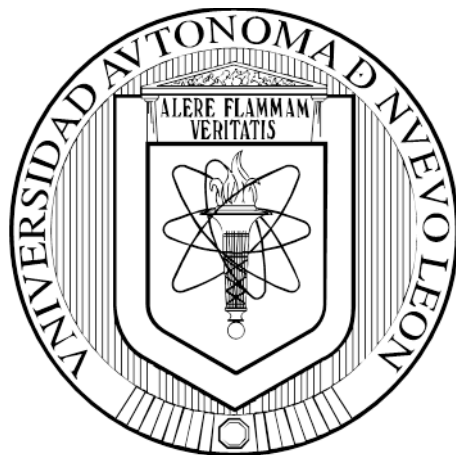


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS

**“EFECTO DE LA REFRIGERACIÓN EN LA VIABILIDAD Y APOPTOSIS
DE ADIPOCITOS DECANTADOS DESPUÉS DE LA LIPOSUCCIÓN”**

POR

MCM. GABRIEL ANGEL MECOTT RIVERA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

SEPTIEMBRE, 2019

**“EFECTO DE LA REFRIGERACIÓN EN LA VIABILIDAD Y APOPTOSIS
DE ADIPOCITOS DECANTADOS DESPUÉS DE LA LIPOSUCCIÓN”**

Aprobación de la tesis:

Dr. med. HERNÁN CHACÓN MARTÍNEZ
Director de la tesis

Dr. med. ROBERTO MONTES DE OCA LUNA
Miembro

Dr. med. JOSÉ FÉLIX VÍLCHEZ CAVAZOS
Miembro

Dr. med. RODRIGO ENRIQUE ELIZONDO OMAÑA
Miembro

Dr. med. YANKO CASTRO GOVEA
Miembro

Dr. med. FELIPE ARTURO MORALES MARTÍNEZ
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es sólo la parte final de un camino muy largo de sueños, esfuerzos, flaquezas y el apoyo de mucha gente que me dio el ánimo y la motivación a seguir adelante cuando todo se veía más difícil y parecía que perdía la motivación para seguir adelante.

La lista de agradecimientos sería interminable si me propusiera nombrar a todos los que han contribuido en mayor o menor grado en esta meta que está por lograrse. Sin embargo, después de dios, tengo que nombrar a mi familia y de ellos, a mi esposa. Ella fue la que me motivó, y casi obligó a iniciar y terminar mi maestría, que fue el parteaguas de mi doctorado. Siguió retándome y motivándome a seguir adelante y definitivamente sin toda su energía no hubiera llegado a donde estoy. Tuve que ser el ejemplo de mis hijas, darle la satisfacción a mi madre y siempre me motivó compartir estos sentimientos con mis hermanos, los cuales estoy seguro lo sentirán como un logro de ellos también. Mi cuñado fue siempre una fuente de inspiración y modelo a seguir al haber pasado por este camino antes que todos nosotros, y de manera brillante.

A todos mis profesores agradezco su apoyo desde la residencia, pero sobre todo al Dr. Hernán Chacón Martínez por haber aceptado ser mi director de Tesis.

Siempre me apoyó y sólo me facilitaba las cosas para que todo se hiciera de la mejor manera posible.

Agradezco a todos los miembros del comité doctoral, todos ellos compañeros que me han apoyado para terminar de la mejor manera con esta encomienda.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I	Página
RESÚMEN	7
CAPÍTULO II	
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES	10
a) Antecedentes Generales	10
b) Antecedentes Directos	16
JUSTIFICACION	20
MARCO DE REFERENCIA	21
CAPÍTULO III	
HIPÓTESIS	24
CAPÍTULO IV	
OBJETIVOS	25
CAPÍTULO V	
MATERIAL Y MÉTODOS	26
CAPÍTULO VI	
RESULTADOS	33

CAPÍTULO VII	
DISCUSIÓN	34
CAPÍTULO VIII	
CONCLUSIÓN	37
CAPÍTULO IX	
ANEXOS	38
CAPÍTULO X	
BIBLIOGRAFÍA	41
CAPÍTULO XI	
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.....	38
2.....	39
3.....	40

CAPÍTULO I

RESÚMEN

Objetivo. Evaluar el efecto de la refrigeración en la apoptosis y viabilidad del lipoaspirado en las primeras 2 horas después de su toma.

Métodos. Se incluyeron 20 pacientes consecutivos que se sometieron a una liposucción abdominal por razones estéticas fueron incluidos. Se obtuvieron y procesaron 5 mL de grasa para el estudio. La viabilidad fue calculada usando azul de tripano. La apoptosis fue determinada utilizando el ensayo TUNEL.

Resultados. Todos los pacientes fueron femeninos con una edad media de 36.5 (21-67) años. En cuanto a la viabilidad, al tiempo 0, la viabilidad en el grupo control fue de $59.08 \pm 24\%$ y de $60.96 \pm 22\%$ en el grupo de refrigeración. A los 60 minutos, los valores fueron $50.82 \pm 21\%$ contra $55 \pm 32.6\%$ ($p=0.74$) y a los 120 minutos, $42.69 \pm 20.85\%$ y $50.33 \pm 21\%$ respectivamente. En cuanto a la Apoptosis, el porcentaje de células apoptóticas al tiempo 0 fue de $37.87\% \pm 9.7\%$ para el grupo control y de $34.28 \pm 9.74\%$ para las muestras refrigeradas. A los 60 minutos, $51.11 \pm 8.64\%$ contra $45.94\% \pm 9.15\%$ y a los 120 minutos, $62.97\% \pm 13.33\%$ y $55.81 \pm 9.45\%$ respectivamente.

Conclusiones. Refrigerar el lipoaspirado a 4°C disminuyó la mortalidad y la apoptosis de los adipocitos en menos del 10% dentro de las primeras 2 horas de su toma, la diferencia no fue significativa. Se necesitan estudios más grandes para lograr significancia.

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

Introducción

El uso de grasa autóloga se usa cada vez más en la cirugía estética y reconstructiva, a manera de injerto, para proporcionar volumen en aquellas zonas que lo requieran. Esta técnica floreció debido a su disponibilidad y relativamente bajo costo en obtención, ya que el mismo tejido del paciente es utilizado para dar contorno y sin las complicaciones posibles de los rellenos no autólogos.

Los usos de los injertos grasos son muy variados. Se ha utilizado para rellenar defectos óseos y anquilosis de articulaciones (1-17); para tratar defectos del cráneo, duramadre y cerebro (18-20); defectos pleurales y condiciones pulmonares (21-26). También se han descrito para rellenar defectos por enucleación de ojos (27-33), sinusitis frontal, defectos abdominales (34), heridas perineovaginales, defectos por prostatectomías y muchas otras aplicaciones. En cirugía plástica, el uso de estos injertos es muy variado y día a día aumenta la cantidad de procedimientos en los que pueden ser utilizados. Además de su evidente uso en la cirugía estética, su uso en cirugía reconstructiva es muy variado. Por ejemplo, se ha descrito su uso para dar contorno a cicatrices de diferentes tipos incluyendo paladar hendido (35), defectos cosméticos de los pabellones auriculares, defectos postraumáticos, atrofia facial; reconstrucción mamaria como micromastia (36), mama tuberosa, síndrome de Poland, deformidades postmastectomía y postlumpectomía, entre otros.

La historia del uso de injertos grasos se remonta a 1889 por Van der Meulen (37) quien colocó un injerto de omento entre el hígado y el diafragma. En 1893 Neuber (38) realizó el primer autoinjerto de grasa libre en humanos colocando pequeños injertos grasos para llenar depresiones en tejidos blandos, reportando excelentes resultados estéticos. Sin embargo, al tratar de utilizar injertos más grandes obtuvo menor éxito y concluyó que los injertos que fueran más grandes que una almendra tendrían resultados que no serían satisfactorios.

En 1910 Lexer (39) describió el uso de injertos grasos para corregir fracturas hundidas del hueso cigomático. Diez años después (40) mencionó que esta técnica podía ser mejorada al realizar el explante e implante del tejido de la manera menos traumática posible. Además, agregó que, debido a la reabsorción del tejido graso, era necesaria la sobrecorrección del defecto para obtener buenos resultados (41). Peer, en 1956, sostuvo que en promedio el 50% de las células grasas sobrevivían al realizar un autoinjerto. También definió la teoría de la supervivencia, en la que establecía que el número de adipocitos viables el momento de la colocación del injerto se correlacionaría con el volumen final que sobreviviría del mismo (42).

Aún hoy en día, el trasplante de grasa frecuentemente tiene resultados poco confiables debido a la reabsorción y pérdida de volumen que sufre. Por lo que cada día se realizan esfuerzos para entender e identificar maniobras que puedan minimizar la reabsorción y puedan proveer resultados más predecibles y confiables. Nosotros hemos demostrado que la viabilidad de la grasa disminuye directamente proporcional al tiempo que la grasa se mantiene en decantación y la apoptosis de los adipocitos se incrementa de igual manera (43), por lo que

cualquier maniobra que mejore la sobrevida de las células pudiera incrementar la sobrevida de los injertos. Debido a que uno de los métodos más utilizados para preservar tejidos es la refrigeración. el presente estudio intenta determinar si la refrigeración de los adipocitos mejora la proporción de adipocitos viables durante la decantación.

