.

Las CMTA ha sido utilizadas en experimentos en un modelo de osteoporosis en ratas en las que se implantaron células madre diferenciadas para regenerar tejido óseo. En un periodo de dos años se logró la recuperación del tejido óseo afectado. (40, 41,42,45,46,47).

Bacou y cols (43) documentó el estudio en ratas en el que se inyectaron en el músculo tibial anterior lesionado, células diferenciadas a partir de CMTA a fin de evaluar si se producía regeneración del tejido muscular; después de 60 días en el grupo tratado se incrementó la sección transversal de músculo, y la fuerza de contracción máxima al comparársele con los controles no tratados. Mientras que otro autor reportó la producción de distrofina en ratones, en un modelo de distrofia muscular de Duchenne, cuando les fueron trasplantadas CMTA (44).

En un modelo de tiroiditis autoinmune en ratones C57BL / 6 se estudiaron los efectos terapéuticos de trasplantes de CMTA procedentes de ratones de la misma línea (singénicos) y de ratones BALB/c (alogénicos). En ambos casos tanto frente a las CMTA alogénicas como a las singénicas se produjo una disminución en la cantidad de los autoanticuerpos contra tiroglobulina así como también lo hizo la respuesta inflamatoria y se restauró el equilibrio entre Th1 / Th2 (48)

En un modelo de artritis reumatoide en ratas, el trasplante singénico y alogénico de CMTA, murinas o humanas, resultó en menor daño en el cartílago y disminución de los anticuerpos anti colágeno II murino, así como de interleucina 6 en los grupos tratados (49). Se han publicado investigaciones en modelos murinos en los que se observó la repoblación del páncreas con agregados celulares similares a los islotes de Langerhans, que se formaron a partir de CMTA y son capaces de secretar insulina (50,51).

Ensayos in vivo y clínicos en músculo cardíaco

Se han tratado de repoblar zonas del músculo cardíaco después de un infarto tanto en modelos animales como en humanos. Se realizaron ensayos inyectando células madre directamente en el sitio de la lesión post infarto con el propósito de restaurar el grosor y la elasticidad de las paredes, alteraciones que se traducen con frecuencia en fallo ventricular. Sin embargo los resultados no han sido satisfactorios. Aparentemente la ausencia de un sincitio en el que las células trasplantadas puedan fijarse y proliferar es una de las causas de estos fracasos, en tal sentido se han introducido diversas biomatrices, como las basadas en nanofibras peptídicas capaces de auto ensamblarse en redes tridimensionales y con las cuales la retención y proliferación de las células trasplantadas han sido mejores (52) .

Las CMTA tienen mayor capacidad de diferenciación en células epiteliales y de promoción de la angiogénesis, es sabido que la hipoxia favorece la secreción de factores de crecimiento que contribuyen a la proliferación de miocardiocitos y la reducción de las zonas infartadas. Se ha observado además, que las células adiposas procedentes de la grasa epicárdica son fenotípicamente más cercanas a los miocardiocitos y en consecuencia más fáciles de diferenciar en tales células cardíacas que aquellas obtenidas en otras regiones, como la grasa omental. La actividad paracrina del secretoma de estas células también favorece la diferenciación en miocardiocitos. (53) .

Otros autores reportan que CMTA permeabilizadas y tratadas con factores secretados por miocardiocitos han incrementado su capacidad proliferativa en

el sitio del trasplante y secretado marcadores propios de células cardiacas, como la troponina y la actinina alfa sarcomérica y la desmina (54,59,82).

La manipulación genética de las CMTA es una vía que se está explorando en modelos experimentales orientados al estudio y tratamiento de diferentes afecciones del hígado o el corazón (55 -58) Un ejemplo de esta aproximación en la que se entrecruzan la transgénesis y la terapia con CMTA, es el estudio en que éstas han sido transducidas con el gen de hemo oxigenasa 1, cuyo producto disminuyó el daño oxidativo y la apoptosis de los miocardiocitos. En un modelo de infarto de miocardio en conejos se trasplantaron CMTA modificadas para sobre expresar la enzima mientras que un grupo de control fue tratado con células no modificadas Cuando fueron evaluados cuatro semanas después del tratamiento, los que habían recibido células modificadas expresaban en mayor cantidad marcadores como conexina 43 y tirosina hidroxilasa así como mayor diferenciación hacia miocardiocitos, incremento en la angiogénesis, disminución de las cicatrices post infarto y crecimiento de nervios simpáticos. (59).

Ensayos clínicos en tejido óseo

En pacientes con deficiencias óseas en los maxilares que fueron tratados con CMTA sumadas a una matriz ósea y de fibrina autóloga, al ser controlados los injertos en una tomografía realizada 90 días después del procedimiento se comprobó el crecimiento óseo en las zonas deficitarias (60,61)

Un ejemplo de la aplicación de los trasplantes de CMTA en medicina reconstructiva ha sido el tratamiento reparativo de la calota craneal de una niña de 7 años después de una lesión grave, con reabsorción ósea en la que

hubo que realizar una craneotomía descompresiva, dejando como secuela un defecto craneal de 120 cm². La paciente fue tratada con 15 ml de injerto óseo de hueso esponjoso iliaco suplementado con 10ml de CMTA que se obtuvieron y aislaron durante el procedimiento quirúrgico. Se utilizaron un adhesivo tisular consistente en cola de fibrina autóloga y mallas reabsorbibles para aumentar la estabilidad del injerto. El control por tomografía posterior mostró una reosificación significativa a los 3 meses lo que facilitó la extracción de la protección que se había colocado el año anterior al momento del trauma. (61)

Las CMTA tienen la capacidad de diferenciarse en la línea celular que se necesite para el tratamiento regenerativo de diferentes afecciones como enfermedad coronaria, osteoporosis, regeneración ósea de la mandíbula y la tabla vestibular, en la esclerosis lateral amiotrófica, la osteogénesis imperfecta, la enfermedad de Crohn (cierre de fistulas entero cutáneas), la alopecia, la enfermedad de injerto versus huésped, la diabetes mellitus (63, 64)

Esto significa que el campo de investigación experimental sobre las aplicaciones de las CMTA está en franca expansión y en paralelo se desarrollan ensayos clínicos, lo que desemboca en una complementación experimental y clínica que acerca la terapia celular a los estándares de la corriente principal de la práctica médica. En este sitio web se pueden consultar ensayos clínicos con CMTA que están en marcha actualmente (<https://clinicaltrials.gov/> adipose derived stem cells).

