



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

JUAN PABLO BORGES RODRIGUES MARICEVICH

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA PELE APÓS LIPOENXERTIA:
um estudo clínico randomizado mascarado

Recife
2019

JUAN PABLO BORGES RODRIGUES MARICEVICH

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA PELE APÓS LIPOENXERTIA:
um estudo clínico randomizado mascarado**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Colegiado do curso de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

Área de concentração: Projeto isolado

Orientador: Dr. Alvaro Antônio Bandeira Ferraz
Prof. Titular do Departamento de Cirurgia
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Pernambuco

Recife

2019

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4 1790

M333a Maricevich, Juan Pablo Borges Rodrigues.
Avaliação histológica na pele após lipoenxertia: um estudo clínico randomizado mascarado/ Juan Pablo Borges Rodrigues Maricevich. – 2019.
59 f.: il.; tab.

Orientador: Alvaro Antônio Bandeira Ferraz.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. Recife, 2019.

Inclui referências e anexo.

1. Regeneração. 2. Células- tronco. 3. Colágeno. 4. Enxerto de gordura. I. Ferraz, Alvaro Antônio Bandeira (Orientador). II. Título.

617.91 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2019-83)

JUAN PABLO BORGES RODRIGUES MARICEVICH

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA PELE APÓS LIPOENXERTIA:
um estudo clínico randomizado mascarado**

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

Aprovada em: 25/02/2019

Banca Examinadora

Prof. Dr.: Álvaro Ferraz

Instituição: Prof. Titular do Depto. de Cirurgia, CCS-UFPE

Assinatura: _____

Prof. Dr.: José Luiz de Figueiredo

Instituição: Departamento de Cirurgia Plástica do CCS/ UFPE

Assinatura: _____

Prof. Dr.: Jairo Zacchê de Sá

Instituição: Departamento de Cirurgia Plástica do CCS/ UFPE

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a **Deus**, pelo dom da vida, e permitido-me a saúde e perseverança necessárias para a conclusão dessa jornada.

Ao meu orientador, **Prof. Dr Álvaro Ferraz**, pela oportunidade de realizar esta pós-graduação.

Aos **Residentes da Cirurgia Plástica do HC - UFPE**, que me ajudaram no ambulatório e na realização das cirurgias.

A todos da **Equipe do Ambulatório de Cirurgia Plástica do HC - UFPE**, sempre atenciosos e disponíveis quando solicitados.

Ao **Serviço de Patologia do HC-UFPE** na pessoa da **Dra. Daniela Takano** e da **Dr. Larissa**, que participaram ativamente e tornaram este trabalho possível.

RESUMO

Introdução. O enxerto de gordura é muito usado para tratar defeitos de contorno do corpo. Atualmente, está havendo um aumento do interesse nas propriedades regenerativas do enxerto de gordura, visto o efeito de melhora na qualidade da pele observado em casos de volumização com gordura. O **objetivo** neste trabalho foi avaliar se há ou não alterações histológicas no infiltrado inflamatório, espessura da derme, densidade da vascularização e fibras elásticas na pele de uma área que recebeu lipoenxertia. Além disso, atestar a integração da gordura na área enxertada. **Método.** Dez mulheres com indicação de abdominoplastia, entre 20 e 50 anos, IMC abaixo de 30 e com cicatriz de cesárea prévia foram submetidas a lipoenxertia pela técnica de Coleman. A cicatriz da cesárea serviu com referência para padronização do local do enxerto. O enxerto ocorreu em uma área de 3 x 3 cm no tecido não-cicatricial, tendo os últimos 3 cm da cicatriz cesárea como base inferior deste quadrado: um lado foi enxertado e o outro lado não. Quatro meses depois, na cirurgia de abdome, as duas amostras de cada paciente foram colhidas e enviadas para avaliação histológica mascarada. A cicatriz foi descartada e a pele sem cicatriz foi analisada com microscópio óptico e reagentes. O tecido cicatricial não fez parte da análise histológica. Não houve análise clínica ou por métodos de imagem. **Resultado.** Metade das amostras apresentava material oleoso extracelular, evidenciando sinais de integração nas áreas que receberam lipoenxertia. Não houve diferença estatística significativa nas amostras lipoenxertadas versus as amostras não lipoenxertadas no que diz respeito a infiltrado inflamatório (p-valor = 0,582), espessura da derme (p-valor = 0,973), densidade da vascularização (p-valor = 0,326) e quantidade de fibras elásticas (p-valor = 1,000). **Conclusão.** A avaliação histológica de derme após 4 meses de lipoenxertia em mulheres candidatas a abdominoplastia evidenciou sinais de integração do enxerto de gordura em 100% dos casos enxertados e nenhuma mudança na derme receptora quanto ao infiltrado inflamatório, espessura da derme, densidade da vascularização e quantidade de fibras elásticas.

Palavras-chave: Regeneração. Células tronco. Colágeno. Enxerto de gordura. Regeneração de pele.

ABSTRACT

Introduction: Autologous fat graft is often used to treat body contour defects. There is a current increased interest in the regenerative properties of fat grafting. **Objective:** This study evaluates the histological changes in the skin inflammatory infiltrate, dermis thickness, vascularity density and elastic fibers quantity of a body area that received fat graft on a blinded randomized controlled human model. In addition, attest the integration of fat into the grafted area. **Method:** Ten women between 20-50 years of age, BMI below 30, and previous cesarean scar were submitted to fat grafting using the Coleman's technique. The C-section scar served with reference to standardization of the grafted area. The fat was grafted in a 3 x 3 cm area in the non-cicatricial tissue, the last 3 cm of the cesarean scar being the lower base of this square: one side was grafted and the other nothing was done. Four months later, at the time of abdominoplasty, two full thickness skin samples from every patient (one from each hemi abdomen) were collected and sent to blind histological analysis. The scar was discarded and the skin with no-cicatricial tissue was analysed with optical microscope and reagents. The C-section scar was not part of the histological analysis. There was no clinical or imaging analysis, only histological. **Result:** Half of the samples showed extracellular lipids, evidencing signs of fat graft viability. There were no statistically significant difference in fat-grafted versus non-fat-grafted samples regarding skin inflammatory infiltrate ($p=0.582$), dermis thickness ($p=0.973$), vascularization density ($p=0.326$) and amount of elastic fibers ($p= 1$). **Conclusion.** The histological evaluation of women's abdominoplasty surgical site skin after 4 months of fat grafting showed signs of fat graft in 100% of the grafted sides, but no change in the skin inflammatory infiltrate, dermis thickness, vascularity density, or elastic fibers quantity.

Keywords: Regeneration. Stem cells. Collagen. Fat graft. Skin regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Marcação da abdominoplastia com área de ressecção (vermelho) englobando a cicatriz cesárea prévia (verde)	27
Figura 2 – Resultado pós-operatório..	27
Figura 3 – Lipoaspiração de 20 ml em área 20 x 10 cm em abdome inferior com cânula 2.5 e seringa de 10 ml	28
Figura 4 – Lipoaspirado centrifugado com a gordura separada na camada média	28
Figura 5 – Simulação de como foi feito o enxerto de gordura na área sorteada	28
Figura 6 – Enxerto de 6 ml de gordura em área de 3 x 3 cm nos últimos 3 cm da cicatriz da cesárea com cânula 1.1	28
Figura 7 – Paciente na sala de cirurgia para realizar a cirurgia de abdominoplastia com as duas áreas 3 x 3 cm de ressecção marcadas nas extremidades da cicatriz da cesárea.....	29
Figura 8 – As duas amostras retiradas que serão identificadas e enviadas para a Patologia	29
Figura 9 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo sem evidências de lipoenxertia	33
Figura 10 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo adipócito enxertado viável associado a leve processo inflamatório	33
Figura 11 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo sem evidências de processo inflamatório	34
Figura 12 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo moderado infiltrado inflamatório linfomononuclear com eosinófilos.....	34
Figura 13 – Medida microscópica da espessura da derme através do uso de régua milimetrada	35
Figura 14 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo maior número de vasos por mm²	35
Figura 15 – Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo menor número de vasos por mm²	35
Figura 16 – Fibras elásticas visualizadas através da coloração de orceína em quantidade de +/+++	36
Figura 17 – Fibras elásticas visualizadas através da coloração de orceína em quantidade de ++/+++.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição de material oleoso extracelular	33
Tabela 2 – Comparação da situação clínica segundo a lipoenxertia.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASCs	<i>Adipose Stem Cells</i> (Células tronco da gordura)
CAL	<i>Cell-Assisted Lipotransfer</i> (Lipotransferência assistida por células)
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HÁ	<i>Hyaluronic acid</i> (Ácido hialurônico)
HC	Hospital das Clínicas
IMC	Índice de massa corporal
PLLA	Ácido Poli L-Láctico
PRP	Plasma rico em plaquetas
SOOF	<i>Sub Orbicular Ocular Fat</i> (Gordura ocular sub-orbicular)
SVF	<i>Stromal Vascular Fraction</i> (Fração estromal vascular)
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	HISTÓRICO DO ENXERTO DE GORDURA	12
1.2	CÉLULAS TRONCO DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO (ASCS)	13
1.2.1	História e biologia das células tronco derivadas de adipócitos	13
1.2.2	Isolando as células tronco derivadas do tecido adiposo	13
1.2.3	Uso clínico das células tronco derivadas do tecido adiposo: lipotransferência assistida por células	14
1.3	ESTRATÉGIAS DE LIPOENXERTIA	15
1.3.1	Captação da gordura.....	15
1.3.2	Processamento da gordura	15
1.3.3	Volumização <i>versus</i> Regeneração	16
1.4	TIPOS DE ENXERTO DE GORDURA.....	16
1.5	OUTROS MÉTODOS DISPONÍVEIS DE VOLUMIZAÇÃO E REGENERAÇÃO CELULAR.....	19
1.5.1	Plasma rico em plaquetas	19
1.5.2	Ácido hialurônico (HA).....	20
1.5.3	Ácido poli-L-láctico (PLLA).....	21
1.6	APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA	22
1.7	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	22
2	OBJETIVOS	24
2.1	GERAL.....	24
2.2	ESPECÍFICOS	24
3	PACIENTES E MÉTODOS	25
3.1	LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	25
3.2	AMOSTRA DO ESTUDO	25
3.3	SELEÇÃO	25
3.3.1	Critérios de inclusão.....	25
3.3.2	Critérios de exclusão	25
3.4	PERÍODO DO ESTUDO	25
3.5	METODOLOGIA EMPREGADA.....	26
3.6	ASPECTOS ÉTICOS	26
3.7	RISCOS	26

3.8	BENEFÍCIOS	26
3.9	MATERIAIS	26
3.9.1	Abdominoplastia e presença da cicatriz de cesárea	26
3.9.2	Técnica cirúrgica da lipoenxertia	27
3.9.3	Captação das peças operatórias durante a abdominoplastia após 4 meses	28
3.9.4	Envio das peças operatórias para o Serviço de Patologia.....	29
3.10	RANDOMIZAÇÃO	30
3.11	TAMANHO DA AMOSTRA	30
3.12	PROCEDIMENTOS ANALITICOS	31
4	DESENHO DO ESTUDO	32
5	RESULTADOS	33
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	33
5.2	INTEGRAÇÃO DO ENXERTO DE GORDURA	33
5.3	INFILTRADO INFLAMATÓRIO.....	34
5.4	ESPESSURA DA DERME	34
5.5	DENSIDADE DA VASCULARIZAÇÃO.....	35
5.6	FIBRAS ELÁSTICAS	35
6	DISCUSSÃO	37
6.1	ASPECTOS GERAIS.....	37
6.2	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS	39
6.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
7	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43
	ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO DO ENXERTO DE GORDURA

Neuber^{1,2} foi o primeiro a descrever o enxerto autólogo de gordura em 1883 quando transferiu gordura do membro superior para uma depressão cicatricial na face. Nesta oportunidade, Neuber já descreveu que uma limitação primária da técnica era a incapacidade de transplantar qualquer coisa maior do que uma amêndoa por causa da reabsorção. Dois anos depois, Czerny³ publicou a primeira descrição de transferência de gordura para a mama, usando um grande lipoma de dorso para preencher um defeito de uma lumpectomia. Em 1909, Hollander descreveu a técnica de injeções de gordura através de uma cânula para corrigir deformidades de contorno. O problema da reabsorção de enxerto era sabido, então Hollander misturou a gordura dos pacientes com uma preparação especial de gordura de carneiro como uma tentativa de engrossar e preservar o enxerto. Apesar dos pacientes evoluírem com um rash cutâneo doloroso pela rejeição ao xenoenxerto, Hollander referiu resultados estéticos geralmente favoráveis a longo prazo^{4,5}.

As primeiras publicações aplicando o enxerto de gordura especificamente para a cirurgia plástica estética vieram também em 1909 quando Lexer⁶ descreveu o uso de gordura para tratar uma série de casos desafiadores de deformidades faciais. Muitos cirurgiões seguiram o exemplo, relatando o uso de gordura para uma ampla variedade de defeitos na face⁷. Em 1926, Miller⁸ publicou uma revisão detalhada da sua evolução na lipoenxertia e sobre o uso de cânulas para a injeção da gordura, mas a técnica ainda era falha para ser amplamente aceita pela comunidade médica. Nas décadas seguintes houve um declínio evidente na prática do enxerto de gordura, representado pela observação histórica de Peer⁹ de que metade do volume do enxerto de gordura se perde no primeiro ano, sendo substituído por tecido fibroso remanescente. Como resultados de suas pesquisas, Peer concluiu que a revascularização era necessária para a sobrevivência da gordura enxertada e que um número maior de pequenas alíquotas de gordura era melhor do que um enxerto único grande do mesmo volume devido ao aumento da superfície de contato com os tecidos receptores. Mesmo com essas observações inovadoras, os primeiros grandes esforços para aplicar estas descobertas não vieram até os anos 80.