Antecedentes

a) Antecedentes Generales:

La aplicación de injertos grasos, también conocida como lipoinjerto o lipotransferencia, es una técnica cada vez más común en cirugía plástica y se utiliza tanto en procedimientos de cirugía estética como de reconstructiva (44). El objetivo principal de esta técnica quirúrgica es la transferencia de la grasa, usualmente subcutánea, de un área corporal a otra que desea aumentarse de volumen.

Los primeros usos de la grasa con este fin se remontan a 1893 (45), cuando un cirujano plástico alemán, el Dr. Gustav Neuber (1850 -1932) transfirió grasa del brazo a la región orbitaria para corregir cicatrices posteriores a osteomielitis. El mismo Neuber reportó posteriormente múltiples complicaciones, incluyendo infección, necrosis grasa y resultados cosméticos aceptables. Incluso, sugirió que muchas de estas complicaciones podrían haberse evitado, o minimizado, al usar injertos más pequeños ya que los injertos más grandes fallaban casi inevitablemente (46).

Posteriormente, sólo dos años después el Dr. Viktor Czerny transfirió un lipoma del brazo al pecho para mejorar la simetría del busto de una paciente posterior a una mastectomía parcial. (47)

Sin embargo, los pobres resultados obtenidos desde entonces hicieron que esta técnica no tuviera gran aceptación en la práctica médica por más de 100 años.

Fue hasta finales del siglo pasado, cuando la liposucción estética se generalizó y se mejoraron los conocimientos de la biología de los injertos, que la transferencia de grasa tuvo un nuevo interés en la práctica médica. Illouz fue el primero en documentar un intento de autotransplante de la grasa posterior a una liposucción en 1984 (48). Dos años después, Ellenbogen reportó el uso de “perlas” de grasa como autoinjerto para corrección de defectos faciales traumáticos y congénitos (49) y a partir de entonces la experiencia con los injertos grasos ha tenido mejores resultados y se ha utilizado en un número cada vez mayor de entidades clínicas.

Al día de hoy, algunas de las áreas donde se han utilizado incluyen rejuvenecimiento facial, (50,51) cirugía craneofacial, (52) aumento y corrección mamaria, (53,54) aumento de glúteos (55,56) y cirugía regenerativa, (57) entre otras.

La creciente popularidad de la grasa como relleno es debido a que, al ser un tejido autólogo, pudiera considerarse como el relleno tisular ideal. Esto es debido a su abundancia, facilidad de obtención, ser relativamente barato (58) y que puede tomarse fácil y repetitivamente. Adicionalmente, es compatible con el

huésped lo que se traduce en una ausencia de rechazo (59) y una vez integrado permanece por un tiempo indefinido (60).

Sin embargo, uno de los principales problemas de este método es que el resultado final es muy impredecible, esto por la gran variabilidad en la cantidad de grasa reabsorbida, la cual ha sido reportada entre un 30% a 89% dependiendo de la serie (61–67).

En general, la pérdida de volumen graso, vía reabsorción o necrosis, es la causa primaria de resultados pobres para este procedimiento (68). Esto se traduce en asimetrías y complicaciones, que requieren corrección con cirugías subsecuentes. Se ha descrito que la pérdida del volumen de la grasa trasplantada ocurre en 2 etapas. En la primera, hay una reducción aguda del número de células, seguida de la resorción de quistes oleosos formados por los adipocitos no viables (69).

Los factores que influyen en la pérdida de los injertos grasos pueden presentarse durante todo el proceso que involucra el injerto graso, es decir: la obtención, el procesamiento, la técnica de aplicación y factores propios del paciente. Se han descrito múltiples variables que pueden afectar la viabilidad de los adipocitos en cada uno de los aspectos mencionados previamente. Una de las teorías más aceptadas para explicar la absorción de la grasa está basada en la teoría de la sobrevida celular de Peer, que menciona que el número de adipocitos viables al momento del trasplante puede correlacionarse con el volumen final de la grasa (70).

Efectos de la técnica de aspirado

La lipoaspiración de grasa se realiza típicamente a una presión negativa cercana a una atmósfera (760mmHg) (60,71), sin embargo, existen estudios que sugieren que diferentes presiones pueden modificar la viabilidad de los adipocitos, y por ende, su resultado final.

Cheriyán y colaboradores compararon la viabilidad de lipoaspirados obtenidos a una presión de -760 mmHg y -250 mmHg. En su estudio, los autores encontraron que las muestras aspiradas a -250mmHg tuvieron una viabilidad celular superior al de las muestras aspiradas a -760mmHg al inicio (>80% vs < 40%) y durante cada día del estudio, siendo la viabilidad de 60% vs 3.1% al día 7, respectivamente (72). Adicionalmente, encontraron que el conteo inmediato después de la aspiración fue 47% más alto en el grupo de baja presión en comparación con el grupo de alta presión ($p=0.002$).

De igual manera, Niechajev y Sevcuk demostraron una mejor supervivencia de los adipocitos aspirados a -380mmHg en comparación a -722mmHg (73). Adicionalmente, describieron que aproximadamente un tercio de los adipocitos aspirados no soportaron el trauma de la extracción a -635mmHg.

Por otro lado, Lee y colaboradores estudiaron la histología de adipocitos aspirados de panículos adiposos escindidos mediante abdominoplastías. Ellos encontraron que la apariencia histológica era similar cuando se aspiraba la grasa a 635mmHg (presión negativa) que cuando se usaba una presión negativa de 381mmHg.

También se ha estudiado el efecto del tamaño de la cánula de liposucción en la supervivencia de los adipocitos. Erdim y colaboradores realizaron un estudio en el que obtuvieron lipoaspirados con cánulas de liposucción de 2, 4 y 6 mm de

diámetro. Posteriormente evaluaron la cantidad de adipocitos viables tiñéndolos con azul supravital y contándolos con un hemocitómetro. Al finalizar el estudio, los autores demostraron que las muestras obtenidas con cánulas de 6 mm presentaban una mayor viabilidad celular. (74)

Procesamiento del lipoaspirado.

El lipoaspirado que se obtiene durante la liposucción consiste en grasa (adipocitos y aceite), sangre y parte de la solución infiltrada para favorecer la hemostasia. (75) Esta suspensión se puede decantar, filtrar o centrifugar para separar la grasa del resto de los componentes del lipoaspirado. La velocidad de la centrifugación se ha asociado con daño a las células, por lo que se ha recomendado usar una fuerza de 50g para disminuir la cantidad de aceite, y por ende de adipocitos lisados, en el aspirado. (75)

Una vez centrifugada la muestra por 2 minutos, se ha descrito que las capas más profundas de la porción grasa tienen mayor viabilidad: aproximadamente 250% más células viables que en la capa superficial. Interesantemente, en dicho estudio los autores no encontraron diferencias adicionales con mayor tiempo de centrifugación. (75)

En el procesado de la grasa, Tuin y colaboradores realizaron una revisión sistemática buscando el método que mantiene la mayor viabilidad celular y el mayor número de células madre derivadas de adipocitos. Ellos encontraron que la técnica de separación por permeabilidad con una gasa/toalla es superior a la centrifugación para mantener la viabilidad de los lipoaspirados. (76) Otra técnica que se ha estudiado es la conservación de los aspirados a bajas temperaturas.

Lee y colaboradores realizaron un estudio in vitro donde estudiaron los efectos de la criopreservación en la histología y la viabilidad de adipocitos. En su estudio no encontraron diferencias en la histología celular al comparar las muestras criopreservadas con muestras frescas. Sin embargo, hubo una diferencia significativa al evaluar marcadores de viabilidad celular. (77) Incluso se ha estudiado el efecto del método de descongelación. Hwang y colaboradores estudiaron la tasa de supervivencia de adipocitos descongelados a diferentes velocidades y temperaturas. Ellos encontraron que la técnica de descongelamiento tiene consecuencias significativas sobre la viabilidad celular y la actividad mitocondrial de los adipocitos. (78)

Efecto de la técnica de aplicación

Como todos los injertos, la supervivencia inicial de los injertos grasos depende de la imbibición plasmática desde los bordes, por lo que injertos más pequeños tienen mayor posibilidad de sobrevivir (73) La revascularización de los injertos se ha visto a partir de las 48 horas en injertos pequeños (79). Los injertos más grandes producen licuefacción, necrosis y formación de quistes y los más pequeños se vascularizan más rápido debido a que más células tienen contacto con la vasculatura del lecho receptor. (80)

En la técnica de aplicación del injerto, Chung y colaboradores compararon dos métodos de inyección de grasa y encontraron diferencias significativas al evaluar la viabilidad y proliferación celular. También observaron una cantidad de lipólisis significativamente inferior en el grupo donde utilizaron un inyector automatizado. (81)

En cuanto al sitio de la toma Rohrich y colaboradores demostraron que no había diferencias significativas en la viabilidad de adipocitos obtenidos por aspiración del abdomen, flancos, muslos y rodillas. (82)

Se ha descrito que cuando los adipocitos no sobreviven producen una respuesta inflamatoria exagerada y factores apoptóticos que disminuyen la sobrevivencia del injerto. (75)

b) Antecedentes Directos:

Enfoque del estudio

Dentro de las causas de pérdida de injerto graso previamente mencionadas, decidimos enfocarnos en el estudio de las técnicas del procesamiento de lipoaspirado que pudieran preservar la viabilidad de los adipocitos posterior a su obtención. Nosotros hemos comprobado que al mantener la grasa aspirada a temperatura ambiente se disminuye la cantidad de adipocitos viables hasta en un 50% en un periodo de dos horas (en proceso de publicación). Debido a esto es patente que se debe mejorar el proceso de preservación de las células grasas previos a su aplicación.

