

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO "DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ"
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



DETERMINACIÓN VIABILIDAD Y APOPTOSIS DE ADIPOCITOS
OBTENIDOS POR LIPOSUCCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO

POR

DR. JESÚS JUAN JOSÉ AGUIRRE ARREDONDO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
SUBESPECIALISTA EN CIRUGIA PLÁSTICA, ESTÉTICA Y
RECONSTRUCTIVA

FEBRERO DEL 2018

**“DETERMINACIÓN VIABILIDAD Y APOPTOSIS DE ADIPOCITOS
OBTENIDOS POR LIPOSUCCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO”**

Aprobación de la tesis:



**Dr. MC. Gabriel Angel Mecott Rivera
Director de tesis**



**Dr. med. Yanko Castro Govea
Coordinador de Enseñanza**



**Dr. MC. Gabriel Angel Mecott Rivera
Coordinador de Investigación**



**Dr. med. Mauricio Manuel Garcia Perez
Jefe del Servicio de Cirugia Plastica, Estetica y
Reconstructiva**



**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado**

Tabla de Contenido

Contenido	Página
Capítulo I	
Resumen	8
Capítulo II	
Introducción	10
Antecedentes	11
Justificación	14
Marco de Referencia	14
Capítulo III	
Hipótesis	17
Hipotesis Nula	17
Capítulo IV	
Objetivo General	18

Objetivos Específicos	18
 Capítulo V	
Material y Métodos	
Metodología	19
Diseño del Estudio	19
Población, Muestra y Muestras	20
Criterios de Inclusión	20
Criterios de Exclusión	21
Criterios de Eliminación	21
Instrumentos y Mediciones	22
Procedimiento de Recolección de la Información	22
Medición de la Viabilidad	23
Medición de Apoptosis	24
Estrategia para el Análisis de Datos	25
Manejo y Disposición Final de las Muestras	25

Capítulo VI

Resultados	26
------------------	----

Capítulo VII

Discusión	31
-----------------	----

Capítulo VIII

Conclusión	34
------------------	----

Capítulo VIII

Bibliografía.....	35
-------------------	----

Lista de Tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Comparación de viabilidad de ambos métodos	27

Lista de Figuras

Figuras	Página
Figura 1. Comparación de viabilidad de ambos métodos	27
Figura 2. Comparación de apoptosis entre ambos métodos	28
Figura 3. Ensayo TUNEL en cortes de 5mm de muestras de lipoaspirado a los tiempos 0', 30' y 60'	29
Figura 4. Comparación entre ambas biopsias	30
Figura 5 . Comparación de ruptura celular entre ambos métodos	30

Capítulo I

Resumen

Dr. Jesús Juan José Aguirre Arredondo Fecha de Graduación: Marzo de 2018

Universidad Autónoma de Nuevo León

Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González"

Título del Estudio: Determinación de la viabilidad y apoptosis de los adipocitos obtenidos por liposucción asistida por ultrasonido

Número de Páginas: 38

Candidato para Obtener el Grado de Especialista en Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva

Área de Estudio: Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva

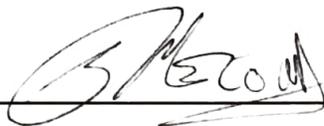
Propósito y Métodos de Estudio: Desde su descubrimiento en los años ochenta hasta la actualidad, la liposucción se ha convertido en uno de los procedimientos más realizados en el área de cirugía estética, aunado a esto el uso actual de lipoinfiltración de grasa para mejoría de contorno estético y relleno de defectos de tejidos blandos, además del desarrollo de tecnologías como la liposucción asistida por ultrasonido, que son utilizadas de manera más frecuente nos obliga a estudiar si estos métodos son eficientes para la toma e infiltración de la grasa, en cuanto a la sobrevivencia de la grasa aspirada se refiere. El objetivo de este estudio es el de comparar el efecto del método tradicional de liposucción versus la liposucción asistida por ultrasonido en cuanto a sobrevivencia de las células adiposas y valorar así la calidad de este método para la realización de injertos de grasa.

Se obtuvieron lipoaspirados de 5 pacientes y se evaluó el comportamiento de estas dos variables en los adipocitos a los 0, 30 y 60 minutos. El diseño del estudio fue descriptivo, prospectivo y observacional.

Contribución y Conclusiones: Basados en nuestros resultados, no existe diferencia en cuanto a la viabilidad de los adipocitos entre ambas técnicas de aspiración siendo esta del 62% para ambas técnicas por lo que según nuestros resultados la grasa obtenida por el método de ultrasonido puede ser adecuada para su uso en lipoinfiltración. Existe una mayor viabilidad inicial para los adipocitos obtenidos por ultrasonido (87.1%) en comparación del método tradicional de aspiración (79%) pero esto no es significativo. En cuanto a la apoptosis no existió diferencia significativa entre ambas técnicas de liposucción con 37% de la técnica convencional vs 27% de la técnica de ultrasonido, No se observó diferencia estadísticamente entre el número de

adipocitos rotos por campo entre ambas técnicas, con conservación de anexos cutáneos y glándula sebáceas , sin daño a la epidermis. Con esta información podemos concluir que no existe diferencia significativa de la viabilidad y apoptosis de la grasa obtenida con la técnica de ultrasonido comparada con la técnica convencional, y pudiera utilizarse con los mismos fines estéticos, reconstructivos y de lipoinfiltración, aunque hace falta una mayor muestra para establecer de forma definitiva estos hallazgos

Firma del
Asesor:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'B. P. ...', written over a horizontal line.