CMTA en la terapia del cáncer

En los últimos años sobre la utilización de estas células para los tratamientos de diferentes cánceres las evidencias indican que estas células pueden tener un rol pro-tumorigénico o anti-tumorigénico esto depende de diferentes factores como los tipos de CMTA, su origen, la línea celular del cáncer estudiado, las interacciones entre las CMTA y las células del sistema inmune del huésped. (65).

Los efectos en uno u otro sentido están relacionados con un conjunto de acciones biológicas de las CM cuyos determinantes aun no son bien comprendidos. Las CM pueden promover la expresión de factores de crecimiento así como el desarrollo de células madre tumorales. La pro tumorigenicidad de las CM se explica por la formación de vasos sanguíneos, también por el incremento de la supervivencia de células madre tumorales, mediante la disminución de la respuesta inmune del organismo frente al tumor y contribuyendo a la formación de metástasis. El origen de las CM es un factor que condiciona la respuesta frente a diferentes tipos de tumores lo que complejiza aún más el panorama (66 -68).

En cuanto a las acciones antitumorales existen reportes en modelos experimentales que incluyen melanomas, cáncer de páncreas y de próstata acerca de que células madre de diferente origen, como medula ósea y tejido adiposo, fueron capaces de provocar reducción del tamaño tumoral, por mecanismos que incluían la inhibición de la angiogénesis, la apoptosis y la interferencia con la proliferación celular que es el mecanismo invocado para

explicar el efecto sobre el cáncer prostático en ratones desnudos tratados con CMTA (65).

Otros enfoques del empleo de las CMTA en Oncología, incluyen el encapsulamiento de estas para protegerlas y garantizar que puedan servir como vectores de drogas antineoplásicas tomando ventaja del tropismo de migración hacia el tumor primario o sus metástasis (68). El empleo de CM modificadas genéticamente para portar genes tumoricidas, puede servir como “bala mágica” contra las células neoplásicas. En modelos experimentales murinos se han obtenido resultados positivos en gliomas, Sarcoma de Kaposi, melanoma o cáncer de pulmón. Entre los factores que pueden ser llevados por las CM hasta el sitio del tumor están las interleuquinas y los interferones. También vale mencionar la terapia génica suicida que se basa en el envío de prodrogas inactivas junto a células modificadas para expresar enzimas transgénicas que puedan modificar los precursores y convertirlos en tóxicos en el sitio del tumor (69).

Terapia con CMTA y riesgo oncogénico

En la composición tumoral se encuentran el parénquima y el estroma que involucra los vasos y el tejido conectivo. El estroma reviste una gran importancia en la nutrición de las células tumorales (68,70). El estroma participa en la regulación del crecimiento y la diseminación tumoral mediante la interacción con células del parénquima. Entre las células asociadas al tumor se encuentran los miofibroblastos que tienen un papel en la metástasis mediante el estímulo de la angiogénesis por la vía del factor derivado del

estroma -1 (SDF-1) y por la secreción de metaloproteasas que ayudan a remodelar la matriz extracelular (71,72).

Una fuente potencial de células estromales son las células madre mesenquimatosas multipotentes (25,73,74). Las células madre además de sus características reconocidas de multipotencialidad y auto renovación manifiestan tropismo de migración hacia las células tumorales, lo que constituye una ventaja para el tratamiento aunque al mismo tiempo aumenta la posibilidad de reclutamiento hacia el fenotipo tumoral como consecuencia de estímulos paracrinos (75).

Los mecanismos que pueden explicar el papel de las CMM en la progresión tumoral incluyen la disminución de la reactividad inmunológica de las células tumorales lo que lleva a una mayor diseminación del cáncer. Las moléculas secretadas por las células neoplásicas son los portadores de la comunicación que resulta en la modificación de la conducta de las estromales, su reclutamiento y ulterior modulación del fenotipo tumoral. (76). Además de las vías de secreción que caracterizan la estimulación paracrina, existen los exosomas que son vesículas nanométricas originadas en cuerpos multivesiculares intracelulares y que se han encontrado en reticulocitos, enterocitos, células tumorales y en CM entre otras. Estas vesículas contienen proteínas que se relacionan con la presentación de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad, así como con la transducción de señales, la migración, la adhesión celular. Además contienen proteínas de shock térmico y MFG-E8 o lactaderina, que está relacionada con la fagocitosis de células

apoptóticas. Es llamativo que incluyan ARNm y micro ARN que son funcionales en las células de destino (77-79).

Los exosomas son una vía paracrina que involucra el transporte masivo de proteínas y la inducción de respuestas celulares pleiotrópicas, participan en el crosstalk entre CM y otros tipos celulares y funcionan en el reclutamiento y activación pro tumorigénica que células cancerosas remanentes, después de la terapia oncológica, pueden ejercer sobre tejidos portadores de células madre mesenquimatosas. Esto cobra importancia cuando se efectúa un auto o aloinjerto de tejido adiposo para una reconstrucción mamaria post cirugía oncológica (11,80).