Desafiado pelos resultados pobres das técnicas contemporâneas, Ellenbogen¹⁰ desenvolveu um método de fragmentar a gordura em pedaços entre 4 e 6 mm (“pérolas” de gordura) antes de enxertá-las diretamente no leito receptor. Usando este método, Ellenbogen

foi capaz de corrigir com sucesso cicatrizes de acne, rugas faciais, outras cicatrizes e retro/micrognatias (aumento do queixo). Embora Ellenbogen, inicialmente, tenha relatado bons resultados usando sua técnica ele, mais tarde, reviu suas afirmações anteriores e concluiu que a gordura não tinha sobrevivência a longo prazo com sua técnica de fragmentação¹¹. Na mesma época, Illouz¹² e Fournier^{13,14} descreveram uso do lipoaspirado não processado para transplante de gordura. Entretanto, a reabsorção foi ainda pior do que com a transferência de gordura tradicional, criando uma necessidade de sobrecorreção substancial e limitando a aceitação da técnica¹⁵. Isso levou Chajchir e Benzaquen¹⁶ a desenvolverem várias estratégias de manuseio, incluindo a remoção de óleo e do sangue antes de enxertar. No entanto, o enxerto de gordura só se tornou amplamente aceito e usado na cirurgia plástica estética quando Coleman desenvolveu um método meticuloso e padronizado de processar e injetar o lipoaspirado, denominado lipoenxertia estruturada¹⁷⁻²².

1.2 CÉLULAS TRONCO DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO (ASCs)

1.2.1 História e biologia das células tronco derivadas de adipócitos

Em 2001, Zuk e cols.^{23,24} descreveram uma população de células-tronco mesenquimais presentes no lipoaspirado que eram semelhantes às células-tronco mesenquimais da medula óssea. Desde então, as células-tronco derivadas do tecido adiposo (ASCs) tornaram-se as células-tronco mais utilizadas na medicina regenerativa, devido à facilidade de coleta e capacidade diversificada de diferenciação²⁵. As ASCs tem a capacidade de se diferenciarem em derivados mesodérmicos, incluindo gordura, cartilagem, músculo e osso. Além disso, elas podem ser induzidas a formar tecidos endodérmicos e ectodérmicos, incluindo epitélio da pele, células neurais, hepatócitos e ilhotas pancreáticas²⁵⁻²⁷. Além de sua capacidade de diferenciação, as ASCs também estão envolvidas com a sinalização parácrina para angiogênese, imunomodulação e regeneração tecidual²⁸⁻³⁰.

1.2.2 Isolando as células tronco derivadas do tecido adiposo

As ASCs residem nos compartimentos perivasculares do estroma adiposo. Devido a isso, a dissociação estromal é necessária para liberar células suficientes para seu uso na prática clínica. Isso é mais comumente obtido por digestão enzimática com collagenase seguida por lise de hemácias³¹. A fração vascular do estroma (SVF) resultante contém uma

população diversa de células progenitoras, que inclui as ASCs, perícitos, células progenitoras endoteliais e células amplificadoras transitórias. Para isolar as ASCs, a SVF é colocada em placas de meio de cultura de tecidos onde as ASCs aderem-se preferencialmente. Além da digestão da colagenase, várias abordagens não enzimáticas, incluindo lavagem e separação mecânica, também são descritas para o isolamento da SVF, mas são menos usadas³²⁻⁴⁰. Vários dispositivos foram desenvolvidos para coletar a SVF, mas, geralmente, todos usam estratégias similares de digestão enzimática ou mecânica⁴¹.

1.2.3 Uso clínico das células tronco derivadas do tecido adiposo: lipotransferência assistida por células

Os enxertos de gordura enriquecidos com ASCs ou SVF foram primeiramente relatados por Moseley, Zhu e Hedrick⁴² em 2006, baseados em trabalho não publicado por Llull em 2005. A técnica foi descrita mais formalmente por Matsumoto e cols.⁴³ e denominada “lipotransferência assistida por células” (CAL). Muitos estudos pré-clínicos em animais demonstraram, desde então, melhoras na integração de enxerto de gordura com a CAL⁴⁴, levando ao início de testes em humanos.

Até então, dois ensaios clínicos randomizados foram conduzidos em humanos. Koh e cols.⁴⁵ avaliaram micrografts enriquecidos com ASCs em 10 pacientes com atrofia hemifacial de Parry-Romberg e descobriram que a integração do enxerto melhorou substancialmente no grupo que recebeu a CAL (47% de reabsorção em indivíduos controle versus 21% com a CAL). Da mesma forma, em um ensaio clínico randomizado triplo-cego de 10 pacientes, Kolle e cols.⁴⁶ encontraram melhor integração no membro superior que recebeu enxerto de gordura enriquecido com ASCs em comparação com o enxerto de gordura padrão no membro superior de controle contralateral.

Cinco estudos de coorte humanos também foram publicados examinando os enxertos de gordura enriquecidos por SVF na face e na mama. Quatro dos cinco mostraram melhora da integração do enxerto com a CAL⁴⁷⁻⁵⁰. Um estudo comparando a gordura enriquecida com SVF com gordura obtida por lipoaspiração assistida por jato de água em 20 mulheres submetidas a aumento de mama não encontrou diferença entre os grupos⁵¹. Entretanto, o uso da lipoaspiração assistida por jato de água no grupo controle limita a generalização destes achados.

Em conjunto, esses estudos demonstram que a CAL aumenta a integração de gordura no enxerto. Não foi estudado efeito regenerador da lipoenxertia. Estudos de longo prazo com

dados de segurança são necessários antes que a adoção clínica seja recomendada, particularmente em pacientes submetidos à reconstrução oncológica. O risco elevado de transformação maligna ou recorrência não tem sido evidente em estudos clínicos existentes de enxerto de gordura⁵²⁻⁵⁶, mas estudos de longo prazo permanecem limitados, particularmente com relação a enxertos de gordura enriquecidos com células em humanos.

1.3 ESTRATÉGIAS DE LIPOENXERTIA

1.3.1 Captação da gordura

Comparado com a coleta manual da gordura usando uma seringa de 10 mL, a coleta assistida por máquina de sucção (lipoaspirador) não parece influenciar a viabilidade do enxerto⁵⁷⁻⁵⁹. Da mesma forma, nenhuma diferença foi observada em estudos animais com coleta por lipoaspiração assistida com aparelho ultrassônico⁶⁰. Não há ou ensaios clínicos em humanos ou animais com lipoaspiração mecânica ou assistida a laser, mas estudos *in vitro* revelaram um menor rendimento das células-tronco e pior proliferação das ASCs^{61,62}. Estudos preliminares em camundongos e *in vitro* com lipoaspiração assistida por jato de água sugerem que há melhora no conteúdo de ASCs, resultando em adipócitos mais viáveis e aumento no índice de retenção dos enxertos^{63,64}. O tamanho da cânula de aspiração também foi investigado para reduzir o estresse de cisalhamento e melhorar a viabilidade do enxerto. Cânulas maiores, de 5 a 6 mm, parecem melhorar a viabilidade dos adipócitos em culturas de células e em animais⁶⁵⁻⁶⁷. Infelizmente, a falta de ensaios clínicos humanos limita a utilidade desses dados na prática clínica atual.

1.3.2 Processamento da gordura

Semelhante à coleta, existem muitas técnicas usadas para preparar a gordura aspirada para enxerto, incluindo: lavagem, decantação, centrifugação, filtração e rolagem na gaze Telfa®^{58,60,68-72}. Destas técnicas, somente a rolagem na gaze Telfa® tem alguma evidência de melhor integração do enxerto sobre a centrifugação, baseado em estudos conduzidos com xenoenxertos em camundongos^{60,73,74}. No entanto, a falta de ensaios clínicos em humanos também limita a generalização desses achados.

1.3.3 Volumização *versus* Regeneração

As técnicas de coleta e processamento da gordura geralmente objetivam garantir a sobrevivência dos adipócitos. No entanto, evidências crescentes sugerem que as ASCs são muito importantes para o sucesso do enxerto de gordura⁷⁵ e, em alguns casos, o efeito rejuvenescedor/regenerador do enxerto de gordura na pele sobrejacente pode ser mais importante do que o efeito volumizador^{20,76-78}. Um exemplo é o surgimento do enxerto *microfat* e lipoenxertia intradérmica com agulha, que visam melhorar rugas e cicatrizes por meio de injeções de gordura de pequeno volume apenas pelo efeito regenerador⁷⁹⁻⁸³.

Dada a vantagem que pequenas cânulas proporcionam no que diz respeito à precisão, Tonnard e cols.⁸⁴ descreveram uma técnica para reduzir ainda mais o tamanho das partículas, permitindo a injeção de gordura através de uma agulha de calibre 27. Chamada de *nanofat*, este preenchedor fornece um volume limitado ao paciente, mas pode ser aplicado intradermicamente com um alto grau de precisão, permitindo o tratamento das rugas. Quando a composição do enxerto foi examinada, notou-se que virtualmente não havia adipócitos sobreviventes. A composição celular foi mais semelhante aos isolados da SVF (com a adição de adipócitos fragmentados) e, em vez de ver uma mudança pós-operatória imediata, melhorias com *nanofat* foram geralmente vistas em 4 a 12 semanas.

1.4 TIPOS DE ENXERTO DE GORDURA

Assim como os preenchedores de ácido hialurônico foram classificados pela sua coesão, viscosidade e elasticidade em diferentes produtos para diferentes usos, como por exemplo Voluma® para volumização da região malar e Volbella® para rugas mais finas⁸⁵, a gordura também pode ser modificada – pelo processamento, composição, emulsificação e filtração – em diferentes apresentações do mesmo tecido. Diferenças no tamanho da partícula de gordura são observadas, o que influencia seu fluxo através de cânulas de tamanhos específicos. Diferentes composições de componentes celulares e extracelulares determinam também diferentes viabilidades. É importante lembrar que essa contagem e o perfil celular são específicos para cada paciente e pode existir um pouco de variação em pacientes com idades similares, com origens étnicas semelhantes, tornando mais difícil entender completamente causa e efeito dos diferentes tipos de enxerto de gordura. Além disso, é provável que essas células estejam em um estado dinâmico com possíveis mecanismos de feedback, aumentando de tamanho em resposta ao ganho de peso, em resposta a certos agentes quimioterápicos, e em

resposta ao trauma e outras influências endógenas e exógenas. Ainda, a complexidade das interações entre os múltiplos fatores de crescimento, citocinas e células localizadas dentro da fração vascular estromal (SVF) da gordura são influenciadas pela idade e pelas doenças específicas ou distúrbios que as ativam. Até mesmo a localização e o tamanho do adipócito podem variar no mesmo paciente. Por exemplo, partículas de gordura menores próximas aos folículos pilosos têm propriedades diferentes da gordura das camadas mais profundas abaixo da fáscia de Scarpa⁸⁶. Os adipócitos menores podem estar também associados a macrófagos que têm mais propriedades antiinflamatórias do que os adipócitos maiores⁷⁰.

Para simplificar a compreensão desses diferentes tipos de tecido adiposo, classificamos a gordura em 4 tipos principais de enxerto de gordura, com base no tamanho do emulsificante utilizado: *macrofat*, *millifat*, *microfat* e *nanofat*. Esses enxertos são definidos atualmente pela sua característica de injetabilidade, pelo tamanho da partícula de gordura emulsionada e pela quantidade de adipócitos que permanecem no produto⁸⁷.

Para criar cirurgicamente esses produtos, uma lipoaspiração é realizada e a gordura é processada. A lipoaspiração pode ser realizada sob anestesia local, sedação intravenosa ou anestesia geral com a infiltração tumescente. A solução tumescente pode ser infiltrada com uma cânula vibratória ou com uma cânula de infiltração de Klein e seringa. Após 5 a 15 minutos, a lipoaspiração é iniciada com cânulas cujos orifícios não devem ser maiores do que 2,5 mm. Uma opção são as cânulas descartáveis de Carraway da Tulip Medical, Inc.® (San Diego, CA) ou, se há a intenção de dissociar mecanicamente a SVF, usamos uma cânula vibratória com um orifícios de 0.5 mm a 2.0 mm, dependendo do tamanho do tecido a ser enxertado. O infra-nadante produzido é rico em células da SVF da dissociação mecânica e pode ser centrifugado e enxaguado para produzir um sedimento celular da SVF.

Uma vez que a gordura é aspirada, a gordura é processada e os três produtos a seguir são feitos usando uma série de emulsificadores e filtros (Tulip Medical, Inc.®, San Diego, Califórnia):

1. O **Macrofat** é caracterizado por partículas de gordura ≥ 2.4 mm de diâmetro. O *Macrofat* é produzido através de lipoaspiração tumescente, processamento por centrifugação e sem uso de emulsificadores ou filtros¹⁷⁻²².
2. O **Millifat** é caracterizado como partículas de gordura $\leq 2,4$ mm de diâmetro. O *Millifat* é feito aspirando gordura limpa e passando-a de uma seringa de 20 mL para outra seringa de 20 mL através de um emulsificante de 2,4 mm. O *Millifat* é mais estrutural por natureza e pode ser injetado facilmente através de uma cânula

de calibre 18 ou 19G (a capacidade de injetabilidade é uma estimativa da facilidade de injeção através de uma determinada cânula, indicando por qual diâmetro de cânula a gordura modificada passa). O *Millifat* é utilizado para aumento estrutural nas regiões temporais, na gordura ocular suborbicular (SOOF), nos compartimentos gordurosos profundos da região malar (medial e pré - zigomático, no coxim adiposo bucal (bola de Bichat), na região piriforme, no periósteo da órbita, mandíbula, região lateral da sobrancelha e dorso nasal e columela, além do queixo e lábios.