Capítulo II

Introducción

La lipectomía asistida por succión, lipoplastia, o más comúnmente conocida como liposucción, introducida por Illouz en los años ochenta continúa siendo una de las opciones más utilizadas para el contorno corporal y el segundo procedimiento estético más realizado, además que se ha convertido en una herramienta indispensable en otras áreas de la cirugía plástica como reconstrucción de mama y como apoyo para la cirugía de reconstrucción de extremidades (1). Con el paso del tiempo, el desarrollo de tecnologías como la liposucción asistida por ultrasonido, por poder o por laser han mejorado la seguridad y eficiencia de este procedimiento quirúrgico (2), por lo que su uso ha ido a la alza en los últimos años. El uso de grasa autóloga fue descrito por Neuber en 1893 y desde entonces ha sido utilizado de manera común para tratar defectos de volumen y contorno para relleno de defectos de faciales, aumento mamario, daños por radiación, contractura capsular, defectos postraumáticos anomalías congénitas y lesiones por quemadura (3-9). La grasa autóloga es considerada como el relleno ideal, debido a su gran disponibilidad, fácil obtención, bajo costo y compatibilidad con el huésped, sin embargo los reportes de absorción de este son del 30 al 90% independientemente de lugar anatómico de la obtención o del método utilizado (10-13). Por este motivo se han utilizado diferentes métodos con el objeto de obtener más adipocitos viables, para

mejores resultados estéticos. Además el aumento de tecnologías para la liposucción , en especial la liposucción asistida por ultrasonido el cual es un método que va en aumento en la actualidad, por sus características para disminuir el sangrado transoperatorio (14) aunque la retención de grasa por este método y su utilización adecuada para estos procedimientos ha sido cuestionada y no ha sido establecido si tiene un efecto negativo (15). En nuestra institución ya se comprobó que el 30 % de adipocitos no es viable al momento de la liposucción estándar (en proceso de publicación), por lo que el objetivo de este estudio es evaluar la viabilidad de adipocitos obtenidos por liposucción asistida por ultrasonido en comparación con la liposucción estándar para comprobar la seguridad y eficiencia de este método para su uso en injertos grasos para relleno de tejidos blandos.

Antecedentes

Con el advenimiento y amplia aceptación de la liposucción en 1977, una nueva fuente de grasa para autotransplantes fue descubierta. El aspirado de una liposucción contenía las propiedades deseadas para realizar la reparación de defectos en tejidos blandos, era fácilmente obtenida, barata, compatible con el huésped y podía ser tomada de forma repetida.

Illouz fue el primero en documentar un caso de un autotransplante graso del aspirado de una liposucción en 1982. De acuerdo

con este autor, los adipocitos son células muy frágiles con una vida muy corta que, cuando se encuentran fuera del cuerpo humano, no toleran la manipulación excesiva, refrigeración o cualquier trauma mayor asociados a su colecta o manejo (16).

La desventaja quizá más significativa al trasplante de grasa es lo impredecible que puede llegar a ser reabsorbido, haciendo difícil la determinación de la cantidad necesaria para rellenar un defecto. Típicamente se reporta en la literatura que entre un 40% y 50% de del volumen original de grasa infiltrada de un injerto será retenida (17), siendo inclusive mencionadas de hasta menos de un 10% (18).

Normalmente el volumen de grasa trasplantada disminuye en dos etapas. En la primera, existe una reducción en la cantidad de células. En la segunda existe una pérdida de volumen por la reabsorción de los quistes de aceite de los adipocitos viables (19).

Análisis histológicos de la grasa han demostrado viabilidad de adipocitos dentro de una red vascular rodeada por una delgada capsula fibrosa. Se ha postulado que el último grado de reabsorción está relacionado al número de células viables en la suspensión de tejido graso (20).

Al igual que en otros injertos, la supervivencia inicial es dependiente de la imbibición de sus bordes. Esto podría explicar por qué injertos grandes tienen poca supervivencia, además de ser más susceptibles a licuefacción y formación de quistes. En cambio, injertos más pequeños son fácilmente revascularizados debido a que más células están en contacto con el lecho en el que son sembradas. Se ha visto que la revascularización llega a ocurrir a las 48 horas de haber sido aplicado injerto (21).

Diversos estudios se han llevado a cabo para demostrar que el manejo del espécimen, el tipo de cánula utilizada al realizar el aspirado, la zona del cuerpo aspirada, así como las características anatómicas del paciente afectan el grado de reabsorción de la grasa trasplantada en el aspirado de una liposucción (22-24).