En pacientes oncológicos con indicación de reconstrucción mamaria, la opción quirúrgica con el colgajo TRAM (del inglés *transverse rectus abdominis muscle* o músculo recto transverso del abdomen) es una de las más utilizadas para la reconstrucción mamaria tras la realización de una mastectomía radical. La utilización de células madre en el proceso de reconstrucción disminuye la aparición de la necrosis grasa alrededor del colgajo. Las células madre mejoran la viabilidad del colgajo TRAM y disminuyen significativamente la necrosis del tejido periférico (81,82).

A pesar de los temores acerca de los riesgos de transformación maligna que pueden asociarse al empleo de CMTA autólogas, se han reportado muy bajas frecuencias de recaídas tumorales loco regionales en las reconstrucciones post cirugía oncológica del cáncer mamario. (83,84) Lo anterior contradice los resultados experimentales en los que se demuestra el potencial oncogénico del secretoma de las CMTA y también expresa la gran complejidad y

heterogeneidad de los factores que pueden promover o antagonizar la transformación maligna cuando se trasplantan CMTA (85,86).

Efecto de las CMTA sobre la cicatrización

La cicatrización presenta varias etapas que desde el punto de vista bioquímico se caracterizan por la liberación de diferentes factores de crecimiento. En la fase aguda se identifican el Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF β), el Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (G-CSF), el Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF), así como citoquinas inflamatorias. En la fase de proliferación celular en la que se forma el tejido de granulación se encuentran en abundancia entre otros el Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), el Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) el Factor de Crecimiento de los Queratinocitos (KGF) el Factor de Crecimiento de Insulina (IGF), el Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) y también interleuquinas inflamatorias. En la etapa final o de remodelación se producen factores que inducen la epitelización, como KGF TGF β , PDGF, EGF y Factor de Crecimiento de los Hepatocitos (HGF) (87,88).

Vale destacar que gran parte del efecto terapéutico de las CMTA puede explicarse a partir de la actividad endocrina del tejido adiposo. Un ejemplo de lo cual lo constituye el hecho de que al disminuir el flujo sanguíneo, como ocurre en la reconstrucción por colgajos y producirse hipoxia, las CMTA, aumentan la producción de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) al tiempo que incrementan la secreción de factores angiogénicos que contribuyen a la revascularización. Abundan las evidencias de los factores secretados por

las células madre tienen efectos terapéuticos que se expresan en la regeneración tisular y también son eficaces en otros aspectos, como en la disminución del dolor neuropático en la diabetes. (86-89, 90-93).

Los factores secretados por las CMTA fueron capaces de aumentar la velocidad de cicatrización y atenuar el depósito de colágeno, en un modelo de cicatrices excisionales en ratones BALB/c. En el mismo estudio se reporta que la incubación de fibroblastos y de tejido procedente de cicatrices hipertróficas con medio condicionado por CMTA, disminuyó la expresión de alfa actina y de colágeno I y II; cuyas fibras resultaron más finas y organizadas que las de los cultivos no tratados. El significado de estos resultados la reducción de la fibrosis cutáneas generadora de cicatrices deformantes, no puede minimizarse (94)

Terapia con células madre otras avenidas de investigación

La información aquí revisada permite afirmar que se vislumbra un aumento de las posibilidades de la aplicación de las CMTA en afecciones en las que, por diferentes causas, se produzcan lesiones con pérdida total o parcial de tejidos. En tal sentido las proyecciones abarcan los traumas con heridas avulsivas, las fracturas en las que sea destruida la masa ósea y las quemaduras entre otras (95, 96).

En algunas enfermedades neurodegenerativas se exploran las capacidades de CMTA modificadas genéticamente a fin de contrarrestar los efectos citotóxicos de sustancias generadas en las células del paciente (97).

En las afecciones autoinmunes, la capacidad de interferir con las alteraciones de la inmunidad humoral y celular aporta una avenida de investigación que ya acumula algunos resultados promisorios en el mediano plazo (98,99).

La investigación de las posibilidades de las células madre se interseca con otras áreas como la transgénesis y la edición de genes. En tal sentido, no solamente se pretende inducir la diferenciación de las células madre en linajes específicos acordes con las necesidades terapéuticas, sino que las células madre pueden ser modificadas a nivel genético, de manera que la terapia celular se convierte además en una terapia génica con las que pueden corregirse defectos como errores congénitos del metabolismo que resulten en déficits enzimáticos o de proteínas estructurales. Las células madre podrían funcionar como vectores para la transducción de genes correctores (100 -102). La modulación epigenética de las CM antes y después de haber sido introducidas en el receptor es otra avenida que debe explorarse sobre todo en las afecciones en las que deben corregirse errores que requieran de una regulación en la actividad de las células trasplantadas (103,104).

La medicina regenerativa y dentro de ella, la cirugía reconstructiva donde se entrecruzan la biología celular y molecular, con los procedimientos propiamente quirúrgicos reparativos, contribuirá a dar forma a la medicina del futuro próximo. La reestructuración, la regeneración de partes de órganos o de su totalidad, aunque no están a la vuelta de la esquina tienen una base sólida en los resultados recientes de la terapia con CM.

CONCLUSIONES

Las CMTA son una alternativa accesible y de mayor flexibilidad para el tratamiento de afecciones que requieran de la regeneración tisular. , su eficacia terapéutica está fundamentada en las aplicaciones basadas de esas células no sólo en modelos experimentales en animales sino también en un número creciente de ensayos en humanos.

Las lesiones traumáticas, neurodegenerativos y endocrino metabólicos, reconstrucciones postquirúrgicas que pueden tratarse con CMTA abarcan desde lesiones traumáticas, pasando por trastornos neurodegenerativos y endocrino metabólicos, hasta las reconstrucciones postquirúrgicas.

En relación con el tratamiento antineoplásico, los estímulos paracrinos y endocrinos mediados por los secretomas de las CMTA, pueden ser beneficiosos, pero también pueden favorecer la progresión tumoral.

