



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Cirurgia Plástica e Reconstructiva

**O lipoenxerto na cirurgia mamária reconstructiva e estética**

**José Filipe Alves Cardoso dos Santos**

---

**Junho'2019**



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Cirurgia Plástica e Reconstructiva

**O lipoenxerto na cirurgia mamária reconstructiva e estética**

José Filipe Alves Cardoso dos Santos

**Orientado por:**

Sr. Professor Doutor Manuel Rosário Caneira Silva

---

**Junho'2019**

# Resumo

A patologia mamária - e, especificamente, o cancro da mama - é extremamente frequente e, pelo seu potencial destrutivo inerente ou pelo seu efeito na vivência da mama enquanto órgão feminino, condiciona efeitos físicos e psíquicos altamente deletérios. As opções cirúrgicas actuais, apesar de eficazes, são frequentemente extensas e altamente deformantes, condicionando defeitos de contorno secundários.

O lipoenxerto consegue dar resposta a vários defeitos de contorno e volume no território mamário, tanto em contexto reconstrutivo como estético, com resultados francamente positivos. Esta técnica está dividida em 3 passos distintos (colheita, processamento e implantação), sendo que existe uma grande oferta de métodos distintos à disposição, com vantagens e desvantagens distintas. Recentemente, a suplementação do lipoenxerto com populações estaminais tem oferecido resultados encorajadores e destaca o papel preponderante da biologia molecular no sucesso da técnica como um todo. Sendo um procedimento eficaz, o lipoenxerto alia esta eficácia a uma alta segurança, tanto do ponto de vista de complicações major como de risco oncológico. A discussão acesa sobre a eficácia e diferentes vantagens - e desvantagens - dos variados métodos de processamento, aliados aos novos horizontes por desbravar da medicina molecular e celular fazem adivinhar um surto de popularidade cada vez maior da técnica nos anos que se avizinham, cimentando o papel do lipoenxerto no arsenal do cirurgião plástico enquanto técnica segura e eficaz.

Palavras-chave: lipoenxerto, mama, reconstrução, processamento, adipose derived stem cells (ADSC)

# Abstract

The pathologies of the breast – specifically, breast cancer – are not only extremely frequent but also carry an inherent destructive and deleterious potential that manifests through extremely adverse physical and mental repercussions. Current surgical options, though effective, are often extensive and highly deformative, generating secondary contour defects.

Autologous fat transfer – or lipofilling – can offer an alternative to various contour and volume defects in the breast, both in the reconstructive and aesthetic setting, with highly positive results. This technique is subdivided into three distinct steps (harvesting, processing, grafting), with several viable options for its undertaking, with their distinct advantages and disadvantages. Recently, the supplementation of the fat graft with stem cells (dubbed cell-assisted lipotransfer) has produced encouraging results, underlying the role of molecular biology to the techniques' success as a whole. As an effective procedure, lipofilling is also extremely safe – both from an oncological standpoint as well as where major complications are concerned. The heated debate over the advantages – and disadvantages – of different processing methods, coupled with the new horizons to unfurl regarding molecular and cellular medicine predict an ever-growing surge of popularity in the years to come, cementing lipofilling as a safe and effective weapon in the plastic surgeons' arsenal.

Keywords: lipofilling, breast, reconstruction, processing, adipose derived stem cells (ADSC)

# Índice

Introdução .....	1
Técnica Cirúrgica .....	5
i) Colheita .....	7
ii) Processamento.....	10
a. Comparação de diferentes técnicas de processamento.....	15
b) Cell-assisted lipotransfer .....	22
iii) Implantação .....	25
Sobrevivência do enxerto pós-implantação.....	28
Eficácia.....	31
Complicações .....	31
Risco Oncológico .....	35
Conclusão.....	36
Agradecimentos.....	37
Bibliografia .....	38

# Introdução

O cancro da mama é a neoplasia mais frequente a nível mundial no sexo feminino (e a segunda mais prevalente globalmente), com uma incidência estimada em mais de dois milhões de casos anualmente [1]. Para além da sua alta incidência, o cancro da mama é a quinta causa de morte oncológica mais comum globalmente, com uma perda total estimada de 5884000 anos de vida em 2004 [2] [3]. A mama, enquanto símbolo feminino, está intimamente ligada não só à auto-imagem da mulher mas também a noções de fertilidade, saúde e feminilidade, e as opções cirúrgicas disponíveis actualmente, apesar de já muito refinadas e minimamente destrutivas, continuam ainda a traduzir-se em deformações com efeitos traumáticos para as mulheres que se submetem aos mesmos, com impacto real na dimensão social, pessoal e sexual da pessoa [4] [5].

Para dar resposta a estes defeitos, são empregues técnicas reconstrutivas, com recurso a implantes de silicone ou a materiais autólogos (como os retalhos e os enxertos), quer isoladamente ou em associação. Contrariamente às técnicas de retalhos, que são unidades de tecido com o seu próprio sistema vascular integrado, as técnicas de enxerto consistem no uso de tecido sem suprimento vascular próprio, que necessita de ser reestabelecido no local enxertado para assegurar a sua sobrevivência [6]. O lipoenxerto, enquanto técnica enxertiva, utiliza tecido adiposo para assegurar a correcção de defeitos de contorno e volume.

O primeiro uso do lipoenxerto na mama remonta a 1895, quando Czerny corrigiu um defeito mamário transplantando um lipoma do dorso da mesma paciente [7]. Apesar disto, a técnica esteve sempre envolta em alguma controvérsia, com alguns picos de popularidade intermitentes. A técnica chegou mesmo a ser banida em 1987 pela American Society of Plastic Surgeons, que citava receios relacionados com possíveis efeitos deletérios do lipoenxerto na detecção precoce do carcinoma da mama. Só com o trabalho de Coleman, que demonstra a segurança da técnica subordinada a um protocolo estrito para o processamento e implantação do enxerto, é que o lipoenxerto na mama ganha verdadeiramente em popularidade, despertando interesse renovado na comunidade médica internacional.

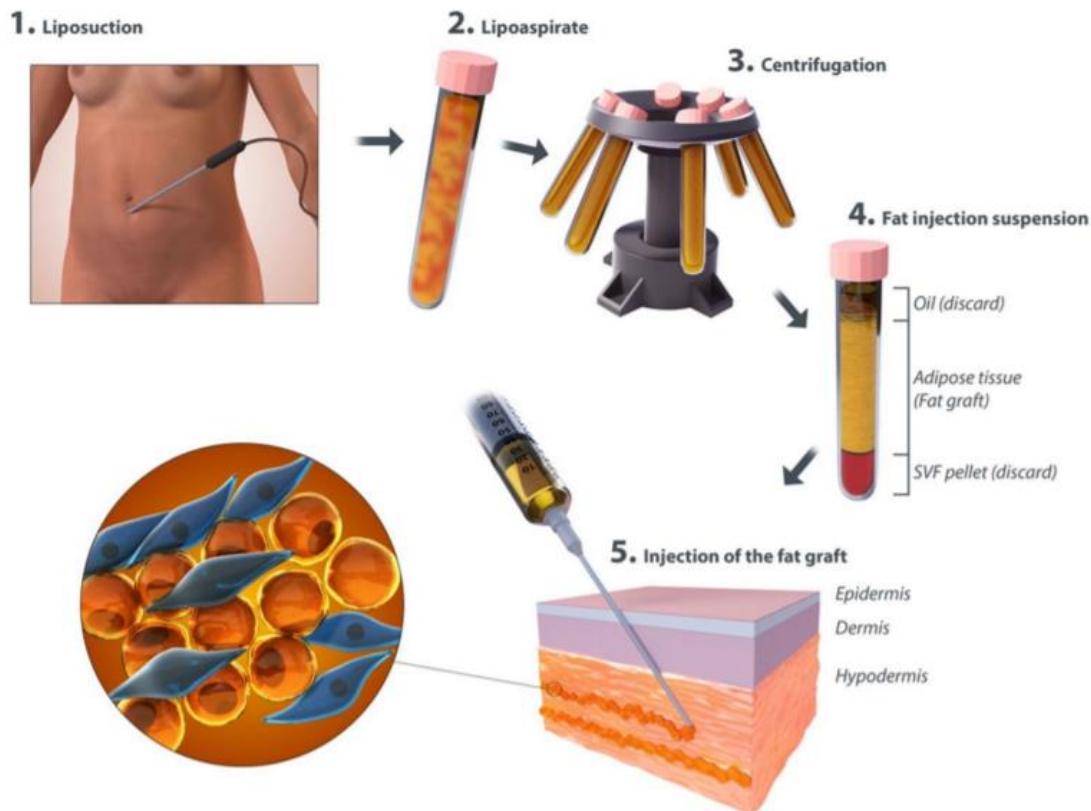


Figura 1 – Representação do processo de lipoenxerto. Note-se que, apesar de apenas figurar a lipoaspiração como método de colheita (e a centrifugação como método de processamento) existem actualmente outras alternativas disponíveis. Retirado de Riyat et.al [8].

No território mamário, o lipoenxerto é usado predominantemente num contexto pós-cirúrgico oncológico, estando recomendado para o restauro de contorno normal numa área deformada [9]. Para além destes defeitos serem consequência directa frequente das cirurgias excisionais, as reconstruções primárias *a posteriori* desses defeitos resultam frequentemente em defeitos de contorno secundários, independentemente da técnica usada, aos quais o lipoenxerto tem o potencial de responder e corrigir adequadamente [10]. O lipoenxerto assume-se assim como técnica adjuvante destas reconstruções, conseguindo refinar a correcção atingida pelas técnicas reconstructivas primárias [11].

Para além disto, certas patologias congénitas também motivam defeitos de contorno e de volume importantes, aos quais o lipoenxerto pode apresentar uma resposta adequada, como é o caso do síndrome de Poland, a mama tuberosa, entre outros. O lipoenxerto tem gozado também de uma popularidade crescente na cirurgia plástica cosmética, podendo ser equacionado como opção para aumentos modestos do volume mamário [9].