Dentro de los procesos que pudieran mejorar la viabilidad de la grasa lipoaspirada, la refrigeración/criopreservación de injertos grasos ha sido descrita. (74,83–85) Sin embargo, este es un tema relativamente nuevo y son pocos los estudios que se han realizado al respecto. El primer trabajo que se enfocó específicamente en los efectos de la preservación de adipocitos mediante refrigeración fue un modelo animal publicado en el año 2000. En ese estudio

Lidagoster y colaboradores realizaron lipoaspiración en ratas Sprague-Dawley y almacenaron las muestras a 1 C y -16 C por un periodo de 1 a 2 semanas. Posteriormente reinjertaron estos lipoaspirados y evaluaron las diferencias histológicamente. Después compararon los resultados obtenidos con una muestra control que reinjertaron inmediatamente después de la toma. Al final ellos demostraron una disminución en la viabilidad de los adipocitos y un aumento de la inflamación en la grasa almacenada por 1 a 2 semanas. (85) Posteriormente en el mismo año, Bertossi y colaboradores publicaron un trabajo estudiando la utilidad in vivo de la criopreservación de grasa. Ellos almacenaron la grasa a -30 C y realizaron lipoinfiltraciones cada 20 días. Después de dar seguimiento a los pacientes y realizar exámenes histológicos, los autores concluyeron que los resultados clínicos fueron buenos utilizando esta técnica. (86)

Desde entonces se han publicado numerosos trabajos buscando la temperatura ideal para preservar la grasa. Gran parte de estos estudios se enfocan en los efectos de la refrigeración en las células madre derivadas de adipocitos. Minonzio comparó lipoaspirados criopreservando muestras a una temperatura de -100 C y evaluando la viabilidad de células madre derivadas de adipocitos antes y después de congelar las muestras. (87) Lee y colaboradores congelaron muestras a -20 C y -80 en un periodo de 7 días, 1, 2 y 3 meses y 1 año. En este estudio observaron la viabilidad celular y concluyeron que cuando las muestras se preservan por un periodo largo los crioprotectores tienen una función vital. (88) Wang estudió la viabilidad de células madre derivadas de adipocitos en muestras almacenadas con y sin un agente crioprotector y a una temperatura de -80 C por un periodo de un mes. Para comparar sus resultados utilizaron un grupo

control en el que la muestra fue procesada inmediatamente. A la evaluación no encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo almacenado a -80 °C con un agente crioprotector. Sin embargo, el grupo que se almaceno sin crioprotector presento una disminución en la viabilidad de la fracción vascular estromal y de las células madres derivadas de los adipocitos. (89) De los estudios que incluyen la evaluación de los adipocitos, la mayoría usan controles “frescos” evaluados en las primeras 24 horas y las comparan con muestras criopreservadas a una o dos semanas y a temperaturas que van desde 4 °C hasta -180 °C. (74,83,90,91)

Encontramos algunos estudios en muestras preservadas por menos tiempo. Cui y colaboradores realizaron un estudio in vitro y otro in vivo para evaluar la viabilidad de los adipocitos en horas después de la criopreservación con diferentes agentes crioprotectores. En el estudio in vitro, ellos obtuvieron muestras de lipoaspirados para ser procesadas y congeladas a una temperatura de -140 °C en nitrógeno líquido. Después de mantener las muestras en nitrógeno líquido por 30 minutos los autores las expusieron a temperatura ambiente para el proceso de descongelación. Posteriormente se analizó la cantidad de adipocitos viables al microscopio. En sus resultados encontraron diferencias en la cuenta de viabilidad de adipocitos entre los diferentes agentes para preservación. Desgraciadamente los resultados de este estudio no se pueden extrapolar a muestras preservadas a corto plazo, ya que la temperatura a la que se preservan las muestras y la metodología en el procesamiento hacen que se considere como un almacenamiento a largo plazo. (92)

Wang y colaboradores realizaron un trabajo evaluando el efecto de la refrigeración en la viabilidad de los adipocitos a un periodo relativamente corto. Ellos obtuvieron lipoaspirados que fueron divididos en 5 partes cada uno. Una parte del lipoaspirado se procesó inmediatamente y fue usada como control. Las partes restantes se conservaron a una temperatura de 2-8 °C y se procesaron a las 24, 48, 72 y 96 horas respectivamente. Se determinó la viabilidad de los adipocitos con la actividad de la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH), la cual es usada usualmente para evaluar la biosíntesis de grasa en adipocitos. Utilizando este método, ellos encontraron que las muestras refrigeradas sufrieron un decremento en la actividad de la G3PDH, pero solo hubo diferencia significativa entre la muestra control y la procesada a las 96 horas. Aunque este estudio sirve como antecedente, la metodología para evaluar la viabilidad de los adipocitos y el tiempo de preservación es diferente. (93)

Matsumoto y colaboradores obtuvieron lipoaspirados para preservarlos a temperatura ambiente por 1, 2, 4 y 24 horas, a 4 °C por 1, 2 y 3 días y a -80 °C por 1 mes. Ellos evaluaron cambios morfológicos mediante microscopia electrónica. (84) Para evaluar el daño a los adipocitos utilizaron la actividad de la G3PDH y la proporción de volumen de aceite después de la centrifugación, basándose en el trabajo de Boschert. (75) La proporción de volumen de aceite se calculó dividiendo el volumen de aceite entre el volumen de aceite sumado al volumen de grasa. En los resultados no encontraron diferencias en la morfología de los adipocitos al examinar las muestras al microscopio. La actividad de la G3PDH disminuyó y la proporción de aceite aumentó en las muestras preservadas por más tiempo. Desafortunadamente solo las muestras conservadas a temperatura ambiente se

evaluaron en las primeras horas y no fueron comparadas en el mismo periodo de tiempo con muestras refrigeradas. (84)

Justificación

La aplicación de injertos grasos es una técnica cada vez más común en cirugía plástica y se utiliza tanto en procedimientos de cirugía estética como de reconstructiva. Sin embargo, uno de los principales problemas de este método es que el resultado final es muy impredecible, esto es debido por la gran variabilidad en la cantidad de grasa reabsorbida que se tiene con las técnicas convencionales.

En general, la pérdida de volumen graso, vía reabsorción o necrosis, es la causa primaria de resultados pobres para este procedimiento. Esto se traduce en asimetrías y complicaciones, que requieren corrección con cirugías subsecuentes.

En consecuencia, el enfoque de los estudios actuales sobre injertos grasos se centra en los métodos que pudieran mejorar la sobrevida y resultado final de la grasa injertada. A la fecha, se han descrito diversos métodos de recolección y de procesamiento de la grasa lipoaspirada que han permitido la estandarización de la toma y procesamiento de esta. Sin embargo, nosotros hemos demostrado en un estudio previo que la grasa obtenida tiene un alto porcentaje de células no viables o en proceso de apoptosis. Adicionalmente al trauma de la extracción, los adipocitos son dejados habitualmente en decantación hasta por dos horas posteriores a la liposucción mientras se obtiene el volumen de grasa requerida para la infiltración. Este proceso se traduce en una disminución aún mayor de apoptosis y muerte de los adipocitos que serán infiltrados.

La importancia de nuestro estudio radica en que, si nosotros lográramos demostrar que la refrigeración de los lipoaspirados en las primeras horas posteriores a su obtención tiene un efecto favorable en la viabilidad de los adipocitos decantados, en teoría podríamos incrementar las posibilidades de una mayor tasa de supervivencia del injerto graso. Esto es de suma importancia ya que la tasa de pérdida de injertos grasos pudiera disminuirse, por lo menos al tener un mayor número de células viables al momento de la infiltración. Con este método podríamos controlar en mayor medida los resultados de estos procedimientos, con lo que podríamos disminuir las complicaciones, los resultados desfavorables y las reintervenciones. Esto a su vez tendría un impacto en la morbilidad del paciente y también en la cuestión económica, ahorrando tiempo y recursos que tendrían que ser utilizados para corregir o mejorar los resultados obtenidos

Al día de hoy, no hemos encontrado ningún trabajo evaluando el efecto de la refrigeración de lipoaspirados en las primeras horas posteriores a su toma. Por lo tanto, consideramos que éste estudio tiene la originalidad necesaria para ser considerada como un trabajo de investigación factible y relevante. Decidimos entonces realizar el presente estudio para valorar el efecto de la refrigeración en la viabilidad de las células de la grasa en decantación en las primeras dos horas posteriores a la toma.

