

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**“DETERMINACIÓN DE LA DIVERSIDAD CELULAR PRESENTE EN EL  
NANOCELL”**

**Por**

**DRA. PAULINA RODRÍGUEZ VILLA**

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

**DICIEMBRE, 2024**

**“DETERMINACIÓN DE LA DIVERSIDAD CELULAR PRESENTE EN EL  
NANOCELL”**

**Aprobación de la tesis:**



---

**Dr. Med. Yanko Castro Govea  
Director de la tesis**



---

**Dr. C. Daniel Salas Treviño  
Co-director de la tesis**



---

**Dr. Yanko Castro Govea  
Jefe de Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva**



---

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

## **DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por haberme enseñado a ser la persona que soy hoy, por su apoyo, su cariño, comprensión y por estar siempre presentes. A mis hermanos por su ejemplo y su apoyo. Mis logros se los debo a ustedes que me motivaron constantemente para alcanzar mis metas.

A mi yuyin, aunque no estés físicamente fuiste fuente de inspiración y fortaleza en cada paso de este camino.

## TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESUMEN .....	9
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN .....	10
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS .....	17
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS .....	18
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS .....	19
Capítulo VI	
6. RESULTADOS.....	26
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN .....	35
Capítulo VIII	
8. CONCLUSIÓN .....	39

Capítulo IX

10.BIBLIOGRAFÍA ..... 40

Capítulo X

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO ..... 44

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Datos demográficos.....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Método de obtención del tejido graso y tratamientos.....	23
2. Características macroscópicas del lipoaspirado.....	27
3. Microscopía de campo claro .....	28
4. Gráficos de viabilidad celular.....	30
5. Gráfico de puntos de poblaciones celulares por citometría de flujo .....	30
6. Histograma de fluorescencia de la expresión de CD34, CD31, CD146...	32
7. Gráfico con porcentajes de conteo celular .....	33
8. Gráfico de porcentajes de conteo de detritus .....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS

**FVE:** Fracción vascular estromal

**ASC:** Células madre del tejido adiposo (por sus siglas en inglés: Adipose Stem Cells)

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

**IL-6:** Interleucina 6

**IL-12:** Interleucina 12

**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante beta

**VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular

**PAI-1:** Inhibidor del activador del plasminógeno 1

**EPC:** Células progenitoras endoteliales

**IGF-1 :** Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

**HGF:** Factor de crecimiento del hepatocito

**MSCs:** Células madre mesenquimales

**PRP:** Plasma rico en plaquetas

**PRF:** Plasma rico en fibrina

# CAPÍTULO I

## RESUMEN

El injerto graso se ha utilizado las últimas décadas como relleno autólogo para tratar padecimientos como secuelas por quemaduras, reconstrucción de defectos craneofaciales e incluso por razones estéticas. Hoy en día, ha despertado el interés debido a las propiedades de diferenciación de los componentes celulares encontrados en la fracción vascular estromal (FVE).

La FVE es un conjunto heterogéneo de células (células endoteliales precursoras, preadipocitos, células madre derivadas de tejido adiposo (ASC), macrófagos, linfocitos, fibroblastos, pericitos) que pueden ser obtenidas mediante un proceso enzimático o mecánico. Dentro de los métodos mecánicos más utilizados se encuentra el nanofat descrito por Tonnard en 2013 que consta en realizar una emulsificación a través del paso del lipoaspirado por diferentes tamaños de filtros.

Con la finalidad de optimizar los resultados clínicos en la aplicación estética este estudio analiza y describe la población celular y características del tejido graso obtenido después de una serie de modificaciones al método descrito por Tonnard.

Se incluyeron 6 pacientes; de cada uno se obtuvieron 24 cc de grasa y se formaron 6 grupos de tratamiento con 4cc. Base: Grasa sin decantar ni emulsificar; T1GD: Grasa decantada; T2GE: Grasa emulsificada sin decantación; T3GED Grasa emulsificada y decantada; T4GEDC1: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto y T5GEDC3: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos. Se llevó a cabo una caracterización celular a través de citometría de flujo e inmunofluorescencia utilizando marcadores de superficie celular (CD34<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup> y CD146<sup>+</sup>). Dentro de los resultados destaca una mayor población femenina, IMC promedio de 26.5% y el abdomen fue la principal zona de obtención de la grasa. Se encontró mayor proporción celular tanto de células mesenquimatosas, pericitos y células endoteliales en el grupo de aislamiento enzimático; así como menor proporción de detritos celulares. Dentro de los grupos de aislamiento mecánico se encontró mayor cantidad de CD31<sup>+</sup> Y CD34<sup>+</sup> en el grupo correspondiente al nanofat.

Por lo que concluimos que la digestión enzimática sigue siendo el mejor método para obtener la mayor cantidad de células viables extraídas de tejido graso; sin embargo, como método alternativo y uso trans quirúrgico los métodos mecánicos nos proporcionan una buena cantidad de células regenerativas.

## **CAPÍTULO II**

### **INTRODUCCIÓN**

El injerto graso se ha utilizado durante las últimas décadas como un relleno autólogo en cirugía plástica para tratar múltiples padecimientos como secuelas por quemaduras, reconstrucción de defectos craneofaciales congénitos, de origen traumático, secundario a tumores e incluso por razones estéticas <sup>(1,2)</sup>. Actualmente, las propiedades de diferenciación de los componentes celulares encontrados en la fracción vascular estromal han incrementado su importancia en su aplicación en cirugía estética <sup>(3)</sup>.

Diversos estudios buscan optimizar el uso del tejido adiposo para aumentar la capacidad de supervivencia celular y concentrar las células derivadas para aprovechar su potencial de neovascularización, regeneración y disminución de la respuesta inflamatoria sistémica <sup>(4)</sup>.

La FVE es un conjunto heterogéneo de células contenidas dentro del tejido adiposo <sup>(5)</sup> del ser humano que puede obtenido mediante liposucción. A través de este método, es factible recolectar grandes cantidades de tejido adiposo para obtener esta fracción compuesta por células endoteliales, pericitos, células inmunológicas, fibroblastos y células madre derivadas de tejido adiposo <sup>(6)</sup>. Estas últimas células se caracterizan por ser células con capacidad proliferativa y de diferenciación multipotencial hacia linajes específicos: osteogénico, adipogénico, neurogénico, miogénico y condrogénico <sup>(7)</sup>.

Para el estudio de estas células multipotentes se han desarrollado diferentes métodos tanto enzimáticos como mecánicos para su aislamiento y recolección. El aislamiento enzimático permite mayor concentración de células recolectadas <sup>(8)</sup>, sin embargo, el tiempo invertido y los requisitos de este procedimiento lo hacen poco práctico y viable en un entorno quirúrgico.

Por el contrario, mediante el aislamiento mecánico estandarizado se obtiene una emulsión conocida como nanofat. Aunque la concentración celular obtenida es menor que con los métodos utilizados en el laboratorio (1,975,000 por cada 100 ml de lipoaspirado)<sup>(9)</sup> es muy empleado puesto que permite la obtención y aplicación clínica, fácil, económica, e inmediata de estas células sin grandes inconvenientes<sup>(10)</sup>.

El objetivo de este estudio es analizar y describir el tejido graso obtenido después de una serie de modificaciones al método descrito por Tonnard en 2013, realizando procesos mecánicos como la decantación, centrifugación y la emulsificación del tejido graso. Con esto, se busca caracterizar el lipoaspirado sometido a dichas condiciones y determinar la proporción de células específicas. Esto servirá, para conseguir un tejido graso con mayor rendimiento y efecto que podrá ser aplicada como injerto graso para reparación de heridas o rellenos.

### **Marco teórico**

Durante los últimos 20 años, el tejido adiposo ha sido reconocido universalmente como algo más que solo un depósito de energía y ahora se sabe que la grasa es un tejido que tiene funciones endocrinas, paracrinas y autocrinas <sup>(11)</sup>.

La estructura del tejido adiposo es compleja y aunque macroscópicamente parece consistir principalmente en grasa, el número de adipocitos adultos es inferior al 20% de la celularidad total. El otro 80% está compuesto por la denominada fracción

vascular estromal, que contiene células endoteliales precursoras, preadipocitos, células endoteliales, células madre derivadas de tejido adiposo (ASC), macrófagos, linfocitos, fibroblastos, pericitos y células hematopoyéticas <sup>(12)</sup>.

La gran actividad metabólica del tejido adiposo incluye secreción de productos como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), adiponectina, resistina, la leptina, el angiotensinógeno, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1) <sup>(13)</sup>.

Los injertos adiposos se convierten en verdaderos “secretomos”, que expresan varios factores que determinarán su relación con el tejido receptor; es por ello además del uso para la corrección de volumen, recientemente se ha utilizado el lipoaspirado procesado, mejor conocido como nanofat para modular la regeneración tisular.

El Nanofat es un proceso mecánico con una gran capacidad de regeneración celular debido al FVE mediante el cual se obtiene un conjunto de células compuesto por células precursoras de adipocitos, células progenitoras endoteliales (EPC) que inducen angiogénesis a través de la liberación de factores de crecimiento como el VEGF, factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1); macrófagos y monocitos <sup>(14)</sup>. Por otra parte, los pericitos participan en la regeneración muscular y las células estromales secretan componentes de la matriz extracelular que mejoran la capacidad de adhesión, migración, integración y regeneración celular <sup>(15)</sup>. Además, la señalización paracrina y entrecruzamiento de células provenientes del FVE y microentorno del huésped producen cambios secundarios a mecanismos angiogénicos, inmunomoduladores, diferenciación y de inducción del estroma.