El desarrollo de las aplicaciones en las CMTA en el tratamiento de afecciones de alta prevalencia incursiona no solamente en el trasplante celular, sino que se interseca con la manipulación genética, la modulación epigenética y el efecto de los secretomas en la corrección de las alteraciones fisiopatológicas

Agradecimientos

A la Dra. Marina Bramajo, por su desinteresada colaboración

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brown JC, Shang H, Li Y, Yang N, Patel N, Katz AJ.(2017). Isolation of Adipose-derived Stromal Vascular Fraction Cells Using a Novel Point-of-Care device: Cell Characterization and Review of the Literature. *Tissue Eng Part C Methods*; ;23(3):125-135 doi: 10.1089/ten.TEC.2016.0377.
2. Charvet HJ, Orbay H, Harrison L, Devi K, Sahar DE. In Vitro Effects of Adipose-Derived Stem Cells on Breast Cancer Cells Harvested From the Same Patient.(2016) *Ann Plast Surg*;76 Suppl 3:S241-5. doi: 10.1097/SAP.0000000000000802.
3. Thomson JA, Itskovitz-eldor J, Shapiro SS et al., (2011).Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*; 5391(282): 1145–1147.
4. Gimeno M I, Hyon S H , Argibay P F. (2011) Terapia celular para el tratamiento de la diabetes: más allá de las células madre. *Medicina* .3 (71)
5. Do Amaral, R. J. F. C., Almeida, H. V., Kelly, D. J., O'Brien, F. J., & Kearney, C. J. (2017). Infrapatellar Fat Pad Stem Cells: From Developmental Biology to Cell Therapy. *Stem Cells International*, 2017, 6843727. <http://doi.org/10.1155/2017/6843727>
6. Hanson C, Arnarsson A, Hardarson T., Lindgård A, Daneshvarnaeini M, Ellerström, C, Bruun A, Stenevi, U. (2017). Transplanting embryonic stem cells onto damaged human corneal endothelium. *World Journal of Stem Cells*; 9(8), 127–132. <http://doi.org/10.4252/wjsc.v9.i8.127>
7. Jung WY, Kang JH, Kim KG, Kim HS, Jang BI, Park YH, Song IH(2015) Human adipose-derived stem cells attenuate inflammatory bowel disease in IL-10 knockout mice. *Tissue Cell*; 47(1):86-93.
8. Liu WH, Song FQ, Ren LN, Guo WQ, Wang T, Feng YX, Tang LJ, Li K. (2015) Review. The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases. *J Cell Mol Med.*; 19(3):511-20.
9. Stepien A, Dabrowska NL, Maciagowska M, Macoch RP, Zolocinska A, Mazur S, Siennicka K, Frankowska E, Kidzinski R, Chalimoniuk M, Pojda Z. (2016) Clinical Application of Autologous Adipose Stem Cells in Patients with Multiple Sclerosis: Preliminary Results. *Mediators Inflamm.* vol. 2016, Article ID 5302120, 5 pages, 2016. doi:10.1155/2016/5302120

10. Hur W, Lee HY, Min HS, Wufuer M, Lee CW, Hur JA, Kim SH, Kim BK, Choi TH. (2017) Regeneration of full-thickness skin defects by differentiated adipose-derived stem cells into fibroblast-like cells by fibroblast-conditioned medium. *Stem Cell Res Ther.*;8(1):92. doi: 10.1186/s13287-017-0520-7.
11. Zimmerlin L, Park TS, Zambidis ET, et al. (2013). Mesenchymal stem cell secretome and regenerative therapy after cancer. *Biochimie*; 95:2235-45.
12. Gimble J, Katz A, Bunnell B. (2009). Adipose-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine. *Circulation Research*100:1249-1260.<http://circres.ahajournals.org>. *Circ Res*.
13. Kim EY, Kim WK, Oh KJ, Han BS, Lee SC, Bae KH. (2015) Recent advances in proteomic studies of adipose tissues and adipocytes. *Int J Mol Sci*; 16(3):4581-99. doi: 10.3390/ijms16034581.
14. Coelho M, Oliveira T, Fernandez R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*; 9, 2: 191-200 doi: 10.5114/aoms.2013.33181
15. Zimmerlin L, Donnenberg VS, Rubin JP, Donnenberg AD. (2013) Mesenchymal markers on human adipose stem/progenitor cells. *Cytometry Part A*; 83 (1):134–140,
16. Lindroos B, Suuronen R., Miettinen S. (2011) The potential of adipose stem cells in regenerative medicine, *Stem Cell Reviews and Reports*; 7(2):269–291
17. Pu LL, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE Jr, Vasconez HC. (2008). Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg*; 122(3):932-7. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181811ff0
18. Iyyanki T., Hubenak J., Liu J., Chang E. I., Beahm E. K., Zhang, Q. (2015). Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield. *Aesthetic Surgery Journal*; 35(4):467–476.
19. Planas Ribo J, Coronel Gagliardi, R. (2011). Obtención y criopreservación de células madre de tejido adiposo mediante liposucción. *Cir. plástica Iberoamericana*; 37 (4):319-324.
20. Ávila Portillo L M, Franco Ruiz D J, Ávila García J P, Riveros Arocha A G, Sabogal M. (2015). Comparison of the viability and growth in stem cell culture obtained from adipose tissue (ADAS) pre and post freeze. *Nova [online]*; 13(24):27-38