Marco de Referencia

Necrosis se define a la muerte patológica de una o un conjunto de células provocada por agente nocivo que causa una lesión grave con incapacidad para mantener la integridad de la membrana celular y la consiguiente salida de los elementos citoplasmáticos, desnaturalización de las proteínas por acción de los lisosomas o proveniente de enzimas líticas de leucocitos vecinos. Todos estos cambios condenan a la célula a perder su función específica, y solamente forma parte de restos celulares que serán fagocitados por los macrófagos.

Durante un procedimiento de liposucción y en la búsqueda de realizar un injerto de grasa autólogo la célula grasa sufre un estado de isquemia y una serie de traumatismos que van desde su paso por la cánula y el vacío generado en ésta hasta su aplicación nuevamente en el paciente, con el aumento de presión en la jeringa y el paso nuevamente a través de una cánula para ser colocado en su sitio; no sin antes olvidar el tiempo que permanece en decantación o dependiendo de la técnica de procesamiento el ser colocada en una centrífuga antes de ser aplicado al paciente. Con todo esto podemos observar una gran cantidad de factores nocivos que influyen en el desenlace de la célula: la necrosis o ausencia de viabilidad y con esto la explicación de la pérdida de un injerto graso de hasta en un 50% o más.

Viabilidad se define como la capacidad para sobrevivir de una célula o de un organismo. Existen diferentes métodos para la medición de la viabilidad de una célula. De las más frecuentemente utilizadas en la literatura se encuentran el TB, el cual es un colorante azoico utilizado en tinciones histológicas que permite diferenciar células vivas de muertas, ya que las células que se encuentran vivas no se colorean debido a que la membrana celular intacta es selectiva respecto a

qué compuestos pueden atravesarla por lo tanto no se incorpora la tinción a la célula; sin embargo si llega a atravesar la membrana de las células muertas mostrando un distintivo color azul al microscopio; por lo que también esta técnica recibe el nombre de método de tinción por exclusión.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

Hipótesis

La conservación del lipoaspirado a 4 grados centígrados disminuye la apoptosis y mantiene la viabilidad de los adipocitos durante las primeras dos horas posteriores a su obtención.

Hipótesis Nula

La conservación del lipoaspirado a 4 grados centígrados no disminuye la apoptosis y no mantiene la viabilidad de los adipocitos durante las primeras dos horas posteriores a su obtención.

CAPÍTULO IV

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar si la conservación del lipoaspirado a 4 grados centígrados mantiene la viabilidad y disminuye la apoptosis de adipocitos durante las dos primeras horas.

Objetivos Específicos

1. Obtener el lipoaspirado y conservarlo en dos grupos: el primero a 4°C y el segundo a temperatura ambiente.
2. Determinar la viabilidad de los adipocitos conservados a las diferentes temperaturas (4 grados y temperatura ambiente) con azul de tripano.
3. Analizar la apoptosis de los adipocitos conservados a las diferentes temperaturas mediante la técnica de TUNEL.

Capítulo V

MATERIAL Y MÉTODOS

Metodología

Diseño del Estudio

Estudio experimental, longitudinal, comparativo, prospectivo no cegado.

Población, Muestreo y Muestra

Número de sujetos por incluir y fundamento del cálculo: utilizando una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos, con un valor $z\alpha$ de 1.96 con nivel de significancia del 95% para dos colas, y un valor $z\beta$ de 1.28 con una potencia de 90%, esperando una diferencia de 20% y una desviación estándar de $\pm 10\%$, se obtuvo una muestra de 6 participantes por grupo como mínimo.

Se incluyeron 20 pacientes que experimentaron liposucción en abdomen por razones estéticas.

Criterios de Inclusión

- Adultos (mayores de 18 años)
- Que requieran algún procedimiento que involucre lipoaspirado abdominal
- Cualquier género

- Con Índice de Masa Corporal (IMC) entre 18.5 – 34.9.
- Pacientes que decidan participar en el estudio y firmen consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- Pacientes con antecedente de alguna enfermedad crónica
- Pacientes con antecedente de alguna cirugía en el abdomen o evidencia de infección en el momento de la cirugía.
- Pacientes embarazadas
- Pacientes con enfermedades de tejido conectivo.
- Pacientes con algún tipo de tratamiento médico.
- Pacientes que no firmen consentimiento informado.
- Pacientes con datos de infección en algún sitio

Criterios de Eliminación

- Muestras procesadas con desviaciones al protocolo.

Instrumentos y Mediciones

Previo a los procedimientos se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión mencionados y que aceptaron participar en el estudio, el cual se sometió al comité de ética de nuestra institución para su aprobación.

Obtención de la muestra

- Previo protocolo de asepsia y antisepsia quirúrgicos se infiltró el abdomen con una solución de Klein modificada (1000 cc de solución fisiológica) (PiSA Farmacéutica, Guadalajara, México) más un miligramo de epinefrina (PiSA Farmacéutica, Guadalajara, México)
- Se esperaron 20 minutos antes de iniciar el aspirado para permitir la vasoconstricción.
- Se tomaron las muestras de flanco izquierdo y flanco derecho con una cánula de lipoaspiración tipo Mercedes de 4 mm (Byron Mentor, Santa Bárbara, Estados Unidos) mediante una jeringa de 60 cc (BD México, Ciudad de México, México).
- Estas muestras se asignaron de manera aleatoria mediante una hoja de Excel 2013 (Microsoft, Redmond, Estados Unidos) al grupo control y al grupo de refrigeración.

Procesamiento de la muestra

- Todas las muestras se centrifugaron a 50g por un periodo de 2 minutos y posteriormente se tomó una muestra de un cc de grasa y se colocaron en tubos de ensayo de 5ml.
- De acuerdo con el grupo asignado, las muestras del grupo control permanecieron a temperatura ambiente y del grupo de estudio se mantuvieron a 4 C.
- Se mantuvieron las muestras en reposo, a la temperatura indicada, para su análisis al tiempo 0, 60 y 120 minutos.

Determinación de la viabilidad celular

- Todas las muestras (de ambos grupos) se procesaron de la siguiente manera al tiempo 0, y los 60 y 120 minutos.
- Se digirieron las muestras colocando un cc de la capa adiposa con un cc de Colagenasa tipo I al 0.2% a 37 grados en baño maría por una hora.
- Posterior a la digestión se tiñeron las muestras con tinte azul de tripano en una solución al 0.4%. El número de células viables se determinó con una muestra de 100 microlitros en una dilución 1:1 con azul de tripano y se cuantificó con un hemocitómetro bajo magnificación de 400x
- Se evaluó la cantidad y porcentajes de células viables de cada grupo.
- Se reportaron los valores y se vaciaron en una tabla de EXCEL

Determinación de la apoptosis

- Se utilizó el TACS® 2 TdT-Fluor In Situ Apoptosis Detection Kit (Trevigen Inc., Gaithersburg, USA).
- Se determinaron a través de la técnica de TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT) dUTP Nick end labeling) los sitios de fragmentación del ácido desoxirribonucleico (ADN) en núcleos de células fijadas que estaban cursando apoptosis.
- Se marcaron por inmunofluorescencia los núcleos en apoptosis en color verde y los núcleos de todas las células en azul. (Figura 1)
- Se reportaron los valores de cada grupo y se vaciaron en una tabla de EXCEL para su comparación.

Recolección de datos y análisis final

- Se recolectaron los datos en un formulario donde se incluyó:
 - a) Nombre
 - b) Edad
 - c) Registro hospitalario
 - d) Medición de la viabilidad con azul de tripano a los 0, 60 y 120 minutos
 - e) Medición de la apoptosis con el Kit TUNEL a los 0, 60 y 120 minutos en cada grupo

Estrategia para el Análisis de datos

Las variables continuas serán descritas con medidas de tendencia central como medias y desviación estándar, para las variables categóricas se utilizará porcentajes y frecuencias. Las variables numéricas se compararán con prueba t de Student para muestras independientes en el caso de tener distribución normal, o con u de Mann Whitney en caso de variables no paramétricas. Las variables dicotómicas serán analizadas utilizando Chi cuadrada o test exacto de Fisher en el caso de tablas de 2x2. El análisis estadístico se realizará con IBM SPSS versión 20(SPSS, Inc, Armon, NY).

Consideraciones Éticas

La investigación se apegó a las disposiciones establecidas en el reglamento de la Ley general de Salud en materia de Investigación para la Salud (Secretaría de Salud, 1987) en los siguientes artículos. Título Segundo del Libro:

Artículo 13. Se respetó la dignidad y la protección de los derechos y bienestar del paciente, protegiendo su individualidad durante todos los procedimientos realizados.

Artículo 14.- La Investigación que se realice en seres humanos deberá desarrollarse conforme a las siguientes bases:

I.- Se ajustará a los principios científicos y éticos que la justifiquen;

II.- Se fundamentará en la experimentación previa realizada en animales, en laboratorios o en otros hechos científicos.