Los criterios para caracterizar los contenidos celulares de la fracción vascular estromal utilizando antígenos de superficie es un área de investigación en evolución, ya que, dentro de ciertos estándares generalmente aceptados, existe variabilidad entre laboratorios. Entre los marcadores positivos y negativos comúnmente utilizados para

identificar diferentes poblaciones celulares se encuentran CD34<sup>+</sup>, CD73<sup>+</sup>, CD13<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD105<sup>+</sup>, CD29<sup>+</sup>, CD31<sup>-</sup>, CD45<sup>-</sup> Y CD144<sup>-</sup> en las células madre derivadas de tejido adiposo; CD34<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>, CD146<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup> en células endoteliales precursoras; CD31<sup>+</sup> FVIII, CD34<sup>-</sup> en células endoteliales; CD146<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD73<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD29<sup>+</sup>, CD13<sup>+</sup>, CD34<sup>-</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD56<sup>-</sup> en los pericitos y CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD31<sup>-</sup> y CD146<sup>-</sup> en los pre-adipocitos (16,17,18)

En cuanto a la capacidad de regeneración, principalmente las células madre son encargadas de diferenciarse en múltiples linajes celulares favoreciendo la diferenciación y proliferación de células maduras como adipocitos, fibroblastos (cuando es inyectado intradérmico), condrocitos, entre otros (19).

## Antecedentes

En 2001, se publicaron las primeras descripciones donde se reporta el uso de ASCs y su potencial para la restauración de los cambios estructurales de la piel que va sufriendo con la edad, por lo que actualmente se ha convertido en un blanco terapéutico en el campo del rejuvenecimiento facial <sup>(20)</sup>.

A partir de esto se inició la investigación de los componentes celulares presentes en la fracción vascular estromal.

En el 2015 se llevó a cabo una revisión de los mecanismos involucrados en la regeneración tisular y demostraron a través de estudios de inmunohistoquímica y citometría de flujo la presencia de marcadores de superficie en la fracción vascular estromal. La FVE está compuesta 20% células estromales, 10-20%, células hematopoyéticas 25-45% y se caracterizan por presentar CD45-, CD235-, CD31-, CD34+ <sup>(21)</sup>

Otras células importantes para la regeneración son las células endoteliales y pericitos. Las células endoteliales se definen por la combinación de CD45-, CD31+, CD34+ Y CD146+; mientras que los pericitos que desempeñan una función en la pared vascular expresan CD45-, CD31- y CD146+ <sup>(22)</sup>

Posteriormente, se identificaron una población de células transicionales las cuales presentaban marcadores de superficie positivos para CD34 y CD146 y negativos para CD31- <sup>(23)</sup>.

Bora et al hacen una caracterización de las células encontradas en la FVE, incluyendo tipo celular, tamaño y marcadores de superficie presentes en cada uno como se muestra en la tabla a continuación <sup>(24)</sup>.

Componentes importantes de la FVE, tamaño y marcadores de superficie respectivos.			
Tipo de célula en la FVE	Tamaño celular	Marcadores moleculares	
		Positivos	Negativos
Células madre derivadas de adipocitos	10-25µm	CD34, CD73, CD13, CD90, CD105, CD209	CD31, CD45, CD144
Precursoras de células endoteliales	7-8µm	CD34, CD31, CD133, CD146	CD45
Células endoteliales	10-30µm	CD31, FVIII	CD34
Linfocitos T	7-12µm	CD4, CD25, Foxp3, CD8	-
Pericitos	Hasta 70µm	CD146, CD90, CD73, CD44, CD29, CD13	CD34, CD45, CD56
Pre adipocitos	10µm	CD34	CD45, CD31, CD146

**FVE:** fracción vascular estromal.

Contenido modificado y traducido de: Bora, P., Majumdar A. (2017). *Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. Stem Cell Research & Therapy, 8, 145.*

De igual manera en estudio realizado en el 2020 por Gao et al describen que los principales tipos celulares encontrados en la FVE son las células madre derivadas de tejido adiposo (ASCs), células endoteliales, células endoteliales precursoras, pericitos y pre adipocitos y establecen marcadores de superficie celular específicos para la identificación de cada una de ellas. ASCs (CD90+, CD105+, CD44+), células endoteliales (CD31+, CD133-), pericitos (CD146+) y pre adipocitos (CD34+, PDGFR $\alpha$ , DLK) (25)

Es por ello que en este estudio utilizamos el marcador de superficie CD34<sup>+</sup> para identificar los pre adipocitos, CD146<sup>+</sup> para los pericitos y CD31<sup>+</sup> para las células endoteliales con la finalidad de realizar una caracterización y cuantificación de cada las células presentes en cada uno de los tratamientos.

## **Justificación**

En la literatura están descritos múltiples procedimientos para la obtención de tejido graso y su conversión a nanofat con múltiples variaciones reportadas; que, a pesar de presentar resultados satisfactorios, se desconoce la caracterización de las células obtenidas durante estos diferentes métodos y por ende la cantidad de células aplicadas y requeridas para obtener un resultado óptimo con la aplicación de injerto graso.

Por lo tanto, este estudio pretende comparar a través de un análisis histológico y molecular, la cantidad y proporción de tipos celulares presentes en el lipoaspirado que fueron sometidos a diferentes tratamientos mecánicos. Este análisis nos permitirá determinar y describir el mejor tratamiento y procesamiento mecánico del lipoaspirado para obtener un injerto graso enriquecido de células de la FVE.

## **CAPÍTULO III**

### **HIPÓTESIS**

La concentración y proporciones de los elementos celulares del lipoaspirado dependen directamente de los tratamientos de proceso mecánico a los que serán sometidos.

### **HIPÓTESIS NULA**

La concentración y proporciones de los elementos celulares del lipoaspirado no dependen directamente de los tratamientos de proceso mecánico a los que serán sometidos.

## **CAPÍTULO IV**

### **OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

- Identificar y cuantificar los elementos celulares presentes en lipoaspirados que han sido sometidos a distintos tratamientos mecánicos.

#### **Objetivos secundarios**

- Determinar la cantidad, concentración y proporción de las poblaciones celulares de CD34<sup>+</sup>, CD146<sup>+</sup> y CD31<sup>+</sup> en los lipoaspirados sometidos a tratamientos mecánicos mediante citometría de flujo.
- Medir la cantidad, concentración y proporción de los detritus celulares contra la porción celular en los lipoaspirados sometidos a distintos tratamientos mecánicos.
- Determinar la viabilidad celular de la totalidad de las poblaciones celulares sometidas a los diferentes tratamientos mecánicos.

## **CAPÍTULO V**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **Diseño del estudio:**

Estudio experimental, descriptivo, analítico y transversal.

#### **Población de estudio:**

Se analizaron muestras de tejido graso (lipoaspirado) obtenido de pacientes sin distinción de sexo, mayores de 18 años sometidos a procedimiento de liposucción en el Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, durante el periodo del 1 al 30 de Julio del 2024.

#### **Criterios de selección de participantes para obtención de lipoaspirado**

##### **Criterios de inclusión:**

- Pacientes mayores de 18 años, sin distinción de sexo que se vayan a someter a un procedimiento que involucre liposucción.
- Índice de Masa Corporal (IMC) entre 18.5 – 34.9.

##### **Criterios de exclusión:**

- Índice de Masa Corporal <18.5 o >35.
- Antecedente de enfermedad crónica (diabetes tipo 2, hipertensión arterial)
- Antecedente de cáncer.
- Coagulopatía.
- Evidencia de infección en el área a tratar durante la cirugía.

- Antecedente de cirugía en el área a tratar.
- Pacientes embarazadas.
- Antecedente de enfermedades de tejido conectivo.

#### **Criterios de eliminación:**

- Muestra insuficiente para estudio de citometría de flujo.
- Muestras procesadas con desviaciones al protocolo.
- Muestras con falla en la preservación del tejido.

## METODOLOGÍA

### **Obtención del lipoaspirado.**

Para conseguir el material de lipoaspirado necesario para los análisis, la técnica quirúrgica se realizó de la siguiente manera (Figura 1):

Previa antisepsia del área quirúrgica se realizó la infiltración de 24cc de solución tumescente modificada (adrenalina/solución salina 1:200,000) mediante aguja de 1mm de diámetro. Después de 10 minutos de latencia, se procedió a la toma de injerto graso a través de una cánula de 2.5 mm de diámetro, 10 cm de largo, de punta roma, multifenestrada (fenestras de 1mm de diámetro) conectada a jeringas de 5 cc. Se tomaron 6 jeringas con capacidad de 5 cc, las cuales se llenaron con 4 cc de microfat cada una, para la obtención total de 24cc de tejido graso.

### **Tratamientos mecánicos de los lipoaspirados.**

Para este trabajo, se estudiaron 5 tipos de tratamientos mecánicos y uno enzimático (control – base) al lipoaspirado con 2 variantes en cada una de las condiciones.

- Control – Base: Grasa sin decantar ni emulsificar. (Se realizó el tratamiento enzimático debido a que éste se considera el gold estándar para el aislamiento

celular y así tener una base para realizar la comparación del resto de los tratamientos propuestos).

- Tratamiento 1: Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado) → T1GD.
- Tratamiento 2: Grasa emulsificada sin decantación → T2GE.
- Tratamiento 3: Grasa emulsificada y decantada → T3GED.
- Tratamiento 4: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto → T4GEDC1.
- Tratamiento 5: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos → T5GEDC3.

Los procesos mecánicos de emulsificación, decantado y centrifugación realizados se especifican a continuación.

Decantación: sin movilizar la muestra se cuantificó la cantidad de tejido graso a los 5 minutos; se dejó decantar durante 5 minutos más hasta completar 10 minutos. Una vez completados los 10 minutos se eliminó la capa oleosa (superior) y la capa de solución tumescente (inferior) y se cuantificó el total de grasa obtenida.