21. Almeida K A, Campa A, Alonso-Vale MIC, Lima FB, Daud ED, Stocchero IN.(2008). Fracción vascular estromal de tejido adiposo: cómo obtener células madre y su rendimiento de acuerdo a la topografía de las áreas donantes: estudio preliminar. *Cir. plást. Iberolatinoam*; 34 (1): 71-77.
22. Dos-Anjos S, Mercader J, Katz, AJ, Llull R. (2013). Nuevo dispositivo para el aislamiento de la fracción estromal vascular a partir de lipoaspirados humanos: método de obtención y análisis de calidad celular. *Cir. plást. Iberolatinoam*; 39 (supp1):39-43
23. Koh YJ, Koh BI, Kim H, Joo HJ, Jin HK, Jeon J, Choi C, Lee DH, Chung JH, Cho CH, Park WS, Ryu JK, Suh JK, Koh GY. (2011). Stromal vascular fraction from adipose tissue forms profound vascular network through the dynamic reassembly of blood endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*; 31(5): 1141-1150.
24. Tang QQ, Lane MD.(2012). Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. *Annu Rev Biochem* ; 81:715-36. doi: 10.1146/annurev-biochem-052110-115718.
25. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM.(2013). 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*. (6):641-8. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
26. Pineda MC , Lodoño P C. (2009). Obtención de células madre de tejido adiposo y su potencial de diferenciación ontogénico. *Revista de Ingeniería Biomédica*.. 3 (5): 58-65.
27. Meruane M; Rojas ,M. (2010). Células troncales derivadas del tejido adiposo". *Int. J. Morphol*, 28 (3); 879-889.
28. Frese L, Dijkman PE, Hoerstrup SP. (2016) Adipose Tissue-Derived Stem Cells in Regenerative Medicine. *Transfus Med Hemother*.; 43(4):268-274. Epub 2016 Jul 26.
29. Ghiasi M, Kalhor N, Tabatabaei Qomi R, Sheykhasan M.(2016) The effects of synthetic and natural scaffolds on viability and proliferation of adipose-derived stem cells, *Frontiers in Life Science*, 9:1, 32-43, doi: 10.1080/21553769.2015.1077477

30. Lapillonne H, Kobari L, Mazurier C, Tropel P, Giarratana M-C, Zanella-Cleon I, Kiger L, Wattenhofer-Donzé M, Puccio H, Hebert N, Francina A, Andreu G, Viville S, Douay LR (2010). Blood cell generation from human induced pluripotent stem cells: perspectives for transfusion medicine. *Haematologica*; 95(10):1651-1659. doi:10.3324/haematol.2010.023556
31. Menéndez Buján P y cols. Uso de un medio de cultivo condicionado por células madre mesenquimales para la diferenciación de células madre pluripotentes humanas. (2010) WO2011124741 A1. Disponible en: <http://www.google.com/patents/WO2011124741A1?cl=es>
32. Sándor GK, Tuovinen V J, Wolff J, Patrikoski M, Jokinen J, Nieminen E, Mannerström B, Lappalainen OP, Seppänen R, Miettinen S. (2013) Adipose stem cell tissue-engineered construct used to treat large anterior mandibular defect: a case report and review of the clinical application of good manufacturing practice-level adipose stem cells for bone regeneration. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; 71 (5):938–950. doi: 10.1016/j.joms.2012.11.014. Epub 2013 Feb 1.
33. Burdick JA, Vunjak-Novakovic G. (2009) Engineered microenvironments for controlled stem cell differentiation. *Tissue Engineering Part A*. 2(15): 205–219.
34. Wan LQ, Kang SM, Eng G, Grayson WL, Lu XL, Huo B, Gimble J, Guo XE, Mow VC, Vunjak-Novakovic G. (2010). Geometric control of human stem cell morphology and differentiation. *Integr Biol (Camb)*; 2(7-8):346-53. doi: 10.1039/c0ib00016g.
35. Chen G, Lv Y, Guo P, Lin C, Zhang X, Yang L, Xu Z. (2014). Matrix mechanics and fluid shear stress control stem cells fate in three dimensional microenvironment. *Curr Stem Cell Res Ther*; 8(4):313-23.
36. Kim KJ, Joe YA, Kim MK, Lee SJ, Ryu YH, Cho DW, Rhie JW. (2015) Silica nanoparticles increase human adipose tissue-derived stem cell proliferation through ERK1/2 activation. *Int J Nanomedicine*; 10:2261-72. doi: 10.2147/IJN.S71925. eCollection 2015.
37. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD. (2010). Genomic instability--an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol.*; 11(3):220-8. doi: 10.1038/nrm2858.
38. Maitra A, Arking DE, Shivapurkar N, Ikeda M, Stastny V, Kassauei K, Sui G, Cutler DJ, Liu Y, Brimble SN, Noaksson K, Hyllner J, Schulz TC, XiZeng X, Freed WJ, Crook J, Abraham S, Colman A, Sartipy P,

- Matsui S, Carpenter M, Gazdar AF, Rao M, Chakravarti A. (2005). Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nature Genetics* 37, 1099 - 1103 doi:10.1038/ng1631
39. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. (2007) Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.*; 100(9):1249-60.
40. Cui L, Liu B, Liu G, Zhang W, Cen L, Sun J, Yin S, Liu W, Cao Y. (2007) Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials*; 28:5477-86.
41. Mehrabani D, Hassanshahi MA, Tamadon A, Zare S, Keshavarz S, Rahmanifar F, Dianatpour M, Khodabandeh Z, Jahromi I, Tanideh N, Ramzi M, Aqababa H, Kuhi-Hoseinabadi O. (2015) Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells repair germinal cells of seminiferous tubules of busulfan-induced azoospermic rats. *J Hum Reprod Sci.*; 8(2):103-10. doi: 10.4103/0974-1208.158618.
42. Mancheño-Corvo P, Lopez-Santalla M, Menta R, DelaRosa O, Mulero F, Del Rio B, Ramirez C, Büscher D, Bueren JA, Lopez-Belmonte J, Dalemans W, Garin MI, Lombardo E (2017) . Intralymphatic Administration of Adipose Mesenchymal Stem Cells Reduces the Severity of Collagen-Induced Experimental Arthritis. *Front Immunol.*; 21;8:462. doi: 10.3389/fimmu.2017.00462. eCollection 2017.
43. Bacou F, Boubaker el Andaloussi R, Daussin P-A, Micallef J-P, Levin J. M, Chammas M, Casteilla L, Reyne Y, Nougues J. (2004). Transplantation of adipose tissue-derived stromal cells increases mass and functional capacity of damaged skeletal muscle. *Cell Transplant.* 13:103-11.
44. Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, Turc-Carel C, Kurzenne JY, Wdziekonski B, Villageois A, Bagnis C, Breittmayer JP, Groux H, Ailhaud G, Dani C. (2005). Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in immunocompetent mdx mouse. *J. Exp. Med.*; 201(9):1397-405
45. Herthel DJ. (2001). Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cell and other bone marrow components. *AAEP Proceedings*; 47:319-21.