Figura 2 – Uso do lipoenxerto numa paciente de 22 anos com Síndrome de Poland e hipoplasia da parede torácica. A, C: visão pré-operatória; B, D: visão pós-operatória, volvido 1 ano. A correcção foi conseguida gradualmente, em várias sessões com três meses de intervalo entre elas (com a injeção de 322, 288, 223 e 236mL de enxerto, respectivamente). Retirado de Delay et.al [12]

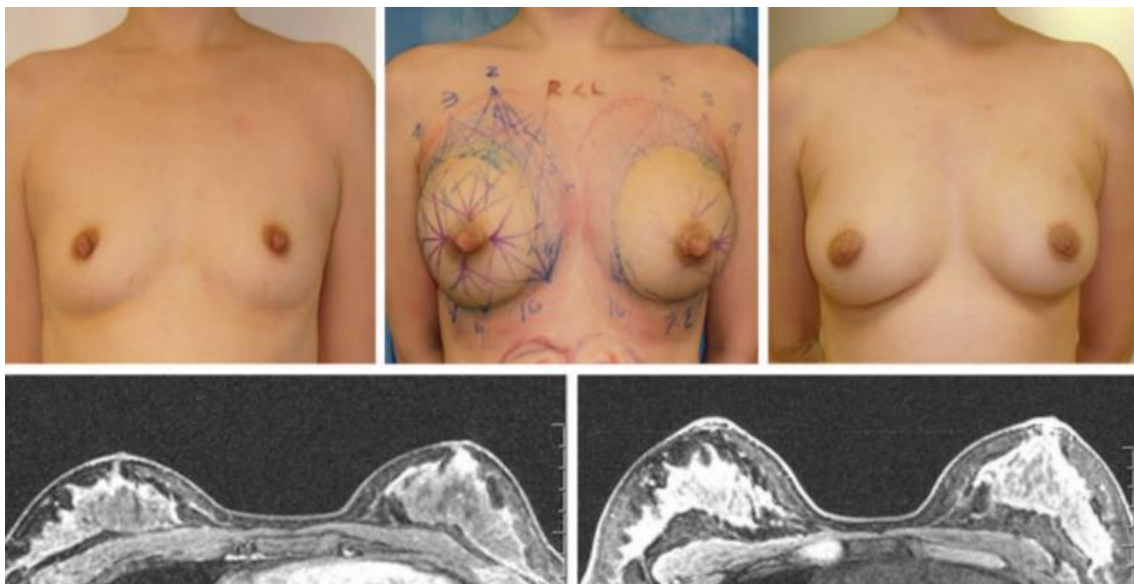


Figura 3 – Uma mulher asiática de 24 anos, submetida a uma correcção volumétrica com recurso ao lipoenxerto, e uma avaliação volumétrica em 3D mostrou um aumento de volume de cerca de 260mL em cada mama intervencionada. A paciente foi preparada preoperatoriamente com um dispositivo expansor externo. Retirado de Khouri et.al. [13]



Figura 4 – Correção de defeito de volume modesto em contexto estético. Acima: paciente de 32 anos, visão pré-operatória. Abaixo: visão pós-operatória. A paciente foi submetida a um único procedimento, com a implantação de 245cc na mama esquerda e 190cc na mama direita. O lipoenxerto conseguiu assim, com recurso a material autólogo, seguro e fiável, oferecer uma correção aceitável. Retirado de Coleman et.al [14]

Mais recentemente, o lipoenxerto tem sido equacionado como opção terapêutica para a dor na mama extensivamente intervencionada, uma problemática séria e com impacto real em cerca de 27% das pacientes após tumorectomia ou mastectomia [15]. Apesar dos mecanismos ainda não serem inteiramente conhecidos (estando propostos vários mecanismos como remodelação de tecido nervoso, neoangiogénese, entre outros) o lipoenxerto demonstrou possuir efeitos analgésicos significativos, de instalação rápida e com sustentabilidade a longo prazo [16] [17] [18] [19].

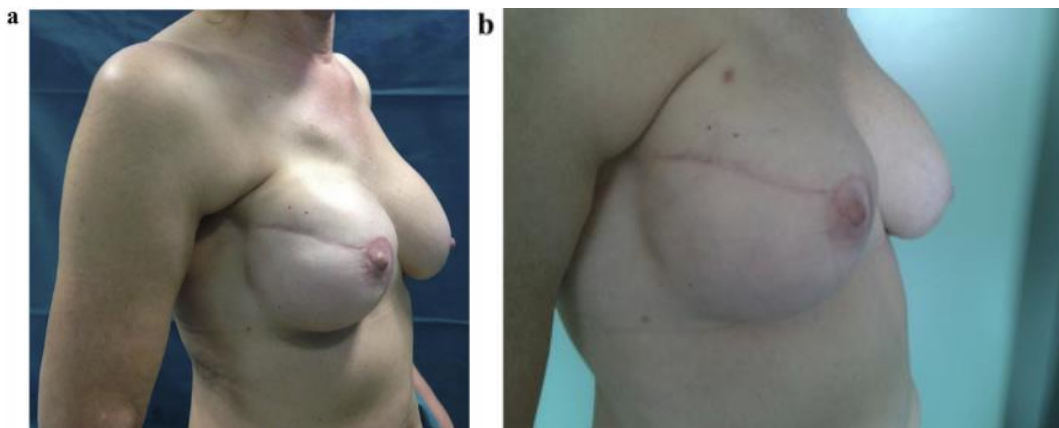


Figura 5 – O uso do lipoenxerto pode ser equacionado para a correção de cicatrizes esteticamente inadequadas. Neste caso, a paciente tinha sido submetida a mastectomia unilateral direita, com subsequente reconstrução por implante. A cicatriz desta intervenção é claramente visível, com uma zona de *step-off* e condicionando um defeito de contorno importante; a: visão pré-operatória; b: visão pós-operatória da paciente após enxerto da zona cicatricial, com efeito francamente positivo no perfil e repercussão estética da cicatriz. Retirado de Simonacci et.al [20].

## Técnica Cirúrgica

A técnica cirúrgica do lipoenxerto engloba, assim, três fases: a colheita de tecido adiposo, processamento do lipoaspirado resultante para eliminar detritos celulares e outros contaminantes e, finalmente, a implantação do enxerto purificado [21]. É importante destacar que qualquer um dos passos envolvidos na técnica do lipoenxerto têm o potencial de influenciar e determinar o *outcome* final do enxerto [22] [23].

Apesar de aparentemente simples, o lipoenxerto é um procedimento altamente exigente do ponto de vista técnico, dependendo da correcta execução da mesma para atingir resultados satisfatórios e minimizar o risco de complicações.

No entanto, e apesar do seu uso ser cada vez mais difundido e prevalente, a verdade é que não existe ainda consenso no que toca à técnica cirúrgica mais adequada [24]. Para além disto, é comum vários profissionais relatarem pequenas variações e adaptações em praticamente todos os passos da técnica, dificultando a comparação entre técnicas e o desenvolvimento de um procedimento técnico *standard* [25].

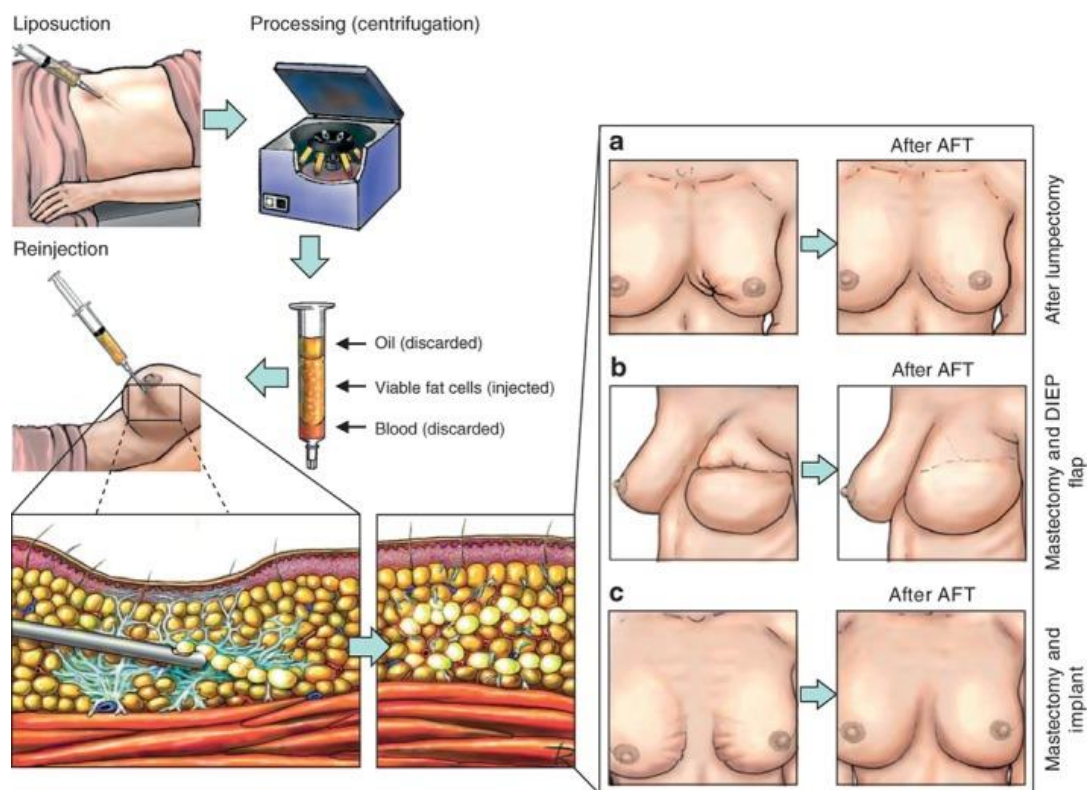


Figura 6 – Visão resumida da técnica de lipoenxerto, compreendida por três passos distintos - colheita, processamento e implantação; A implantação de um *filler* na área deformada e extensivamente fibrosada permite a reconstituição de contornos normais, com efeitos estéticos importantes. *a-c*: Exemplos selecionados de indicações relevantes para o lipoenxerto; *a*: Defeito após tumorectomia; *b*: Defeito após mastectomia e reconstrução por *flap*, com deformação *step-off* entre o tecido local e o retalho; *c*: Defeito após reconstrução com implante com deformação *rippling* e perda de volume na região central.. Retirado de Krastev et. al [26].

É recomendado que todos os pacientes propostos para esta técnica no contexto pós-neoplásico sejam avaliados por uma equipa multidisciplinar antes de serem submetidos à mesma [23]. O uso de estudos de imagem é, por norma, não recomendado como parte integrante da avaliação para pacientes sem risco oncológico – recomendando-se, no entanto, a realização duma mamografia pré-operatória nos pacientes com história de neoplasia mamária [23]. Recomenda-se ainda estudos imagiológicos recentes que não sugiram ou indiquem recorrências oncológicas [23]. Deve-se igualmente informar o doente da grande probabilidade de necessitar de mais que um procedimento para atingir resultados satisfatórios [9].