Existe la teoría de que si la grasa donadora conserva el mayor número de células viables, quizá exista una mayor posibilidad de células vivas en el injerto y esto conlleve a una mayor retención en volumen de un injerto graso. Boschert y colaboradores, en 2002, demostraron que al realizar el aspirado de liposucción y este ser centrifugado, en la capa más profunda de grasa se encontraba una mayor cantidad de células grasas viables y que esto quizá podría mejorar la supervivencia de los adipocitos al ser infiltrados en el injerto (25)

Al igual que en otros injertos, la supervivencia inicial es dependiente de la imbibición de sus bordes. Esto podría explicar por qué injertos grandes tienen poca supervivencia, además de ser más susceptibles a licuefacción y formación de quistes. En cambio, injertos más pequeños son fácilmente revascularizados debido a que más células están en contacto con el lecho en el que son sembradas. Se ha visto que la revascularización llega a ocurrir a las 48 horas de haber sido aplicado injerto (21).

Diversos estudios se han llevado a cabo para demostrar que el manejo del espécimen, el tipo de cánula utilizada al realizar el aspirado, la zona del cuerpo aspirada, así como las características anatómicas del paciente afectan el grado de reabsorción de la grasa trasplantada en el aspirado de una liposucción (22-24).

Existe la teoría de que si la grasa donadora conserva el mayor número de células viables, quizá exista una mayor posibilidad de células vivas en el injerto y esto conlleve a una mayor retención en volumen de un injerto graso. Boschert y colaboradores, en 2002, demostraron que al realizar el aspirado de liposucción y este ser centrifugado, en la capa más profunda de grasa se encontraba una mayor cantidad de células grasas viables y que esto quizá podría mejorar la supervivencia de los adipocitos al ser infiltrados en el injerto (25)

Justificación

Desde su descubrimiento en los años ochenta hasta la actualidad, la liposucción se ha convertido en uno de los procedimientos más realizados en el área de cirugía estética, aunado a esto el uso actual de lipoinfiltración grasa para mejoría de contorno estético y relleno de defectos de tejidos blandos, además del desarrollo de tecnologías como la liposucción asistida por ultrasonido, que son utilizadas de manera más frecuente nos obliga a estudiar si estos métodos son eficientes para la toma e infiltración de la grasa, en cuanto a la sobrevivencia de la grasa aspirada se refiere. Este estudio nos permitirá comparar el efecto método tradicional de liposucción versus la liposucción asistida por ultrasonido en cuanto a sobrevivencia de las células adiposas y valorar así la calidad de este método para la realización de injertos de grasa.

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 esta 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 final 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.

Por otro lado, el otro tipo de muerte celular, la apoptosis, se define como muerte celular programada, dado por una serie de mecanismos intra o extracelulares que llevan a la célula a una muerte de forma ordenada programada genéticamente; por ejemplo en el desarrollo embrionario, involución dependiente de hormonas, como mecanismo homeostático, crecimiento tumoral, mecanismo de defensa, respuesta inflamatoria o en respuesta a agentes físico-químicos. Dentro de este último se ha descrito que un estímulo nocivo lleva a necrosis de la célula, sin embargo a dosis bajas puede inducir apoptosis, por ejemplo la isquemia.

Por lo tanto estos dos tipos de muerte celular pueden existir en un injerto de grasa autólogo y ser parte de los mecanismos involucrados en la pérdida de los injertos grasos.

Capítulo III

Hipótesis

El porcentaje de adipocitos en apoptosis aumenta y el de adipocitos viables disminuye al utilizar la liposucción asistida por ultrasonido en comparación con la liposucción tradicional.

Hipótesis Nula

El porcentaje de adipocitos en apoptosis disminuye y el de adipocitos viables aumenta al utilizar la liposucción asistida por ultrasonido en comparación con la liposucción tradicional.

Capítulo IV

Objetivo General

Determinar la viabilidad y apoptosis de los adipocitos obtenidos por liposucción asistida por ultrasonido y compararla con el método de liposucción tradicional.

Objetivos Específicos

1. Determinar la viabilidad de los adipocitos a los 0, 30 y 60 minutos posteriores a su lipoaspiración mediante el sistema asistido por ultrasonido y compararla con el método tradicional.
2. Determinar los adipocitos en apoptosis a los 0, 30 y 60 minutos posterior a su lipoaspiración mediante el sistema asistido por ultrasonido y compararla con el método tradicional.
3. Describir los hallazgos histológicos en una biopsia del tejido aspirado en ambos grupos.

Capítulo V

Metodología

El presente estudio abordó el diseño de población, muestra y muestreo, así como instrumentos de medición, mediciones, procedimiento para la recolección de la información, las estrategias para el análisis de datos y consideraciones éticas.

Diseño del Estudio

El diseño fue prospectivo, comparativo, aleatorizado y de evaluación cegada.

La muestra estuvo constituida por 5 pacientes que acudieron al Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva durante el periodo de duración del estudio, para la realización de liposucción.