III.- Se deberá realizar sólo cuando el conocimiento que se pretenda producir no pueda obtenerse por otro medio idóneo;

V.- Contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación o su representante legal, con las excepciones que este Reglamento señala.

VI.- Deberá ser realizada por profesionales de la salud a que se refiere el artículo 114 de este Reglamento, con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano, bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud que actúe bajo la supervisión de las autoridades sanitarias competentes y que cuente con los recursos humanos

y materiales necesarios, que garanticen el bienestar del sujeto de investigación;

Artículo 16.- En las investigaciones en seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice.

Artículo 18.- El investigador principal suspenderá la investigación de inmediato, al advertir algún riesgo o daño a la salud del sujeto en quien se realice la investigación. Asimismo, será suspendida de inmediato cuando el sujeto de investigación así lo manifieste.

Artículo 20.- Se entiende por consentimiento informado el acuerdo por escrito, mediante el cual el sujeto de investigación o, en su caso, su representante legal autoriza su participación en la investigación, con pleno conocimiento de la naturaleza de los procedimientos y riesgos a los que se someterá, con la capacidad de libre elección y sin coacción alguna.

Artículo 21.- para que el consentimiento informado se considere existente, el sujeto de investigación o, en su caso, su representante legal deberá recibir una explicación clara y completa, de tal forma que pueda comprenderla, en todos los aspectos.

Artículo 22.- El consentimiento informado deberá formularse por escrito y deberá formularse por escrito y reúne todos los requisitos de este artículo.

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

Se incluyeron 20 pacientes en el estudio. No hubo ningún paciente excluido o muestras eliminadas. Todos los pacientes fueron mujeres con una edad media de 36.5 (21-67) años.

En cuanto a la viabilidad, al tiempo 0 (inmediatamente después de la liposucción) la viabilidad de las muestras en el grupo control (temperatura ambiente) fue $59.08 \pm 24\%$ y $60.96 \pm 22\%$ ($p=0.85$) en el grupo de refrigeración. A los 60 minutos después de la toma, la viabilidad del grupo control fue de $50.82 \pm 21\%$ y $55 \pm 32.6\%$ ($p=0.74$) en el grupo de refrigeración. A los 120 minutos, la viabilidad del grupo control fue de $42.69 \pm 20.85\%$ mientras en las muestras refrigeradas fue de $50.33 \pm 21\%$ ($p=0.42$). (Figura 2)

En cuanto a la apoptosis, el porcentaje de células positivas (apoptóticas) al tiempo 0 fue de $37.87\% \pm 9.7\%$ para el grupo control y $34.28 \pm 9.74\%$ ($p=0.53$) en el grupo de refrigeración. A los 60 minutos los valores fueron de $51.11 \pm 8.64\%$ para el grupo control y de $45.94\% \pm 9.15\%$ para el grupo de refrigeración ($p=0.33$). A los 120 minutos, $62.97\% \pm 13.33\%$ de las células eran apoptóticas en el grupo control contra $55.81 \pm 9.45\%$ en el grupo de refrigeración ($p=0.3$). (Figura 3)

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN

El manejo y preparación de la grasa después de la liposucción son algunas de las variables incluidas para el proceso de injerto de grasa, por lo tanto, juegan un papel importante en la supervivencia de los adipocitos. Teniendo en cuenta que la viabilidad de las células disminuye con el tiempo una vez que son privadas del suministro de sangre (84,75) una de las acciones lógicas para disminuir la muerte de las células sería refrigerarlas mientras son recolectadas y preparadas para injertar.

La refrigeración, como método de preservación, es conocido y usado desde tiempos antiguos (94, 95) y es una de las técnicas de preservación básicas en los laboratorios alrededor del mundo. Por ello, conducimos este estudio para valorar si la refrigeración pudiese disminuir la muerte o apoptosis en los adipocitos mientras son preparados para injertarse.

Como se mencionó anteriormente, existen diversos estudios sobre la criopreservación de la grasa, pero la mayoría de ellos fueron orientados a preservar grandes cantidades de grasa por largo tiempo, buscando la reinyección de la grasa conservada en una segunda cirugía. Éste enfoque evidentemente no es aplicable para el entorno quirúrgico común donde la grasa se debe injertar en las primeras horas. Sin embargo, mostraron datos importantes que pudieran ser pertinentes para nuestro estudio. Los estudios de Wang y Matsumoto reportaron

viabilidad a corto plazo y morfología de adipocitos, reportando resultados similares con muestras refrigeradas contra las no refrigeradas (84, 93).

Decidimos estudiar la viabilidad y apoptosis de los adipocitos porque creemos que esto nos va a permitir ver la “imagen completa” del daño a las células. Es decir, la evaluación de viabilidad puede mostrar células vivas (metabólicamente activas) pero en el proceso de apoptosis, enmascarando algún daño de las células. Además, la refrigeración, si es efectiva, podría disminuir la mortalidad o la apoptosis de las células, haciendo relevante evaluar ambos aspectos.

Los resultados mostraron que las muestras refrigeradas tuvieron una mejor supervivencia que las que se dejaron a temperatura ambiente, y que la diferencia aumentó con el tiempo. Sin embargo, la diferencia fue de tan solo 5% a los 60 minutos y de 8% a los 120 minutos, siendo la diferencia no significativa (Figura 2). La apoptosis mostró resultados similares, con diferencia de 6% en la primera hora y de 7% en la segunda hora. De nuevo, no se encontró diferencia significativa ($p>0.05$) (Figura 3). Con estos resultados, calculamos que la muestra requerida para alcanzar diferencia significativa sería de 392 pacientes por grupo. Creemos que la diferencia entre las medias es tan corta que no tiene sentido extender el número de pacientes para lograr importancia.

La tendencia de nuestros resultados es que, a mayor tiempo, habrá mayor diferencia entre muestras refrigeradas y no refrigeradas, de acuerdo con la literatura existente (74, 83-86, 89). Sin embargo, limitamos los tiempos hasta 120 minutos porque ese sería un tiempo razonable para la recolección de grasa en una

liposucción común. Buscar el efecto a largo plazo está más allá del alcance del artículo.

Basado en nuestros resultados, creemos que la refrigeración puede mejorar la viabilidad y disminuir la apoptosis de los adipocitos, pero en menos del 10% a las 2 horas. Entonces, todos deben equilibrar este beneficio con la inversión en equipo y la implementación del proceso para ese propósito dentro de la sala de operaciones.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIÓN

Refrigerar el lipoaspirado a 4°C disminuyó la mortalidad y la apoptosis de los adipocitos en menos del 10% en las primeras 2 horas después de la toma.

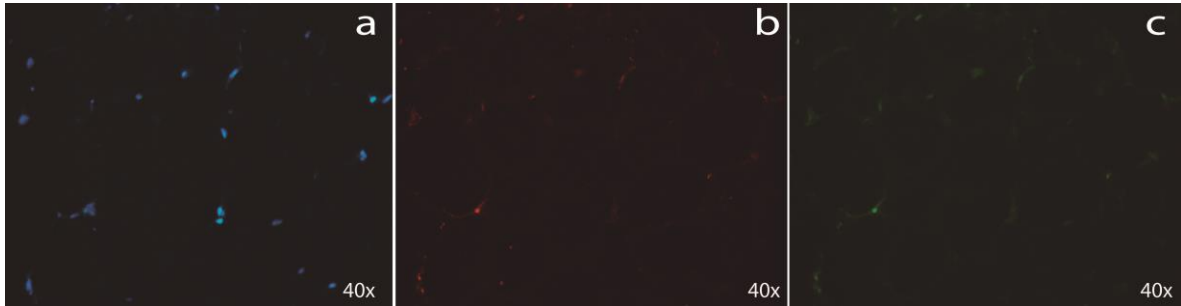
Se necesitan estudios más grandes para lograr significancia estadística.

Se acepta la hipótesis del estudio.