O lipoenxerto pode ser conduzido sob quer anestesia geral ou local, dependendo sobretudo da extensão do procedimento a efectuar e a eventual realização de outros procedimentos no mesmo tempo cirúrgico [23]. Estão igualmente recomendadas outras

práticas associadas a procedimentos cirúrgicos, como o correcto uso de técnica asséptica, entre outros. Apesar de tal não ser estritamente necessário, pode equacionar-se o uso de profilaxia antibiótica e trombótica, de acordo com o risco individual e protocolos locais [23].

De destacar que, sobretudo quando se lida com grandes volumes a enxertar, pode estar indicado o uso de certos dispositivos para preparação pré-operatória do território mamário. Esta preparação é feita com recurso a expansores de tecido externos que, com recurso a pressões negativas, promovem a expansão da pele e estroma subjacente, conseguindo auxiliar a transferência de grandes volumes ao otimizar as condições do território a enxertar. [9]

## i) Colheita

A colheita do material adiposo a enxertar pode ser feito com recurso a várias técnicas, desde a lipoaspiração convencional, a aspiração manual por seringa ou até mesmo a excisão directa do tecido a enxertar [24]. De todas as técnicas de colheita, a aspiração manual por seringa assume-se como a técnica mais popular entre os cirurgiões (54%), seguida da lipoaspiração convencional (25%) [27].

A lipoaspiração assenta no uso de pressão negativa para colher tecido adiposo num recipiente estéril através de cânulas de ponta romba. Esta pressão negativa pode variar entre -300 a -760 mmHg. A lipoaspiração a baixa pressão negativa consegue oferecer uma opção rápida para a colheita de lipoaspirado, sobretudo se forem necessários grandes volumes de tecido – como é o caso na mama [28]. Foi observado que, sob certas condições, a lipoaspiração pode produzir enxertos com viabilidade e densidade celular em tudo semelhantes (senão mesmo melhores) aos obtidos por sucção aspirativa [29]. Contudo, o uso de altas pressões negativas pode resultar em efeitos extremamente deletérios, com a destruição de até 90% de adipócitos [30].

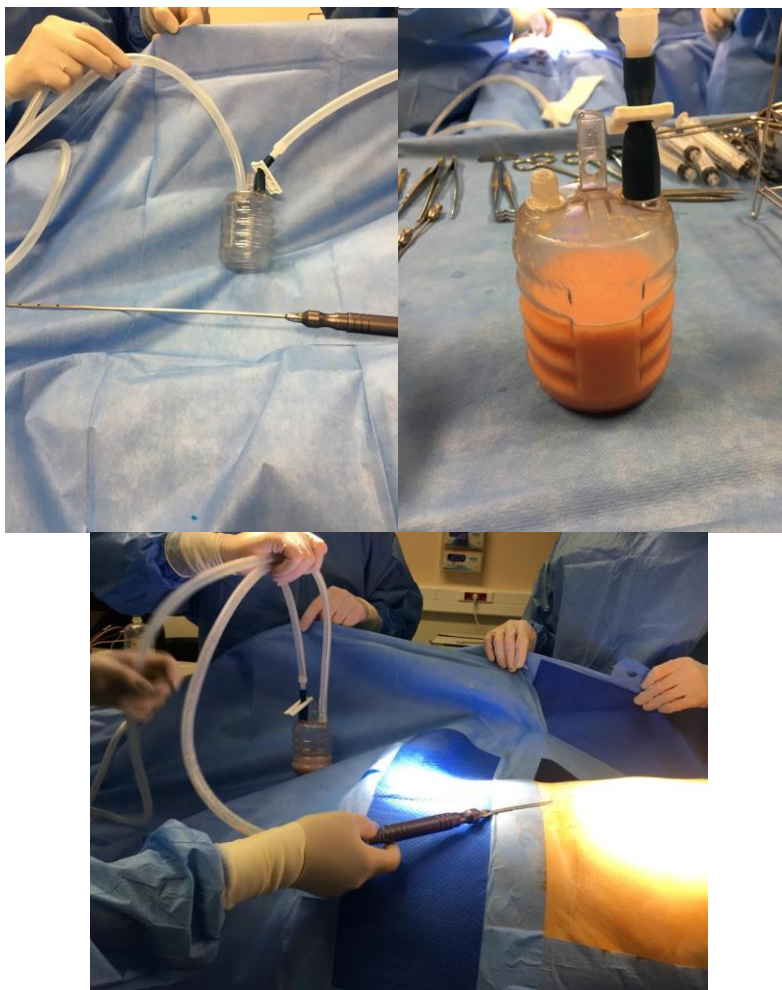


Figura 7 – Representação do processo de lipoaspiração. *Esquerda, em cima*: a cânula de ponta romba irá colher o aspirado do tecido adiposo, depositando-o no recipiente estéril (note-se as fenestrações na ponta da cânula); *Direita, em cima*: o lipoaspirado é uma solução homogênea de componentes celulares e acelulares do tecido adiposo, soluções utilizadas no processo e sangue. *Inferior*: técnica de lipoaspiração em curso. Imagens gentilmente cedidas pela Professora Doutora Augusta Cardoso.

A aspiração do tecido adiposo irá, necessariamente, perturbar a sua relação estrutural e histológica, com a colheita do mesmo. No entanto, este processo consegue igualmente colher porções de tecido em que relação estrutural entre o estroma e adipócitos não foi perturbada, chamadas partículas. Estas estruturas não ocorrem naturalmente *in vivo*, sendo criadas com a colheita do lipoaspirado [25].

Imediatamente antes da colheita do lipoaspirado, é instilada uma solução com o propósito de tumescer a área alvo, composta geralmente de uma substância anestésica local e epinefrina, que promove a hemostase no local alvo [24]. Foi constatado que o uso de lidocaína afectava negativamente a função adipocitária, com impacto, ainda que transitório, na lipólise e transporte de glicose em adipócitos [31]. O uso de lidocaína, em conjunto com epinefrina e prilocaína, foi igualmente associado, num modelo animal, a

enxertos com maior incidência de fibrose e necrose - apesar de não terem sido registados efeitos significativos na microangiogénese e sobrevivência a longo-prazo do enxerto [32] [33]. Por outro lado, certos autores advogam a realização da técnica aspirativa sem recurso a uma solução tumescente. No entanto, apesar de se ter constatado que a viabilidade celular dos adipócitos colhidos por esta técnica “seca” é semelhante quando comparado à técnica *standard*, a técnica “seca” pode condicionar uma maior necessidade de analgesia local [34].

Como alternativa à lipoaspiração convencional, foi popularizado por Coleman o uso de seringas aspirativas, com o uso de uma cânula romba e seringa Luer-Lok para a colheita de gordura [9]. O uso desta técnica advoga que, apesar do maior esforço e controlo exigido ao cirurgião, as baixas pressões negativas usadas resultam em maior viabilidade adipocitária – sendo que estudos *in vitro* demonstraram lipoaspirados com maior actividade metabólica, quando comparados à lipoaspiração convencional [35] [36].



Figura 8 – Ponta da cânula aspirativa usada por Coleman. Retirado de Neligan [9].

Finalmente, e embora a técnica de excisão directa tenha sido descrita por Czerny (tendo este aumentado uma mama com recurso a um lipoma excisado da parede torácica posterior dum doente), devido à sua natureza invasiva e relativa simplicidade dos restantes métodos disponíveis, esta acabou por cair em desuso, sendo apenas utilizada por cerca de 5% dos clínicos [7] [27].

No contexto reconstrutivo, tende-se a preferir a colheita de tecido adiposo da região abdominal, sendo que na cirurgia cosmética tende-se a recorrer à região trocantérica, face interna da coxa ou joelhos, de acordo com a preferência do cirurgião e subordinado à escolha da paciente [9]. De facto, foi constatado que vários locais de colheita produziam adipócitos igualmente viáveis entre si, sem diferenças estatisticamente significativas entre vários locais (especificamente joelho, abdómen, flancos e coxa) [37]. Certos locais como a coxa e o abdómen, sendo mais facilmente acessíveis na posição supina, são mais cómodos de usar para a colheita, visto que não implicam mudanças posturais do paciente sedado durante o tempo operatório, algo que pode ser moroso e implicar riscos para o mesmo [38]. No entanto, à medida que se revela o papel

preponderante das células estaminais na sobrevivência do enxerto, é necessário ter em conta que a escolha adequada do local de colheita pode demonstrar alguma importância, já que foi demonstrado que a região abdominal e coxa interna são mais ricas nestas populações celulares [39].

É necessário ter em conta que cerca de metade do volume de lipoaspirado recolhido nesta fase consiste sobretudo de destroços celulares, solução tumescente e sangue, sendo este volume posteriormente isolado e descartado na fase de processamento. Como tal, deve ser planeada a colheita de aproximadamente o dobro do volume expectável de ser enxertado [38].

## ii) Processamento

Após a colheita do lipoaspirado, é essencial o tratamento e processamento do mesmo. A colheita, apesar de altamente eficiente, produz um lipoaspirado com material adiposo contaminado por óleo, detritos celulares, sangue e outros fluidos decorrentes da técnica que, se não forem subtraídos previamente à implantação, induzem inflamação local na região corrigida [21]. Esta inflamação local, mediada pela acção de enzimas proteolíticas, lipolíticas e macrófagos, pode acelerar a perda de volume inerente ao uso da técnica como também induzir fibrose cicatricial, com consequências deletérias para o enxerto [40].



Figura 9 – Lipoaspirado obtido após colheita. A fracção adiposa encontra-se em solução com várias substâncias contaminantes (incluindo sangue) que, se enxertadas, afectarão negativamente o enxerto e devem, portanto, ser retiradas antes deste ser implantado. Retirado de Bellini et al. [21].

Todas as técnicas de processamento, por mais que sejam distintas em condições técnicas, tem como objectivo final o isolamento e purificação do material adiposo do lipoaspirado. Para além disto, o método de processamento ideal deve não só permitir a separação e remoção fácil dos contaminantes, mas também minorar a reabsorção do material enxertado *a posteriori* [41] [42].