A cada paciente se le tomó 2 muestras de 10 cc y toma de biopsia, aleatorizadas de grasa abdominal, el procedimiento se llevó a cabo mediante la técnica estándar de 3 incisiones en la pared abdominal anterior (Umbilical y ambos cuadrantes inferiores) previa infiltración con técnica super húmeda se realizó el lipoaspirado a través de la cicatriz umbilical en dirección de ambos cuadrantes inferiores, una zona mediante liposucción

asistida por ultrasonido a 60 kHz (VASER, Sound Surgical Technologies LLC, Louisville USA) (Grupo A) y la otra mediante liposucción asistida por succión (Grupo B). Posteriormente se procedió a tomar la biopsia en respectivos cuadrantes inferiores (Sitio el cual corresponde al lugar convencional de introducción de las cánulas donde se llevará a cabo la lipoaspiración abdominal, por lo que no se realizará ninguna incisión adicional a lo que se efectúa mediante una liposucción convencional). Con el objetivo posterior de evaluar la arquitectura de la piel y grasa a nivel histológico correspondiente de cada grupo, así como la valoración de viabilidad y apoptosis de los adipocitos.

Población, Muestreo y Muestra

La Población en este estudio estuvo constituida por pacientes mayores de 18 años que se les realizó un procedimiento de liposucción en el quirófano de la Consulta Externa del Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".

Criterios de Inclusión

- Pacientes mayores de 18 años que acudieron al servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" para que se les realice

un lipoaspirado y que se les dio a conocer el consentimiento informado verbal de la toma de la muestra.

Criterios de Exclusión

- Pacientes con enfermedad de tejido conectivo
- Pacientes Embarazadas
- Pacientes con algún tipo de tratamiento médico, es decir, que reciban cualquier tipo de medicamento, ya sea prescrito por un médico o no (auto recetado) independientemente de la vía de administración.

Criterios de Eliminación

- Muestras que no se procesen de acuerdo al protocolo.

Instrumentos y Mediciones

Se realizó un formato para la recolección de los datos en los que se incluirán nombre, edad, registro hospitalario, tipo de muestra (Grupo A o Grupo B) medición de la viabilidad con azul de tripano 0, 30 y 60 minutos y medición de apoptosis con el Kit TUNEL a los 0, 30 y 60 minutos

Procedimiento de Recolección de la Información

Primero, se solicitó la autorización a los comités de ética e investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, así como a los directivos correspondientes de la institución donde se realizó el estudio.

Se les dio a conocer el Consentimiento Informado verbal para los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión mencionados y que aceptaron, se procesará la muestra de grasa tomada, así como la toma de biopsia en ambos cuadrantes inferiores a través de los cuales se llevara a cabo el lipoaspirado.

Previa lipoinfiltración con técnica super húmeda se tomaron especímenes de liposucción obtenidos de procedimientos llevados a cabo en el quirófano de Cirugía Ambulatoria del Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva.

Los procedimientos de lipoaspirado se tomaron con cánula de 4 mm, tipo Acelerador (Byron , Estados Unidos) una muestra, posterior a la utilización por dos minutos del sistema de liposucción asistida por ultrasonido a 60 kHz (VASER, Sound Surgical Technologies LLC , Louisville USA (Grupo A) y la otra mediante liposucción asistida por succión solamente (Grupo B).

Las biopsias cutáneas se tomaron con punch de 4 mm (Miltex, Integra, New Jersey).

Medición de la Viabilidad

Cada espécimen se colocó en una centrífuga a 50g por un periodo de 2 minutos

Se tomaron un cc de adipocitos de la capa más profunda del centrifugado a los 0, 30 y 60 minutos

Se digirió un cc de la muestra con 1 cc de Colagenasa Tipo I al 0.2% a 37 grados en baño maría por una hora

Después de la digestión con Colagenasa se tiñeron las células con el tinte azul de tripano en una solución al 0.4% el cual tiñe las células con la membrana celular rota.

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 una magnificación de 400x definiendo la cantidad de células viables en porcentajes.

Medición de Apoptosis

- Se utilizó el TACS 2 TdT-Fluor *In Situ* Apoptosis Detection Kit. El cual determinó a través de la técnica de TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT) mediated dUTP Nick end labeling) el marcaje *in situ* de sitios de fragmentación del ADN en núcleos de células fijadas que estén cursando por apoptosis por inmunofluorescencia, con el marcaje de los núcleos en apoptosis en verde, y DAPI (Azul), tiñe DNA (núcleos de todas las células)

- La información se recabó en el laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Previa autorización al jefe Médico del área señalada.

Estrategia para el Análisis de datos

Fórmula para comparación de medias.

$$n = \frac{K(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Se utilizó una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos, con un valor α 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 22% y una desviación estándar de $\pm 10\%$, se obtuvo una muestra de 5 participantes por grupo.

Análisis histológico de muestras

Ambas biopsias se incluyeron en 20 cc de PFA, posterior a las 72 horas de fijación, se analizaron las biopsias de tejido abdominal de ambos grupos tanto del método convencional como del método de ultrasonido, se realizaron cortes longitudinales y se analizaron al microscopio (Zeiss, Alemania) a 20 x con un campo de 125,000 micras, en un promedio de 4 campos.