Emulsificación: se pasó el lipoaspirado a través de un filtro de grasa con jeringas de 5 cc a través del conector “Luer to Luer” de 2.4 mm 40 veces; sobre esa misma grasa se repitió el procedimiento con un filtro de 1.2mm y al finalizar la muestra obtenida se pasó por el Nano Transfer de 500 micras.

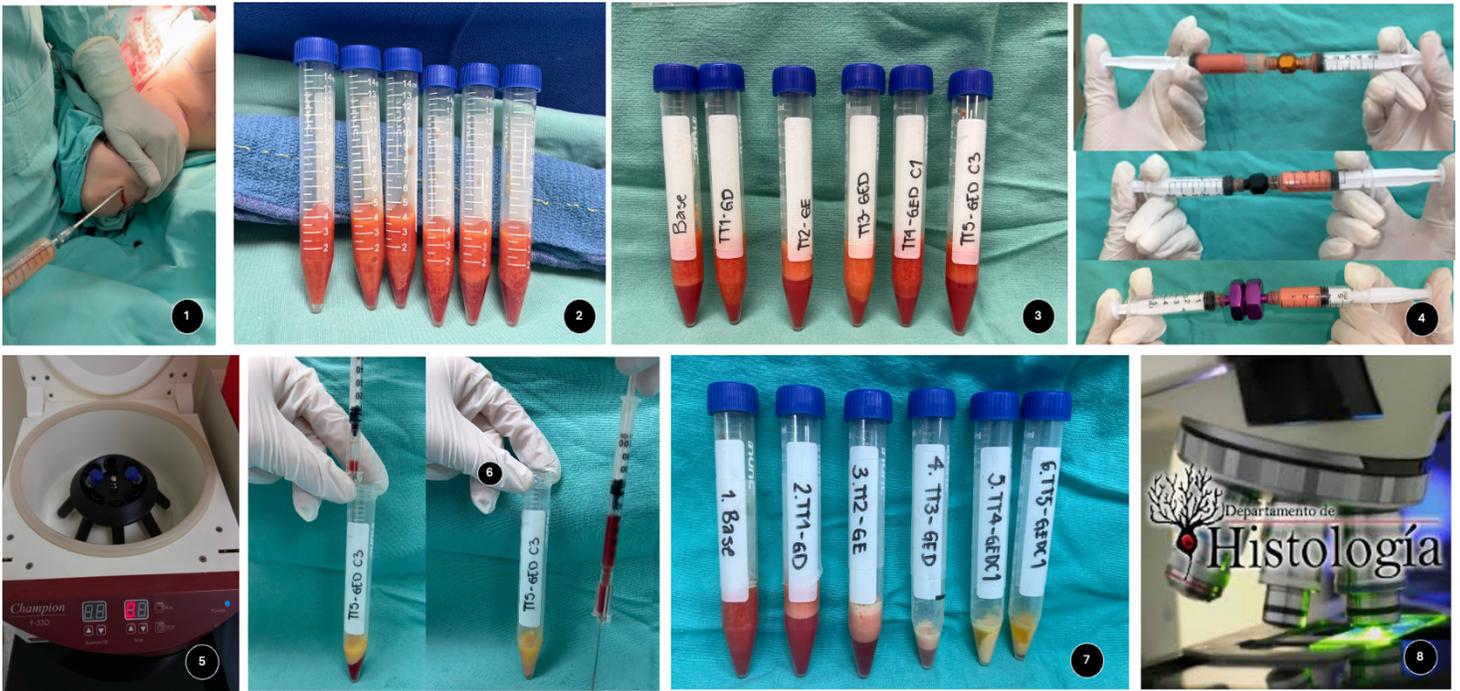
Centrifugación: se centrifugó a 800g durante 1 y 3 minutos; en el tratamiento T4GEDC1 y T5GEDC3 respectivamente.

Las muestras fueron enviadas en condiciones de cadena de frío (4°C) al Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la UANL en un tiempo menor de 30 minutos tras haber sido obtenidas.

Para el análisis de la viabilidad celular y citometría de flujo de los lipoaspirados tratados las muestras fueron procesadas para conteo celular total y se reportaron los resultados en células/mL. Durante el conteo se incorporó la tinción de azul de tripan como colorante para el análisis de viabilidad y se determinó el conteo de células viables bajo microscopía de campo claro.

Posteriormente, se realizó una digestión enzimática con Colagenasa tipo I en muestras de lipoaspirado como control de referencia. Para esto, se utilizará 10 mg/mL de colagenasa tipo I para digerir a la muestra por espacio de 2 hrs y se realizó lavado con medio para inactivar la enzima. Se colectó la fracción vascular estromal por centrifugación a 800g por 5 min a 4°C, y fue procesada con el resto de las muestras. Una vez realizado el conteo, se hizo el ajuste mínimo de  $2 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  de células para cada marcador CD a detectar (CD34, CD146, CD31) y se colocaron en microtubos de 1.5 mL. Las células fueron lavadas en buffer FACS y centrifugadas a 800 g por 5 minutos a 4°C, seguido de la incubación con los anticuerpos de interés siguiendo las indicaciones por el fabricante incubando por espacio de 30-60 minutos a 4°C en oscuridad. Posteriormente, se lavaron las células con buffer FACS, se centrifugaron y fueron resuspendidas en 300  $\mu$ l del mismo buffer. Se procedió a leer las muestras en un citómetro de flujo Accuri C6 Plus (Becton Dickinson, EE. UU.). Se ajustaron los valores de fondo (background) con muestras referencia. Una vez finalizado el ensayo, se hizo el análisis de la población total en porcentaje para cada marcador celular. Todos los residuos generados fueron procesados acordes a los lineamientos de desecho de RPBI dictado por la NOM-087-ECOL-1995.

**Figura 1. Método de obtención de tejido graso y tratamientos de estudio.**



1-Toma de micrograft . 2- Llenado de tubos tipo falcon con 4cc de micrograft. 3- Identificación de los grupos de tratamiento y decantación durante 10 minutos. 4- Emulsificación de la grasa en filtros de 2.4mm, 1.2mm y Nano (500 µm). 5- Centrifugación de tratamiento 4 y 5 por 1 y 3 minutos respectivamente. 6-Extracción de excedente posterior a centrifugación. 7- Grupos de tratamiento finales. 8- Envío de muestras al departamento de histología para su análisis.

Base: Grasa sin decantar ni emulsificar.  
T1GD: Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado).  
T2GE: Grasa emulsificada sin decantación.  
T3GED: Grasa emulsificada y decantada.  
T4GEDC1: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto.  
T5GEDC3: Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

## Tamaño de la muestra

Para realizar este estudio, se realizó un muestreo no probabilístico por casos consecutivos (se esperaba recopilar un mínimo de 5 participantes en el período contemplado).

## Aspectos éticos y de confidencialidad de la información de los participantes.

Los procedimientos propuestos fueron realizados de acuerdo con las normas éticas, el reglamento de la Ley General de Salud y la declaración de Helsinki del 2013, así como con los códigos y normas internacionales y locales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica.

El protocolo será revisado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”

La información recabada en este estudio fue recopilada en bases de datos, sin capturar nombre completo, edad o la dirección de los sujetos de investigación en las muestras manteniendo el anonimato. Se sistematizó la asignación de folios a las muestras recopiladas que contendrán las siglas del proyecto-fecha-número de muestra. El recabar esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica, misma que fue resguardada en el sitio de investigación y solo tienen acceso los miembros del equipo de investigación.

### **Recursos y financiamiento**

Los recursos y financiamiento del proyecto fueron aportados por el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” y por el Departamento de Cirugía Plástica y Reconstructiva.

### **Análisis estadísticos**

Se registraron los datos clínicos y demográficos de los participantes para expresarse a manera de frecuencias y con medidas de tendencia central y dispersión. Por otra parte, de cada tipo celular se registró la cantidad de células en términos de concentración (células / ml) y en porcentaje (%) de proporción en el lipoaspirado en cada una de las muestras y tratamientos. Con esto, se realizaron comparaciones de los tratamientos mediante la prueba de ANOVA de una vía y de comparaciones múltiples para contrastar el efecto del tratamiento en la concentración celular y la prueba de Kruskal Wallis para comparación de medianas según la normalidad de los datos obtenidos.

## **Software**

El análisis de datos y el análisis estadístico se realizaron en Microsoft Excel® para Mac (Versión 16.54) y GraphPad Prism® (Versión 9.3.0, software GraphPad).

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS

En este estudio, se incluyeron 6 pacientes sometidos a liposucción; se obtuvo un total de 36 muestras de tejido adiposo. La composición demográfica fue predominantemente de pacientes femeninos (5 mujeres, 1 hombre); con un rango de edad entre 25-51 años ( $\bar{x} = 37$  años). Solo 1 de los 6 pacientes presentaba comorbilidades. El índice de masa corporal promedio fue de 26.5 (24.5-29 kg/m<sup>2</sup>). En cuanto al sitio de obtención del tejido graso, 4 (66.6%) de las de las muestras fueron obtenidas de región abdominal y el resto 2 (33.3%) fueron obtenidas de brazos (Tabla1).