Apesar da centrifugação ser, seguramente, o método de processamento mais prevalente e usado no contexto actual, não é de todo o único, com variadas outras técnicas ao dispor do cirurgião. Numa perspectiva mais abrangente, incluem-se técnicas como a sedimentação, lavagem, filtração ou concentração com gaze. Recentemente, a suplementação do lipoprocessado com células estaminais com vista a adjuvar a técnica principal apresentam resultados promissores, sendo uma das perspectivas mais interessantes e arrojadas no que concerne ao lipoenxerto, como veremos mais à frente.

A centrifugação assenta no uso de grandes forças cinéticas de maneira a forçar a separação mecânica dos vários componentes do lipoaspirado. Esta separação mecânica, assente na densidade dos seus componentes, forma níveis visíveis e bem diferenciáveis: o nível superior é composto sobretudo por óleo, proveniente de adipócitos destruídos; o nível inferior é composto por uma solução aquosa de sangue e outros fluidos usados no procedimento (como anestesia local, soro fisiológico e solução tumescente) [43]; Assim, o nível médio é, então, composto de adipócitos e outros componentes do tecido adiposo. [12] Com estes níveis assim isoladas, os níveis superior e inferior são, então, descartados, e o nível médio subsequentemente transferido para seringas de pequena capacidade para implantação.



Figura 10 – Centrifugadora. Retirado de Neligan [9].

A centrifugação é, hoje em dia, o método de processamento mais difundido e utilizado, apesar de ser algo moroso de se usar, sobretudo com os grandes volumes de gordura exigidos no lipoenxerto em território mamário [41]. É, no entanto, altamente eficiente na separação do componente celular dos contaminantes e restantes componentes do lipoaspirado, resultando em enxertos com retenções de volume adequadas e com resultados consistentes [44]. Actualmente, é recomendada a centrifugação do lipoaspirado a 3000rpm durante a 3 minutos (o equivalente a 900g) [23] [45].

Já a sedimentação permite um processamento simples, eficaz, atraumático e com manipulação mínima do lipoaspirado [41]. Este processo passivo envolve simplesmente o efeito da gravidade no lipoaspirado, que repousa em seringas de grande capacidade durante alguns minutos até se dar a separação do mesmo em três níveis, de composição equiparável aos obtidos durante o processo de centrifugação.

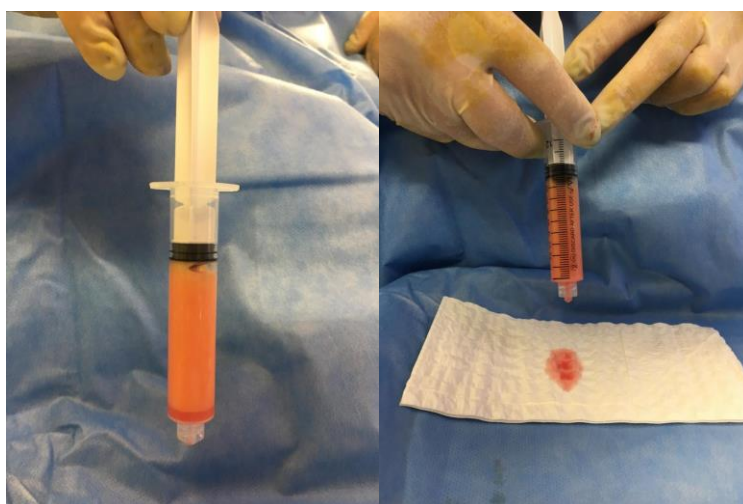


Figura 11 – Processamento por sedimentação. Após a sedimentação, identificam-se claramente três níveis distintos no lipoprocessado – o superior sendo conteúdo oleoso, proveniente da destruição de células adiposas, o inferior composto de sangue e outros contaminantes e o nível médio de adipócitos e outros componentes do tecido adiposo. *Direita*: após o isolamento destes níveis é necessário o isolamento do tecido adiposo, contido entre duas camadas de contaminantes. Assim, o nível inferior é rejeitado (observe-se o conteúdo sero-hemático na gaze) e o lipoprocessado encontra-se pronto para ser transferido para a seringa de implantação, tomando cuidado de nunca transferir o nível superior. Imagens gentilmente cedidas pela Professora Doutora Augusta Cardoso.

Nas técnicas de filtração, o aspirado é colocado numa membrana filtradora. Durante esta filtração, o aspirado pode repousar passivamente na membrana filtradora ou ser lavado continuamente por uma solução de lavagem [46]. Esta membrana pode ser composta de diferentes materiais, desde um comum coador de metal, até aos mais complexos sistemas fechados, geralmente patenteados [9]. Estes sistemas fechados, para além de

permitirem uma exposição mínima do lipoaspirado a condições *ex vivo* permitem a associação de filtração com outro método de processamento (geralmente a lavagem com lactato de Ringer).

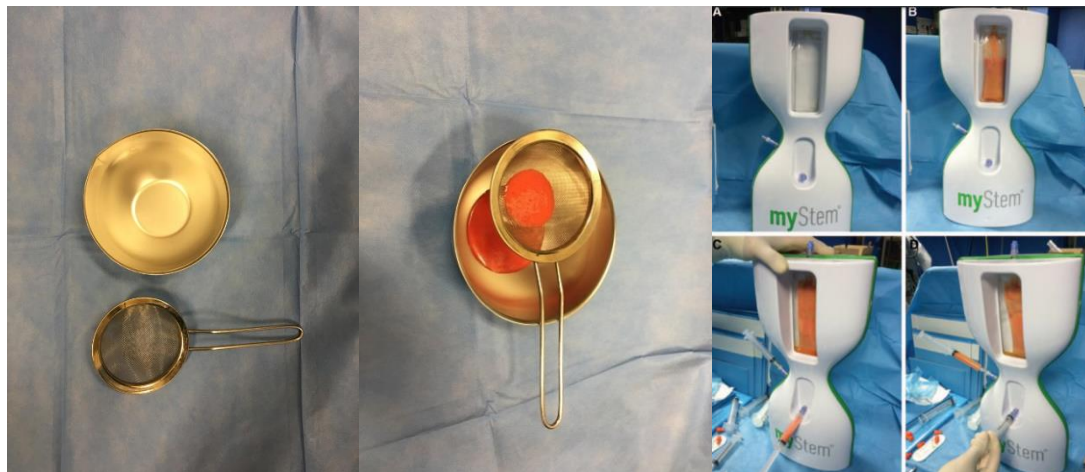


Figura 12 – Diferentes sistemas de filtração. *Esquerda, centro*: o uso de simples coadores de metal pode providenciar um método de processamento suave e de manipulação mínima para o enxerto. Imagens gentilmente cedidas pela Professora Doutora Augusta Cardoso; *Direita*: Sistema fechado myStem®, permitindo a associação de filtração com lavagem. Retirado de Chiu et. al [47].

Também a lavagem, sendo um método suave e pouco agreste para o lipoaspirado, obtém enxertos com alta viabilidade e altamente vascularizados, removendo as fracções contaminantes sem sujeitar os adipócitos a condições deletérias e preservando pré-adipócitos em número adequado [44]. As soluções empregues neste método são variadas, desde soro fisiológico, Lactato de Ringer ou até mesmo uma solução de glicose a 5% [45].

Finalmente, a técnica de concentração por gaze pode ser descrita como a concentração de tecido adiposo no lipoaspirado através da subtracção manual (quer passiva ou activa) dos outros componentes do lipoaspirado, ao promover a sua absorção com um material absorvente – geralmente, gaze. No entanto, diferentes autores descrevem variações individuais da técnica, que podem ser importantes. A título de exemplo, enquanto que Pfaff descreve a técnica como o movimento do lipoaspirado sobre um penso de gaze durante cerca de 30 segundos (ao fim dos quais os contaminantes em excesso seriam absorvidos pelo penso), Salinas descreve outra variação da técnica, colocando o lipoaspirado numa malha de nylon porosa e fina, apoiado numa camada grossa de gazes, sendo seguidamente lavado abundantemente com soro fisiológico [48] [49].

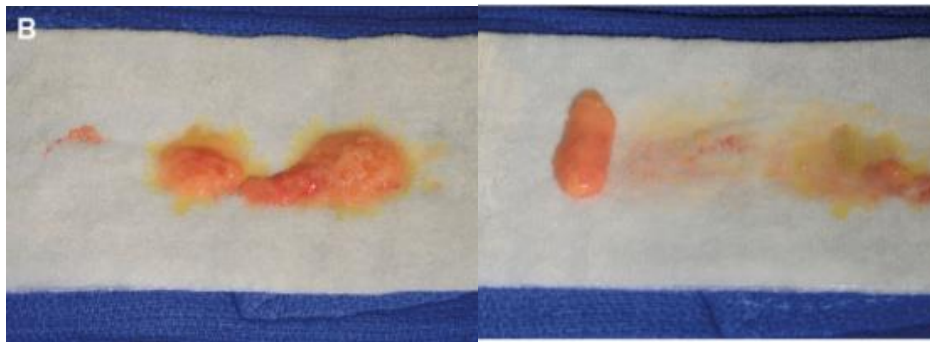
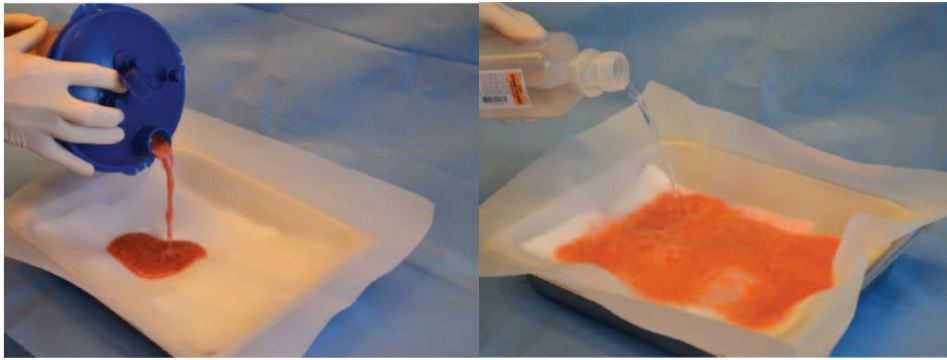


Figura 13 – Dois métodos distintos de concentração com gaze. *Em cima, ao centro*: processo de concentração por gaze como descrito por Salinas et. al. Neste caso, o processo é passivo e apoia-se na lavagem com soro fisiológico para potenciar o efeito absorvivo da gaze. Retirado de Salinas et.al. [49]. *Em baixo*: concentração com gaze segundo o método descrito por Pfaff et. al. Neste caso, o processo envolve a manipulação activa do lipoaspirado e não necessita de lavagem com soro fisiológico. Retirado de Pfaff et. al [48].