Manejo y Disposición Final de las Muestras

Después de llevarse a cabo la liposucción, se colocaron las muestras en tubos de ensayo siguiendo las medidas universales de bioseguridad. Se trasladaron en hielera hasta el laboratorio de Histología para su análisis y posteriormente los residuos fueron tratados siguiendo el protocolo de manejo de los RPBI de la institución. Es decir, se colocaron en recipientes rígidos amarillos y se enviaron al servicio de Anatomía Patológica para su disposición final.

Capítulo VI

Resultados

Los resultados se describen detalladamente y se utilizan tablas y gráficas .

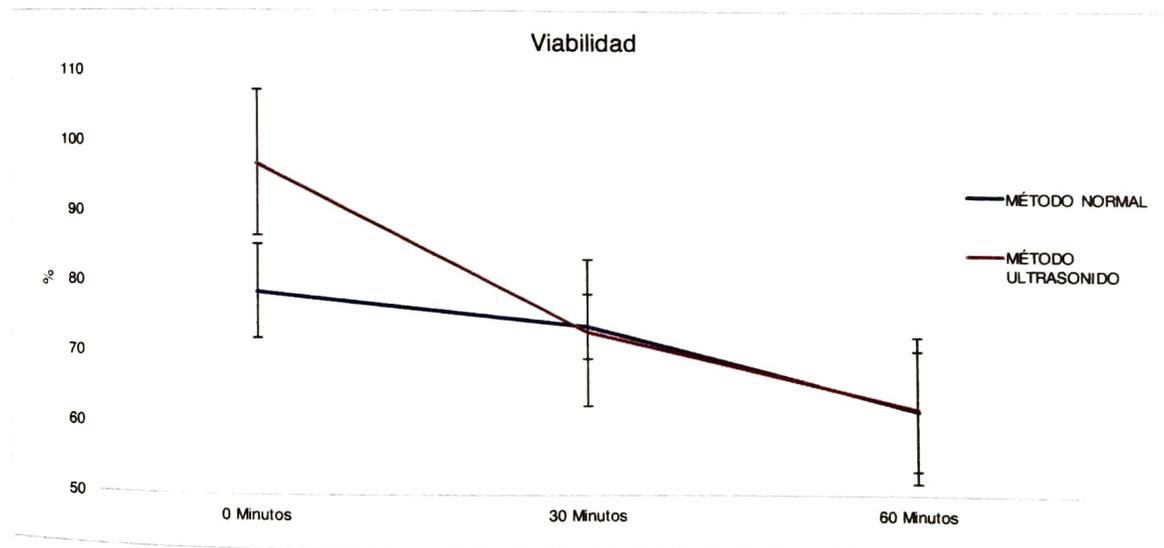
La muestra estuvo constituida por 5 pacientes femeninos, con una media de edad de 27 años con un rango de 22 a 24 años.

Los resultados de viabilidad con la técnica convencional al tiempo cero fue de 78.6% ± 15 , comparada con la viabilidad de la técnica con ultrasonido al tiempo cero que fue de 96.7%, ± 5 todo esto con una p de 0.055 ; A los 30 minutos con la técnica convencional al tiempo cero fue de 73.6% ± 15 , comparada con la viabilidad de la técnica con ultrasonido que fue de 72.8%, ± 5 , con una p de 0.93. La viabilidad a los 60 minutos con la técnica convencional fue de 61,8% ± 19 , comparada con la viabilidad de la técnica con ultrasonido que fue de 62 %, ± 30 todo esto de con una p de 0.99 (tabla 1)

Tabla 1 . Comparación de viabilidad de ambos métodos,

		Viabilidad		
		0 Minutos	30 Minutos	60 Minutos
Normal		78.6	73.6	61.8
	VASER	96.75	72.8	62
		0 Minutos	30 Minutos	60 Minutos
p		0.055305193	0.936634159	0.990322217

Figura 1: Comparación de viabilidad de ambas técnicas



Los resultados de apoptosis con la técnica convencional al tiempo cero fue de $36.7\% \pm 11$, comparada con la apoptosis de la técnica con ultrasonido al tiempo cero que fue de $27\%, \pm 5$ todo esto con una p de 0.107 . los 30 min con la técnica convencional fue de 41.14% y con la técnica

de ultrasonido fue de 35.9% con una p de 0.45 y a los 60 min con la técnica convencional fue de $52,3\% \pm 5$, comparada con la apoptosis de la técnica con ultrasonido que fue de $40.4\% \pm 1$ todo esto de con una p de 0.090