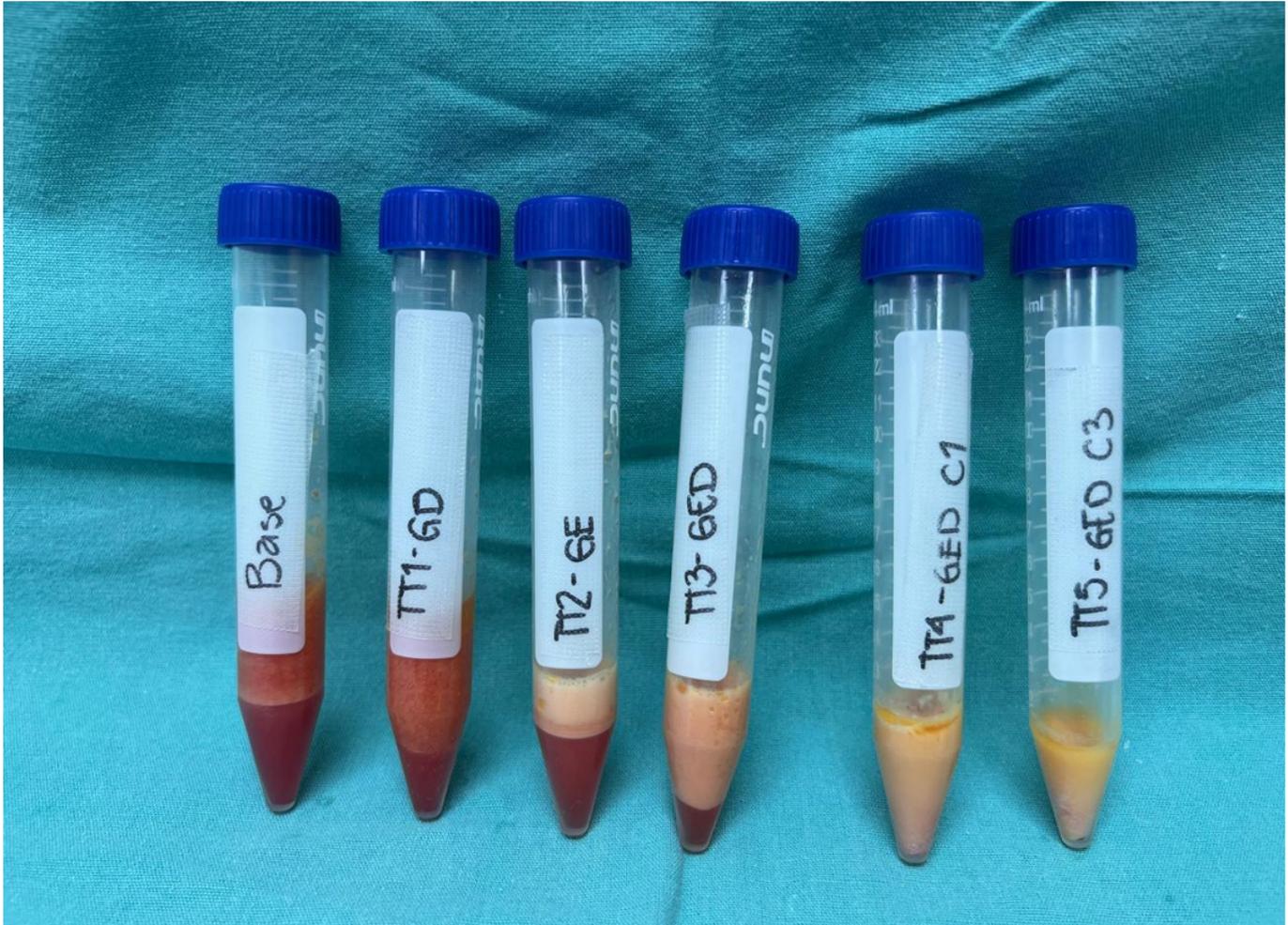
**Tabla 1. Características demográficas de la población estudiada**

Muestra	Género	Edad	Sitio de Obtención de grasa	IMC	Comorbilidades
1	Femenino	32	Abdomen	24.5	No
2	Femenino	46	Brazos	26	No
3	Masculino	36	Abdomen	26.7	No
4	Femenino	25	Abdomen	28	No
5	Femenino	37	Abdomen	29	No
6	Femenino	51	Brazos	27	Angina de pecho

Una vez finalizada la obtención de las muestras en cada paciente, se evaluaron las características macroscópicas del lipoaspirado. En las muestras de los grupos Control, T1GD, T2GE de todos los pacientes se observó una emulsión rojiza con abundantes eritrocitos, mientras que en el tratamiento T3GED la presencia de eritrocitos fue heterogénea, siendo moderado en los pacientes 1,2 y 3 y escasos en lo 4, 5 y 6. En los tratamientos T4GEDC1 y T5GEDC3 no se observó la presencia de

eritrocitos, mostrando una emulsión color amarillo sin rastros hemáticos en todos los pacientes (Figura 2).

**Figura 2.** Características macroscópicas del lipoaspirado posterior a someterse a los diferentes tratamientos.

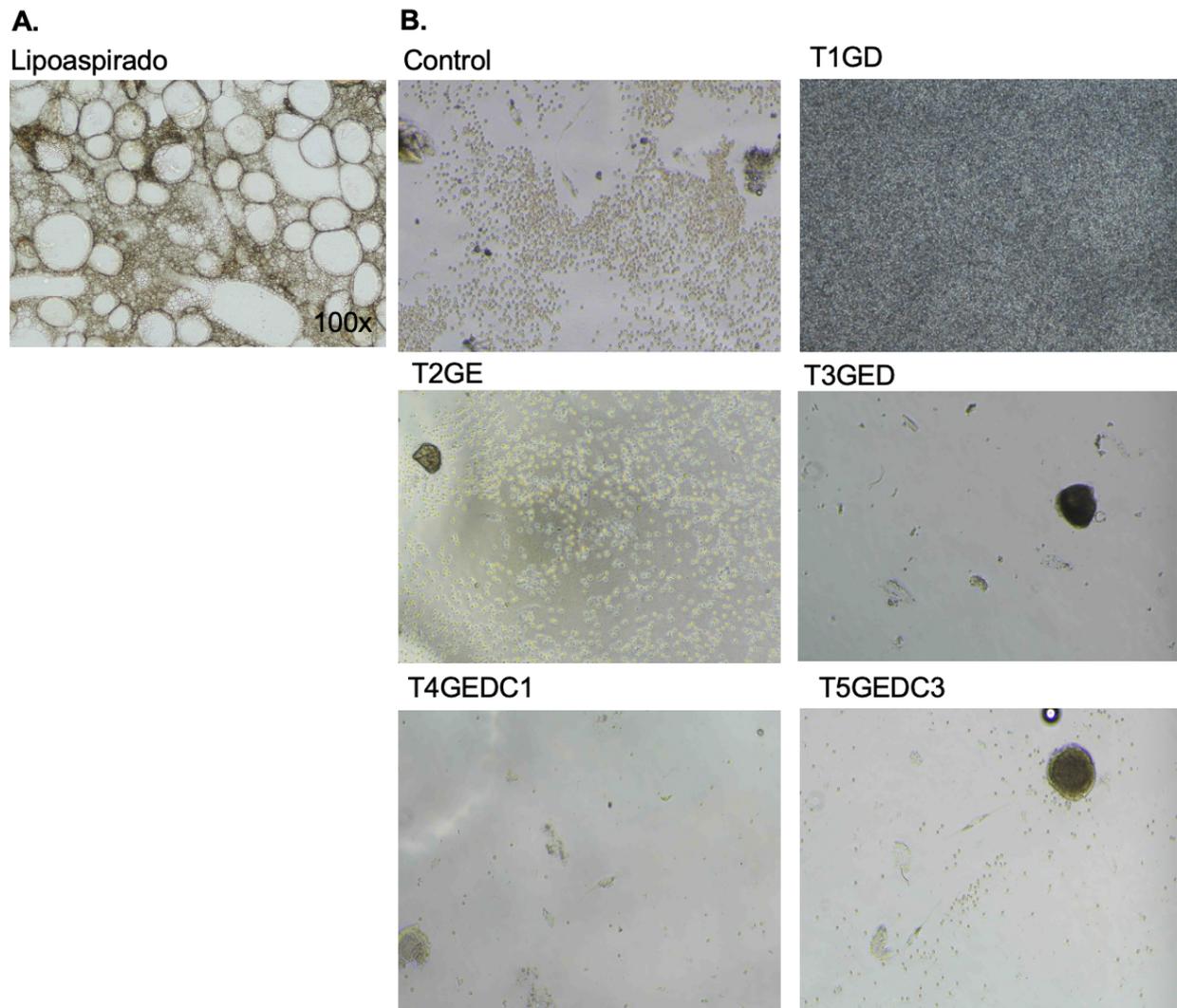


**Base:** Grasa sin decantar ni emulsificar. **T1GD:** Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado). **T2GE:** Grasa emulsificada sin decantación. **T3GED:** Grasa emulsificada y decantada. **T4GEDC1:** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto. **T5GEDC3:** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

En el análisis histológico, se observaron diferencias en la arquitectura y morfología celular. Después de la incubación por 12 horas en placas de cultivo, en la muestra

control y el T1GD se observaron células esféricas con membrana plasmática y lóbulos preservados característico de los adipocitos. En las muestras de T2GE, T3GDE se observaron menor cantidad de adipocitos, así como fragmentación de estos con forma irregular y contenido lipídico disperso. Por otra parte, los grupos T4GEDC1, T5GEDC3 presentaron ausencia de adipocitos, con gran cantidad de matriz extracelular (Figura 3).