## a) Comparação de diferentes técnicas de processamento

Estudo	Métodos avaliados	Avaliação	Conclusões	Outros achados	Notas
Rohrich et al (2004) [37]	Sedimentação Centrifugação	Viabilidade adipocitária <sup>1</sup>	Nenhum método superior.	→Centrifugação eficaz a remover eritrócitos	Estudo <i>in vitro</i> Amostragem limitada (n=5) Enxerto não transplantado Viabilidade analisada 30 minutos após colheita
Ramon et al(2005) [50]	Filtração Centrifugação	Avaliação histológica <sup>2</sup>	Filtração superior.	→Retenção de volume semelhante entre técnicas	Modelo animal
Rose et al [51](2006)	Sedimentação Centrifugação Centrifugação e lavagem	Avaliação histológica <sup>3</sup>	Sedimentação superior	→Sedimentação com mais células viáveis, maior dimensão adipocitária	Estudo <i>in vitro</i> Sedimentação ao longo de 1 hora
Smith et al (2006) [52]	Sem processamento Centrifugação Lavagem <sup>4</sup>	Viabilidade adipocitária <sup>6</sup>	Centrifugação e lavagem inferior; Nenhum outro método superior aos restantes	→Maior viabilidade adipocitária observada nas amostras não processadas → Nenhum método oferecia vantagem estatisticamente significativa na sobrevida do enxerto após 12 semanas	Modelo animal Viabilidade avaliada imediatamente após processamento até 120 minutos. Peso e histologia avaliados ao fim de 12 semanas N=3
	Centrifugação e lavagem <sup>5</sup>	Peso do enxerto	Nenhum método superior		
Khater et al (2009) [53]	Centrifugação Lavagem <sup>7</sup>	Avaliação histológica	Lavagem superior	→Nenhum dos métodos afectou a integridade dos adipócitos;	Estudo clínico. <i>Follow-up</i> de 1 ano

<sup>1</sup> Análise espectrofotométrica da proliferação celular

<sup>2</sup> Foram avaliados a presença de adipócitos intactos e nucleados, quistos/vacuolos lipídicos, inflamação (traduzida por infiltração linfocítica e macrófaga) e a presença de fibrose e outros componentes de tecido conjuntivo.

<sup>3</sup> Foram avaliados a contagem celular, adipócitos intactos e nucleados, dimensões dos adipócitos e descrição morfológica.

<sup>4</sup> Soro fisiológico e lactato de Ringer

<sup>5</sup> Lavagem com lactato de Ringer

<sup>6</sup> Análise espectrofotométrica da proliferação celular (metabolização de XTT);

<sup>7</sup> Soro fisiológico

		Avaliação clínica da correcção do defeito de contorno <sup>8</sup>		→Pré-adipócitos isolados frequentemente em lavados, escassamente em centrifugados; →Actividade proliferativa das células adiposas maior em lavagem; →Boas correcções de defeito de contorno em ambas as técnicas	Território facial
		Avaliação imuno histoquímica <sup>9</sup>			
Condé-Green et al (2010) [40]	Sedimentação Centrifugação	Morfologia adipocitária <sup>10</sup>	Sedimentação superior		Estudo <i>in vitro</i> ; Eto et. al defendem que hematoxilina-eosina não é adequada para avaliar e discriminar adipócitos viáveis [54]
		Número de ADSC	Centrifugação superior		
Condé-Green et al (2010) [55]	Sedimentação Lavagem Centrifugação	Morfologia adipocitária (íntactos e viáveis) <sup>11</sup>	Sedimentação superior	→Lavagem concilia dano adipocitário mínimo com níveis aceitáveis de ADSC isoladas.	Estudo <i>in vitro</i> ; Eto et. al defendem que hematoxilina-eosina não é adequada para avaliar e discriminar adipócitos viáveis [54]
		Viabilidade e número de ADSC	Centrifugação superior		
Minn et al (2010) [46]	Filtração (filtro metálico)	Viabilidade adipocitária <sup>12</sup>	Filtro metálico inferior	→ Não foram observadas diferenças em relação à presença de necrose ou vascularização →Maior inflamação nas amostras filtradas comparativamente às concentradas por gaze	Modelo animal N=18
	Concentração gaze Centrifugação	Avaliação histológica <sup>13</sup>			
Ferraro et al (2011) [56]	Centrifugação a diferentes velocidades Sedimentação	Adipócitos íntactos no lipoaspirado/viabilidade celular Reabsorção de gordura	Centrifugação a velocidades baixas superior	→Centrifugação a altas velocidades danifica a integridade estrutural dos adipócitos → Velocidade de centrifugação ideal seria 1300	Estudo conduzido <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . Velocidades de centrifugação entre 500 e 3000

<sup>8</sup> Fotografias pré e pós-operatórias, avaliadas primeiramente pelo cirurgião responsável pela correcção; seguidamente pela paciente e observador médico independente, sem conhecimento da técnica usada

<sup>9</sup> Determinação de leptina (marcador de pré-adipócitos), anticorpo policlonal anti-leptina (marcador de proliferação de leptina) e anticorpo anti-Ciclina D1 (marcador de proliferação adipocitária)

<sup>10</sup> Coloração por hematoxilina-eosina e coloração ácido periódico-Schiff (PAS);

<sup>11</sup> Coloração por hematoxilina-eosina.

<sup>12</sup> Análise espectrofotométrica da proliferação celular (metabolização de XTT);

<sup>13</sup> Foram avaliados necrose tecidual, número de vasos presentes e inflamação (traduzida pela presença de linfócitos e macrófagos)

				rpm por 5 minutos,	rpm Região glútea.
Pulsfort et al (2011) [57]	Centrifugação a 8 diferentes velocidades (até 20000g)	Viabilidade adipocitária <sup>14</sup>	Nenhuma velocidade superior	→ Velocidades maiores aparentavam não ter efeito na viabilidade adipocitária, com maior eficácia na remoção de contaminantes; → Não foram encontradas mudanças apoptóticas em qualquer velocidade → Velocidades superiores não produziam dano celular significativo juntamente com melhor subtração de resíduos celulares.	Estudo <i>in vitro</i>
		Avaliação histológica	Velocidades mais altas superiores		
Condé-Green et al (2013) [44]	Decantação Lavagem Centrifugação a alta velocidade <i>Cell-assisted lipotransfer</i>	Medição seriada do volume do enxerto ao longo de 12 semanas	Centrifugação e suplementação superiores	→ Retenção de volume mais consistente em centrifugados e enxertos suplementados → Melhor viabilidade histológica para suplementados, seguido de lavagem e centrifugação → Lavagem apresentava menos necrose, calcificação e inflamação → Suplementação permite manter volumes consistentes, mais viáveis e com menor transformação cística	Estudo conduzido em modelo animal, Amostragem limitada (N=8)
		Avaliação histológica às 4, 8 e 12 semanas <sup>15</sup>	Suplementação e lavagem superiores		
Hoareau et al (2013) [45]	Sedimentação Centrifugação a baixas velocidades ( <i>soft</i> ) Centrifugação a altas velocidades	Morte adipocitária <sup>16</sup>	Centrifugação a alta velocidade inferior	→ Sobrevida ao fim de 1 mês semelhante entre as velocidades de centrifugação → Centrifugação “soft” com menor presença de marcadores inflamatórios → Centrifugação “soft” a 400g apresenta o melhor compromisso entre viabilidade celular e subtração de contaminantes	Estudo conduzido em modelo animal Centrifugação “soft” associada a lavagem com lactato de Ringer
		Marcadores inflamatórios presentes após 24h <sup>17</sup>	Centrifugação “soft” superior		
		Avaliação macroscópica e histológica após 1 mês <sup>18</sup>	Sedimentação inferior		
Zhu et al (2013) [58]	Sem processamento Sedimentação	Conteúdo lipídico e aquoso do	Centrifugação superior	→ Sedimentação reteve mais conteúdo aquoso → A determinação de	Estudo <i>in vitro</i>

<sup>14</sup> Marcação histológica com (tintura de Hoeschst) e iodo de propídio

<sup>15</sup> Foram avaliados a percentagem de tecido adiposo viável, vascularização, presença de necrose adiposa, fibrose, calcificação e inflamação

<sup>16</sup> Traduzida por maior camada de óleo após processamento do lipoaspirado

<sup>17</sup> IL-6 e MCP-1

<sup>18</sup> Viabilidade histológica traduzida por presença e tamanho de vacúolos lipídicos

	Centrifugação Lavagem+filtração <sup>19</sup>	lipoprocessado <sup>20</sup> Percentagem de eritrócitos e leucócitos <sup>21</sup> Viabilidade tecidual <sup>22</sup>	Lavagem+filtração superior	factores angiogénicos nas amostras centrifugadas e filtradas não revelou diferença estatisticamente significativa	
Pfaff et al (2014) [48]	Centrifugação Concentração com gaze	Percentagem de ADSC <sup>23</sup> Viabilidade celular <sup>24</sup>	Concentração com gaze superior		Estudo <i>in vitro</i> N=5
Salinas et al (2014) [49]	Centrifugação Concentração por gaze e <i>mesh</i>	Concentração de gordura Percentagem de ADSC na amostra	Centrifugação superior Nenhuma técnica superior	→ Viabilidade histológica e retenção <i>in vivo</i> semelhantes entre as técnicas → Diluições da fracção adipocitária estavam associadas a uma redução da retenção do enxerto. → Percentagem de ADSC inversamente proporcional ao número total de células na amostra	Estudo <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> Amostragem reduzida (N=9)
Gerth et al (2014) [42]	Filtração+lavagem <sup>25</sup> Centrifugação	Retenção do implante a longo prazo (fotografia 3D)	Filtração superior	→O mesmo volume de lipoaspirado (40 mL) foi processado por centrifugação em 17 mL de lipoenxerto e pelo sistema de filtração em 3.5mL de lipoenxerto.	Estudo clínico. Território facial.
Girard et al (2015) [59]	Sedimentação Lavagem Centrifugação Centrifugação e lavagem	Compactação dos adipócitos Tamanho do enxerto Sobrevivência adipocitária <sup>26</sup> Eficácia global do enxerto <sup>27</sup>	Centrifugação superior Centrifugação superior Centrifugação e lavagem superior Centrifugação e lavagem superior	→Sedimentação levou a vacúolos lipídicos, especialmente quando associada a lidocaína. →Sedimentação levou a enxertos menores que centrifugação →Todas as centrifugações mostraram maior compactação adipocitária e menor heterogeneidade celular →Centrifugação sem lavagem levava a vacúolos e áreas de necrose/fibrose	Modelo animal Baixas velocidades de centrifugação (100 a 400g)

<sup>19</sup> Sistema fechado (Puregraft; Cytori Therapeutics, Inc., San Diego, Califórnia)

<sup>20</sup> Foram colhidas amostras dos diferentes métodos estudados, que foram subsequentemente centrifugadas com criação de diferentes níveis de densidade, que foram então medidos.