3. O ***Microfat*** é caracterizado como partículas de gordura $\leq 1,2$ mm de diâmetro e são feitos passando o *Milifat* através de um segundo emulsificante de 1,2 mm. O *Microfat* é usado para a fronte, pele da sobrancelha, profundamente no periósteo do *tear trough*, região perioral e nas mãos. O *Microfat* também é usado para alguns tipos de cicatrizes de acne, bem como um carreador de SVF e / ou plasma rico em plaquetas (PRP) para alopecia e em feridas. O *Microfat* é injetado facilmente através de cânulas de 19 ou 20G.
4. O ***Nanofat*** é caracterizado como partículas de gordura de 400 a 600 μm . O *Nanofat* é produzido pegando o *Microfat* emulsionado e passando-o através de uma peneira dupla de 400 e 600 μm , produzindo um produto mais líquido da matriz, células vasculares estromais e ácidos graxos livres que demonstraram melhorar as rugas finas na região perioral região, pescoço e ao redor dos olhos. O *Nanofat* pode ser aplicado com uma agulha de calibre de 27 ou 30G diretamente por via intradérmica, se necessário. É usado na pálpebra inferior para melhorar a pigmentação, nas rugas finas do pescoço, nas rugas finas ao redor da boca, no lábio superior e inferior, em feridas, incisões, cicatrizes, cicatrizes de acne, nos casos de alopecia em combinação com PRP e para preparação de tecido mamário irradiado que irá realizar reconstrução com implantes. Além disso, o *Nanofat* pode ser centrifugado para eliminar os ácidos graxos livres e criar um gel que pode ser aplicado em combinação com um creme que promove a penetração dérmica e pode ser introduzido pelas técnicas de Mesoterapia após laser ou cirurgia de facelift. Ainda, o *Nanofat* também pode ser usado antes da centrifugação como um injetável com agulha, cânula romba ou com técnicas de microagulhamento. Em pacientes submetidos a cirurgia estética facial ou enxerto de gordura facial total, pode-se utilizar uma combinação dos três tipos de enxerto de gordura⁸⁷.

1.5 OUTROS MÉTODOS DISPONÍVEIS DE VOLUMIZAÇÃO E REGENERAÇÃO CELULAR

1.5.1 Plasma rico em plaquetas

Em 1998, Marx e cols⁸⁸ publicaram uma das primeiras descrições do uso regenerativo do PRP como uma estratégia para melhorar a integração dos enxertos ósseos na cirurgia oral. O PRP é produzido pela centrifugação do sangue e obtém uma concentração de cinco a sete vezes maior de plaquetas autólogas suspensas em um pequeno volume de plasma^{89,90}. Antes da infiltração no tecido alvo, as plaquetas são ativadas usando cloreto de cálcio e trombina bovina para desencadear a degranulação dos grânulos alfa. As plaquetas então ativadas, liberam uma variedade de fatores de crescimento, iniciando o processo de cicatrização, incluindo o fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de transformação beta 1 e beta 2 de crescimento, fator de crescimento vascular endotelial, trombospondina e fator de crescimento epidérmico^{89,90}. O equipamento necessário para a produção do PRP já está disponível na maioria dos hospitais nos setores de hemoterapia, patologia clínica ou banco de sangue. O padrão mínimo de concentração do PRP é de 106 plaquetas / mL⁹¹.

Estudos *in vitro* sugerem⁹⁶⁻⁹⁷ que o PRP aumentaria a proliferação e secreção das ASCs, enquanto que os estudos *in vivo* demonstraram uma melhor integração do enxerto de gordura^{96,97}. O PRP e as ASCs agem sinergicamente quando combinados em camundongos, com melhor integração do enxerto de gordura do que quando ambos são utilizados de forma isolada⁹⁸.

A adição de PRP a enxertos de gordura humana também tem sido promissora com vários relatos de melhora na integração do lipoenxerto^{47,99-102}. No entanto, estes achados permanecem longe de ser um consenso. Rigotti e cols.¹⁰² não relataram nenhum benefício ao adicionar PRP a enxertos de gordura enriquecidos com ASCs para rejuvenescimento facial. De fato, o PRP resultou em aumento da inflamação e alterações vasculares indesejáveis.

Em adição à sua utilização como um suplemento de enxerto de gordura, o PRP também tem sido usado de forma independente por uma variedade de procedimentos estéticos faciais: para reduzir o edema e equimose pós *facelift*, e até para tratamento de rugas faciais^{103,104}. O PRP pode também ter aplicações para o crescimento do cabelo. Um ensaio clínico randomizado duplo-cego controlado por placebo demonstrou que o PRP foi capaz de melhorar significativamente o crescimento do cabelo em áreas de alopecia areata em

comparação ao placebo e ao corticóide tópico. Da mesma forma, vários estudos observaram um melhor crescimento de cabelo na alopecia androgênica^{105,106}.

Infelizmente, a determinação da eficácia do tratamento do PRP não é fácil. Em primeiro lugar, a literatura permanece de difícil interpretação devido à falta de técnicas padronizadas de dosagem ou isolamento⁵⁹. Além disso, a maioria dos ensaios em humanos tem sido de séries de casos e não tiveram resultados objetivos ou controles adequados. Grandes ensaios clínicos randomizados e controlados, com medidas de resultados quantificáveis, são necessários para definir o papel apropriado do PRP no arsenal dos cirurgões plásticos.

1.5.2 Ácido hialurônico (HA)

O HA é um polissacarídeo linear que naturalmente é um componente de todos os tecidos conjuntivos. É um glicosaminoglicano composto por unidades dissacarídicas repetidas não sulfatadas de ácido glicurônico e N-acetilglucosamina¹⁰⁷. Não possui especificidade para espécies ou tecidos, portanto possui um potencial mínimo para causar reações imunológicas. O HA atua como lubrificante e hidratante, pois é altamente hidrofílico. Quando a água é puxada para a matriz do HA, ela cria uma pressão interna, ou turgor, que permite que o complexo de HA suporte as forças de compressão e empurre o tecido adjacente. Mostrou-se útil como preenchedor no tratamento de alguns dos sinais de envelhecimento, uma vez que hidrata a pele e devolve um pouco da sua elasticidade e tônus, produzindo uma pele facial de aspecto natural e saudável¹⁰⁸. Com o tempo, os preenchedores de HA são decompostos ou absorvidos por processos biológicos naturais e removidos do corpo.

A maioria dos preenchimentos de HA utilizados na prática clínica são de origem bacteriana e estabilizada pelo processo de *crosslinking*. A HA não modificado tem uma meia-vida de apenas 24-48 horas, tornando-se inadequado como preenchimento dérmico, mas o *crosslinking* sintético do HA melhora a estabilidade, elastoviscosidade e longevidade que podem atingir ou exceder um ano¹⁰⁹. Na maioria dos produtos líderes de mercado, o agente de *crosslinking* utilizado é o éter diglicídico de 1,4-butanodiol. Sua estabilidade, biodegradabilidade e registro de segurança há mais de 15 anos fazem dele o padrão na indústria¹¹⁰.

Então, a aplicação do ácido hialurônico é capaz de promover aumento de volume, restaurando contornos e equilíbrio simétricos, e melhorar também a qualidade da pele pela hidratação e, mais recentemente, pelo estímulo da síntese de colágeno e elastina^{110,111}. A

grande vantagem dos preenchedores de HA é a praticidade da aplicação – no consultório e sem necessidade de anestesia – e a recuperação praticamente imediata após o procedimento. As desvantagens são o custo significativamente mais alto em relação à gordura e a necessidade de reaplicar o HA a medida que o mesmo for sendo absorvido naturalmente pelo organismo. Esta última propriedade não é bem uma desvantagem, já que os preenchedores inabsorvíveis podem ser uma catástrofe.

1.5.3 Ácido poli-L-láctico (PLLA)

PLLA é um polímero sintético, biocompatível e biodegradável de ácido láctico que tem sido usado com segurança em várias áreas médicas por mais de 3 décadas¹¹². O produto vem como um pó liofilizado em um frasco de vidro estéril e possui: manitol não pirogênico, carboximetilcelulose de sódio e micropartículas de PLLA (40-60 µm). O produto deve ser reconstituído com água estéril antes da injeção. Um preenchimento transitório como resultado da distensão mecânica dos tecidos é visto imediatamente após a injeção, mas esse volume é reabsorvido nos próximos dias. O verdadeiro mecanismo de ação do PLLA começa com uma resposta tecidual inflamatória subclínica após a implantação do produto, seguida pelo encapsulamento das partículas e subsequente fibroplasia. Essa fibroplasia volumiza os tecidos e produz o resultado cosmético desejado. Esse mecanismo de ação permite que o produto gradualmente e progressivamente restaure “um pouco de volume como um todo” produzindo um resultado sutil e natural. É importante, tanto para o profissional quanto para o paciente, observar que o resultado final não é alcançado pelo produto em si, mas pela reação do hospedeiro ao produto, e que esse processo leva de 3 a 4 semanas¹¹². O efeito regenerador sobrepõe o efeito volumizador. O PLLA foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) em 2004 nos Estados Unidos (EUA) com o nome Sculptra (Dermik Laboratories, Sanofi Aventis®, USA) para tratamento da lipoatrofia associada ao HIV e, em 2009, para a perda volumétrica com finalidade estética, nomeado Sculptra Aesthetic, Sanofi Aventis®^{113,114}. A melhor indicação para o produto é utilizá-lo como bioestimulador tridimensional em pacientes que desejam aparência natural sem o aspecto de cansaço¹¹⁵. O PLLA não é injetado diretamente em rugas ou sulcos, mas difusamente em áreas que se apresentam côncavas ou áreas de sombra, causadas por perda de gordura hipodérmica e/ou subcutânea devido ao envelhecimento, perda de peso, trauma, lipoatrofia secundária a doenças, injeção de corticoide e após cirurgia de *facelift*¹¹⁶.

1.6 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

O enxerto de gordura possui muitas das características de um preenchedor ideal. É autólogo, completamente biocompatível, disponível na maioria dos pacientes, integra-se naturalmente ao tecido receptor, removível se necessário e potencialmente permanente⁷⁶. Desde a introdução e a ampla aceitação da técnica de lipoenxertia estruturada descrita por Coleman na década de 90, suas aplicações tem se multiplicado na cirurgia plástica reparadora e estética¹⁷⁻²². Atualmente, o enxerto gordura é o muito usado para tratar defeitos de contorno ou volume e a sobrevivência do adipócito transplantado é um fato extensamente aceito⁷⁵⁻⁷⁶. Maricevich¹¹⁷ e cols. enxertando gordura – enxerto tipo *macrograft* com e técnica de Coleman – principalmente na face em casos reparadores e estéticos, observaram, além do efeito volumizador, uma melhora da qualidade da pele dos pacientes.

1.7 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Recentemente, está havendo um aumento do interesse nas propriedades regenerativas do enxerto de gordura^{24,118}. Há diversos relatos na literatura sobre os efeitos regenerativos da lipoenxertia: suavização de rugas, diminuição dos poros da pele, melhora da pigmentação, melhora da qualidade da pele^{75,76}, melhora das cicatrizes¹¹⁹, tratamento de lesões por radioterapia^{24,112}, contratura capsular¹¹³, lesões das cordas vocais¹¹⁵, úlceras crônicas^{24,116,117} e regeneração dos ossos da calota craniana¹²⁰. Um estudo experimental em animais⁷⁷ e um ensaio clínico em humanos⁷⁸ também corroboram com o achado da melhora da qualidade da pele após o enxerto de gordura. Há necessidade de mais ensaios clínico em humanos para cofirmação desta propriedade regenerativa do enxerto de gordura.

Ainda não há evidências científicas para afirmar qual técnica de lipoenxertia seria a melhor^{72,119,121} para objetivos volumizadores e regenerativos, podendo o processamento da gordura ser por decantação, filtração, lavagem e/ou diferentes tipos de centrifugação. Além disso, a gordura pode ser enxertada em combinação com células tronco derivadas e separadas da própria gordura ou com o plasma rico em plaquetas (PRP). Ainda, alguns cirurgiões injetam apenas a fração vascular estromal da gordura (sem o adipócito maduro)¹²²⁻¹²⁴ ou exclusivamente células tronco derivadas da gordura após expansão *in vitro*⁴⁵.

Os mecanismos biológicos responsáveis pelo efeito regenerador nas áreas de enxerto de gordura e/ou seus componentes ainda não são bem compreendidos⁷⁷. Possivelmente, células indiferenciadas encontradas na gordura, como as células tronco e os pré-adipócitos, ou

outras substâncias como a adipocina e a matricriptina, tem contribuição neste fenômeno^{75,117}. Também não há total entendimento das mudanças estruturais que ocorrem na derme e no subcutâneo das áreas lipoenxertadas que justifiquem esta melhora da qualidade da pele que se observa clinicamente nos pacientes¹²⁵⁻¹²⁷.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar histologicamente a derme de uma área de pele que recebeu enxerto de gordura há 4 meses e verificar a presença de sinais de integração do enxerto na área receptora.