CAPÍTULO IX

ANEXOS

Figura 1

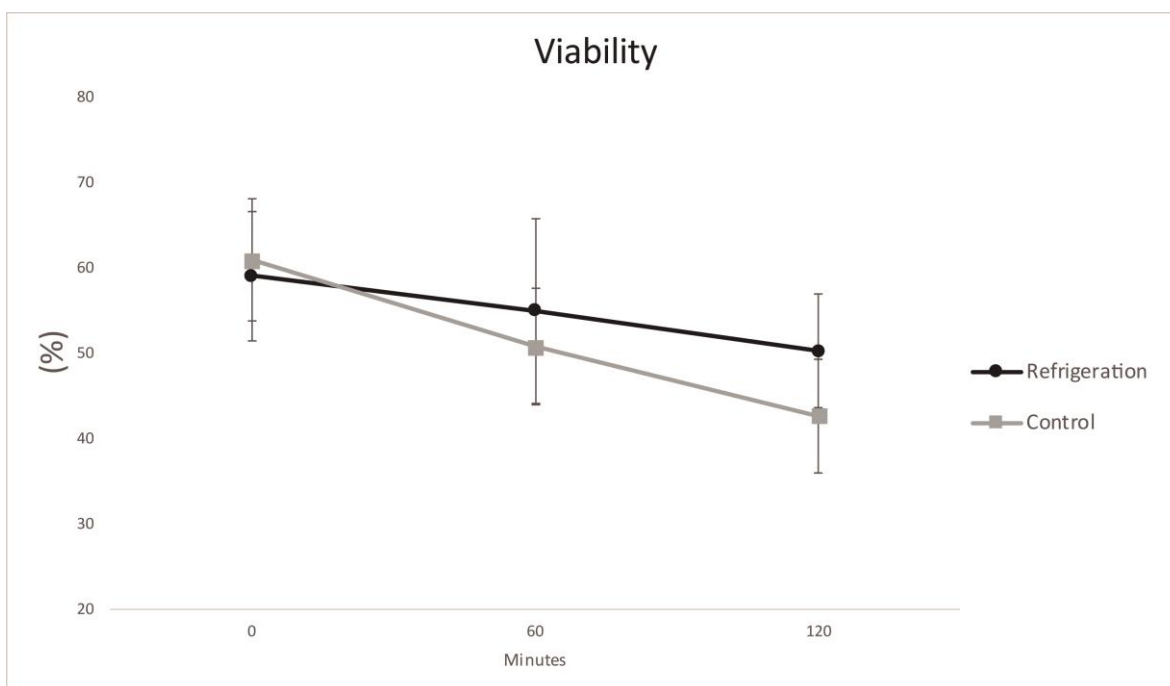


La apoptosis del tejido adiposo fue determinada usando el ensayo TUNEL

(Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling).

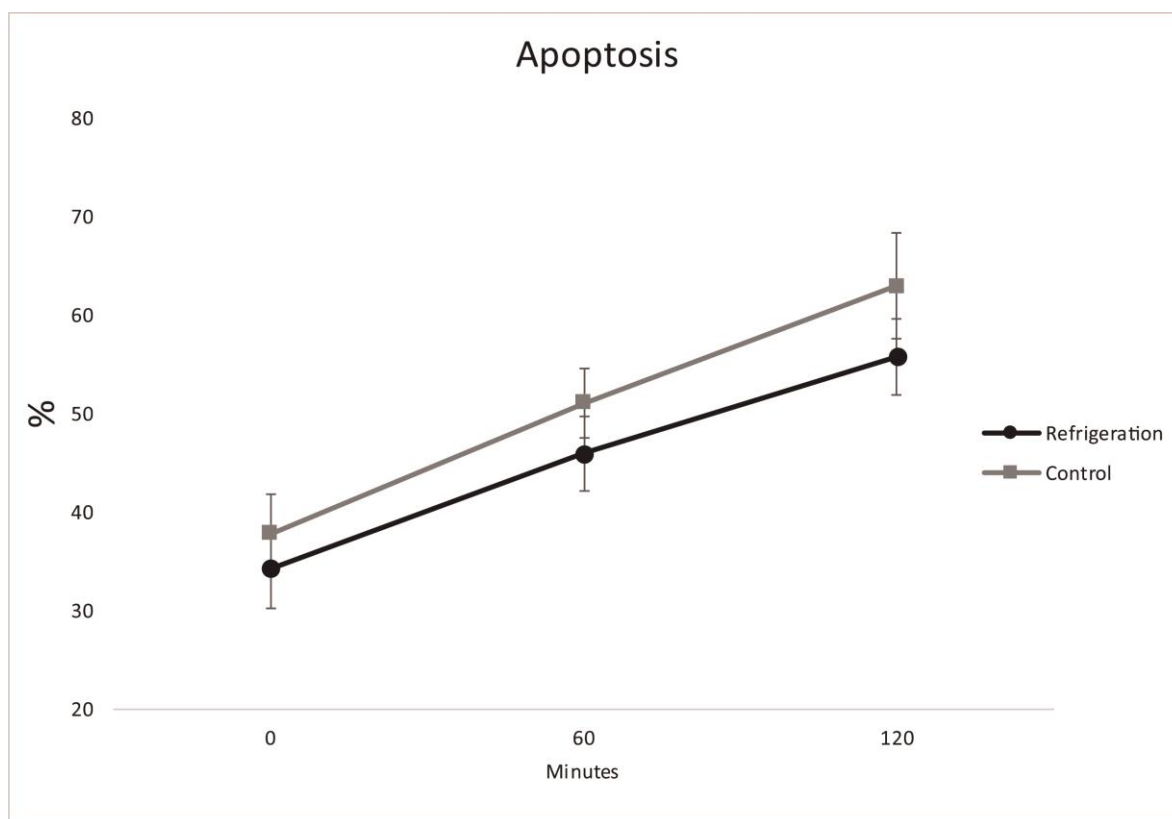
- a) Examen DAPI. Los núcleos están teñidos en azul.
- b) Luz Roja. Utilizada para identificar los artefactos.
- c) FITC (isotiocianato de fluoresceína). Los núcleos apoptóticos se tiñen y se visualizan bajo un microscopio de fluorescencia.

Figura 2



Viabilidad. Las muestras refrigeradas tenían una mejor viabilidad en comparación con las muestras a temperatura ambiente. La diferencia entre los grupos aumentó con el tiempo, pero no fue significativa ($p > 0.05$) (ver texto para más detalles).

Figura 3



Apoptosis. La apoptosis aumentó durante el estudio. La refrigeración disminuyó la apoptosis a los 60 y 120 minutos después de la liposucción. La diferencia no fue significativa ($p > 0.05$) (Ver texto para más detalles).

CAPÍTULO X

BIBLIOGRAFÍA

1. Chaput, H. Greffe adipeuse, resultat eloigne d'un vaste evidement du tibia traite avec succes par la greffe adipeuse en 1904; radiographie. Bull. et Mem. SOCo Chir. Paris, n.s. 38: 203, 1913.
2. Cantas, M. Sur un cas de plombage organique pargreffe epiploique d'un evidement osseux pour os- teomyelite. [Rapport de M. Potherat.] Bull. et Mem. SOCo Chir. deParis, n.s. 37: 1052, 1911.
3. Nelaton. Cited in Potherat. Bull et Mem. Soco Chir. de Paris, n.s. 37: 1060, 1911.
4. Parent, R. Contribution a l'etude du traitement des grands evidements osseus consecutifs a l'osteomye- lite par la greffe adipeuse de M. Chaput. 58pp. Paris [1910]. No. 93.
5. Makkas, M. Experimentelle und klinische Beitrage zur freien Fetttransplantation. Plombierung von Knochenhohlen mit Fett. Beitr. Z. Klin. Chir. (Tub-ing.) 77: 523, 1912.
6. Hesse, E. Freie Fetttransplantation in der Marks- hohle bei Osteomyelitis. Zentralbl. Chir. 39: 1226, 1912.
7. Ropke, W. Cited in Peer, L. A., Transplantation of Tissues. Vol. 11. Baltimore: Williams & Wilkins, 1955-1959. P. 197.
8. Klopfer, El. Ueberfreie Fetttransplantation in Knoch- enhohlen. Beitr. Klin. Chir. 84: 499, 1913.

9. Lawrowa, M. P. Einpf1anzung von lebendem Gewebe in Knochenhohlen. Vorlaufige Mitteilung. (Russki Wratsch. 1913, Nr. 5); abstr. Zentralbl. f Chir. 2: 1197,1913.
- 10.Estor, E., and Etienne, E. La greffe grasseuse dans l'obliteration des cavites osteomyeliques. Rev. d'Or- thop. (Paris) 3.s. 4: 193, 1813.4: 193, 1913.
- 11.Ferran,j. Osteite traitee par la greffe grasseuse. Soco Chir. Marseille. Arch. Prov. de Chir. 23: 304, 1914.
- 12.Schlapfer, K. Beitrag zur operativen Behandlung der Vorderarmsynostosen (Bruckencallus). Dtsch. Ztschr. Chir. 137: 225,1916.
- 13.Caforio, L. 1 trapianti liberi di adipe quali mezzi di obliteratione della cavita osteomielitiche. Policlinico. 24:490,1917.
- 14.Heinemann, O. Uber Fettplombierung eiternder Knochenhohlen. Berl. Klin. Wehnschr. 57: 113, 1920.
- 15.Grandin, P., and Deroubaix, P. Traitement d'un vol- umineux kyste paradentaire du maxillaire inferieur par greffe de grasse. Rev. fr. d'Odonto- Stomat. 1: 1087,1954.
- 16.Morestin, H. Cited by Broechaert, T. j., and Stein- haus, j., Contribution a l'etude des greffes adi- peuses. Buss. Acad. Roy. Med. Belgique. 28: 440, 1914.
- 17.Iseke, G. Zur Plombierung von Knochenhohlen mit freitransplantierten Fett. Dtsch. Ztschr. f Chir. 173: 386, 1922.
- 18.Rehn, E. Die Fetttransplantation. Arch. f. Klin. Chir. (Berl.) 98: 1, 1912.
- 19.Rehn, E. Die Verwendung der autoplastischen Fett- transplantationen bei