<sup>21</sup> Determinação por Beckman Coulter NucleoCounter (modelo AC.T10; Beckman Coulter, Inc., Brea, Califórnia); Observação microscópica adicional;

<sup>22</sup> Libertação de glicerol em resposta a estimulação adrenérgica foi correlacionada linearmente com o conteúdo de tecido viável nas amostras

<sup>23</sup> Citometria de fluxo

<sup>24</sup> Contagem celular por metileno azul

<sup>25</sup> Sistema fechado (Puregraft; Cytori Therapeutics, Inc., San Diego, Califórnia)

<sup>26</sup> Traduzida por vacúolos lipídicos

<sup>27</sup> Consideração dos achados anteriores em conjunto com um score histológico (tendo sido avaliados a percentagem de vacúolos, a extensão de fibrose, presença de tecido conjuntivo normal, áreas necróticas, organização celular, incluindo presença de células estromais e tamanho e forma dos adipócitos e avaliação geral do tecido)

Rubino et al.(2015) [60]	Centrifugação Sedimentação	Número de adipócitos <sup>28</sup>	Sedimentação superior	→A colheita de lipoaspirado com cânulas de maior calibre (3mm) resultava em maior número de adipócitos comparado a cânulas Coleman (2mm)	Estudo clínico Território mamário Avaliação 10 minutos após processamento do lipoaspirado
		Morfologia adipocitária <sup>29</sup>	Centrifugação inferior		
Palumbo et al (2015) [61]	Centrifugação a diferentes velocidades (90 a 1500g) Sedimentação por diferentes intervalos de tempo	Número de adipócitos	Sedimentação (20 min) superior	→ Centrifugação a 400 g e sedimentação 20 minutos oferecem os maiores benefícios para adipócitos e ADSC. → Apesar da velocidade 400g isolar menos adipócitos que a 90g, esta dava uma camada mais limpa e de maior volume → Sedimentação durante 10 minutos inadequada	Estudo <i>in vitro</i>
		Avaliação histológica	Centrifugação a 1500g inferior		
		Viabilidade ADSC <sup>30</sup>	Centrifugação a 400g superior		
Sarfati et al.(2017) [41]	Centrifugação Sedimentação	Ganho em espessura de tecidos moles na parede torácica	Nenhuma técnica superior	→ Maior expansão de parede torácica na linha médio-clavicular grupo de sedimentação	Estudo clínico Amostra pequena, grupos heterogêneos, timing do follow-up imagiológico variável.

Tabela 1– Visão geral de diversos estudos comparativos de várias técnicas de processamento do lipoaspirado. Adaptado e expandido de Sarfati et.al (2017) [41]

A centrifugação é um método altamente popular, sendo relativamente simples de utilizar e altamente eficiente na separação dos constituintes do lipoaspirado. No entanto, apesar da sua grande eficácia em isolar o componente celular, subsistem ainda algumas preocupações em relação às forças mecânicas centrífugas, sobretudo no que concerne ao seu efeito nos adipócitos e células estaminais presentes no lipoaspirado, tendo sido observadas menores viabilidades adipocitárias a velocidades de centrifugação maiores [44] [56] [61]. Centrifugações com velocidades acima de 1200g parecem induzir alterações estruturais e destruição adipocitária no lipoaspirado [49] [60] [62]. Para além disto, o enxertar de tecido centrifugado a altas velocidades provou ser prejudicial à sobrevivência do enxerto em si, com indução de um estado pró-inflamatório deletério ao

<sup>28</sup> Avaliação por microscopia electrónica de varredura

<sup>29</sup> Avaliação por microscopia electrónica de varredura.

<sup>30</sup> Marcação imunohistoquímica de CD105+, CD90+ e CD45-

mesmo e, sobretudo, à população estaminal enxertada. Paralelamente, a centrifugação a velocidades baixas (até 400g) parece não induzir morte adipocitária significativa, conseguindo igualmente preservar as células estaminais presentes e subtrair os fluidos contaminantes [45]. Também comparativamente a outros métodos de processamento, a centrifugação induz ainda bastante transformação fibrótica e calcificações dentro do enxerto [44].

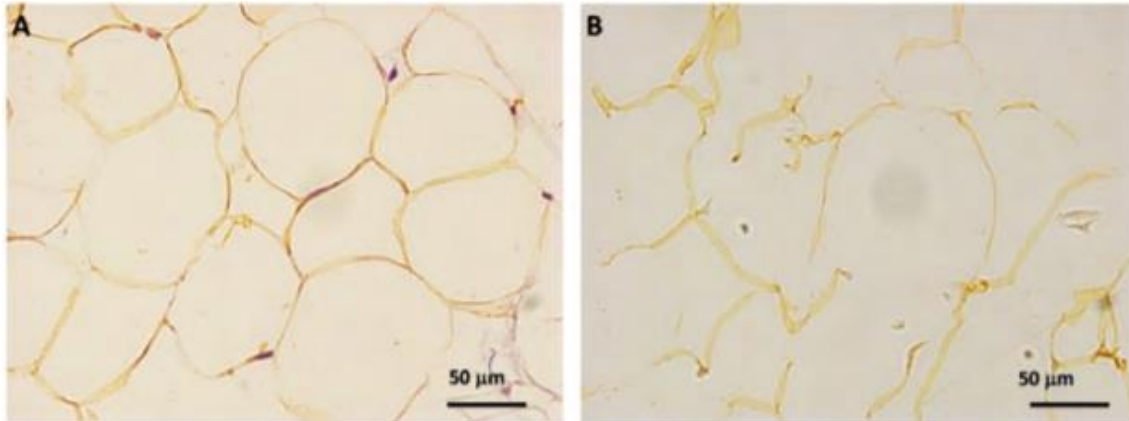


Figura 14 – Avaliação histológica de tecido adiposo obtido de amostras de lipoenxerto. A: Sedimentação; B: Centrifugação; A sedimentação, sendo um método suave e de manipulação mínima, associa-se a tecidos com um maior número de adipócitos nucleados e intactos, com a sua relação histológica preservada. Em contraste, as forças mecânicas associadas à centrifugação reflectem-se numa arquitectura histológica perturbada, com um menor número de adipócitos intactos. Retirado de Baptista et.al [62].

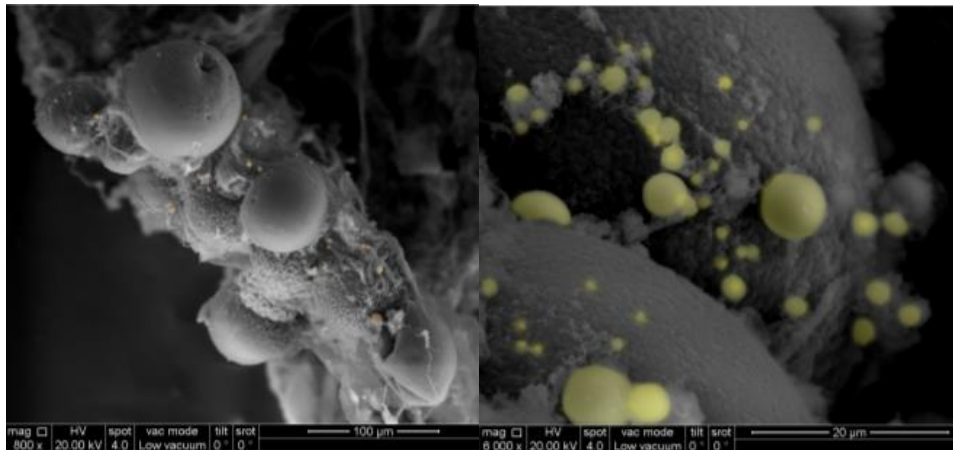


Figura 15– Imagem de microscopia electrónica de tecido adiposo submetido a centrifugação. À esquerda: As altas velocidades associadas ao processo induzem alterações estruturais no enxerto a nível da membrana celular, desde a abertura de alguns poros até ao colapso total do adipóctio. À direita: são evidentes gotículas de conteúdo adiposo (colorido, a amarelo) a escapar do compartimento celular pelos poros abertos pelo processo de centrifugação. Retirado de Rubino et. al [60].

A lavagem do lipoaspirado aparenta conseguir preservar um número significativo de pré-adipócitos biologicamente activos, dando ao enxerto maior capacidade de resistência a condições hipóxicas [53]. As vantagens desta técnica parecem ter tradução

*in vivo*, com enxertos a expressarem grande viabilidade biológica quando comparados com outros métodos de processamento [44].

Por outro lado, existe evidência que a sedimentação pode apresentar resultados semelhantes à centrifugação, sobretudo quando considerado que a sedimentação permite a manipulação mais simples de volumes maiores de gordura [41]. No entanto, a manipulação mínima associado ao processo de sedimentação permite que uma grande percentagem dos contaminantes não seja removida, dando enxertos com mais alterações histológicas, inflamatórias e quísticas, o que culmina em maiores regressões volumétricas do enxerto quando comparada a técnicas como a centrifugação ou a lavagem [45] [44] [63].

Os métodos de filtração parecem permitir a eliminação de contaminantes, conseguindo simultaneamente manter números satisfatórios de adipócitos e células estaminais. A filtração é também altamente eficaz a lidar com grandes volumes de lipoaspirado [63]. Quando comparado com a centrifugação, a filtração demonstrou apresentar retenções de enxerto semelhantes após 1 ano, com enxertos com menores alterações histológicas [50] [64].