**Figura 3. Características celulares bajo microscopía en campo claro.**

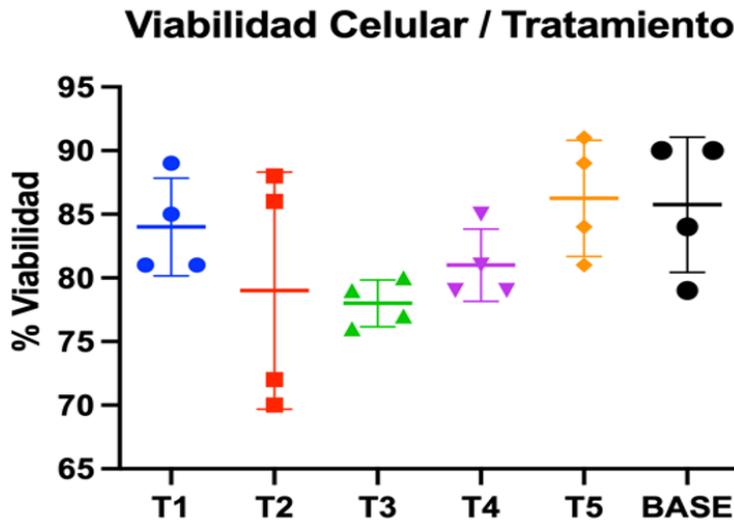


Microscopía campo claro. **A.** Lipoaspirado obtenido. **B.** Muestras en adherencia por 12 horas 40X). **Control:** Grasa sin decantar ni emulsificar. **T1GD:** Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado). **T2GE:** Grasa emulsificada sin decantación. **T3GED:** Grasa emulsificada y decantada. **T4GEDC1:** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto. **T5GEDC3:** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

Posteriormente, las 6 muestras de cada paciente fueron analizadas para valorar la calidad y viabilidad celular. Se observó que el porcentaje de viabilidad fue semejante en todos los tratamientos. La mayor viabilidad celular se presentó en el grupo T5GEDC3 con un 86.5%, valor similar al grupo control con un 86.25% (Figura 4).

La identificación y cuantificación celular se realizó a través de citometría de flujo utilizando citómetro BD Accuri C6 Plus. En los pacientes 1, 2, 5 y 6 se lograron identificar dos grupos de poblaciones celulares bien definidas representadas mediante gráfico de puntos marcados como población 1 y población 2 (Figura 5A). La población 2 se caracteriza por presentar células de mayor tamaño y menor granularidad; mientras que la población 1 podría tratarse de células más pequeñas y/o fragmentos de ellas con mayor granularidad que presentan; así mismo, en una población independiente, se identificaron partículas de aún menor tamaño y granularidad que corresponden a detritos, remanentes celulares o fibras. No obstante, en los pacientes 3 y 4 no se logró identificar ni diferenciar las poblaciones 1 y 2, presentándose un único patrón de complejidad y tamaño y de manera independiente los detritos celulares (Figura 5B).

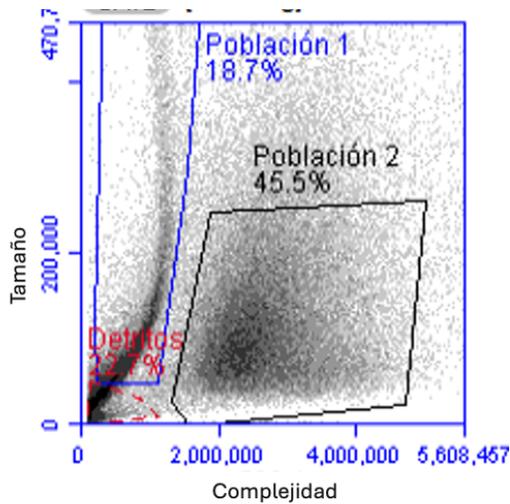
**Figura 4. Porcentaje de Viabilidad Celular de acuerdo al tratamiento**



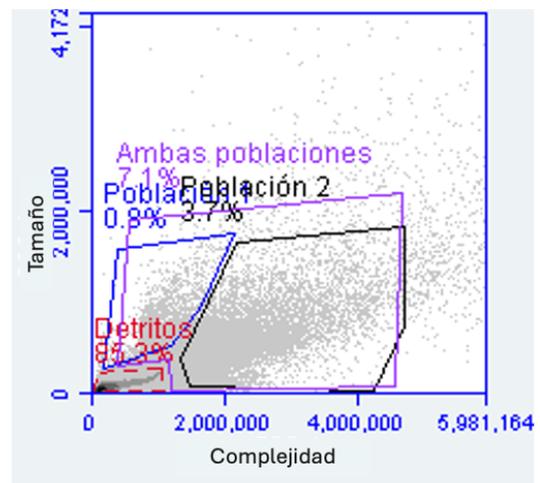
**Base:** Grasa sin decantar ni emulsificar. **T1 (T1GD):** Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado). **T2 (T2GE):** Grasa emulsificada sin decantación. **T3 (T3GED):** Grasa emulsificada y decantada. **T4 (T4GEDC1):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto. **T5 (T5GEDC3):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

**Figura 5. Identificación de poblaciones celulares**

**A.**



**B.**



Gráfica de puntos representando las poblaciones celulares identificadas por citometría de flujo. **A.** Se identifican dos poblaciones bien definidas. Población 1 y Población 2. **B.** Se identifica solo una población definida.

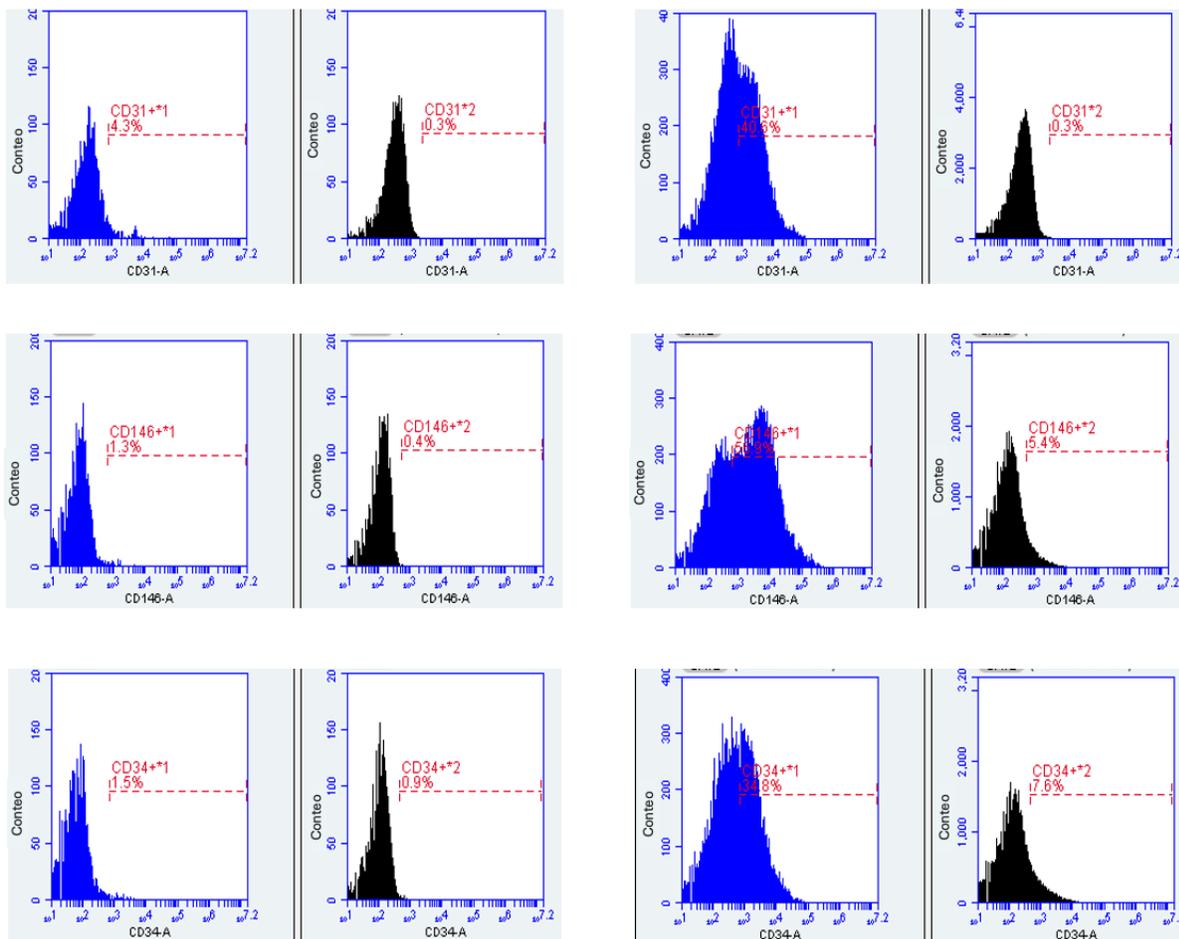
Para la estandarización de las pruebas de identificación celular con anticuerpos, se probaron las células sin marcar para determinar la fluorescencia basal en cada tratamiento (control, sin anticuerpo). Posteriormente, en las muestras marcadas con el anticuerpo se observó un aumento de fluorescencia en respuesta a la unión de los anticuerpos fluorescentes. Debido a los detritos y posibles remanentes de lípidos, se observó un “rastros” de fluorescencia incluso en los controles no marcados (Figura 6). Para caracterizar la concentración y proporción de las estirpes celulares en cada tratamiento se realizó la determinación antigénica mediante el marcaje fluorescente y la detección por citometría, se analizaron la totalidad de las poblaciones encontradas a excepción de los detritos.

El grupo control mostró un mayor porcentaje de proporción celular de CD34<sup>+</sup> con un 32.02%, de igual manera en el CD146<sup>+</sup> con 45.32% y finalmente se observó el mismo resultado con la cantidad de CD31<sup>+</sup> siendo mayor en el grupo control con un 24.69% (Figura 7).