46. Litzke LE, Wagner E, Baumgaertner W, Hetzel U, Josimovic-Alasevic O, Libera J. (2004) Repair of extensive articular cartilage defects in horses by autologous chondrocyte transplantation. *Ann. Biomed. Eng.* 32:57-69.
47. Smok C, Meruane M, Rojas M. (2014). Implantation of Autologous Stem Cells Derived from Adipose Tissue in Rat Bone Fractures. *Int. J. Med. Surg. Sci.*;1(2):105-115.
48. Choi EW, Shin IS, Park SY, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Hong SH. (2014). Characteristics of mouse adipose tissue-derived stem cells and therapeutic comparisons between syngeneic and allogeneic adipose tissue-derived stem cell transplantation in experimental autoimmune thyroiditis. *Cell Transplant.*; 23(7):873-87. doi:0.3727/096368913X664586. Epub 2013 Mar 5.
49. Choi EW, Yun TW, Song JW, Lee M, Yang J, Choi KS. (2015) Preventive effects of CTLA4Ig-overexpressing adipose tissue--derived mesenchymal stromal cells in rheumatoid arthritis. *Cytherapy*; 17(3):271-82. doi: 10.1016/j.jcyt.2014.10.010.
50. Chandra V, G S, Phadnis S, Nair PD, Bhonde RR. (2009). Generation of pancreatic hormone-expressing islet-like cell aggregates from murine adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells*; 27(8):1941-53. doi: 10.1002/stem.11
51. Chandra V, Swetha G, Muthyala S, Jaiswal AK, Bellare JR, Nair PD, Bhonde RR. (2016). Islet-like cell aggregates generated from human adipose tissue derived stem cells ameliorate experimental diabetes in mice. *PLoS One*; 6(6):e20615. doi: 10.1371/journal.pone.0020615
52. Kochegarov A, Lemanski L F. (2016). New Trends in Heart Regeneration: A Review. *Journal of Stem Cells & Regenerative Medicine*, 12(2), 61–68.
53. Singh A, Singh A, Sen, D. (2016). Mesenchymal stem cells in cardiac regeneration: a detailed progress report of the last 6 years (2010–2015). *Stem Cell Research & Therapy*; 7, 82. <http://doi.org/10.1186/s13287-016-0341-0>
54. Gaustad KG, Boquest AC, Anderson BE, Gerdes AM, Collas P. (2004) Differentiation of human adipose tissue stem cells using extracts of rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.*; 314(2):420–7.

55. Hu JJ, Sun C, Lan L, Chen YW, Li DG. (2010) Therapeutic effect of transplanting beta (2) m(-)/Thy1(+) bone marrow-derived hepatocyte stem cells transduced with lentiviral-mediated HGF gene into CCl(4)-injured rats. *J Gene Med.*; 12(3):244-54. doi: 10.1002/jgm.1439.
56. Zhu XY, Zhang XZ, Xu L, Zhong XY, Ding Q, Chen YX.(2009) Transplantation of adipose-derived stem cells overexpressing hHGF into cardiac tissue. *Biochem Biophys Res Commun.*; 20;379(4):1084-90. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.01.019. Epub 2009 Jan 13.
57. Zhu X, Xu L, Liu X, Wu J, Zhu W, Cai X, Sun Z. (2013) Establishment of a lentiviral vector encoding human HGF and the infection of human ADSCs. *Biomed Res Int.*; 2013:724896. doi: 10.1155/2013/724896. Epub 2013 Jan 20.
58. Bagnó LL, Carvalho D, Mesquita F, Louzada RA, Andrade B, Kasai-Brunswick TH, Lago VM, Suhet G, Cipitelli D, Werneck-de-Castro JP, Campos-de-Carvalho AC.(2016) Sustained IGF-1 Secretion by Adipose-Derived Stem Cells Improves Infarcted Heart Function. *Cell Transplant.*; 25(9):1609-1622. Epub 2015 Nov 30.
59. Yang JJ, Yang X, Liu ZQ, Hu SY, Du ZY, Feng LL, Liu JF, Chen YD. (2012). Transplantation of adipose tissue-derived stem cells overexpressing heme oxygenase-1 improves functions and remodeling of infarcted myocardium in rabbits. *Tohoku J Exp Med.*; 226(3):231-41.
60. Mérida I. Bioingeniería y su aplicación en la ortodoncia. *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatria* (2011) Ortodoncia.ws edición electrónica : www.ortodoncia.ws
61. Locke M, Windsor J, Dunbar PR.(2009) Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ J Surg.*; 79:235–244 doi: 10.1111/j.1445-2197.2009.04852.x
62. Zhou D, Cheng H, Liu J, Zhang L. (2017) Establishment of human hair follicle mesenchymal stem cells with overexpressed human hepatocyte growth factor. *Iran J Basic Med Sci.*; 20(6):662-675. doi: 10.22038/IJBMS.2017.8834.
63. Tatullo M, Marrelli M, Paduano F. (2015). The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells. *Int J Med Sci.*; 12(1):72-7. doi: 10.7150/ijms.10706.