2.2 ESPECÍFICOS

Comparar histologicamente o infiltrado inflamatório, espessura da derme, densidade da vascularização e fibras elásticas do fragmento de pele que recebeu enxerto de gordura com o fragmento de pele controle depois de 4 meses.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Estudo realizado no HC – UFPE pelo Serviço de Cirurgia Plástica e Patologia do Hospital da Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC – UFPE) com as pacientes do Ambulatório de Cirurgia Plástica.

3.2 AMOSTRA DO ESTUDO

Todas as 10 pacientes foram oriundas do Ambulatório de Cirurgia Plástica, operadas no próprio HC – UFPE pela mesma equipe cirúrgica e tiveram suas peças cirúrgicas analisadas pelo Serviço de Patologia do HC – UFPE.

3.3 SELEÇÃO

3.3.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram mulheres com indicação de abdominoplastia, entre 20 e 50 anos, IMC abaixo de 30 e com cicatriz de cesárea prévia.

3.3.2 Critérios de exclusão

Não foram incluídas pacientes tabagistas, portadoras de doenças sistêmicas (diabetes, colagenoses, hipovitaminoses), uso de qualquer medicação de uso crônico (corticóides, imunossupressores, suplementos alimentares), passado de infecção de ferida operatória na cicatriz da cesárea e cicatriz hipertrófica ou queloidiana na cicatriz da cesárea.

3.4 PERÍODO DO ESTUDO

As pacientes foram submetidas a lipoenxertia e, posterior, abdominoplastia no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2017.

3.5 METODOLOGIA EMPREGADA

Trata-se de um ensaio clínico randomizado mascarado.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

O trabalho teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HC – UFPE sob o CAAE nº 59790016.0.0000.5208 e seguiu a Declaração de Helsinque.

3.7 RISCOS

Os riscos envolvidos na abdominoplastia são descritos na literatura, podendo ocorrer: deiscência, infecção, hematoma, entre outras. Os riscos envolvidos na lipoenxertia são mínimos, tendo como possível complicação a formação de cistos de óleo. Não há relatos de acidentes embólicos de gordura com aplicações usando cânulas. Contudo, tais riscos tem incidência muito baixa se os pacientes são operados por uma equipe qualificada.

3.8 BENEFÍCIOS

A abdominoplastia é uma cirurgia com alto grau de satisfação entre as pacientes. A cirurgia retira o excesso de pele, gordura e reaproxima os músculos reto abdominais, principalmente em situações de pós-gestação e/ou grande perdas ponderais. A lipoenxertia dá volume onde há falta de volume. É muito utilizada para amenizar deformidades de contorno congênitas da face ou do corpo e, além disso, atenua os efeitos do envelhecimento.

3.9 MATERIAIS

3.9.1 Abdominoplastia e presença da cicatriz de cesárea

Na cirurgia da abdominoplastia, rotineiramente, retira-se toda a pele e o subcutâneo entre o umbigo e a sínfise púbica, resultando em uma cicatriz arciforme supra púbica que se entende de uma espinha ilíaca anterolateral a outra. No caso da paciente possuir uma cicatriz de cesárea, a cicatriz da abdominoplastia fica abaixo da mesma, retirando-a por completo na peça operatória (Figura 1 e 2).

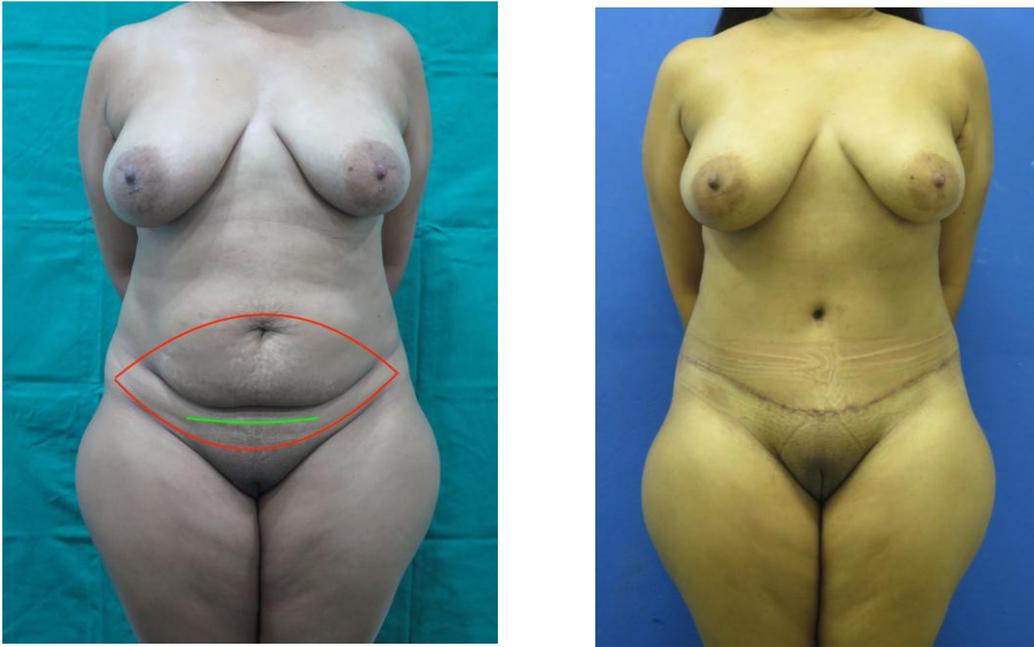


Figura 1 – Marcação da abdominoplastia com área de ressecção (vermelho) englobando a cicatriz cesárea prévia (verde). Figura 2 – Resultado pós-operatório.

3.9.2 Técnica cirúrgica da lipoenxertia

Foram lipoaspirados 20 ml de gordura do abdome inferior (área de 20 x 10 cm), através de uma pequena incisão infra-umbilical, sob anestesia local + sedação e em ambiente cirúrgico. A aspiração de gordura foi feita com uma cânula 2.5 (Richter®) conectada a uma seringa de 10 ml (BD®). Após aspirada, a gordura foi processada em uma centrífuga (Montserrat® modelo 80-2B 15ml) por 3 minutos a 3.000 rpm.

A centrifugação dividiu o aspirado em três camadas: a camada superior oleosa foi aspirada e desprezada; a camada inferior aquosa foi descartada por derramamento; e a gordura, que permaneceu na camada intermediária, foi passada para seringas de 1 ml.

A gordura foi enxertada seguindo a técnica de Coleman²². O enxerto foi realizado no plano subcutâneo / subdérmico do tecido não-cicatricial, com cânula 1.1 (Richter®), usando a técnica retrógada em múltiplos túneis e em apenas um dos lados do abdome. O local do enxerto e do controle foi determinado tendo como parâmetro objetivo os últimos 3 cm da cicatriz da cesárea. Foi enxertado 6 ml de gordura em uma área quadrada de 3 x 3 cm, tomando a cicatriz com base inferior deste quadrado. Nada foi feito no outro lado do abdome (Figuras 3, 4, 5 e 6).



Figura 3 – (esquerda, acima). Lipoaspiração de 20 ml em área 20 x 10 cm em abdome inferior com cânula 2.5 e seringa de 10 ml. Figura 4 – (direita, acima). Lipoaspirado centrifugado com a gordura separada na camada média. Figura 5 – Simulação de como foi feito o enxerto de gordura na área sorteada. Figura 6 – Enxerto de 6 ml de gordura em área de 3 x 3 cm nos últimos 3 cm da cicatriz da cesárea com cânula 1.1.

* C = control. FG = *fat graft*

3.9.3 Captação das peças operatórias durante a abdominoplastia após 4 meses

Quatro meses após a lipoenxertia, as pacientes submeteram-se a cirurgia de abdome, retirando toda a pele e subcutâneo do abdome inferior. Da peça operatória, foram retiradas duas amostras de pele e subcutâneo: a área previamente lipoenxertada em um dos lados do abdome a área controle do outro lado. A amostra consistiu em um área quadrada de 3 x 3 cm incluindo os últimos 3 cm da cicatriz (Figuras 7 e 8).

A presença da cicatriz cesárea nas pacientes foi um critério de inclusão na pesquisa justamente porque a cicatriz serviu para identificar com precisão, posteriormente, o local da área enxertada e o controle. A cicatriz foi descartada e a pele sem cicatriz foi analisada com microscópio óptico e reagentes. O tecido cicatricial não fez parte da análise histológica. As cicatrizes tinham 10 anos em média (de 1 a 27 anos).

Ainda, não houve análise clínica ou por métodos de imagem, apenas histológica.

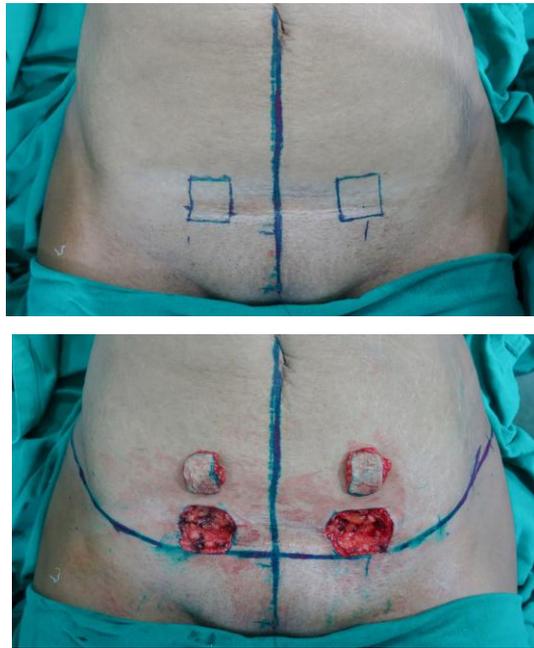


Figura 7 – Paciente na sala de cirurgia para realizar a cirurgia de abdominoplastia com as duas áreas 3 x 3 cm de ressecção marcadas nas extremidades da cicatriz da cesárea.

Figura 8 – A cicatriz será retirada das duas amostras, as peças serão identificadas e enviadas para a Patologia.

3.9.4 Envio das peças operatórias para o Serviço de Patologia

Os espécimes foram armazenados no formol e submetidos ao processamento histológico para avaliação por microscopia óptica. Foram realizadas as colorações de hematoxilina-eosina e orceína para a visualização da estrutura geral da pele, fibras colágenas e fibras elásticas, respectivamente. As amostras foram avaliadas por dois patologistas, afim de verificar a concordância dos dados coletados. Foram analisados histologicamente, de forma quantitativa e qualitativa a presença de material oleoso extracelular, infiltrado inflamatório, espessura da derme, densidade dos vasos e quantidade de fibras elásticas.

As peças cirúrgicas do abdome (enxertada e controle) foram retiradas completamente até a aponeurose dos músculos abdominais, contendo epiderme, derme e tecido subcutâneo.. A presença de material oleoso extracelular integrado ao tecido subcutâneo das amostras foi considerado um **sinal de integração do enxerto de gordura**, quando identificado na coloração hematoxilina-eosina com aumento de 40x.

O **infiltrado inflamatório** foi definido pela presença de aglomerados de linfócitos, plasmócitos, ocasionais eosinófilos, histiócitos e eventuais células gigantes do tipo corpo

estranho na amostra enxertada e na amostra controle. O infiltrado inflamatório caracteriza uma inflamação em fase crônica. O Serviço de Patologia, de forma subjetiva, classificou comparativamente a presença dos infiltrados inflamatórios em: bem leve, leve, moderado e acetuado após a coloração com hematoxilina-eosina no aumento 100x.

A **espessura da derme** foi medida utilizando régua microscópica de Breslow (escala de 0,10 mm). Foram selecionadas para medição áreas do espécimes com incisão adequada, evitando regiões de corte tangencial. A avaliação foi baseada no posicionamento da epiderme e das estrutura anexiais com a coloração hematoxilina-eosina no aumento 40x.

Para avaliação da **densidade da vascularização**, consideramos os vasos adequadamente visualizados nos cortes corados pela técnica hematoxilina-eosina em uma área de 1 mm² da derme reticular no aumento 100x. Foram feitas a contagem dos vasos do espécime enxertado e do controle do mesmo paciente.

As **fibras elásticas** foram analisadas após a coloração do espécime pela técnica da orceína. Consideramos os seguintes valores: 0 ausência; + leve; ++ média; e +++ alta quantidade de fibras elásticas no aumento 100x.

3.10 RANDOMIZAÇÃO

O tamanho da amostra foi de 10 pacientes. As pacientes foram incluídas na sequência da fila de espera do serviço. O lado do abdome a ser enxertado com gordura foi escolhido por randomização. Na sala de cirurgia, cirurgião realizou um sorteio simples até que o lado direito ou esquerdo completassem 5 casos, de maneira que no final 5 pacientes foram lipoenxertadas no lado direito e 5 no esquerdo. Enquanto os cirurgiões sabiam de que lado havia sido feito o enxerto de gordura, as patologistas eram mascaradas e não tinham esta informação.