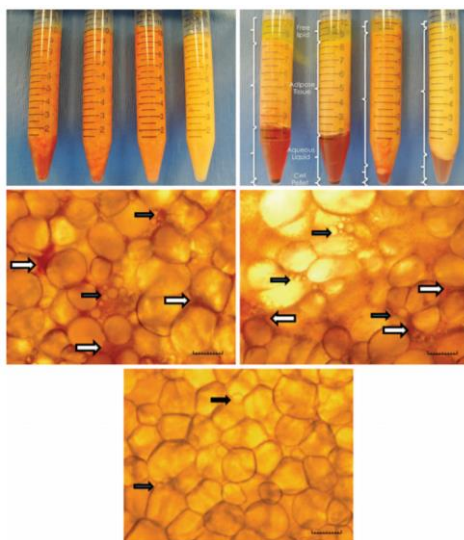


Figura 16 – Aspecto visual e macroscópico de lipoaspirados processados por diferentes métodos. Canto superior esquerdo: lipoaspirado pré-processamento; canto superior direito: lipoaspirado após processamento (da esquerda para a direita: controlo (não processado), sedimentação, centrifugação e lavagem associada a filtração). As restantes imagens correspondem à observação microscópica do tecido enxertado, respectivamente: sedimentação (centro, à esquerda), centrifugação (centro, à direita) e lavagem associada a filtração (inferior). De notar as gotículas de lípidos livres (setas a negro) e a presença de regiões concentradas de eritrócitos (setas a branco). Retirado de Zhu et al. [58]

Finalmente, a concentração com gaze parece induzir menos fibrose quando comparada com a centrifugação, conseguindo igualmente concentrações adipocitárias e de células estaminais semelhantes [49]. Também se observam taxas altas de retenção *in vivo* [65]. No entanto, apesar de obter óptimos resultados, é uma técnica extremamente laboriosa, que não se empresta bem ao uso em grandes volumes, necessários no contexto mamário.

À luz da literatura disponível, actualmente não há evidência suficiente que permita assumir uma técnica de processamento como francamente superior às restantes [41] [45] [24] [21] [63] [66].

## b) Cell-assisted lipotransfer

O potencial de enriquecimento do lipoenxerto com elementos celulares assume-se como uma das perspectivas mais interessantes e promissoras nos últimos anos.

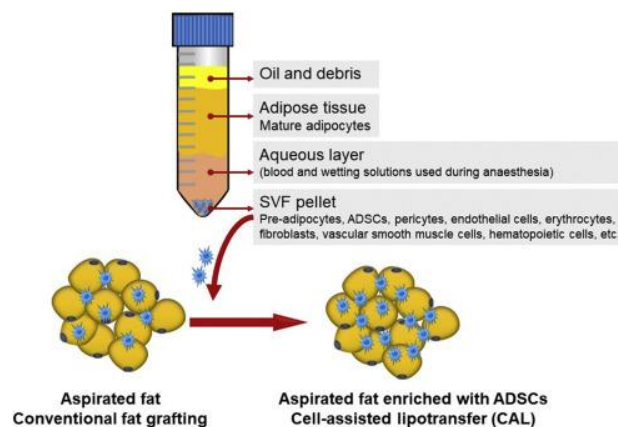


Figura 17 – Representação esquemática do processo de *cell-assisted lipotransfer*. Retirado de Fontes et al [67]

De facto, o tecido adiposo *in vivo* é composto por apenas 20% de adipócitos maduros, sendo caracterizado por uma gama vasta de populações celulares, entre as quais se incluem fibroblastos, células estaminais mesenquimatosas, células precursoras endoteliais, células musculares lisas, linfócitos T-reguladores, macrófagos, pericitos e pré-adipócitos [68] [69] [70] [71].

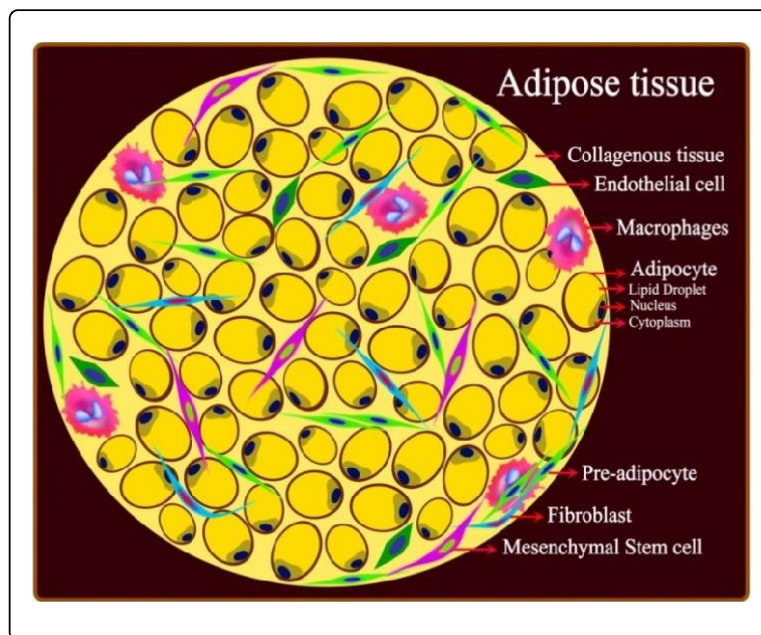


Figura 18 – Representação esquemática do tecido adiposo. Constituído por uma pluralidade de tipos celulares, é um tecido altamente diverso e complexo, com relações intrincadas e intimamente interconectadas. Retirado de Dashty et al. [72].

Entre os diversos tipos celulares encontrados no tecido adiposo incluem-se as *adipose-derived stem cells* (ADSC). As ADSC são células multipotentes, com propriedades angiogénicas e grande abundância em tecido adiposo *in vivo* [73] [74]. Estas células estaminais têm capacidade demonstrada de se diferenciar não só em adipócitos como também variadíssimos outros tipos celulares, incluindo cartilagem, tecido muscular esquelético, tecido vascular, entre outros [75] [76] [77] [78] [79]. Foi também já demonstrado que estas ADSC têm papel activo na resposta do tecido adiposo a lesões, sendo activadas e proliferando, aumentando não só em número como também em actividade, com papeis destacados na angiogénese e na libertação de factores de crescimento [80] [81]. O tecido enxertado será assim alvo de um estímulo regenerativo mediado por estas células estaminais, tanto pela promoção da migração de células do hospedeiro como também devido à sua produção de factores antiapoptóticos [82] [83] [84]. Também já se verificou que as ADSC são responsáveis pelo processo de neoangiogénese nas primeiras fases do enxerto, assegurando o correcto e eficaz estabelecimento de uma rede arterial pelo tecido enxertado e, por extensão, a sua sobrevivência [85]. Para além disso, estas células estaminais aumentam a tolerância imunológica ao enxerto, ao promoverem a migração de macrófagos inibidores e células T-reguladoras, que minimizam a inflamação subjacente e podem contribuir para menores regressões volumétricas [86]. Assim, a suplementação com ADSC não só irá

melhorar o processo de regeneração como também consegue ajudar a sustentar a viabilidade do enxerto [44].

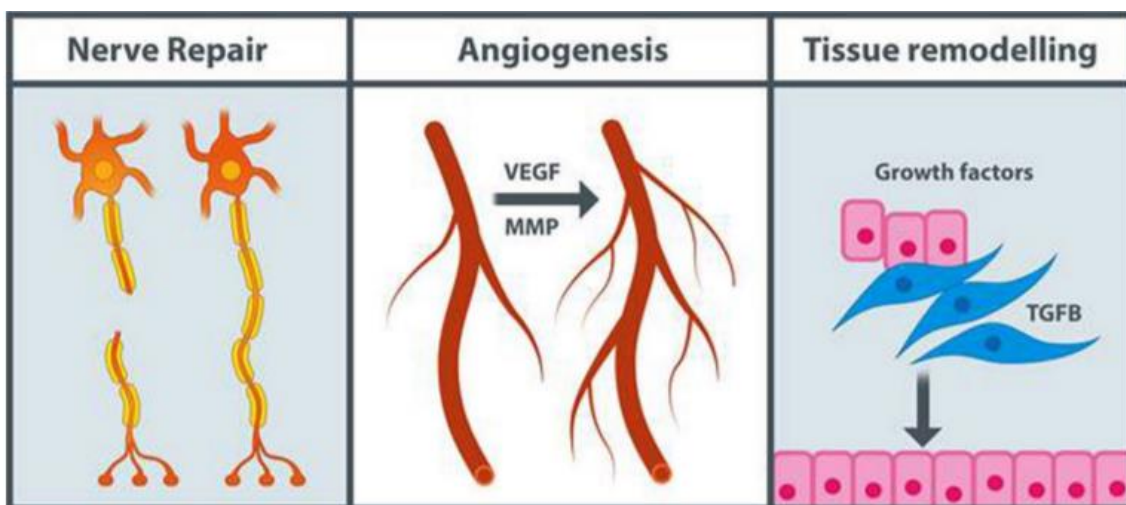


Figura 19– Mecanismos propostos para explicar as propriedades regenerativas e anti-inflamatórias das células estaminais. Retirado de Riyat et.al [8].

A hipótese de suplementar o enxerto com este tipo celular surgiu após se constatar que as técnicas de colheita e processamento do lipoenxerto acabavam por esgotar a sua população de células estaminais, com um número de ADSC presentes no lipoprocessado francamente menor que o encontrado em tecido adiposo excisado em bloco, o que levaria a resultados modestos e imprevisíveis em termos de retenção do enxerto [70] [85] [87]. O enriquecimento do enxerto com células estaminais previamente processadas, apelidado *cell-assisted lipotransfer*, conseguiria corrigir este defeito, tendo o potencial de aumentar a quantidade de células estaminais no lipoaspirado para níveis comparáveis ao tecido adiposo *in vivo*, com repercussão francamente positiva não só na retenção do enxerto como também na consistência destes resultados [82] [85].

O isolamento de ADSC é relativamente simples. Durante o processamento do lipoaspirado, parte do mesmo é digerido enzimaticamente com colagenase e centrifugado, permitindo o isolamento e colheita destas células. As ADSC são assim facilmente isoladas e obtidas durante o processo de colheita, sem necessidade de expansão em cultura *a posteriori* [74].