- Dura- und Hirndefecten. Arch.f. Klin. Chir. (Berl.) 101: 962,1913.
- 20.Langenskiold, A., and Valle, M. Epidurally placed free fat grafts visualized by CT scanning 15-18 years after discectomy. Spine 10(1): 97,1985.
 - 21.Tuffier, T. Abces gangreneux du poumon ouvert dans les bronches; hémoptysies répétées opération par décollement pleuro-pariétal; guérison. Bull. et Mem. Soc. de Chir. de Par., n.s. 37: 134, 1911.
 22. Lambert, L. Un cas de greffe graisseuse extra-pleur- ale. Bull. etMem. Soc. Chir. (Paris) 39: 1196, 1913.
 23. Lenormant, C. Un nouveau mode de traitement des suppurations dermiques du poumon: Le pneumo-thorax extrapleurale. Presse Med. 21: 786, 1913.
 24. Stromeyer, K. Verschluss einer Lungenabszessshohle und dreier Bronchialfisteln mit Fett. Dtsch. Ztschr. f. Chir. 150: 420,1919.
 - 25.Neuhof, H. Free transplantation of fat for closure of bronchopulmonary cavities (lattice lung). J. Thorac. Surg. 7: 23,1937.
 - 26.Aufses, A. H. Obliteration of chronic empyema cavity with aid of free fat transplant. J. Mt. Sinai Hosp. 10: 283,1943.
 - 27.Lopez, F., and Velez, D. Valor comparativo de las diversas operaciones propuestas para reemplazar a la enucleacion y especialmente de las implantaciones de grasa. An. de oftal. Mexico 5: 335, 1902-1903.
 - 28.Verderame, P. Ueber Fetttransplantation bei adhar- enten Knochennarben am Orbitalrand. Klin. Monatsbl.f Augenh. 7: 433, 1909.
 - 29.Laubier, H. Ueber Eukleation mit Fettimplanta- tion. Ztschr. Augenh. 23: 426, 1910.
 - 30.Barraquez, J. Enucleacion con ingerto de tejido adiposo en capsula de Tenon.

- Arch. Soc. Oflal, (hispanoam.) 1: 1901. Cited by Broeckaert, T.j., and Steinhau, j., Contribution a l'etude des greffes adipeuses. Bull. Acad. Roy. Med. Belgique. 28: 440, 1914.
31. Bartels, M. Verpflanzung von Fett in die Tenon'sche Kapsel zur Erzielung eines guten Stumpfes nach Enucleatio bulbi Ber. Versamml Dtsch. Ophth. Gesellsch. Heidelberg, p. 333, 1908.
32. Key, B. W. Fat implantations. Arch. Ophth. 48: 292, 1919.
33. Zertuche, A. Exenteración del globo ocular con implantacion de grasa. An. Soc. Mex. de Oftal. y Oto-rino-laring. 16: 202, 1941.
34. Chaput, H. Enorme herme ombilicale, anneau trop large pour etre suture, obturation de l'anneau par un enorme greffon adipeux, place dans le peritoine, derriere la paroi abdominale. Bull. et Mem. Soc. Chir. (Paris) 38: 231, 1913.
35. Goldenberg, B. Pequeños injertos de dermis-grasa; cirugia plastica. Rev. Asoc. Med. Argent. 63: 130, 649, 1949.
36. Schorcher, F. Fettgewebsverpflanzung bei zu kleiner Brust. Munchen. Med. Wochenschr. 99(14): 489, 1957.
37. Van der Meulen. Cited by Richard, M.A., Considérations générales sur les greffes graisseuses et serograisseuses épiloïques et leurs principales applications. Paris these, p. 11, 1919.
38. Neuber F. Fettransplantation. Chir Kongr Verhandl Dsch Gesellch Chir. ;22:66, 1893.
39. Lexer, E. Freie Fettransplantation. Dtsch. Med. Wochenschr. 36: 640, 1910.
40. Lexer, E. Fatty Tissue Transplantation in "Die Transplantationen," Part 1,

- pp. 273, 282-302, 311, 543. Stuttgart: Ferdinand Enke, 1919.
41. Lexer, E. Fatty Tissue Transplantation in "Die Trans- plantationen," Part 1, p. 265. Stuttgart: Ferdinand Enke, 1919.
 42. Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts with postulation of a "Cell Survival Theory". *Plast Reconstr Surg.*;5:217–230, 1950.
 43. Mecott GA, Gonzalez IZ, de Oca RM, Garza-Morales R, Gonzalez-Cantu I, Castro-Govea Y, Saucedo-Cárdenas O, García-Pérez MM. Effect of Decantation Time on Viability and Apoptosis in Adipocytes After Liposuction. *Aesthetic plastic surgery.*43(1):228-32, 2019.
 44. Pu LL, Yoshimura K, Coleman SR. Future Perspectives of Fat Grafting. *Clin Plast Surg*;42:389-394, doi:10.1016/j.cps.2015.03.007. 2015.
 45. Billings E, May JW. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.*;83(2):368-381. 1989.
 46. Neuber, G. Asepsis und kunstliche Blutleere. *Ver-handl. d. deutsch. Gesellsch. f Chir. (Berl.)* 22: 159, 1910.
 47. Czerny V. Drei plastische Operationen. III. Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein Lipom. *Arch F Klin Chir.*;50:544.1895.
 48. Illouz YG. L'avenir de la reutilization de la graisse apres liposuccion. *Chir Esthet Lang Fr.*;(9):36. 1984.
 49. Ellenbogen, R. Free autogenous pearl fat grafts in the face--a preliminary report of a rediscovered technique. *Annals of plastic surgery.*;16(3), 179-194. 1986.

50. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, et al. Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study. *Plast Reconstr Surg.*;124(3):765-774. doi:10.1097/PRS.0b013e3181b17b8f. 2009.
51. Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg.*;24(2):347-367. 1997.
52. Tanikawa DYS, Agüena M, Bueno DF, Passos-Bueno MR, Alonso N. Fat grafts supplemented with adipose-derived stromal cells in the rehabilitation of patients with craniofacial microsomia. *Plast Reconstr Surg.*;132(1):141-152. doi:10.1097/PRS.0b013e3182910a82. 2013.
53. Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, et al. Trends in autologous fat grafting to the breast: a national survey of the american society of plastic surgeons. *Plast Reconstr Surg.*;132(1):35-46. doi:10.1097/PRS.0b013e318290fad1. 2013.
54. Delay E, Sinna R, Ho Quoc C. Tuberous breast correction by fat grafting. *Aesthet Surg J.*;33(4):522-528. doi:10.1177/1090820X13480641. 2013.
55. Guerrerosantos J. Autologous fat grafting for body contouring. *Clin Plast Surg.*;23(4):619-631. 1996.
56. Cárdenas-Camarena L, Arenas-Quintana R, Robles-Cervantes J-A. Buttocks fat grafting: 14 years of evolution and experience. *Plast Reconstr Surg.*;128(2):545-555. doi:10.1097/PRS.0b013e31821b640b. 2011.
57. Coleman SR. Hand rejuvenation with structural fat grafting. *Plast Reconstr Surg.*;110(7):1731-1744; discussion 1745-1747. doi:10.1097/01.PRS.0000033936.43357.08. 2002.

58. Butterwick KJ, Bevin AA, Iyer S. Fat transplantation using fresh versus frozen fat: a side-by-side two-hand comparison pilot study. *Dermatol Surg.*;32(5):640-644. doi:10.1111/j.1524-4725.2006.32135.x. 2006.
59. Haik J, Talisman R, Tamir J, Frand J, Gazit E, Schibi J, Glicksman A, Orenstein A. Breast augmentation with fresh-frozen homologous fat grafts. *Aesthetic plastic surgery.* ;25(4):292-4. 2001.
60. Coleman SR. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin Plast Surg.*;28(1):111-119. 2001.
61. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg.*;136(4):897-912. doi:10.1097/PRS.0000000000001590. 2015.
62. Scarborough DA, Schuen W, Bisaccia E. Fat transfer for aging skin: technique for rhytids. *J Dermatol Surg Oncol.*;16(7):651-655. 1990.
63. Hambley RM, Carruthers JA. Microlipoinjection for the elevation of depressed full-thickness skin grafts on the nose. *J Dermatol Surg Oncol.*;18(11):963-968. 1992.
64. Pereira LH, Radwanski HN. Fat grafting of the buttocks and lower limbs. *Aesthetic plastic surgery.* 20(5):409-16. 2004.
65. Guerrerosantos J, Gonzalez-Mendoza A, Masmela Y, Gonzalez MA, Deos M, Diaz P. Long-term survival of free fat grafts in muscle: an experimental study in rats. *Aesthetic plastic surgery.*;20(5):403-8. 2004.

66. Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatol Surg.*;26(12):1159-1166. 2000.
67. Mikus JL, Koufman JA, Kilpatrick SE. Fate of liposuctioned and purified autologous fat injections in the canine vocal fold. *Laryngoscope.*;105(1):17-22. doi:10.1288/00005537-199501000-00007. 1995.
68. Gutowski K a. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. *Plast Reconstr Surg.*;124(1):272-280. doi:10.1097/PRS.0b013e3181a09506. 2009.
69. Smahel J. Experimental implantation of adipose tissue fragments. *Br J Plast Surg.*;42(2):207-211. 1989.
70. Peer LA. Cell survival theory versus replacement theory. *Plastic and Reconstructive Surgery.*;16(3):161-8. 1955.
71. Lee JH, Kirkham JC, McCormack MC, Nicholls AM, Randolph MA, Austen WG. The effect of pressure and shear on autologous fat grafting. *Plast Reconstr Surg.*;131(5):1125-1136. doi:10.1097/PRS.0b013e3182879f4a. 2013.
72. Cheriyan T, Kao HK, Qiao X, Guo L. Low harvest pressure enhances autologous fat graft viability. *Plast Reconstr Surg.*;133(6):1365-1368. doi:10.1097/PRS.0000000000000185. 2014.
73. Niechajev I, Sevcuk O. Long-term results of fat transplantation: clinical and histologic studies. *Plast Reconstr Surg.*;94(3):496-506. 1994.
74. 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 Aesthetic Surg.*;62(9):1210-1214. doi:10.1016/j.bjps.2008.03.016. 2009.
75. Boschert MT, Beckert BW, Puckett CL, Concannon MJ. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast Reconstr Surg.*;109(2):761-765; discussion 766-767. 2002.
 76. Tuin a J, Domerchie PN, Schepers RH, et al. What is the current optimal fat grafting processing technique? A systematic review. *J Cranio-Maxillofacial Surg.*;44(1):45-55. doi:10.1016/j.jcms.2015.10.021. 2016.
 77. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH, Vasconez HC. Cryopreservation of autologous fat grafts harvested with the Coleman technique. *Ann Plast Surg.*;64(3):333-337. doi:10.1097/SAP.0b013e3181b022cb. 2010.
 78. Hwang S-M, Lee J-S, Kim H-D, Jung Y-H, Kim H-I. Comparison of the viability of cryopreserved fat tissue in accordance with the thawing temperature. *Arch Plast Surg.*;42(2):143-149. doi:10.5999/aps.2015.42.2.143. 2015.
 79. Moscona R, Shoshani O, Lichtig H, Karnieli E. Viability of adipose tissue injected and treated by different methods: an experimental study in the rat. *Ann Plast Surg.*;33(5):500-506. 1994.
 80. Fagrell D, Eneström S, Berggren A, Kniola B. Fat cylinder transplantation: an experimental comparative study of three different kinds of fat transplants. *Plast Reconstr Surg.*;98(1):90-96; discussion 97-98. 1996.
 81. Chung MT, Paik KJ, Atashroo DA, et al. Studies in fat grafting: Part I. Effects of injection technique on in vitro fat viability and in vivo volume retention. *Plast Reconstr Surg.*;134(1):39-46. doi:10.1097/PRS.0000000000000289. 2014.

82. 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.*;113(1):391-395; discussion 396-397. doi:10.1097/01.PRS.0000097293.56504.00. 2004.
83. Wolter TP, von Heimburg D, Stoffels I, Groeger A, Pallua N. Cryopreservation of mature human adipocytes: in vitro measurement of viability. *Ann Plast Surg.*;55(4):408-413. doi:10.1097/01.sap.0000181345.56084.7d. 2005.
84. Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, et al. Influences of preservation at various temperatures on liposuction aspirates. *Plast Reconstr Surg.*;120(6):1510-1517. doi:10.1097/01.prs.0000288015.70922.e4. 2007.
85. Lidagoster MI, Cinelli PB, Levee EM, Sian CS. Comparison of autologous fat transfer in fresh, refrigerated, and frozen specimens: an animal model. *Ann Plast Surg.*;44(5):512-515. 2000.
86. Bertossi D, Kharouf S, d'Agostino A, et al. [Facial localized cosmetic filling by multiple injections of fat stored at -30 degrees C. Techniques, clinical follow-up of 99 patients and histological examination of 10 patients]. *Ann Chir Plast esthétique.*;45(5):548-555; discussion 555-556. 2000.
87. Minonzio G, Corazza M, Mariotta L, et al. Frozen adipose-derived mesenchymal stem cells maintain high capability to grow and differentiate. *Cryobiology.*;69(2):211-216. doi:10.1016/j.cryobiol.2014.07.005. 2014.
88. Lee JEUN, Kim I, Kim M. Adipogenic Differentiation of Human Adipose Tissue–Derived Stem Cells Obtained from Cryopreserved Adipose Aspirates. *Dermatologic Surg.*;36(7):1078-1083. doi:10.1111/j.1524-4725.2010.01586.x. 2010.

89. Wang WZ, Fang X-H, Williams SJ, et al. The effect of lipoaspirates cryopreservation on adipose-derived stem cells. *Aesthet Surg J.*;33(7):1046-1055. doi:10.1177/1090820X13501690. 2013.
90. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Pierce J, Harris DT. Cryopreservation of whole adipose tissue for future use in regenerative medicine. *J Surg Res.*;187(1):24-35. doi:10.1016/j.jss.2013.09.027. 2014.
91. Conti G, Jurga M, Benati D, et al. Cryopreserved Subcutaneous Adipose Tissue for Fat Graft. *Aesthetic Plast Surg.*;39(5):800-817. doi:10.1007/s00266-015-0538-0. 2015.
92. Cui XD, Gao DY, Fink BF, Vasconez HC, Pu LLQ. Cryopreservation of human adipose tissues. *Cryobiology.*;55(3):269-278. doi:10.1016/j.cryobiol.2007.08.012. 2007.
93. Wang WZ, Fang X-H, Williams SJ, et al. The impact of short-term refrigeration of human lipoaspirate on adipose-derived stem cells and adipocytes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.*;68(1):137-139. doi:10.1016/j.bjps.2014.08.070. 2015.
94. Neuburger A. *The Technical Arts and Sciences of the Ancients*, trans. Henry L. Brose (London, 1930). 1930:213.
95. Anderson OE. *Refrigeration in America; a history of a new technology and its impact*. [Princeton]: Published for the University of Cincinnati by Princeton University Press. ISBN. 1953;804616213:110-1.

CAPÍTULO XI

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Dr. MC. Gabriel Angel Mecott Rivera

Candidato para el Grado de

DOCTORADO EN MEDICINA

TESIS:

**“EFECTO DE LA REFRIGERACIÓN EN LA VIABILIDAD Y APOPTOSIS DE
ADIPOCITOS DECANTADOS DESPUÉS DE LA LIPOSUCCIÓN”**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Lugar y Fecha de Nacimiento: México, D. F. 1ro de Octubre de 1974

Nacionalidad: Mexicana

Edad: 35 años

Dirección: Prudencia 206 Prados de Santo Domingo. San Nicolás de los Garza

Teléfono: Casa: (81)83509478. Celular: 0448114137528

EMAIL: drmecott@cirugiaplasticamty.com

Empleo Actual:

Secretario Académico de la Facultad de Medicina UANL

Coordinador de Investigación de Cirugía Plástica

Coordinador del Diplomado en Alta Especialidad de Cirugía Estética.

Personal Profesional no Docente de Tiempo Completo.

Departamento de Cirugía Plástica

Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la

Universidad Autónoma de Nuevo León

EDUCACION SUPERIOR

Licenciatura

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, Nuevo León. México
Septiembre 1992- Agosto 1998

Cirugía General

Hospital Universitario

“Dr. José Eleuterio González”
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, Nuevo León. México
Marzo 1, 2000 - Febrero 29, 2004

Cirugía Plástica y Reconstructiva

Hospital Universitario

“Dr. José Eleuterio González”
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, Nuevo León. México
Marzo 1 2004 - Febrero 28 2007

Fellowship en Quemaduras

The University of Texas Medical Branch

Departamento de Cirugía
Galveston, Texas
Marzo 2008 – Marzo 2010

Fellowship en Investigación En Quemaduras y Trauma

Shriners Burns Hospital

Galveston, Texas
Marzo 2008 – Marzo 2010

Maestría en Ciencias Medicas

Graduate School of Biomedical Sciences

University of Texas Medical Branch Galveston,
TX.
Enero 2009- Mayo de 2010

CERTIFICACIONES Y REGISTRO

CERTIFICACION

Consejo Mexicano de Cirugía
Plástica. 2012-2017

No. Certificación: 1379

REGISTRO DE PROFESIONES

Cirugía Plástica y Reconstructiva

Secretaría de Educación Pública

DGP: 5225369

Cirujano General

Secretaría de Educación Pública

DGP: 4578256

Médico Cirujano y Partero

Secretaría de Educación Pública

DGP: 3136022

Movilidad Internacional Durante la Formación Profesional

Observership

Parkland Memorial Hospital

University of Texas
Southwestern Medical School
Unidad de Quemados
Dallas, Texas. USA.
Junio 2004

International Scholar

Cleveland Clinic Foundation

Cirugía de Mínima Invasión
Departamento de Cirugía
Cleveland Ohio, USA.
Octubre 2002

Clerkship

Hospital Clínico Universitario Lozano Biesa

Universidad de Zaragoza
Departamento de Oncología Médica
Zaragoza, España
Octubre 1998

Clerkship

Hospital Clínico San Carlos

Universidad Complutense de Madrid
Departamento de Cirugía General III
Madrid, España
Septiembre 1998