3.11 TAMANHO DA AMOSTRA

Para determinar o tamanho mínimo da amostra foi utilizada a equação do cálculo do tamanho de amostra para estudo de duas medidas experimentais dadas por:

$$n = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) \cdot \left(\frac{Z_\alpha + Z_{(1-\beta)}}{2} \right)^2}{(\mu_2 - \mu_1)^2} \quad (1)$$

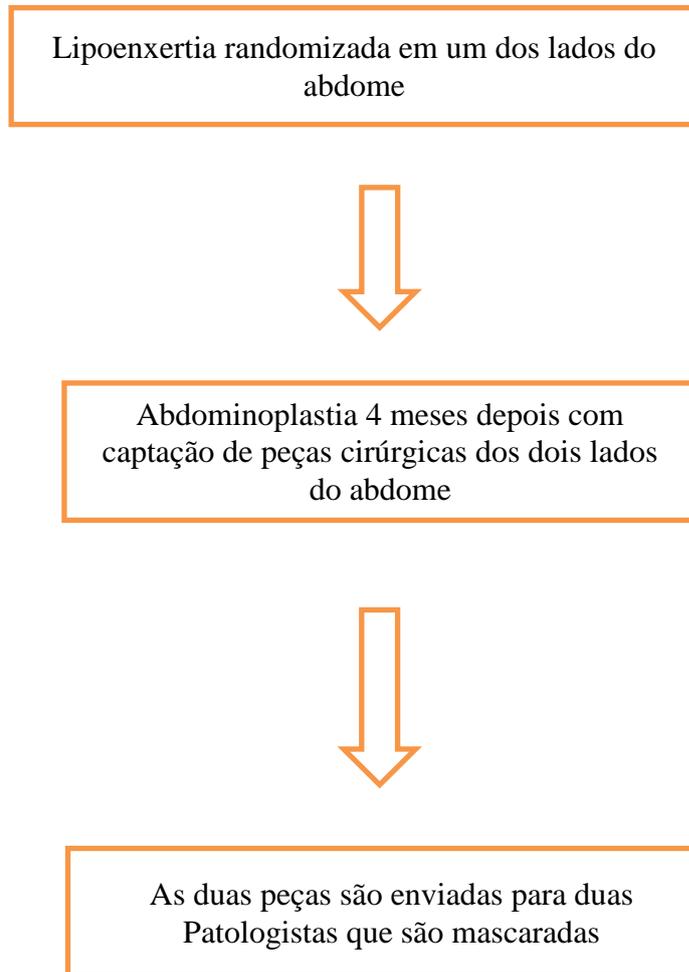
A média e variância esperada para os eventos de interesse foram obtidas através de um estudo piloto com 5 variáveis. O tamanho mínimo para cada grupo de estudo foi de 10 pacientes. Logo, sendo a intervenção e o controle no mesmo paciente, foram 20 amostras em 10 pacientes.

3.12 PROCEDIMENTOS ANALITICOS

Para análise dos dados foi construído um banco na planilha eletrônica Microsoft Excel a qual foi exportada para o software SPSS, versão 18, onde foi realizada a análise. Para comparar a distribuição do **infiltrado inflamatório** e **quantidade de fibras elásticas** nas amostras que receberam a lipoenxertia e nas que não receberam, foi construída uma tabela de contingência e aplicado o teste Qui-quadrado para homogeneidade. No caso em que a suposição do teste foi violada, aplicou-se o teste Exato de Fisher.

Para avaliar a normalidade das variáveis quantitativas foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Como foi indicada normalidade dos fatores avaliados, aplicou-se o teste t de Student para comparação das médias de **espessura da derme** e **densidade de vascularização** entre as amostras tratadas e as controle. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%.

4 DESENHO DO ESTUDO



5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram avaliados 10 pacientes os quais apresentavam idade média de 35,9 anos (desvio padrão de 10,1 anos) e IMC médio de 24,1 kg/m² (desvio padrão de 3,1 kg/m²). Foram obtidas 2 peças cirúrgicas de cada paciente. Em uma delas, randomicamente, foi enxertado gordura e na outra não, totalizando 10 amostras em cada grupo.

5.2 INTEGRAÇÃO DO ENXERTO DE GORDURA

Das peças cirúrgicas onde o enxerto foi aplicado verificou-se a presença de material oleoso extracelular em todas elas (Figuras 9 e 10). Logo, 50% das amostras do estudo apresentavam **sinais de lipoenxertia**. Logo, 100% das áreas enxertadas apresentaram sinas de lipoenxertia (Tabela 1).

Tabela 1 – Integração do enxerto de gordura

Sinais de lipoenxertia	n	%	p-valor
Sim	10	50,0	1,000
Não	10	50,0	

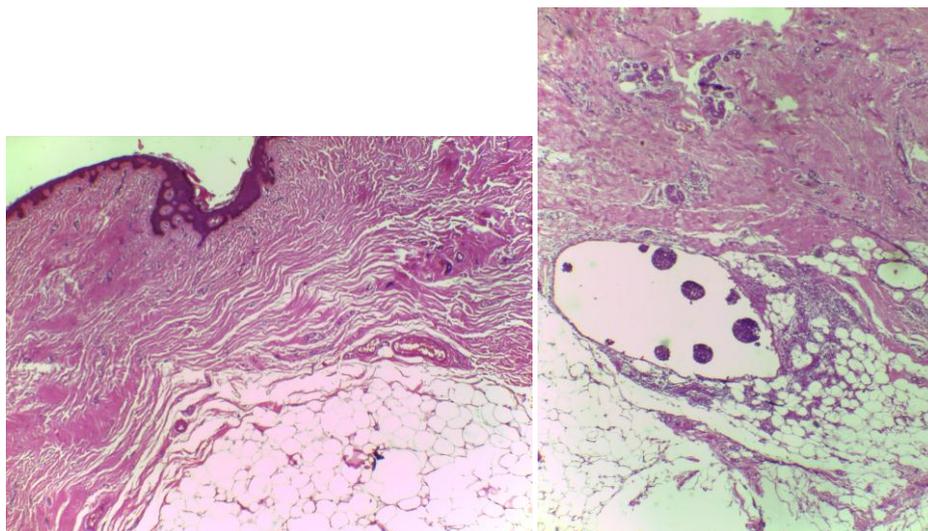


Figura 9 – (esquerda). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo sem evidências de lipoenxertia. Figura 10 – (direita). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo material oleoso extracelular (seta vermelha) associado a leve processo inflamatório (HE, 40X).

5.3 INFILTRADO INFLAMATÓRIO

Foi avaliada a presença do **infiltrado inflamatório** e a sua intensidade numa escala de bem leve, leve, moderado e acentuado (Tabela 2). Verificou-se que tanto nas amostras que receberam a lipoenxertia como nas que não receberam houve maior prevalência do processo inflamatório leve (70,0% e 90,0%, respectivamente). Ainda, o teste de homogeneidade não foi significativo (p -valor = 0,582), indicando que não há diferença do processo inflamatório entre o grupo de amostras que receberam e que não receberam o enxerto de gordura. Infiltrados inflamatórios na forma bem leve e moderada são vistos nas Figuras 11 e 12 respectivamente. O infiltrado inflamatório era composto por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, histiócitos e células gigantes multinucleadas, caracterizando um processo em fase crônica.

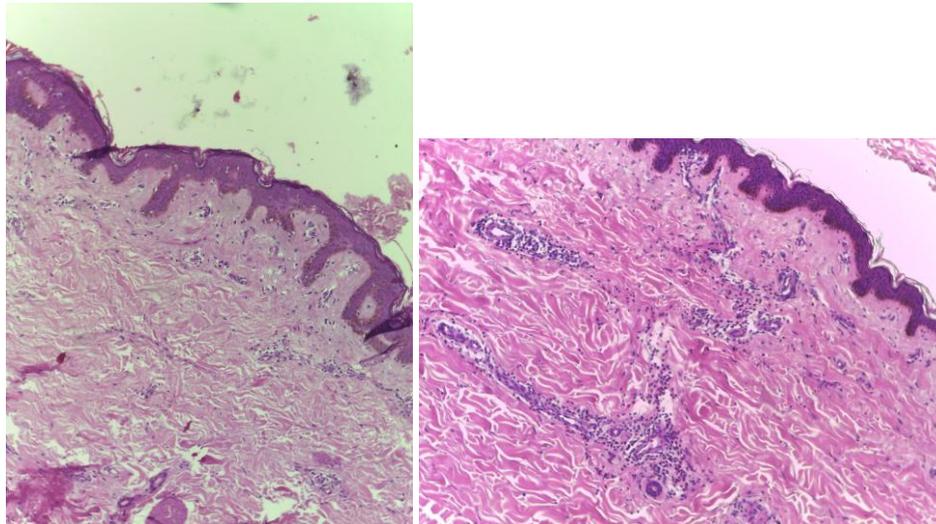


Figura 11 – (esquerda). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo sem evidências de processo inflamatório. Figura 12 – (direita). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo moderado infiltrado inflamatório linfomononuclear com eosinófilos (HE, 100X). Setas vermelhas no processo inflamatório.

5.4 ESPESSURA DA DERME

A média da **espessura da derme** com a régua de Breslow (escala 0,10 mm) no grupo das amostras que não receberam a lipoenxertia foi de 2,27 mm e nas que receberam o tratamento foi de 2,26 mm. O teste de comparação de média não foi significativo (p -valor = 0,973), indicando que o tratamento não altera de forma expressiva a espessura da derme (Figura 13) (Tabela 2).

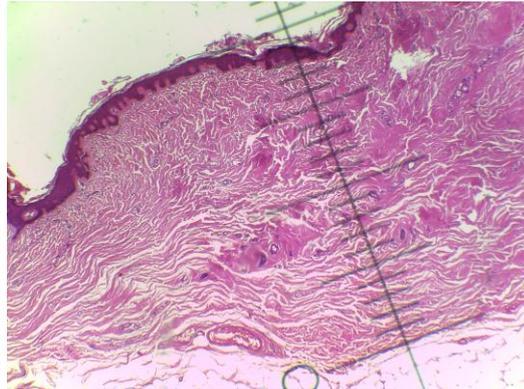


Figura 13 – Medida microscópica da espessura da derme através do uso de régua milimetrada (HE, 40X).

5.5 DENSIDADE DA VASCULARIZAÇÃO

Notamos um valor médio de densidade de vasos maior na área nas amostras que receberam lipoenxertia (média = 15,8 vasos/mm²) do que as observações que não receberam o tratamento (média = 12,8 vasos/mm²). Mesmo sendo encontrada essas diferenças pontuais na média de densidade de vascularização, o teste de comparação de média não foi significativo (p-valor = 0,326), indicando que o tratamento não alterou de forma relevante a densidade de vascularização (Figuras 14 e 15) (Tabela 2).

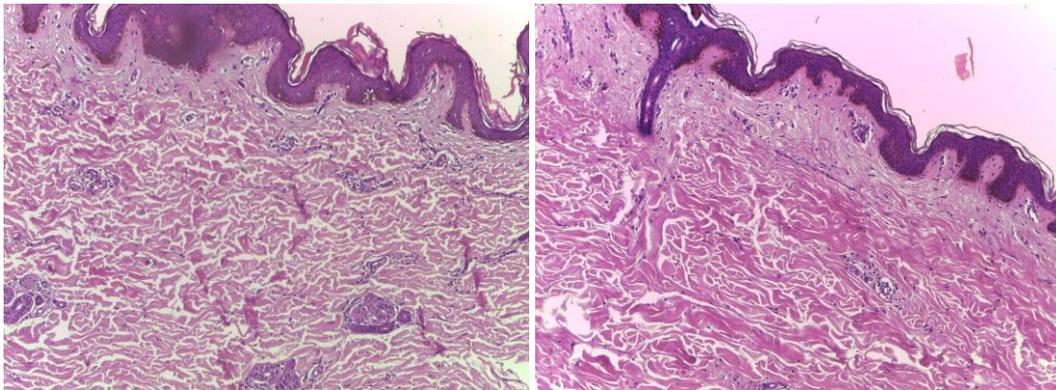


Figura 14 – (esquerda). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo maior número de vasos por mm². Figura 15 – (direita). Amostra de pele e tecido celular subcutâneo exibindo menor número de vasos por mm² (HE 100X). Vasos em setas vermelhas.

5.6 FIBRAS ELÁSTICAS

Não houve diferença significativa na quantidade de **fibras elásticas** na derme reticular nas amostras que receberam lipoenxertia das que não receberam o tratamento (teste de

homogeneidade não significativo, p-valor = 1,000), indicando que a presença de fibra elástica foi semelhante nos grupos avaliados (Figuras 16 e 17) (Tabela 2).

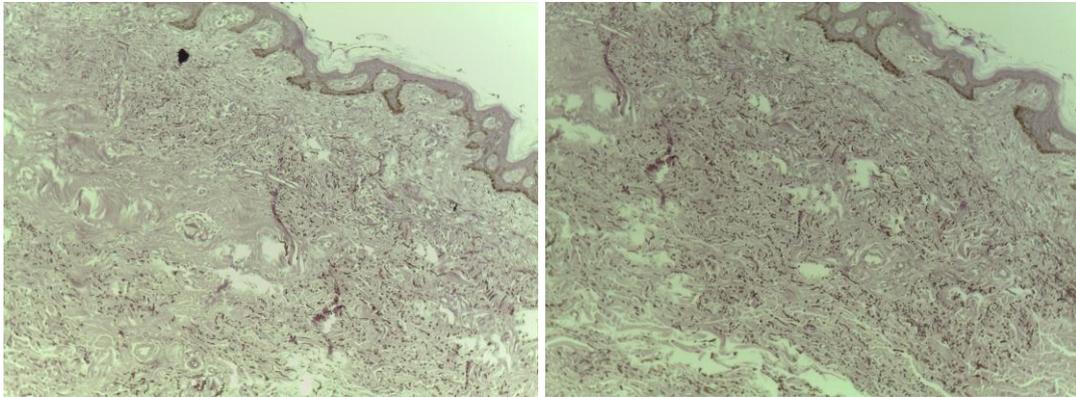


Figura 16 – (esquerda). Fibras elásticas visualizadas através da coloração de orceína em quantidade de leve +/+++. **Figura 17 – (direita). Fibras elásticas visualizadas através da coloração de orceína em quantidade de média ++/+++ (Orceína, 100X).**

Fator avaliado	Sinais de lipoenxertia		p-valor
	Sim	Nao	
Infiltrado inflamatorio			
Bem leve	2(20,0%)	1(10,0%)	0,582 ¹
Leve	7(70,0%)	9(90,0%)	
Moderado	1(10,0%)	0(0,0%)	
Acentuado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Espessura da derme (mm)			
Mínimo - Máximo	1,20 - 3,50	1,40 - 3,00	-
Média ± Desvio padrão	2,26 ± 0,77	2,27 ± 0,52	0,973 ²
Densidade da vascularização			
(N de vasos / mm²)			
Mínimo - Máximo	5 - d30	5 - 27	-
Média ± Desvio padrão	15,8 ± 6,7	12,8 ± 6,6	0,326 ²
Fibras elásticas			
Leve	5(50,0%)	4(40,0%)	1,000 ²
Média	5(50,0%)	6(60,0%)	
Alta	0(0,0%)	0(0,0%)	

¹p-valor do teste Exato de Fisher . ²p-valor do teste t de Student.