Figura 2 . Comparación de apoptosis de ambas técnicas

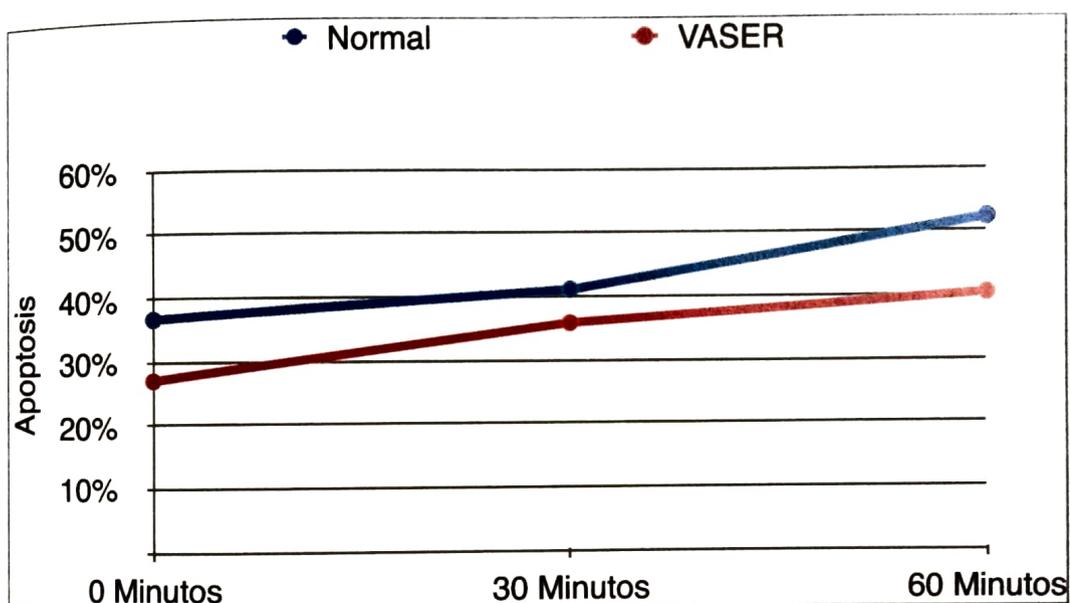
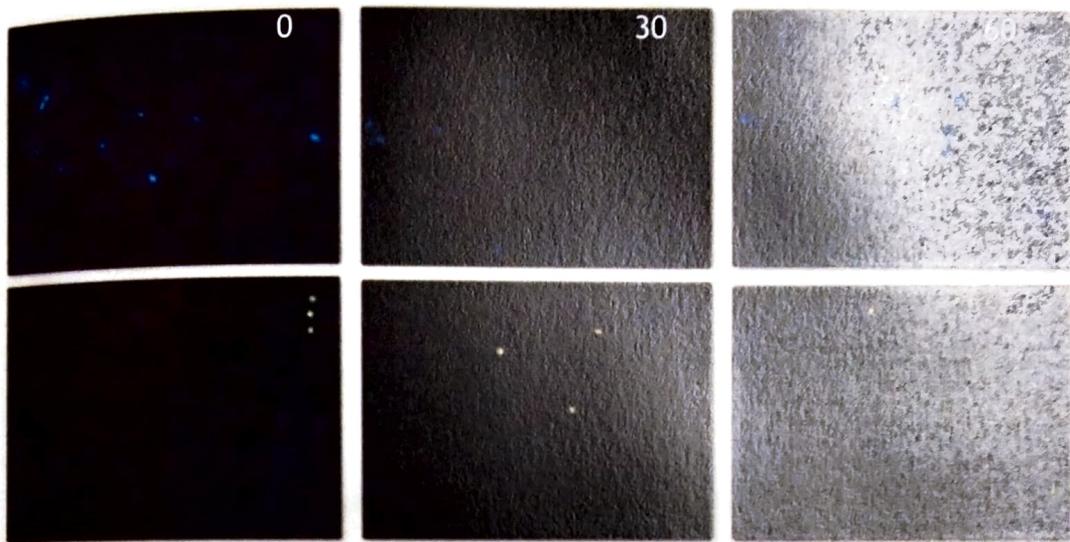


Figura 3. Ensayo TUNEL en cortes de 5mm de muestras de lipoaspirado a los tiempos 0', 30' y 60'. Los núcleos se muestran en azul (DAPI) y los núcleos positivos para apoptosis se muestran en verde (fluoresceína)