64. Feisst V, Meidinger S, Locke M B. (2015) From bench to bedside: use of human adipose-derived stem cells. *Stem Cells and Cloning : Advances and Applications*; 8, 149–162. <http://doi.org/10.2147/SCCAA.S64373>
65. Sushilkumar R, Shabari S, Chandra V. (2015) Potential of Mesenchymal Stem Cell based application in Cancer *International Journal of Hematology- Oncology and Stem Cell Research*; 9(2):95-103
66. Wei HJ, Zeng R, Lu JH, Lai WF, Chen WH, Liu HY, Chang YT, Deng WP. (2015) Adipose-derived stem cells promote tumor initiation and accelerate tumor growth by interleukin-6 production. *Oncotarget* ; 6: 7713-7726 doi: 10.18632
67. O'Halloran N, Courtney D, Kerin MJ, Lowery AJ. (2017) Adipose-Derived Stem Cells in Novel Approaches to Breast Reconstruction: Their Suitability for Tissue Engineering and Oncological Safety. *Breast Cancer (Auckl)*;11:1178223417726777. doi: 10.1177/1178223417726777. eCollection 2017.
68. Shah K. (2012) Mesenchymal Stem Cells engineered for Cancer Therapy. *Adv Drug Deliv Rev.*; 64(8): 739–748. doi:10.1016/j.addr.2011.06.010.
69. Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, Sullivan A, Brooks MW, Bell GW, Richardson AL, Polyak K, Tubo R, Weinberg RA. (2007) Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*; 449: 557-563.
70. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Frühbeck G. (2013) Adipose tissue immunity and cancer. *Front. Physiol.*, 02 <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00275>
71. Desmouliere A, Guyot C, Gabbiani G. (2004) The stroma reaction myofibroblast: a key player in the control of tumor cell behavior. *Int J Dev Biol.*; 48: 509-517.
72. Orimo A, Weinberg RA. (2006) Stromal fibroblasts in cancer: a novel tumor-promoting cell type. *Cell Cycle*; 5: 1597-1601.
73. Safford KM, Hicok KC, Safford SD, Halvorsen YD, Wilkison WO, Gimble JM, Rice HE. (2002). Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.*; 294:371-379.

74. Kaewsuwan S, Plubrukarn A, Utsintong M, Kim SH, Jeong JH, Cho JG, Park SG, Sung JH. (2016) Interrupting B induces brown adipocyte differentiation and glucose consumption in adipose-derived stem cells. *Mol Med Rep.*; 13(3):2078-86. doi: 10.3892/mmr.2016.4758.
75. Pendleton C, Li Q, Chesler DA, Yuan K, Guerrero-Cazares H, Quinones-Hinojosa A. (2013). Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue vs bone marrow: in vitro comparison of their tropism towards gliomas. *PLoS One*; 8(3):e58198. doi: 10.1371/journal.pone.0058198.
76. Aivaliotis IL, Pateras IS, Papaioannou M, Glytsou C, Kontzoglou K, Johnson EO, Zoumpourlis V. (2012). How do cytokines trigger genomic instability. *J. Biomed Biotechnol.*; 2012:536761. doi: 10.1155/2012/536761.
77. Heo J, Ahn EK, Jeong HG, Kim YH, Leem SH, Lee SJ, Park EK, Yang M. (2013) Transcriptional characterization of Wnt pathway during sequential hepatic differentiation of human embryonic stem cells and adipose tissue-derived stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.*; 434(2):235-40. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.02.109.
78. Lakshmi pathy U, Hart RP. (2008). Concise review: MicroRNA expression in multipotent mesenchymal stromal cells, *STEM CELLS*; 2(26):, 356–363
79. Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. (2006) Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. *Immunol Lett.*; 107: 102-108.
80. Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. (2010) Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics.*; 73(10):1907-20. doi: 10.1016/j.jprot.2010.06.006.
81. Ataman MG, Uysal CA, Ertas NM, Bayraktar N, Terzi A, Borman H. (2016) The effect of adipose stromal vascular fraction on transverse rectus abdominis musculocutaneous flap: an experimental study. *J Plast Surg Hand Surg.*; 24:1-9.
82. Combella E, Jessop Z, Naderi N, Griffin M, Dobbs T, Ibrahim A, Evans S, Burnell S, Doak S, Whitaker L. (2016) Adipose regeneration and implications for breast reconstruction: update and the future. *Gland Surg.*; 5(2): 227–241. doi: 10.3978/j.issn.2227-684X.2016.01.01
83. Waked K, Colle J, Doornaert M, Cocquyt V, Blondeel P. (2016) Systematic review: The oncological safety of adipose fat transfer after breast cancer surgery. *Breast*; 2017 Feb; 31:128-136. doi: 10.1016/j.breast.11.001. Epub 2016 Nov 10.