6 DISCUSSÃO

6.1 ASPECTOS GERAIS

Apresenta-se um trabalho feito em humanos onde tanto a intervenção quanto o controle foram feitos no mesmo indivíduo, na mesma pele e nas mesmas condições. Na análise histológica foi atestado sinais de lipoenxertia em 100% dos casos enxertados. A presença de material oleoso extracelular é um sinal da integração do enxerto, visto que enxertamos a gordura no plano subcutâneo / subdérmico onde já há adipócitos. Não é possível identificar quais são os adipócitos nativos e quais são os enxertados. Não há marcadores específicos para esta diferenciação.

No entanto, não foi observado alterações significativas na espessura, infiltrado inflamatório, densidade da vascularização e quantidade de fibras elásticas da derme receptora após 4 meses de enxerto, tempo em que o enxerto já está estável e provavelmente não sofrerá mais reabsorção. A quantificação e proporção das fibras colágenas tipo I e III na derme não foram analisadas neste trabalho, mas é uma mudança que pode acontecer após a lipoenxertia^{77,127}.

As aplicações da lipoenxertia são diversas na prática médica – não só na cirurgia plástica – e seus benefícios estão bem documentados. No campo da estética, os pacientes geralmente procuram o enxerto de gordura para melhorar as alterações relacionadas ao envelhecimento da face, incluindo: perda de volume, afinamento da pele, perda de elasticidade e danos causados pelo sol. Devido à capacidade da gordura de restaurar o volume e melhorar a qualidade da pele, a lipoenxertia é ideal para o rejuvenescimento facial. Em muitos casos, somente o enxerto de gordura pode alcançar efeitos significativos, no entanto, a lipoenxertia se torna ainda mais poderosa quando usada em conjunto com a ressecção do excesso de pele, como em um *facelift* por exemplo. Em adição, a qualidade da pele continua a melhorar no seguimento a longo prazo¹²⁸.

Assim como em outras áreas, a publicidade de procedimentos não validados também é um problema na cirurgia plástica. A propaganda direta à população pode levar a equívocos terapêuticos e expectativas não realistas^{128,129}. Um exemplo saliente é o marketing enganoso dos chamados *facelifts* de células-tronco¹³⁰ ou aumentos de mama de células-tronco. Muitos desses procedimentos são anunciados por profissionais não capacitados (imperitos) sem o treinamento médico e cirúrgico necessário para garantir a segurança do paciente¹³¹. Além disso, muitos desses grupos usam técnicas e dispositivos de isolamento das ASCs que não são

aprovados pelo FDA ou Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Outros realizam o enxerto de gordura padrão, mas acrescentam o nome “células-tronco” ao procedimento para fins de publicidade. Além das preocupações financeiras e de segurança, este marketing anti-ético pode servir para minar a credibilidade de testes clínicos legítimos de células-tronco com o público.

Em 2011, uma força-tarefa conjunta da Sociedade Americana de Cirurgia Plástica Estética e da Sociedade Americana de Cirurgiões Plásticos reuniu-se para tratar de práticas publicitárias enganosas¹³². Após examinar mais de 9.000 artigos, eles concluíram que o marketing e a promoção de procedimentos com células-tronco em cirurgia estética não estava de acordo com as evidências científicas existentes. Até que mais evidências estejam disponíveis, as terapias com células-tronco devem ser conduzidas apenas em estudos clínicos sujeitos à aprovação do conselho de revisão institucional e em conformidade com as regulamentações do FDA. No Brasil vale o mesmo. Nenhum médico pode vender ou anunciar procedimentos com células-tronco que não sejam parte de uma pesquisa institucional, cadastrada e com a aprovação do Comitê de Ética. E como pesquisa, não pode ser cobrado.

Da mesma forma, de acordo com uma pesquisa de membros da Sociedade Americana de Cirurgia Plástica Estética e da Sociedade Americana de Cirurgiões Plásticos, publicada em 2014 por Nayar e colaboradores¹³³, a maioria dos cirurgiões plásticos indicou que a aplicação de células-tronco na prática clínica ainda não é cientificamente justificada pela literatura atual. Além disso, a maioria relatou que os riscos e benefícios de muitas terapias baseadas em células-tronco ainda não foram adequadamente estudados para fornecer um termo de consentimento informado aos pacientes.

Contudo, mesmo sem a utilização de nenhum dispositivo emulsificante, a lipoenxertia padrão realizada por muitos cirurgiões plásticos, inevitavelmente, carrega consigo – junto aos adipócitos – células tronco com potencial efeito regenerativo. Na prática clínica, os autores preferem não enfatizar este efeito regenerador da lipoenxertia, utilizando-a primariamente para fins volumizadores.

Neste estudo, justamente, foi reproduzida a lipoenxertia padrão sem a necessidade de dispositivos emulsificantes ou processos enzimáticos. O método de lipoenxertia estruturada de Coleman consiste na coleta gentil da gordura para preservar a sua arquitetura²¹, a centrifugação para remover componentes inviáveis¹³⁴ e a aplicação de gordura em pequenas alíquotas para maximizar o contato com o tecido receptor¹³⁵. A adesão a esses princípios limita a reabsorção e facilita resultados previsíveis. A investigação científica dessa técnica mostrou que o método de Coleman produz gordura com alta sobrevivência e perfil enzimático

celular normal¹³⁶. Na classificação dos enxertos de gordura é considerado um *macrofat* e a aplicação da gordura no plano logo abaixo da derme aumenta as chances de melhora na qualidade da pele, diminuição do tamanho dos poros, redução das rugas e melhora de cicatrizes¹²⁸.

6.2 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

A impressão clínica dos autores de alteração na qualidade da pele após lipoenxertia não foi justificada pelas variáveis analisadas. A quantificação e proporção das fibras colágenas tipo I e III na derme não foram analisadas neste trabalho por não haver disponibilidade dos marcadores necessários para sua visualização, mas é uma mudança que pode acontecer após a lipoenxertia segundo a literatura^{77,78,127}. No entanto, este mesmo material coletado está arquivado no laboratório do Serviço de Patologia do HC-UFPE e poderá ser usado em uma pesquisa futura.

Dados limitados estão disponíveis sobre a eficácia do uso de gordura e/ou seus componentes para a regeneração da pele, tecidos moles e ossos em tratamentos clínicos com seres humanos⁸⁷. Isto é, o efeito regenerador de melhora da qualidade da pele é observado por muitos cirurgiões plásticos que realizam a lipoenxertia, inclusive pelos autores, no entanto ainda falta uma comprovação e entendimento científico maior deste acontecimento. A falta do achado de alterações da derme após a lipoenxertia vai de encontro ao achado de algumas publicações^{24,119, 120, 137-143}. Mojallal e cols.⁷⁷ em 2009 já mostravam aumento da espessura da derme e do colágeno tipo I após lipoenxertia em camundongos. E em 2015, Charles-de-Sá⁷⁸ e cols. em um estudo com humanos (N = 6) identificou a diminuição das fibras elásticas (elastose), mudança da arquitetura da derme reticular e aumento da vascularização após lipoenxertia.

A avaliação da espessura da derme não é totalmente fidedigna, visto que a sua superfície é irregular e composta de picos e vales. A vascularização foi até maior nas amostras lipoenxertadas, mas não houve significância estatística. Também não houve significância estatística na quantidade de fibras elásticas e no infiltrado inflamatório. Para este estudo, nada mudou histologicamente de maneira significativa na pele após 4 meses de lipoenxertia com *macrograft*.

Como já foi dito, todo enxerto de gordura é composto por uma parte de células vivas e uma parte de matriz extracelular. A fração estromal vascular (SVF) é composta por estroma e células vasculares. As células regenerativas encontradas na gordura humana são uma

população mista de células estromais e vasculares encontradas ao redor de vasos sanguíneos e entre adipócitos na matriz de gordura. A maioria destas células está ligada covalentemente a pequenos vasos sanguíneos nas matrizes de gordura que envolvem os adipócitos. Uma pequena proporção das células do estroma são células-tronco, que se mostraram capazes de se diferenciar em diferentes estruturas (pluripotentes). As células-tronco derivadas de adipócitos, também conhecidas como células-tronco mesenquimais, precisam ser expandidas em cultura para obter grandes quantidades⁸⁷.

Neste estudo não foi avaliada a concentração de células do SVF por ml de enxerto de gordura. Não havia disposição de recursos laboratoriais para esta avaliação. Cohen e cols⁸⁷ compararam amostras de 3 pacientes que foram processadas de maneira diferente (um método para cada paciente) e mensuradas. Nesta pequena amostra Cohen achou 1 milhão de células por ml de SVF na gordura digerida por processo enzimático (Celution, Cytori®, não aprovado pelo FDA); 350.000 células por ml de SVF na gordura tratada mecanicamente (Aquicell, Millenium Medical Technologies®, Carlsbad, CA); e 30.000 células por ml de SVF no *nanofat* (emulsificante Tulip® *nanofat*). Nesta avaliação o ideal seria que o controle fosse o próprio paciente. Isto é, uma comparação da mesma gordura submetida a tipos diferentes de processamento (enzimático, mecânico, emulsificante etc.).

O enxerto de gordura enriquecido com SVF também é uma estratégia que pode ser utilizada e este estudo não o fez. No entanto, Saad e cols.¹⁴⁴ compararam enxerto de gordura tradicional com o enxerto de gordura enriquecido por SVF realizado durante a cirurgia de facelift. Após 18 meses de cirurgia, ambos os grupos estavam satisfeitos com o resultado e não havia diferença entre o grupo de lipoenxertia tradicional e o grupo da lipoenxertia enriquecida com SVF. Em contrapartida, a eficácia do enxerto de gordura enriquecido com células tronco e regenerativas foi demonstrada em alguns outros trabalhos como Kolle e cols⁴⁶, Mailey¹⁴⁵ e Tanikawa¹⁴⁶.

A presença da cicatriz da cesárea próxima da área analisada poderia ser um viés na avaliação histológica das amostras. A idade das cicatrizes variou de 1 a 27 anos com média de 10,3 anos. No entanto, não foi encontrado diferença entre o infiltrado inflamatório e densidade da vascularização da amostra próxima a cicatriz de 1 ano em comparação com a amostra próxima da cicatriz de 27 anos.

6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após 4 meses de lipoenxertia, pode-se interpretar, então, que a presença de enxerto de gordura exerceu seu efeito volumizador sem interferência nas características do tecido receptor. No entanto, as propriedades regenerativas da gordura representam potencialmente uma mudança de paradigmas no tratamento dos efeitos do envelhecimento e das deformidades de contorno. Com a habilidade reestabelecermos volume em determinadas áreas do corpo com técnicas que, em adição, proporcionem a regeneração dos tecidos, implantes e osteotomias podem possivelmente serem substituídos por simples injeções de gordura⁸⁷.

7 CONCLUSÃO

A avaliação histológica de derme após 4 meses de lipoenxertia em mulheres candidatas a abdominoplastia evidenciou sinais de lipoenxertia em 100% dos casos enxertados e nenhuma mudança significativa na derme receptora quanto ao infiltrado inflamatório, espessura da derme, densidade da vascularização e quantidade de fibras elásticas.

REFERÊNCIAS

1. Neuber G. Fettransplantation. Chir Kongr Verhandl Dtsch Gesellsch Chir. 1893;22:66.
2. Neuber G. Asepsis and kunstliche Blutleere. Verhandl Deutsch Gesellsch Chir. 1910;22:159.
3. Czerny V. Drei plastische operationen. III. Plastischer Ersatz der Brustdruse durch ein Lipom. Arch F Klin Chir. 1895;50:544-50.
4. Hollander E. Die kosmetische Chirurgie (S.669-712, 45 Abb.). In: Joseph M, editor. Handbuch der kosmetik. Leipzig: Verlag van Veit; 1912. p. 690-1.
5. Hollander E. Uber einen fall von fortschreitenden schwund des fettgewebes und seinen kosmetischen ersatz durch menschenfett. Munch Med Wo-chenschr. 1910;57:1794-5.
6. Lexer E. Freie Fetttransplantation. Dtsch Med Wochenschr. 1910;36:640.
7. Billings E, May JW. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. Plast Reconstr Surg. 1989;83:368-81.
8. Miller C. Cannula implants and review of implantation techniques in esthetic surgery. Chicago: The Oak Press; 1926.
9. Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts: with postulation of a "cell survival theory". Plast Reconstr Surg. 1950;5(3):217-30.
10. Ellenbogen R. Free autogenous pearl fat grafts: a preliminary report of a rediscovered technique. Ann Plast Surg. 1986;16(3):179-95.
11. Ellenbogen R. Invited commentary on autologous fat injection. Ann Plast Surg. 1990;24(3):297.
12. Illouz Y. The fat cell "graft": a new technique to fill depressions. Plast Reconstr Surg. 1986;78(1):122-3.