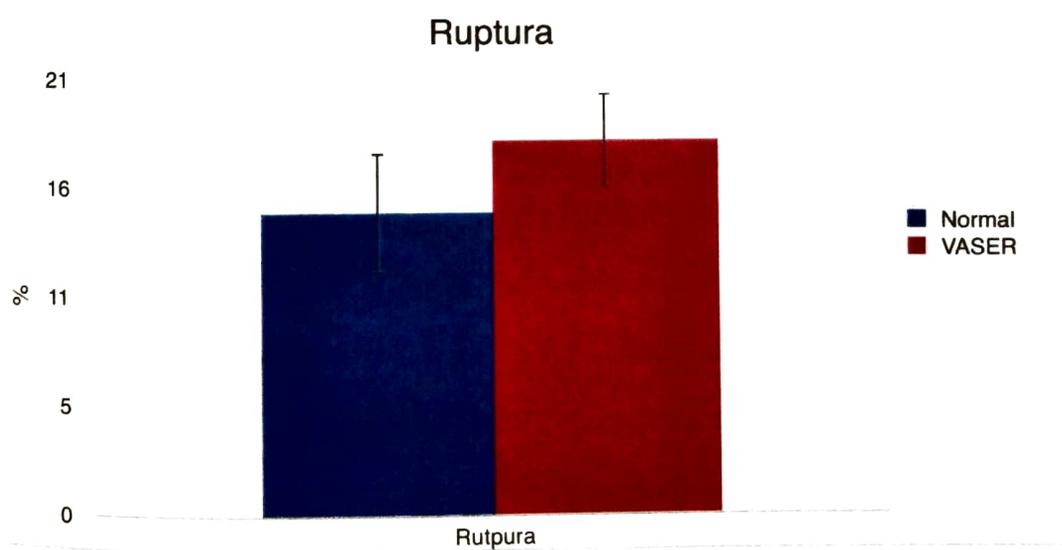


Se analizó la ruptura de la membrana citoplasmica observandose un porcentaje de ruptura de 15% con la técnica convencional y de 18% en el método ultrasonido con una p de 0.36, lo cual no es estadísticamente significativo; en cuanto a la dermis y epidermis no se observa daño estructural en ninguna de las dos técnicas conservando glándulas sebáceas y anexos cutáneos.

Figura 4 . Comparación entre ambas biopsias lado izquierdo biopsia con técnica convencional , lado derecho , aspiración con ultrasonido.



Figura 5 . Comparación de ruptura celular entre ambas técnicas



Capítulo VII

Discusión

La liposucción asistida por ultrasonido ha ganado aceptación en los últimos tiempos, pero su papel en la transferencia y sobrevida de grasa todavía no está definido.

Además ha habido cuestionamientos si la técnica de lipoaspiración por ultrasonido daña más el tejido graso que la técnica convencional.

Decidimos estudiar la viabilidad por que hasta la fecha no existen suficientes estudios que comparen la viabilidad de los adipocitos entre los diferentes métodos de aspiración, por lo que realizamos una comparación de tanto las técnicas convencionales y asistidas por ultrasonido para valorar la viabilidad y apoptosis de las células grasas.

Nuestro estudio utilizó la técnica de infiltración super húmeda por que es la indicación estándar en la actualidad para la liposucción, se decidió la utilización del puerto umbilical para evitar la

necesidad de mas incisiones, ademas se utilizo el sistema VASER por dos minutos en la región a aspirar por que es la recomendación del proveedor para este tipo de infiltración, todo esto con fines de estandarización.

De manera sorprendente la viabilidad inicialmente fue superior en el método de aspiración por ultrasonido con 96.7%, esto se pudiera explicar por que la centrifugación elimina el total de células muertas y aceite y así se obtiene una mayor cantidad de adipocitos viables. En cuanto a la técnica convencionales esta obtuvo un 78.6 % de viabilidad , lo cual va acorde con la literatura como Wei et. al , lo describió con una viabilidad de 79% en su revisión para liposucción de tipo convencional (26,28).

Ademas la viabilidad final fue de 62% para ambos métodos , esto apoya los hallazgos de múltiples revisiones las cuales no han encontrado diferencia en la arquitectura y función fisiológica entre ambas técnicas (29,30). y apoya el uso de la grasa adquirida por el método de ultrasonido para fines de infiltración.

Fisher et. al. (30) realizo una comparación de ambas técnicas de liposucción en un modelo murino y demostró que la sobrevida de los adipocitos es similar en ambos grupos pero a

diferencia de nuestro estudio el uso de lipofiltrados y centrifugación de la grasa para posteriormente infiltrarla en ratas . y se valoró la retención del tejido graso.

Por otro lado, en cuanto a la apoptosis, no existió diferencia significativa con un resultado de 37% de la técnica convencional vs 27% de la técnica de ultrasonido pero sigue habiendo diferencia con el estudio de Wei et. el cual reporta una apoptosis de 19.7%; casi mitad de lo que encontramos nosotros.

En cuanto a las biopsias no se observó diferencia significativa entre el número de adipocitos rotos por campo entre ambas técnicas, con conservación de anexos cutáneos y glándula sebácea , sin daño a la epidermis, lo que coincide con múltiples revisiones de la literatura las cuales no han encontrado diferencia en la arquitectura y función fisiológica entre ambas técnicas.

Capítulo VIII

Conclusión

Basados en nuestro resultados, Existe una mayor viabilidad inicial para los adipocitos obtenidos por ultrasonido en comparación del método tradicional de aspiración. aunque no existe diferencia en la viabilidad de los adipocitos a los 30 y 60 minutos.

En cuanto a la apoptosis no existió diferencia significativa entre ambas técnicas de liposucción al tiempo cero a los 30 minutos y con una apoptosis similar a los 60 minutos entre ambas técnicas.

No se observo diferencia significativa entre el numero de adipocitos rotos por campo entre ambas técnicas, con conservación de anexos cutáneos y glándula sebáceas , sin daño a la epidermis.

Con esta información podemos inferir que la grasa obtenida con la técnica de ultrasonido pudiera utilizarse con los mismos fines estéticos, reconstructivos y de lipoinfiltración. Sin embargo, hace falta un mayor estudio sobre éste punto para establecer de forma definitiva estos hallazgos (31).