**Figura 6. Marcaje de CD34, CD31 Y CD146**

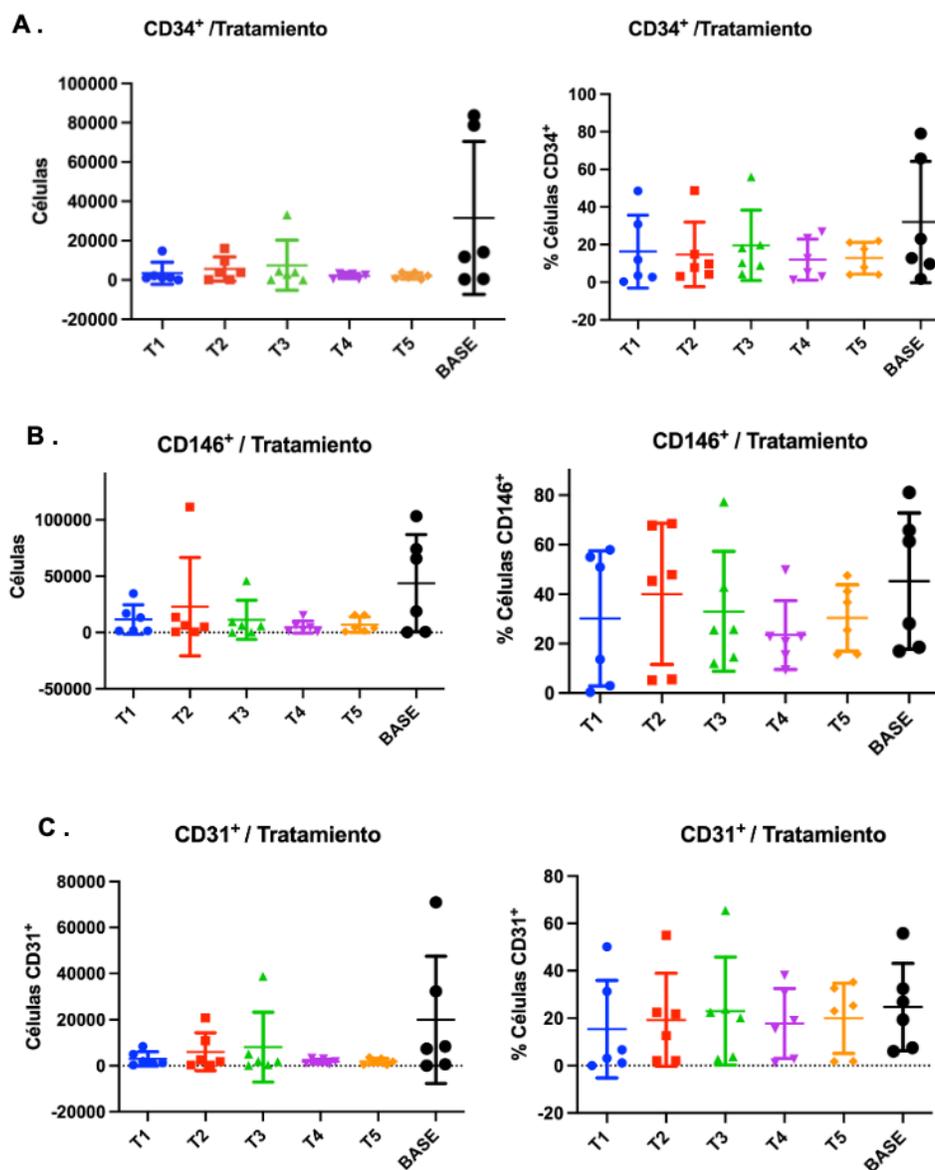
**A.**  
Muestras control

**B.**  
Muestras marcadas



Histograma de células en cultivo con fluorescencia basal (A) y marcadas con CD34, CD31 Y CD146 respectivamente (B).

**Figura 7.**  
**Cuantificación celular de CD34, CD146 y CD31 por grupo de tratamiento.**



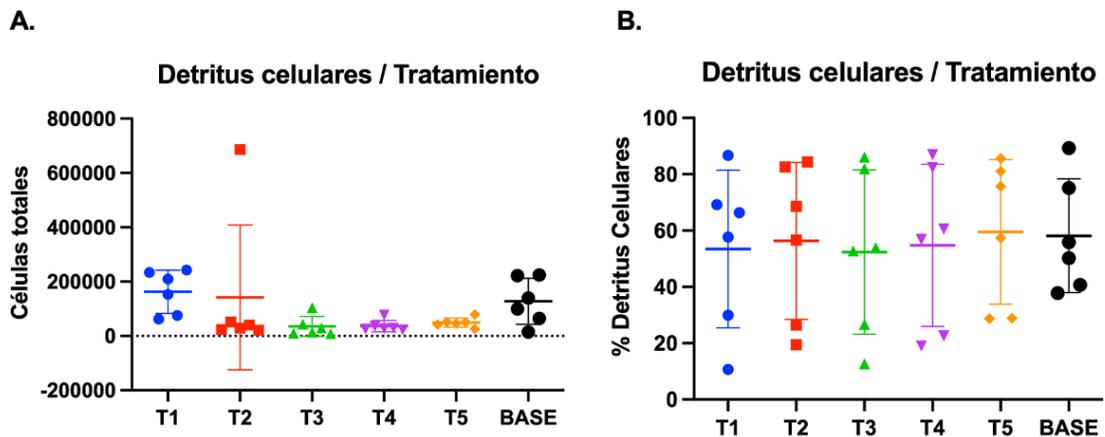
Conteo celular con marcadores de superficie obtenido por citometría de flujo; representados en porcentaje y números absolutos. **A.** Células positivas para marcador CD34. **B.** Células positivas para marcador CD146. **C.** Células positivas para marcador CD31.

**Base:** Grasa sin decantar ni emulsificar. **T1 (T1GD):** Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado). **T2 (T2GE):** Grasa emulsificada sin decantación. **T3 (T3GED):** Grasa emulsificada y decantada. **T4 (T4GEDC1):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto. **T5 (T5GEDC3):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

Finalmente, se llevó a cabo el análisis de los detritus en cada uno de los tratamientos observando homogeneidad en los resultados; siendo el grupo T3GED el que presentó menor proporción de detritus celulares en las muestras obtenidas con un 52.37.% y seguido del T1GD con 53.44% y el grupo T4GEDC1 con 54.75%; mientras que el T5GEDC3 fueron donde se encontró mayor cantidad con 59.55% (Figura 8).

**Figura 8.**

**Cuantificación celular detritus celulares por grupo de tratamiento.**



**A.** Datos representados en números absolutos. **B.** Datos representados en porcentaje.

**Base:** Grasa sin decantar ni emulsificar. **T1 (T1GD):** Grasa decantada (se realiza el conteo precipitado). **T2 (T2GE):** Grasa emulsificada sin decantación. **T3 (T3GED):** Grasa emulsificada y decantada. **T4 (T4GEDC1):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 1 minuto. **T5 (T5GEDC3):** Grasa emulsificada, decantada y centrifugada 3 minutos.

## CAPÍTULO VII

### DISCUSIÓN

En la literatura están descritos múltiples procedimientos para la obtención de tejido graso y el aislamiento de la fracción vascular estromal. Sabemos que actualmente la liposucción es uno de los procedimientos estéticos más realizados a nivel mundial y una fuente rica de obtención de células regenerativas; sin embargo, aún no existe un método ideal para obtener a través de procesos mecánicos la mayor cantidad de células derivadas de la fracción vascular estromal por lo que este estudio analizó las características celulares presentes en el lipoaspirado sometido a diferentes tipos de tratamiento y con ello poder identificar los métodos que optimizan estos resultados.

Nuestro estudio demostró que la liposucción es preferentemente elegida por pacientes del género femenino, presentando un mayor porcentaje de procedimiento entre rango de edad de 18 a 50 años datos demográficos que coinciden con la literatura actual.<sup>(25)</sup>.

La técnica descrita por Tonnard en 2013 para la obtención de la fracción vascular estromal a partir del lipoaspirado es ampliamente conocida y utilizada <sup>(9)</sup>; sin embargo, actualmente existen múltiples modificaciones a la técnica y dispositivos comerciales que permiten el aislamiento de la FVE dentro de la sala de operaciones favoreciendo y facilitando el uso del injerto graso y permitiendo la transferencia de grandes cantidades de células regenerativas <sup>(30,31,32,35)</sup>

La disociación de la grasa mediante procesos mecánicos permite el aislamiento de células grandes como los eritrocitos, en nuestro estudio, el tejido tratado como nanofat y centrifugación se apreció un color amarillo claro. <sup>(26)</sup>. Así mismo, la centrifugación redujo la cantidad de emulsión al final de los tratamientos y ayudó a la eliminación de los excedentes de solución tumescente y la capa oleosa derivada de la destrucción de adipocitos.

Previamente, se ha reportado que las características histológicas en el lipoaspirado presenta adipocitos estructuralmente intactos cuando no existe manipulación,

disminuyendo en el tejido microfragmentado y casi ausencia total de adipocitos en el nanofat <sup>(27)</sup>, lo que también fue observado en nuestro estudio.

Así mismo, se ha observado que tras someter el tejido adiposo a un proceso mecánico con técnica Coleman (obtención de la grasa, filtración y centrifugación a 3,000 rpm por 3 minutos) existe una alteración en la morfología celular; sin embargo, la integridad celular no se ve afectada <sup>(28)</sup> por lo que se considera un método ideal para procesar el injerto. En nuestro estudio, con la finalidad de obtener una mayor concentración de células se agregó la centrifugación al proceso de nanofat por 1 y 3 minutos sin encontrar una diferencia de las proporciones ni cantidades celulares entre los tratamientos.; sin embargo, cabe mencionar que la viabilidad celular no se vio afectada siendo muy similar al grupo control.