13. Fournier P. Microlipoextraction et microlipoinjection. *Rev Chir Esthet Lang Fr.* 1985;10:36-40.
14. Fournier PF. Reduction syringe liposculpturing. *Dermatol Clin.* 1990;8(3):539-51.
15. Illouz YG. Present results of fat injection. *Aesthetic Plast Surg.* 1988;12(3):175-81.
16. Chajchir A, Benzaquen I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 1989;84(6):921-34 [discussion: 935].
17. Coleman SR. Lipoinfiltration in the upper lip white roll. *Aesthet Surg J.* 1994;14:231-4.
18. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19(5):421-5.
19. Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg.* 1997;24(2):347-67.
20. Coleman SR. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin Plast Surg.* 2001;28(1):111-9.
21. Coleman SR. The technique of periorbital lipoinfiltration. *Oper Tech Plast Reconstr Surg.* 1994;1(3):120-6.
22. Coleman SR. *Structural fat grafting.* 1st ed. St Louis: Quality Medical; 2004.
23. Zuk P, Zhu M, Mizuno H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-28.
24. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002;13(12):4279-95.
25. Zuk PA. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Mol Biol Cell.* 2010;21(11):1783-7.
26. Seo MJ, Suh SY, Bae YC, Jung JS. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;328(1):258-64.

27. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, Linscheid P, Christ-Crain M, Keller U, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;341(4):1135-40.
28. Kapur SK, Katz AJ. Review of the adipose derived stem cell secretome. *Biochimie* 2013;95(12):2222-8.
29. Moon MH, Kim SY, Kim YJ, Kim SJ, Lee BJ, Bae YC, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell Physiol Biochem*. 2006;17(5-6):279-90.
30. Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*. 2004;109(10):1292-8.
31. Bunnell B, Flaat M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C. Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods Mol Biol*. 2008;45(2):115-20.
32. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba-Kojuma E, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol*. 2006;208(1):64-76.
33. Baptista LS, do Amaral RJFC, Carias RB, Aniceto M, Claudio-daSilva C, Borojevic R. An alternative method for the isolation of mesenchymal stromal cells derived from lipoaspirate samples. *Cytotherapy*. 2009;11(6):706-15.
34. Francis MP, Sachs PC, Elmore LW, Holt SE. Isolating adipose-derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis* 2010;6(1):11-4.
35. Shah FS, Wu X, Dietrich M, Rood J, Gimble JM. A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells. *Cytotherapy*. 2013; 15(8):979-85.
36. Bianchi F, Maioli M, Leonardi E. A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from human lipoaspirates. *Cell Transplant*. 2013;22(58):2063-77.
37. Dong Z, Luo L, Liao Y, Zhang Y, Gao J, Ogawa R, Ou C, et al. In vivo injectable human adipose tissue regeneration by adipose-derived stem cells isolated from the fluid portion of liposuction aspirates. *Tissue Cell*. 2014;46(3):178-84.

38. Doi K, Kuno S, Kobayashi A, Hamabuchi T, Kato H, Kinoshita K, et al. Enrichment isolation of adipose-derived stem/stromal cells from the liquid portion of liposuction aspirates with the use of an adherent column. *Cytotherapy*. 2014;16(3):381-91.
39. Ghorbani A, Jalali SA, Varedi M. Isolation of adipose tissue mesenchymal stem cells without tissue destruction: a non-enzymatic method. *Tissue Cell*. 2014;46(1):54-8.
40. Busser H, De Bruyn C, Urbain F, Najar M, Pieters K, Raicevic G, et al. Isolation of adipose-derived stromal cells without enzymatic treatment: expansion, phenotypical, and functional characterization. *Stem Cells Dev*. 2014;23(19):2390-400.
41. Oberbauer E, Steffenhagen C, Wurzer C, Gabriel C, Redl H, Wolbank S. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: current state of the art. *Cell Regen (Lond)*. 2015;4(1):7.
42. Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 118:121S-8S.
43. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shigeura T, Sato T, et al. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng*. 2006;12:3375-82.
44. Toyserkani NM, Quaade ML, Sørensen JA. Cell-assisted lipotransfer: a systematic review of its efficacy. *Aesthetic Plast Surg*. 2016;40(2):309-18.
45. Koh KS, Oh TS, Kim H, Chung IW, Lee KW, Lee HB, et al. Clinical application of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in progressive hemifacial atrophy (Parry-Romberg disease) with microfat grafting techniques using 3-dimensional computed tomography and 3-dimensional camera. *Ann Plast Surg*. 2012;69:331-7.
46. Kolle SF, Fischer-Nielsen A, Mathiasen AB, Elberg JJ, Oliveri RS, Glovinski PV, et al. Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9898):1113-20.
47. Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, Di Pasquali C, Bocchini I, Curcio CB, et al. A comparative translational study: the combined use of enhanced stromal vascular fraction and platelet-rich plasma improves fat grafting maintenance in breast reconstruction. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(4):341-51.

48. Li J, Gao J, Cha P, Chang Q, Liao Y, Liu C, et al. Supplementing fat grafts with adipose stromal cells for cosmetic facial contouring. *Dermatol Surg.* 2013;39(3 Pt 1):449-56.
49. Chang Q, Li J, Dong Z, Liu L, Lu F. Quantitative volumetric analysis of progressive hemifacial atrophy corrected using stromal vascular fraction-supplemented autologous fat grafts. *Dermatol Surg.* 2013;39(10):1465-73.
50. Gentile P, De Angelis B, Pasin M, Cervelli G, Curcio CB, Floris M, et al. Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face. *J Craniofac Surg.* 2014;25(1):267-72.
51. Peltoniemi HH, Salmi A, Miettinen S, Mannerström B, Saariniemi K, Mikkonen R, et al. Stem cell enrichment does not warrant a higher graft survival in lipofilling of the breast: a prospective comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(11):1494-503.
52. Silva-Vergara C, Fontdevila J, Descarrega J, Burdio F, Yoon TS, Grande L. Oncological outcomes of lipofilling breast reconstruction: 195 consecutive cases and literature review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2016;69(4):475-81.
53. Rietjens M, De Lorenzi F, Rossetto F, Brenelli F, Manconi A, Martella S, et al. Safety of fat grafting in secondary breast reconstruction after cancer. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(4):477-84.
54. Ihrai T, Georgiou C, Machiavello JC, Chignon-Sicard B, Figl A, Raoust I, et al. Autologous fat grafting and breast cancer recurrences: retrospective analysis of a series of 100 procedures in 64 patients. *J Plast Surg Hand Surg.* 2013;47(4):273-5.
55. Petit JY, Maisonneuve P, Rotmensz N, Bertolini F, Clough KB, Salfati I, et al. Safety of lipofilling in patients with breast cancer. *Clin Plast Surg.* 2015;42(3):339-44.
56. Kronowitz SJ, Mandujano CC, Liu J, Kuerer HM, Smith B, Garvey P, et al. Lipofilling of the breast does not increase the risk of recurrence of breast cancer: a matched controlled study. *Plast Reconstr Surg.* 2016;137(2):385-93.
57. Lee JH, Kirkham JC, McCormack MC, Nicholls AM, Randolph MA, Austen WG Jr. The effect of pressure and shear on autologous fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:1125-36.

58. Smith P, Adams WP, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, et al. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(6):1836-44.
59. Leong DTW, Hutmacher DW, Chew FT, Lim TC. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci*. 2005;37(3):169-76.
60. Fisher C, Grahovac TL, Schafer ME, Shippert RD, Marra KG, Rubin JP. et al. Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(2):351-61.
61. Chung MT, Zimmermann AS, Paik KJ, Morrison SD, Hyun JS, Lo DD, et al. Isolation of human adipose-derived stromal cells using laser-assisted liposuction and their therapeutic potential in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(10):808-17.
62. Bajek A, Gurtowska N, Gackowska L, Kubiszewska I, Bodnar M, Marszałek A, et al. Does the liposuction method influence the phenotypic characteristic of human adipose-derived stem cells? *Biosci Rep*. 2015;35(3) [pii:e00212].
63. Yin S, Luan J, Fu S, Whang Q, Zhuang Q. Does water-jet force make a difference in fat grafting: in vitro and in vivo evidence of improved lipoaspirates viability and fat grafts survival. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(1):127-38.
64. Meyer J, Salamon A, Herzmann N, Adam S, Kleine HD, Matthiesen I, et al. Isolation and differentiation potential of human mesenchymal stem cells from adipose tissue harvested by water jet-assisted liposuction. *Aesthet Surg J*. 2015;35(8):1030-9.
65. Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009;62(9):1210-4.
66. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J*. 2006;26(3):287-9.
67. Kirkham JC, Lee JH, Medina MA, McCormack MC, Randolph MA, Austen WG Jr. The impact of liposuction cannula size on adipocyte viability. *Ann Plast Surg*. 2012;69(4):479-81.

68. Ibatci A, Caviggioli F, Valeriano V, et al. Comparison of cell number, viability, phenotypic profile, clonogenic, and proliferative potential of adipose-derived stem cell populations between centrifuged and noncentrifuged fat. *Aesthetic Plast Surg*. 2014;38(5):985-93.
69. Condé-Green A, Wu I, Graham I, Quirici N, Sessarego N, Lisa A, et al. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: a pilot study. *Aesthet Surg J*. 2013;33(5):713-21.
70. Khater R, Atanassova P, Anastassov Y, Pellerin P, Martinot-Duquennoy V. Clinical and experimental study of autologous fat grafting after processing by centrifugation and serum lavage. *Aesthetic Plast Surg*. 2009;33(1):37-43.
71. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, Cataldo C, Rossano F, Nicoletti G, et al. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35(3):341-8.
72. Botti G, Pascali M, Botti C, Godog F, Cervelli V. A clinical trial in facial fat grafting: filtered and washed versus centrifuged fat. *Plast Reconstr Surg*. 2011;127(6): 2464-73.
73. Pfaff M, Wu W, Zellner E, Steinbacher DM. Processing technique for lipofilling influences adipose-derived stem cell concentration and cell viability in lipoaspirate. *Aesthetic Plast Surg*. 2014;38(1):224-9.
74. Salinas HM, Broelsch GF, Fernandes JR, McCormack MC, Meppelink AM, Randolph MA, et al. Comparative analysis of processing methods in fat grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134(4):675-83.
75. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Rifkin L, Rohrich R, Duclos A, et al. Stem cells, mature adipocytes, and extracellular scaffold: what does each contribute to fat graft survival? *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35(6):1061-72.
76. Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(3 Suppl):108S-20S.
77. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Breton P, Foyatier JL, Braye F, et al. Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124:765-74.

78. Charles-de-Sa' L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, Borojevic R, Benati D, Bernardi P, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(4):999-1009.
79. Nguyen PSA, Desouches C, Gay AM, Hautier A, Magalon G. Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: the use of adipose tissue as dermal filler. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012;65(12):1692-9.
80. Dasiou-Plakida D. Fat injections for facial rejuvenation: 17 years experience in 1720 patients. *J Cosmet Dermatol*. 2003;2(3-4):119-25.
81. Trepsat F. Midface reshaping with micro-fat grafting. *Ann Chir Plast Esthet*. 2009;54(5):435-43 [in French].
82. Lindenblatt N, van Hulle A, Verpaele AM, Tonnard PL. The role of microfat grafting in facial contouring. *Aesthet Surg J*. 2015;35(7):763-71.
83. Zeltzer AA, Tonnard PL, Verpaele AM. Sharp-needle intradermal fat grafting (SNIF). *Aesthet Surg J*. 2012;32(5):554-61.
84. 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):1017-26.
85. Sundaram H, Cassuto D. Biophysical characteristics of hyaluronic acid soft-tissue fillers and their relevance to aesthetic applications. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(4 Suppl 2):5S-21S.
86. Trivisonno A, Di Rocco G, Cannistra C, Finocchi V, Torres Farr S, Monti M, et al. Harvest of superficial layers of fat with a microcannula and isolation of adipose tissue-derived stromal and vascular cells. *Aesthet Surg J*. 2014;34(4):601-13.
87. Cohen SR, Herwett S, Roos L, Delaunay F, Goodacre A, Ramos C, et al. Regenerative cells for facial surgery: biofilling and biocontouring. *Aesthet Surg J*. 2017;37(Suppl. 3):S16-S32.
88. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638-46.

89. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(4):489-96. 59.
90. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.
91. Liao H-T, James IB, Marra K, Rubin JP. The effects of platelet-rich plasma on cell proliferation and adipogenic potential of adipose-derived stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(21-22):2714-22.
92. Liao H-T, Marra KG, Rubin JP. Application of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in fat grafting: basic science and literature review. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(4):267-76.
93. Atashi F, Jaconi MEE, Pittet-Cue´ nod B, Modarressi A. Autologous platelet-rich plasma: a biological supplement to enhance adipose-derived mesenchymal stem cell expansion. *Tissue Eng Part C Methods*. 2015;21(3):253-62.
94. Tajima S, Tobita M, Orbay H, Hyakusoku H, Mizuno H. Direct and indirect effects of a combination of adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma on bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(5-6):895-905.
95. Li F, Guo W, Li K, Wu M, Tang W, Wang H, et al. Improved fat graft survival by different volume fractions of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells. *Aesthet Surg J*. 2015;35(3):319-33.
96. Oh DS, Cheon YW, Jeon YR, Lew DH. Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study. *Dermatol Surg*. 2011;37(5):619-25.
97. Seyhan N, Alhan D, Ural AU, Gunal A, Avunduk MC, Savaci N. The effect of combined use of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells on fat graft survival. *Ann Plast Surg*. 2015;74(5):615-20.
98. Serra-Mestre JM, Serra-Renom JM, Martinez L, Almadori A, D'Andrea F. Platelet-rich plasma mixed-fat grafting: a reasonable pro-survival strategy for fat grafts? *Aesthetic Plast Surg*. 2014;38(5):1041-9.
99. Gentile P, Di Pasquali C, Bocchini I, Floris M, Eleonora T, Fiaschetti V, et al. Breast reconstruction with autologous fat graft mixed with platelet-rich plasma. *Surg Innov*. 2013;20(4):370-6.

100. Modarressi A. Platelet rich plasma (PRP) improves fat grafting outcomes. *World J Plast Surg.* 2013;2(1):6-13.
101. Keyhan SO, Hemmat S, Badri AA, Abdeshahzadeh A, Khiabani K. Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial liposuction? *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71(3):610-21.
102. Rigotti G, Charles-de-Sa´ L, Gontijo-de-Amorim NF, Takiya CM, Amable PR, Borojevic R, et al. Expanded stem cells, stromal-vascular fraction, and platelet-rich plasma enriched fat: comparing results of different facial rejuvenation approaches in a clinical trial. *Aesthet Surg J.* 2016;36(3):261-70.
103. Powell DM, Chang E, Farrior EH. Recovery from deep-plane rhytidectomy following unilateral wound treatment with autologous platelet gel: a pilot study. *Arch Facial Plast Surg.* 2001;3(4):245-50.
104. Uebel CO, da Silva JB, Cantarelli D, Martins P. The role of platelet plasma growth factors in male pattern baldness surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 118(6):1458-66 [discussion: 1467].
105. Singhal P, Agarwal S, Dhot PS, Sayal SK. Efficacy of platelet-rich plasma in treatment of androgenic alopecia. *Asian J Transfus Sci.* 2015;9(2):159-62.
106. Gentile P, Garcovich S, Bielli A, Scioli MG, Orlandi A, Cervelli V. The effect of platelet-rich plasma in hair regrowth: a randomized placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(11):1317-23.
107. Gold MH. Use of hyaluronic acid fillers for the treatment of the aging face. *Clin Interv Aging* 2007;2(3):369-76.
108. Falcone SJ, Berg RA. Crosslinked hyaluronic acid dermal fillers: a comparison of rheological properties. *J Biomed Mater Res.* 2008;87(1):264-71.
109. De Bouille K, Glogau R, Kono T, Nathan M, Tezel A, Roca-Martinez JX, et al. A review of the metabolism of 1,4-Butanediol Diglycidyl Ether-crosslinked hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol Surg.* 2013;39(12):1758-66.
110. Arsiwala SZ. Current Trends in facial rejuvenation with fillers. *J Cutan Aesthet Surg.* 2015; 8(3):125-6.

111. Felipe I, Redondo P. The liquid lift: looking natural without lumps. *J Cutan Aesthet Surg.* 2015;8:134-8.
112. Vleggaar D. Facial volumetric correction with injectable poly-L-lactic acid. *Dermatol Surg.* 2005;31:1511-7.
113. Narins RS. Minimizing adverse events associated with poly-L-lactic acid injection. *Dermatol Surg.* 2008;34(Suppl 1):S100-4.
114. Lowe NJ. Optimizing poly-L-lactic acid use. *J Cosmet Laser Ther.* 2008;10(1):43-6.
115. Zimmermann US, Clerici TJ. The histological aspects of fillers complications. *Semin Cutan Med Surg.* 2004 Dec;23(4):241-50.
116. Goldman MP. Cosmetic use of poly-L-lactic acid: my technique for success and minimizing complications. *Dermatol Surg.* 2011 May;37(5):688-93.
117. Maricevich P, Pantoja E, Mansur A, Peixoto A, Amando J, Dutra C, et al. Application of fat grafting in craniofacial deformities: an INTO-RJ experience. *Rev Bras Cir Plást.* 2015;30(3):429-38.
118. Gir P, Oni G, Brown SA, Mojallal A, Rohrich RJ. Human adipose stem cells: current clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129:1277-90.
119. Condé-Green A, de Amorim NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63:1375-81.
120. Rigotti G, Marchi A, Sbarbati A. Adipose-derived mesenchymal stem cells: past, present, and future. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33:271-3.
121. 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;30:249-58.
122. Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, Di Pasquali C, Bocchini I, Cervelli V. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical implications for tissue engineering therapies in regenerative surgery. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1:230-6.

123. Cervelli V, Palla L, Pascali M, De Angelis B, Curcio BC, Gentile P. Autologous platelet-rich plasma mixed with purified fat graft in aesthetic plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33:716-21.
124. Cervelli V, Bocchini I, Di Pasquali C, De Angelis B, Cervelli G, Curcio CB, et al. P. R. L. platelet rich lipotransfer: our expertise and current state of art in combined use of fat and PRP. *Biomed Res Int.* 2013;2013:434191.
125. Bosset S, Barré P, Chalon A, Kurfurst R, Bonté F, André P, et al. Skin aging: clinical and histopathologic study of permanent and reducible wrinkles. *Eur J Dermatol.* 2007;12:247-52.
126. Kim JH, Jung M, Kim YM, Choi EH. Adipose-derived stem cells as a new therapeutic modality for ageing skin. *Exp Dermatol.* 2011;20:383-7.
127. Meruane MA, Rojas M, Marcelain K. The use of adipose tissue-derived stem cells within a dermal substitute improves skin regeneration by increasing neoangiogenesis and collagen synthesis. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130:53-63.
128. James IB, Coleman SR, Rubin JP. Fat, stem cells, and platelet-rich plasma. *Clin Plastic Surg.* 2016;43:473-88.
129. Lau D, Ogbogu U, Taylor B, Stafinski T, Menon D, Caulfield T. Stem cell clinics online: the direct-to-consumer portrayal of stem cell medicine. *Cell Stem Cell.* 2008;3(6):591-4.
130. Cho MK, Magnus D. Therapeutic misconception and stem cell research. *Nat Rep Stem Cells.* 2007 Sep 27.
131. Face lift products [Internet]. Available from: <http://www.face-liftproducts.org/category/face-lift-without-surgery/stem-cell-face-lift-face-lift-without-surgery/>. [Accessed by 19th Feb 2016].
132. Statement P. ASAPS/ASPS position statement on stem cells and fat grafting. *Aesthet Surg J.* 2011;31(6):716-7.
133. Nayar HS, Caplan AL, Eaves FF, Rubin JP. The ethics of stem cell-based aesthetic surgery: attitudes and perceptions of the plastic surgery community. *Aesthet Surg J.* 2014;34(6):926-31.

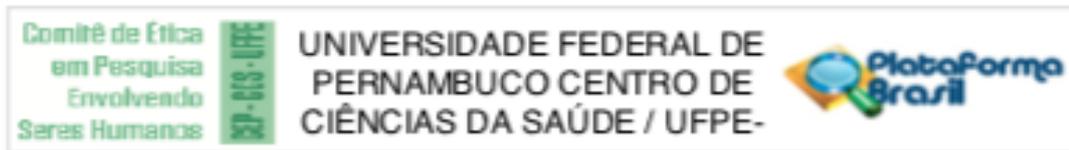
134. Coleman S. Structural fat grafting. 1st ed. St Louis: Quality Medical; 2004. Harvesting, refinement and transfer; p. 29-51.
135. Coleman SR. Structural fat grafting. 1st ed. St Louis: Quality Medical; 2004. Overview of placement techniques; p. 70-1.
136. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE Jr, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(3):932-7.
137. Jackson IT, Simman R, Tholen R, DiNick VD. A successful long-term method of fat grafting: Recontouring of a large subcutaneous postradiation thigh defect with autologous fat transplantation. *Aesthetic Plast. Surg*. 2001;25(3):165-9.
138. Rigotti G, Marchi A, Galie M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damages by lipoaspirates transplant: a healing process mediated by adipose derived stem cells (asc). *Plast. Reconstr. Surg*. 2007;119(5):1409-22.
139. Cantarella G, Mazzola RF, Domenichini E, Arnone E, Maraschi B. Vocal fold augmentation by autologous fat injection with lipostructure procedure. *Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2005;132(2):239-43.
140. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis. Colon Rectum*. 2005;48(7):1416-23.
141. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Garcia LG, Cuellar ES, Blanco IF, Prianes LA, et al. Autologous stem cell transplantation for treatment of recto-vaginal fistula in perianal Crohn's disease: a new cell-based therapy. *Int. J. Colorectal Dis*. 2003;18(5):451-4.
142. Magalon G. Limb autologous adipose tissue reinjection: a series of 62 cases. Presented at 30th Anniversary Course of the Foundation of G. Sanvenero Rosselli; 2005 Sep 16; Milan, Italy.
143. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg*. 2004;32(6):370-3.

144. Saad A, Hewett S, Lim S, et al. Patient satisfaction scores 3-18 months following autologous fat transfer (AFT) or Stromal Vascular Fraction-enriched fat transfer (SVF-F) in conjunction with facial rejuvenation surgery: a prospective, comparative study. Presented at the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) meeting; 2016 Nov; San Diego, CA.

145. Mailey B, Saba S, Baker J, Tokin C, Hickey S, et al. A comparison of cell-enriched fat transfer to conventional fat grafting after aesthetic procedures using a patient satisfaction survey. *Ann Plast Surg.* 2013;70(4):410-5.

146. Tanikawa DY, Agüena M, Bueno DF, Passos-Bueno MR, Alonso N. Fat grafts supplemented with adipose-derived stromal cells in the rehabilitation of patients with craniofacial microsomia. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(1):141-52.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



Continuação do Parecer: 1.763.528

mudanças na pele de uma área que recebeu enxerto de gordura, atestar se há ou não mudanças no tecido cicatricial de uma

cicatriz que recebeu enxerto de gordura e, em caso positivo, identificar que mudanças ocorreram.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

No risco poderá surgir algumas complicações como hematoma (acúmulo de sangue no local operado), seroma (acúmulo de líquido no local operado), infecção da ferida operatória, deiscência (abertura da ferida operatória), entre outras complicações relacionadas a este procedimento cirúrgico. Medidas serão tomadas para a redução destes riscos, tais como a realização do procedimento cirúrgico com rigor técnico e em ambiente hospitalar adequado.

Benefícios:

É pacientes operadas de abdominoplasia (plástica de abdômem) ser operada por meio de técnicas cirúrgicas consagradas mundialmente e ter a correção cirúrgica da flacidez e acúmulo de gordura do abdômem.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo de intervenção onde serão avaliadas as alterações quantitativas e qualitativas da derme e da cicatriz após o enxerto de gordura no subcutâneo. Serão incluídas pacientes com indicação de abdominoplasia, entre 20 e 50 anos, IMC abaixo de 30 e com cicatriz de cesárea prévia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Considera-se que os termos apresentados, neste trabalho, estão de forma adequada.

Recomendações:

Sirecomendação.

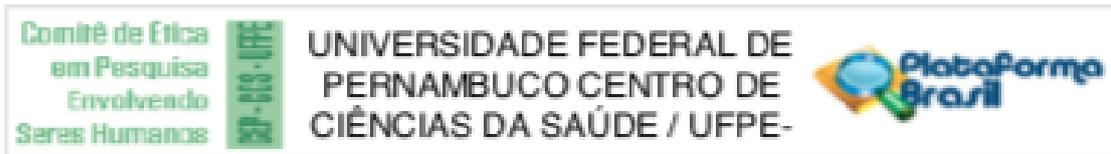
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81) 2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.703.528

com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_774062.pdf	12/09/2016 11:45:12		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEJuanpablo.docx	12/09/2016 11:44:56	PABLO MARICEVICH	Aceito
Outros	termo de confidencialidade.pdf	08/09/2016 13:01:53	PABLO MARICEVICH	Aceito
Outros	cartaanuenciapatologia.pdf	08/09/2016 13:01:21	PABLO MARICEVICH	Aceito
Outros	cartaanuenciaplastica.pdf	08/09/2016 13:00:32	PABLO MARICEVICH	Aceito
Outros	lattespesquisadorprincipal.pdf	08/09/2016 12:59:58	PABLO MARICEVICH	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

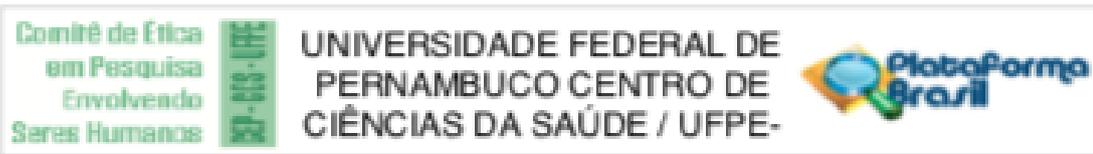
CEP: 50.740-400

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81) 2126-4388

E-mail: capccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.763.528

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.detalhado.docx	08/09/2016 12:59:00	PABLO MARICEVICH	Aceito
Folha de Rosto	folhadero.sta.pdf	08/09/2016 12:58:44	PABLO MARICEVICH	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 06 de Outubro de 2016

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (51)2126-6588 **E-mail:** cepos@ufpe.br