84. De Decker M, De Schrijver L, Thiessen F, Tondu T, Van Goethem M, Tjalma WA. (2016) Breast cancer and fat grafting: efficacy, safety and complications-a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*; 207:100-108. doi:10.1016/j.ejogrb.2016.10.032. Epub 2016 Oct 28
85. Na YK, Ban JJ, Lee M, Im W, Kim M. (2017). *Wound healing potential of adipose tissue ítem cell extract. Biochem Biophys Res Commun.*; 5;485(1):30-34. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.103. Epub 2017 Jan 27.
86. Dougherty, J. A., Mergaye, M., Kumar, N., Chen, C.-A., Angelos, M. G., & Khan, M. (2017) Potential Role of Exosomes in Mending a Broken Heart: Nanoshuttles Propelling Future Clinical Therapeutics Forward. *Stem Cells International*; 2017, 5785436. <http://doi.org/10.1155/2017/5785436>
87. Tamama, K, Kerpedjieva SS.(2012) Acceleration of Wound Healing by Multiple Growth Factors and Cytokines Secreted from Multipotential Stromal Cells/Mesenchymal Stem Cells *Adv Wound Care (New Rochelle).*; 1(4): 177–182.
88. Overman JR, Helder MN, ten Bruggenkate CM, Schulten EA, Klein-Nulend J, Bakker AD. (2013) Growth factor gene expression profiles of bone morphogenetic protein-2-treated human adipose stem cells seeded on calcium phosphate scaffolds in vitro. *Biochimie.*; 95(12):2304-13. doi: 10.1016/j.biochi.2013.08.034.
89. Brini AT, Amodeo G, Ferreira LM, Milani A, Niada S, Moschetti G, Franchi S, Borsani E, Rodella LF, Panerai AE, Sacerdote P. (2017) Therapeutic effect of human adipose-derived stem cells and their secretome in experimental diabetic pain. *Sci Rep.*; 29; 7(1):9904. doi: 10.1038/s41598-017-09487-5.
90. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R.(2017) Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.*; 25; 18(9). pii: E1852. doi: 10.3390/ijms18091852. Review.
91. Xia X, Chiu PWY, Lam PK, Chin WC, Ng EKW, Lau JYW. (2018) Secretome from hypoxia-conditioned adipose-derived mesenchymal stem cells promotes the healing of gastric mucosal injury in a rodent model. *Biochim Biophys Acta.*; 1864(1):178-188. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.10.009. Epub 2017 Oct 6.

92. Chae DS, Han S, Son M, Kim SW. (2017) Stromal vascular fraction shows robust wound healing through high chemotactic and epithelialization property. *Cytotherapy*; 19(4):543-554. doi: 10.1016/j.jcyt.2017.01.006. Epub 2017 Feb 13.
93. Li Q, Guo Y, Chen F, Liu J, Jin P. (2016) Stromal cell-derived factor-1 promotes human adipose tissue-derived stem cell survival and chronic wound healing. *Exp Ther Med.*;12(1):45-50. Epub 2016 May 4.
94. Li Y, Zhang W, Gao J, Liu J, Wang H, Li J, Yang X, He T, Guan H, Zheng Z, Han S, Dong M, Han J, Shi J, Hu D. (2016) Adipose tissue-derived stem cells suppress hypertrophic scar fibrosis via the p38/MAPK signaling pathway. *Stem Cell Res Ther.*; 2;7(1):102. doi: 10.1186/s13287-016-0356-6.
95. Wang L, Hu L, Zhou X, Xiong Z, Zhang C, Shehada HMA, Hu B, Song J, Chen L. (2017) Exosomes secreted by human adipose mesenchymal stem cells promote scarless cutaneous repair by regulating extracellular matrix remodelling. *Sci Rep.*; 17;7(1):13321. doi: 10.1038/s41598-017-12919-x.
96. Condé-Green A, Marano AA, Lee ES, Reisler T, Price LA, Milner SM, Granick MS. (2016) Fat Grafting and Adipose-Derived Regenerative Cells in Burn Wound Healing and Scarring: A Systematic Review of the Literature. *Plast Reconstr Surg.*; 137(1):302-12. doi: 10.1097/PRS.0000000000001918.
97. Katsuda T, Oki K, Ochiya T. (2015) Potential application of extracellular vesicles of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease therapeutics. *Methods Mol Biol.*; 1212:171-81. doi: 10.1007/7651_2014_98.
98. Shalaby SM, Sabbah NA, Saber T, Abdel Hamid RA.(2016) Adipose-derived mesenchymal stem cells modulate the immune response in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis model. *IUBMB Life.* 68(2):106-15. doi:10.1002/iub.1469. Epub 2016 Jan 12.
99. Maria AT, Maumus M, Le Quellec A, Jorgensen C, Noël D, Guilpain P. (2017) Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune Disorders: State of the Art and Perspectives for Systemic Sclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 52(2):234-259. doi: 10.1007/s12016-016-8552-9.
100. Bashar AE, Metcalfe AL, Viringipurampeer IA, Yanai A, Gregory-Evans CY, Gregory-Evans K. (2016) An ex vivo gene therapy approach in X-linked retinoschisis. *Mol Vis.*; 24;22:718-33. eCollection 2016.

101. Mangraviti A, Tzeng SY, Gullotti D, Kozielski KL, Kim JE, Seng M, Abbadi S, Schiapparelli P, Sarabia-Estrada R, Vescovi A, Brem H, Olivi A, Tyler B, Green JJ, Quinones-Hinojosa A. (2016) Non-virally engineered human adipose mesenchymal stem cells produce BMP4, target brain tumors, and extend survival. *Biomaterials*. 100:53-66. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.05.025. Epub 2016 May 21.
102. Choi SA, Lee YE, Kwak PA, Lee JY, Kim SS, Lee SJ, Phi JH, Wang KC, Song J, Song SH, Joo KM, Kim SK. (2015) Clinically applicable human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells delivering therapeutic genes to brainstem gliomas. *Cancer Gene Ther.*; 22(6):302-11. doi: 10.1038/cgt.2015.25. Epub 2015 May 29.
103. Huynh NC, Everts V, Ampornaramveth RS. (2017) Histone deacetylases and their roles in mineralized tissue regeneration. *Bone Rep.* 16; 7:33-40. doi:10.1016/j.bonr.2017.08.001. eCollection 2017 Dec.
104. Ge W, Liu Y, Chen T, Zhang X, Lv L, Jin C, Jiang Y, Shi L, Zhou Y. (2014) The epigenetic promotion of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by the genetic and chemical blockade of histone demethylase LSD1. *Biomaterials.*; 35(23):6015-25. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.055. Epub 2014 May 1.