En un estudio previo, se determinó que a mayor número de pases del tejido graso a través de las membranas, se reduce el número final de células presentes en la FVE <sup>(29)</sup>; lo que explicaría la reducción de la proporción celular encontrada en los grupos de tratamiento T3GED, T4GEDC1, T5GEDC3 comparado con el grupo control que se obtuvo mediante digestión enzimática.

Diversos métodos de aislamiento mecánico tales como el “Lipocube” que consiste en utilizar un cubo con 3 rejillas de cuchillas con diferentes tamaños y 3 puertos separados, seguido de centrifugación por 10 minutos, presenta un porcentaje de viabilidad celular entre 86 - 91%<sup>(30)</sup>, mientras que el MEST (Transferencia mecánica de células estromales) que consiste de igual manera en generar disociación mecánica seguido de centrifugación reporta viabilidad de 93%<sup>(31)</sup>, tienen resultados semejantes a los porcentajes de viabilidad observados en nuestro grupo de tratamiento T5GEDC3 (91%).

Un estudio realizado por Yaylaci y cols. reportó un 90% de viabilidad celular; así como mayor porcentaje de células CD al realizar un aislamiento por disociación seguido de centrifugación por 10 minutos <sup>(32)</sup> ;y aunque no es posible llevar a cabo una comparación directa en la cantidad de células debido a que los marcadores de superficie utilizados fueron distintos (CD73, CD90 y CD105), se ha demostrado que

estos marcadores también pueden encontrarse presentes en los pericitos infiriendo que hay mayor proporción de estas células; sin embargo, en nuestro estudio los pericitos representados por los CD146+ reportan resultados heterogéneos obteniendo una mayor proporción en los grupos que no fueron sometidos a centrifugación (tratamiento control y T2GE).

En un estudio previo, se describió el procedimiento FAT que elimina la capa oleosa y solución de tumescente mediante centrifugación y emulsificación del lipoaspirado; y a través de un citómetro de flujo se realizó la comparación de la caracterización y cuantificación celular encontrando que existe una mayor concentración celular en la fracción vascular estromal comparado con el lipoaspirado que no recibía ningún tipo de disrupción mecánica, predominando las células madre derivadas de tejido adiposo (CD31-, CD34+, CD45) y células endoteliales (CD31+, CD34+, CD45)<sup>(33)</sup>; En nuestro estudio, los tratamientos T4 Y T5 tuvieron centrifugación por 1 y 3 minutos respectivamente, si bien presentaron una cantidad de células constante, se observó menor número de células con marcadores positivos para CD34, CD31 Y CD146 comparada con el aislamiento enzimático en el grupo control y el grupo T1GD que solo se dejó decantar.

Previamente, mediante una cuantificación a través de citometría de flujo y caracterización celular con marcadores de superficie (CD13, CD73, CD90, CD146, CD34 ) se demostró que el aislamiento mecánico a través de la técnica de nanofat comparado con el lipoaspirado sin tratamiento presenta una concentración 3 veces mayor de CD34 y dos veces mayor de CD31 y CD146<sup>(34)</sup>. Así mismo, en otro estudio se reporta un conteo mediante citometría de flujo hasta dos veces mayor de células CD34 y CD146 utilizando Lipocube comparado con el grupo de aislamiento por digestión enzimática <sup>(35)</sup>; no obstante, en nuestro estudio se encontró mayor cantidad de dichas células en el grupo sometido a digestión enzimática con colagenasa.

Existen múltiples estudios donde menciona la importancia de las células endoteliales, pericitos y células inmunes antiinflamatorias para mediar el entorno y promover el

microambiente regenerativo óptimo; entre los marcadores de superficie que utilizan para valorar la concentración de estas células están el CD34, CD146, CD31 respectivamente, mismos utilizados en este estudio. Estudios previos reportaron un conteo celular mediante proceso enzimático de 15% de células endoteliales, 2% pericitos y 59% de células transicionales <sup>(36)</sup> (grupo de células que comparten características tanto de pericitos como de células madre mesenquimatosas); sin embargo, no se realizó un conteo específico de cada uno de los marcadores. Mientras que el grupo con aislamiento enzimático en nuestro estudio presentó una proporción de 32.02% CD34+ (células mesenquimatosas); 45.32% de CD146+ (pericitos) y 24.63% CD31+ (células endoteliales) pudiendo atribuir esta diferencia a que el método de aislamiento enzimático fue diferente, utilizando otra enzima (colagenasa tipo II) y centrifugación a 200g.

Se ha comentado previamente que el sitio de obtención del tejido graso no es un factor determinante que afecte el número total de células que se pueden obtener de la FVE <sup>(37)</sup>. Los procedimientos propuestos en diversos estudios que incluyen disociación y centrifugación presentan mayor concentración celular comprado con su respectivo grupo control. En nuestro estudio, el número de las muestras obtenidas pudo ser un factor limitante para encontrar asociación entre los tratamientos y la concentración celular. Así mismo, la variabilidad durante el proceso para llevar a cabo el análisis histológico puesto que dos de las cuatro muestras se dejaron en cultivo por tiempo prolongado y esto reduce las características de las células madre, la capacidad de diferenciación y los niveles de expresión de los marcadores CD<sup>(38)</sup>.

Por lo tanto, se requieren realizar estudios más extensos que involucren mayor número de pacientes y mayor homogeneidad en el proceso; sin embargo, cabe mencionar que el uso de los procesos mecánicos es una excelente alternativa para la obtención de células derivadas de FVE.

## **CAPÍTULO VIII**

### **CONCLUSIONES**

- La concentración celular depende del tratamiento mecánico al que es sometido.
- El aislamiento mecánico logra una concentración celular menor a la obtenida con el aislamiento enzimático.
- La proporción de células mesenquimatosas (CD34<sup>+</sup>), pericitos (146<sup>+</sup>) y células endoteliales (CD31<sup>+</sup>) obtenida del tejido graso es mayor con el proceso enzimático.
- A través del aislamiento enzimático se obtiene una menor proporción de detritus celulares en el tejido graso tratado.
- Dentro de los métodos de aislamiento mecánico el T3GED (Nanofat) fue el que presentó mayor proporción de células CD31<sup>+</sup> y CD34<sup>+</sup>
- No existe diferencia significativa en la proporción celular dentro de los diferentes métodos de tratamiento mecánicos.
- El nanocell es un método que nos permite obtener menor volumen manteniendo una proporción celular similar al nanofat, con lo que inferimos podemos tener resultados clínicos comparables.
- Para demostrar un mayor beneficio del nanocell se requieren realizar estudios que involucren mayor número de pacientes y mayor homogeneidad en el proceso.

## CAPÍTULO IX

### BIBLIOGRAFÍA

1. Simonacci F, Bertozzi N, Pio Greco M, Grignaffini E, Raposio E. Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting. *Annals of Medicine and Surgery*. 2017;20: 49-60. doi [10.1016/j.amsu.2017.06.059](https://doi.org/10.1016/j.amsu.2017.06.059).
2. Shih L, Davis M, Winocour S. The Science of Fat Grafting. *Semin Plast Surg*. 2020; 34(1): 5-10. doi: [10.1055/s-0039-3402073](https://doi.org/10.1055/s-0039-3402073).
3. Amirkhani M, Shoaee-Hassani A, Soleimani M, Hejazi S, Ghalichi L, Nilforousjzadeh M. Rejuvenation of facial skin and improvement in the dermal architecture by transplantation of autologous stromal vascular fraction: a clinical study. *Bioimpacts*. 2016;6 (3): 149-154. doi [10.15171/bi.2016.21](https://doi.org/10.15171/bi.2016.21).
4. Tsuji W, Rubin J, Mara K. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *World J Stem Cells*. 2014; 6 (3): 312-321. doi: [10.4252/wjsc.v6.i3.312](https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i3.312).
5. Nguyen A, Guo J, Banyard D, Paydar K, Evans G, Widgerow A. Stromal Vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2015; 69 (2):1-10. doi: [10.1016/j.bjps.2015.10.015](https://doi.org/10.1016/j.bjps.2015.10.015).
6. Hong K. Fat grafts enriched with adipose-derived stem cells. *Arch Craniofac Surg*. 2020; 21 (4): 211-218. doi: [10.7181/acfs.2020.00325](https://doi.org/10.7181/acfs.2020.00325).
7. Aguenta M, Fanganiello R, Tissiani L, Ishiy F, Atique R, Alonso N, Passos-Bueno M. Optimization of Parameters for a More Efficient Use of Adipose-Derived Stem Cells in Regenerative Medicine Therapies. *Stem Cells Int*. 2012; 2012:1-7. doi [10.1155/2012/303610](https://doi.org/10.1155/2012/303610).
8. Gentile P, Calabrese C, De Angelis B, Pizzicannella J, Kothari A, Garcovich S. Impact of the Different Preparation Methods Obtain Human Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells (AD-SVFs) and Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (AD-MSCs): Enzymatic Digestion Versus Mechanical Centrifugation. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20 (12): 5471. Doi [10.3390/ijms20215471](https://doi.org/10.3390/ijms20215471).
9. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat Grafting: Basic Research and Clinical Applications. *Plast Reconstr Surg*. 2013; 132 (4): 1017-1026. Doi [10.1097/PRS.0b013e31829fe1b0](https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31829fe1b0).
10. Jeyaraman M, Muthu S, Sharma S, Ganta C, Ranjan R, Kumar Jha S. Nanofat: A therapeutic paradigm in regenerative medicine. *World J Stem Cells*. 2021; 13 (11): 1733-1746. doi: [10.4252/wjsc.v13.i11.1733](https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i11.1733).
11. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*. 2013; 9 (2): 191-200. doi: [10.5114/aoms.2013.33181](https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181).