Capítulo IX

Bibliografía

1. Illouz YG. History and current concepts of lipoplasty. *Clin Plast Surg.* 1996;23:721
2. Garcia O Jr, Nathan N. Comparative analysis of blood loss in suction-assisted lipoplasty and third-generation internal ultrasound-assisted lipoplasty. *Aesthet Surg J.* 2008;28:430–435.
3. Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, et al. Trends in autologous fat grafting to the breast. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:35–46.
4. Choi M, Small K, Levovitz C, Lee C, Fadl A, Karp NS. The volumetric analysis of fat graft survival in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:185–191.
5. Clauser LC, Tieghi R, Gali. M, Carinci F. Structural fat grafting. *J Craniofac Surg.* 2011;22:1695–1701.
6. Coleman SR. Structural fat grafting: More than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118:108S–120S.
7. Coleman SR. Structural fat grafts. *Clin Plast Surg.* 2001;28:111–119.
8. Gir P, Brown SA, Oni G, Kashefi N, Mojallal A, Rohrich RJ. Fat grafting: Evidence-based review on autologous fat harvesting, processing, reinjection, and storage. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130:249–258.
9. Kaufman MR, Miller TA, Huang C, et al. Autologous fat transfer for facial recontouring: Is there science behind the art? *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:2287–2296.

10. Niechajev, I., and Sevcuk, O. Long-term results of fat transplantation: Clinical and histologic studies. *Plast. Reconstr. Surg.* 94: 496, 1994.

11. Pinski, K. S., and Roenigk, H. H., Jr. Autologous fat transplantation: Long-term follow-up. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 18: 179, 1992.

12. Chajchir, A., and Benzaquen, I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plast. Reconstr. Surg.* 84: 921, 1989.

13. Illouz, Y. G. The fat cell "graft": A new technique to fill depressions. *Plast. Reconstr. Surg.* 78: 122, 1986.

14. Garcia O Jr, Nathan N. Comparative analysis of blood loss in suction-assisted lipoplasty and third-generation internal ultrasound-assisted lipoplasty. *Aesthet Surg J.* 2008;28:430-435.

15. Panetta NJ, Gupta DM, Kwan MD, Wan DC, Commons GW, Longaker MT. Tissue harvest by means of suction-assisted or third-generation ultrasound-assisted lipoaspiration has no effect on osteogenic potential of human adipose-derived stromal cells. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:65-73.

16. Illouz, Y. G. Fat injection: A four-year clinical trial. In G. P. Hetter (Ed.) *Lipoplasty: The Theory and Practise of Blunt Suction Lipectomy*, 2nd Ed. Boston: Little, Brown, 1990. Pp. 239-246

17. Peer, L. A. The neglected "free fat graft," its behavior and clinical use. *Am. j. Surg.* 92: 40, 1956

18. Mikus, J. L., Koufman, J. A., and Kilpatrick, S. E. Fate of liposuctioned and purified autologous fat injections in the canine vocal fold. *Laryngoscope* 105: 17, 1995

19. Niechajev, I., and Sevcuk, O. Long-term results of fat transplantation: Clinical and histologic studies. *Plast. Reconstr. Surg.* 94: 496, 1994

20. Niechajev, I., and Sevcuk, O. Long-term results of fat transplantation: Clinical and histologic studies. *Plast. Reconstr. Surg.* 94: 496, 1994
21. Moscona, R., Shoshani, O., Lichtig, H., and Karnieli, E. Viability of adipose tissue injected and treated by different methods: An experimental study in the rat. *Ann. Plast. Surg.* 33: 500, 1994.
22. Carpaneda, C. A. Study of aspirated adipose tissue. *Aesthetic Plast. Surg.* 20: 399, 1996.
23. Chajchir, A., and Benzaquen, I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plast. Reconstr. Surg.* 84: 921, 1989.
24. Lewis, C. M. The current status of autologous fat grafting. *Aesthetic Plast. Surg.* 17: 109, 1993
25. Boschert M.T., Beckert B.W., Puckett C.L., Analysis of Lipocyte Viability after Liposuction. *Plast. Reconstr. Surg.* 109: 761, 2002
26. Nagy MW, Vanek PF Jr. A multicenter, prospective, randomized, single-blind, controlled clinical trial comparing VASER-assisted lipoplasty and suction-assisted lipoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129:681e–689e.
27. Wei, W.Z., Fang, X., Williams, S., Analysis for apoptosis and necrosis on adipocytes, stromal vascular fraction, and adipose-derived stem cells in human lipoaspirates after liposuction. *Plast. Reconstr. Surg.* 131:77e, 2013.
28. Phanette Gir, M.D. Spencer A. Brown, Ph.D. Fat Grafting: Evidence-Based Review on Autologous Fat Harvesting, Processing, Reinjection, and Storage *Plast. Reconstr. Surg.* 130: 249, 2012

29. Amy L. Strong, Ph.D., M.P.H. Paul S. Cedema, M.D. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques *Plast. Reconstr. Surg.* 136: 897, 2015

30. Fisher , Gravohav Comparison of Harvest and Processing Techniques for Fat Grafting and Adipose Stem Cell Isolation *Plast. Reconstr. Surg.* 132: 351, 201

31. Rod J. Rohrich, M.D., David E. Morales Comparative Lipoplasty Analysis of in Vivo -Treated Adipose Tissue *Plast. Reconstr. Surg.* 105: 2152, 2000