12. Bora P, Majumdar A. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem Cell Res Ther.* 2017; 8 (1): 145. Doi [10.1186/s13287-017-0598-y](https://doi.org/10.1186/s13287-017-0598-y).
13. Richard A, White U, Elks C, Stephens J. *Adipose Tissue: Physiology to metabolic Dysfunction.* 2020.
14. Liang X, Zhanf L, Wang S, Han Q, Zhao R. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR-125a. *J Cell Sci.* 2016; 29 (11): 2182-9. DOI: [10.1242/jcs.170373](https://doi.org/10.1242/jcs.170373).
15. Panina Y, Yakimov A, Komleva Y, Morgun A, Lopatina O, Malinovskaya N, et al. Plasticity of adipose tissue-derived stem cells and regulation of angiogenesis. *Front Physiol.* 2018; 9:1-13. doi: [10.3389/fphys.2018.01656](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01656).
16. Kwon H, Hur S, Park K, Kim C, Kim Y, Kim H, et al. ). Multiple paracrine factors secreted by mesenchymal stem cells contribute to angiogenesis. *Vascul pharmacol.* 2014; 63 (1): 19-28. DOI: [10.1016/j.vph.2014.06.004](https://doi.org/10.1016/j.vph.2014.06.004)
17. Guo J, Nguyen A, Bayard D, Fadavi D, Toranto J, Wirth G, et al. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2016; 69 (2): 180-8. DOI: [10.1016/j.bjps.2015.10.014](https://doi.org/10.1016/j.bjps.2015.10.014)
18. Mazini L, Ezzoubi M, Malka G. Overview of current adipose-derived stem cell (ADSCs) processing involved in therapeutic advancements: flow chart and regulation updates before and after COVID-19. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12 (1): 1-17. DOI: [10.1186/s13287-020-02006-w](https://doi.org/10.1186/s13287-020-02006-w)
19. Porras M, Stojkova K, Vaicik M, Pelowe A, Goddi A, Carmona A, et al. Integrins and extracellular matrix proteins modulate adipocyte thermogenic capacity. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 1-14. DOI: [10.1038/s41598-021-84828-z](https://doi.org/10.1038/s41598-021-84828-z)
20. Zuk P, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from Human Adipose Tissue: Implications for cell- based therapies. *Tissue Eng.* 2001; 7 (2): 211-28. DOI: [10.1089/107632701300062859](https://doi.org/10.1089/107632701300062859)
21. Rihani, J. Microfat and Nanofat. When and Where These Treatments Work. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2019; 27 (3): 321-330. DOI: [10.1016/j.fsc.2019.03.004](https://doi.org/10.1016/j.fsc.2019.03.004)
22. Tena S, Cogliandro A, Barone M, Panasiti V, Tirindelli M, Nobile C, et al. ). Comparative Study Using Autologous Fat Grafts Plus Platelet-Rich Plasma With or Without Fractional CO2 Laser Resurfacing in Treatment of Acne Scars: Analysis of Outcomes and Satisfaction with FACE-Q. *Aesthetic Plast Surg.* 2017; 41 (3): 661-666. DOI: [10.1007/s00266-017-0777-3](https://doi.org/10.1007/s00266-017-0777-3)
23. Cohen S, Hewett S, Ross L, Delaunay F, Goodacre A, Ramos C, et al. Regenerative Cells For Facial Surgery: Biofilling and Biocontouring. *Aesthet Surg J.* 2017; 37 (3): 16-32. DOI: [10.1093/asj/sjx078](https://doi.org/10.1093/asj/sjx078)
24. Bora P, Majumdar A. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine:- a brief review on biology and translation. *Stem Cell Research & Therapy.* 2017;8:145-155.

25. International Society of Aesthetic Plastic Surgery. ISAPS international survey on aesthetic/ cosmetic procedures. 2023. Disponible en: [https://www.isaps.org/media/rxnfqibn/isaps-global-survey\\_2023.pdf](https://www.isaps.org/media/rxnfqibn/isaps-global-survey_2023.pdf) (Accedido en: 4 noviembre 2024).
26. Yang Z, Jin S, He Y, Zhang X, Han X, Li F. Comparison of microfat, nanofat, and extracellular matrix/stromal vascular fraction gel for skin rejuvenation: Basic research and clinical applications. *Aesthetic Surg Journal*. 2021; 4 (11): 1-14. DOI: [10.1093/asj/sjab033](https://doi.org/10.1093/asj/sjab033)
27. Cicione C, Vadalà G, Giacomo G, Tilotta V, Ambrosio L, Russo F, et al. Micro-fragmented and nanofat adipose tissue derivatives: In vitro qualitative and quantitative analysis. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; 17 (11): 1-11. DOI: [10.3389/fbioe.2023.911600](https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.911600).
28. Szychta P, Kuczynski M, Dzieniecka M. Histological Properties of Adipose Tissue as an Autologous Tissue Filler Harvested from Different Donor Areas and Impact of Centrifugation. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2024; 12 (6): 1-10. DOI: [10.1097/GOX.0000000000005912](https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000005912)
29. Girard P, Dulong J, Duisit J, Mocquard C, Gallou S, Chaput B. Modified nanofat grafting: Stromal vascular fraction simple and efficient mechanical isolation technique and perspectives in clinical recellularization applications. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022. 10: 1-14. DOI: [10.3389/fbioe.2022.895735](https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.895735).
30. Tiryaki T, Cohen S, Kocak P, Canikyan S, Hewett S, Kocak P. In- Vitro Comparative Examination of the Effect of Stromal Vascular Fraction Isolated by Mechanical and Enzymatic methods on wound Healing. *Aesthetic Surg J*. 2020; 40 (11): 1232-1240. DOI: [10.1093/asj/sjaa154](https://doi.org/10.1093/asj/sjaa154).
31. Copcu H, Oztan S. New Mechanical Fat Separation Technique: Adjustable Regenerative Adipose-tissue Transfer (ARAT) and Mechanical Stromal Cell Transfer (MEST). *Aesthetic Surg J Open Forum*. 2020; 2 (4): 1-15. DOI: [10.1093/asjof/ojaa035](https://doi.org/10.1093/asjof/ojaa035)
32. Yaylaci S, Kaçaroğlu D, Hürkal Ö, Ulaşlı A. An enzyme-free technique enables the isolation of a large number of adipose-derived stem cells at the bedside. *Sci Rep*. 2023; 13 (1): 8005. DOI: [10.1038/s41598-023-34915-0](https://doi.org/10.1038/s41598-023-34915-0).
33. Pallua N, Grasys J, Kim B. Enhancement of Progenitor Cells by Two-Step Centrifugation of Emulsified Lipoaspirates. *Plast Reconstr Surg*. 2018;142(1):99-109. DOI: [10.1097/PRS.0000000000004495](https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000004495)
34. Banyard D, Sarantopoulos C, Borovikova A, Qiu X, Wirth G, Paydar K, et al. Phenotypic Analysis of Stromal Vascular Fraction after Mechanical Shear Reveals Stress-Induced Progenitor Populations. *Plast Reconstr Surg*. 2016; 138 (2): 237-247. DOI: [10.1097/PRS.0000000000002356](https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002356).
35. Tiryaki T, Conde- Green A, Cohen S, Canikyan S, Kocak P. A 3-step Mechanical Digestion Method to Harvest Adipose-derived Stromal Vascular Fraction. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2020; 8 (2): 1-5. DOI: [10.1097/GOX.0000000000002652](https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000002652)
36. Zimmerlin L, Donnenberg V, Ribin j, Donnenberg A. Mesenchymal markers on human adipose stem/progenitor cells. *Cytometry A*. 2013; 83 (1): 134-140. DOI: [10.1002/cyto.a.22227](https://doi.org/10.1002/cyto.a.22227).
37. Cheng K, Kuo T, Kuo K, Hsiao C. Human adipose-derived stem cells: Isolation, characterization and current application in regeneration medicine. *Geonomic Medicine*,

Biomarkers and Health Sciences. 2011; 3: 53-62. Doi <https://doi.org/10.1016/j.gmbhs.2011.08.003>.

38. Wan Safwani, W, Makpol S, Sathapan S, Chua K. The changes of stemness biomarkers expression in human adipose-derived stem cells during long-term manipulation. Biotechnol Appl Biochem. 2011; 58 (4): 261-270. DOI: [10.1002/bab.38](https://doi.org/10.1002/bab.38).

## **CAPÍTULO X**

### **RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

**DRA. PAULINA RODRÍGUEZ VILLA.**

Candidato para el Grado de:

**SUBESPECIALIDAD EN CIRUGÍA PLÁSTICA ESTÉTICA Y RECONSTRUCTIVA.**

Tesis: **“DETERMINACIÓN DE LA DIVERSIDAD CELULAR PRESENTE EN EL NANOCELL”**

Campo de estudio: Ciencias de la Salud.

#### **Biografía:**

Nacida en Zapopan, Jalisco, México, el 26 de abril del año 1993. Hija de Sandra Villa Saucedo y Enrique Rodríguez Mora.

#### **Educación:**

Egresada con trayectoria sobresaliente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara, obteniendo el grado de Médico Cirujano y Partero en el año 2017. Cursando 3 de años de la especialidad de Cirugía General en el Hospital Fray Antonio Alcalde en Guadalajara, Jalisco del 2018-2021.

Residente del programa de Cirugía Plástica Estética y Reconstructiva en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en Monterrey, Nuevo León, de marzo 2021 a febrero 2025. Ganadora del concurso nacional de residentes AMCPER 2023. Socia en entrenamiento de la Asociación Mexicana de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva (AMCPER). Integrante del Colegio de Cirujanos Plásticos Estéticos y Reconstructivos de Nuevo León, A.C.