De uma maneira geral, a literatura favorece o uso da suplementação com ADSC [66]. No geral, os enxertos suplementados com células estaminais revelam um padrão de

maior viabilidade biológica, melhor retenção de volume ao longo do tempo, associados a menores incidências de fibrose, calcificações ou formação de quistos. Também a aplicação do *cell-assisted lipotransfer* levou a retenções de 63% do volume enxertado, comparativamente aos 39% observados num grupo de controlo [47]. Contudo, alguns obstáculos ainda subsistem: em termos de aplicação da técnica, constata-se que ainda não existe um consenso em relação ao número de células necessário à suplementação para assegurar maior sobrevida do enxerto [88] [89]. Por outro lado, constata-se que os benefícios do *cell-assisted lipotransfer* em termos de retenção de volume a longo prazo são ainda relativamente modestos [90] Estes resultados humildes, apesar de encorajadores, podem ainda não justificar os custos monetários e tempo necessário comparado com outros métodos mais simples, amplamente disponíveis e com lugar cimentado na técnica do lipoenxerto. [44]

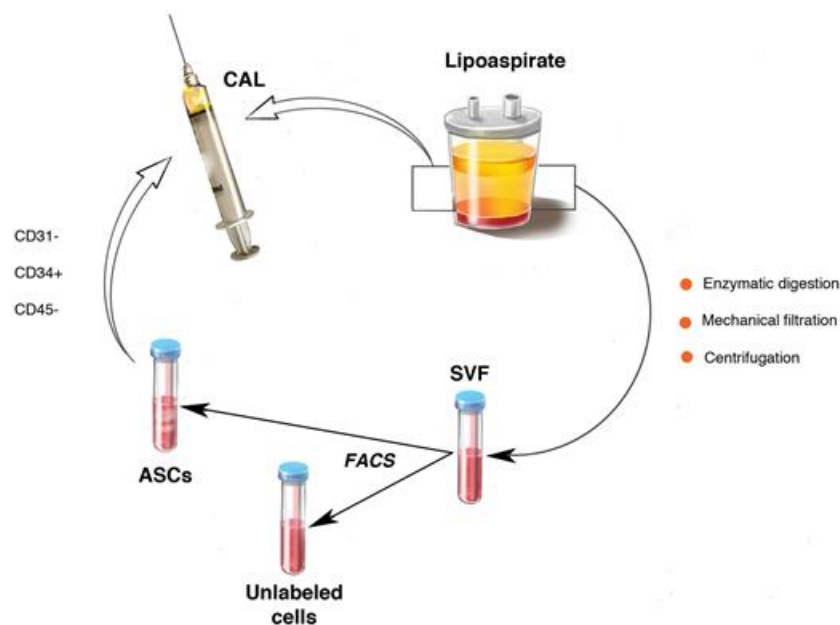


Figura 20 – Representação esquemática do processo de obtenção de ADSC e enriquecimento do lipoprocessado. Retirado de Zielins et al (2016) [22]

### iii) Implantação

Após o processamento e preparação do material adiposo, este está pronto a ser enxertado, sendo que a implantação do lipoenxerto é a parte mais morosa e demorada da técnica em si [9].

A implantação é feita com recurso a cânulas, sendo que existe hoje uma variedade ampla de diferentes cânulas disponíveis, variando em forma, comprimento, calibre, forma da ponta ou até mesmo eventuais curvaturas. As cânulas usadas para enxertar a região mamária são, regra geral, mais compridas e resistentes que as usadas noutros territórios (como, por exemplo, a face), não só devido ao maior stress mecânico inerente à técnica mas sobretudo pelas características da mama em si, sendo composta de tecido mais firme e fibroso que o encontrado noutros territórios [12]. Enquanto que cânulas rombas parecem permitir uma implantação menos traumática para o tecido-alvo, as cânulas com ponta cortoperfurante permitem um controlo mais fino da implantação, sobretudo em tecidos mais fibrosados ou com coexistência de cicatrizes [43]. Apesar de tudo, a escolha da cânula mais adequada depende da preferência do clínico e do local onde se vai implantar o enxerto, sendo que as recomendações actuais para o lipoenxerto em território mamário propõem cânulas de infiltração de ponta romba, de diâmetro máximo 1.5mm [23].

É também expectável que, do volume enxertado, se verifique uma regressão volumétrica de cerca de 30% [12]. Dependendo da técnica utilizada, experiência do cirurgião ou até mesmo das características intrínsecas do paciente podem-se verificar taxas de reabsorção ainda maiores. Esta regressão volumétrica deve ser considerada aquando do planeamento do procedimento, sendo necessário enxertar um volume de lipoaspirado ligeiramente superior ao volume final expectável [12]. No entanto, a implantação de grandes volumes pode levar a que porções do tecido enxertado estejam demasiado profundos para serem adequadamente nutridos e perfundidos, levando à ocorrência de necrose, quistos e calcificações [23] [91]. Contudo, enxertos demasiado pequenos, apesar de conseguirem assegurar um contacto próximo com a cama vascular, correm o risco de sofrerem grandes regressões volumétricas e serem praticamente reabsorvidos na sua totalidade [91]. Assim, os volumes de gordura a implantar devem ser pequenos (idealmente entre 0.1 a 0.5mL por passagem), sendo que a gordura deve ser enxertada apenas quando se retrai a cânula, assegurando que a gordura é depositada no trajecto escavado pela mesma [9]. A implantação em bólus torna a gordura enxertada altamente vulnerável a isquemia e subsequente necrose, especialmente nas porções mais profundas do enxerto [46].

Quando é necessária a correção de grandes defeitos de volume deve evitar-se a sobrecorreção dos mesmos num único tempo, sendo prática comum nestes casos a realização seriada de vários procedimentos para assegurar uma retenção de volume adequada [92] [93] [94].

As localizações mais úteis para a implantação do lipoenxerto na mama abrangem a prega submamária (incluindo o prolongamento axilar da cauda de Spence) ou região areolar, o que assegura cicatrização de boa qualidade. Deve-se evitar a implantação do lipoenxerto na região pré-esternal, visto que existe um risco aumentado de cicatrização hipertrófica. As incisões iniciais são feitas com recurso a trocares, o que permite que as cicatrizes sejam de tamanho reduzido e punctiformes, minimizando o seu impacto estético [12]. A implantação do enxerto é feita em várias localizações (desde 4 a 8 para correção de defeitos de contorno pós-tumorectomia, podendo chegar até 20 locais diferentes para aumento mamário), que inserem a cânula no plano desejado, escavando-se um trajecto subcutâneo com a mesma [9].



Figura 21 – Implantação do enxerto. Após o processamento e isolamento adequado da fracção adiposa, esta encontra-se pronta para ser implantada no tecido mamário. Note-se desenhados na pele vários pontos, correspondentes a diversos locais a enxertar posteriormente, na continuação da prega submamária. Retirado de Neligan [9].

A maior porção do volume de lipoprocessado deve ser enxertado na fáscia do grande peitoral, seguido dos espaços retropeitoral e pré-peitoral [14]. A gordura deve ser depositada subcutaneamente ou no plano da fáscia do peitoral, não no parênquima mamário em si [23].

O procedimento deve ser então repetido várias vezes, com a criação de vários trajectos cilíndricos em paralelo e perpendicular, com a criação duma rede fina de tecido adiposo implantado. A implantação do lipoenxerto deve ser feita em múltiplos planos, mesmo que o defeito aparente ser superficial [9]. Uma boa distribuição e espaçamento tridimensional dos trajectos subcutâneos são condições necessárias para evitar criar áreas confluentes onde a gordura possa coalescer e levar a necrose adiposa [12]. Coleman cita a infiltração difusa do enxerto com passagens múltiplas, a implantação de pequenos volumes e a separação da gordura enxertada como determinantes para o sucesso da técnica [43].

Com a correcta aplicação da técnica e a implantação de pequenos enxertos em várias passagens maximiza-se a superfície de contacto do enxerto com o tecido circundante e seus capilares, estimulando desta forma a difusão de nutrientes e respiração celular. Para além disto, a distribuição generalizada dos enxertos dá estabilidade aos mesmos e permite que a gordura seja bem integrada, dando à mama uma sensação de “densidade generalizada” ao invés de massas dispersas de tecido adiposo. [43]

## Sobrevivência do enxerto pós-implantação

É aceite que, após a implantação, os adipócitos e restante componente celular do enxerto irá obter os nutrientes e oxigénio necessários à sobrevivência por difusão passiva durante os primeiros 7 a 14 dias, enquanto a microangiogénese não estabelece vascularização eficaz pelo enxerto [54] [95]. Também se constatou que a tolerância a isquemia difere não só entre tipos celulares mas também entre células diferenciadas e não diferenciadas – de facto, enquanto que os adipócitos têm um período de cerca de 4 dias de tolerância à isquemia (após o qual se inicia um processo de esteatonecrose), as células estaminais presentes no tecido têm uma tolerância maior a condições isquémicas, sendo que o seu tamanho menor quando comparado ao dos adipócitos também permite uma revascularização mais rápida [96].

Uma angiogénese eficaz, que estabeleça vascularização adequada do enxerto é então condição *sine qua non* preponderante para a sobrevivência do mesmo [32].

Assim, dentro duma partícula, os adipócitos localizados na camada mais periférica apresentam maior probabilidade de sobrevivência, conseguindo obter os nutrientes necessários puramente por difusão passiva. Na camada intermédia, as condições hipóxicas são pouco conducentes à sobrevivência dos adipócitos maduros; contudo, as células estaminais presentes no estroma do tecido adiposo original são capazes de resistir mais adequadamente a estas condições, proliferando assim que a neovascularização consiga reestabelecer uma perfusão adequada ao enxerto. Finalmente, a camada mais central é adversa a qualquer tipo celular, criando-se um centro liponecrótico que, eventualmente irá fibrosar e cicatrizar [54] [25].

Esta camada periférica, permissiva à sobrevivência adipocitária, é extremamente estreita, tendo uma espessura de apenas 300 µm; por outro lado a camada intermédia, permissiva para as células estaminais, terá uma espessura variável, que dependerá das condições do microambiente em que será enxertada (como a vascularização do mesmo). De facto, pensa-se agora que a morte adipocitária é não só inevitável como também necessária à sobrevivência do enxerto, despoletando uma “cascata regenerativa” que estimula as células estaminais à diferenciação e proliferação. Desta forma, apesar de se poderem conservar alguns componentes tecidulares (como, por exemplo, grande parte do tecido conjuntivo), a grande maioria das células diferenciadas enxertadas irá sofrer morte celular, sendo subsequentemente substituída por novas contrapartes, derivadas de células estaminais [54] .

Assim, estas partículas precisam de ter tamanho suficiente para preservar a relação anatómica/histológica do seu componente celular (isto é, adipócitos e estroma), sem comprometer igualmente a difusão de nutrientes [25]. Por outro lado, partículas mais pequenas, apesar de serem francamente permissivas à difusão de nutrientes e oxigénio, podem não apresentar o componente celular necessário (fibroblastos, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos) para proporcionar o devido suporte ao tecido enxertado [97]

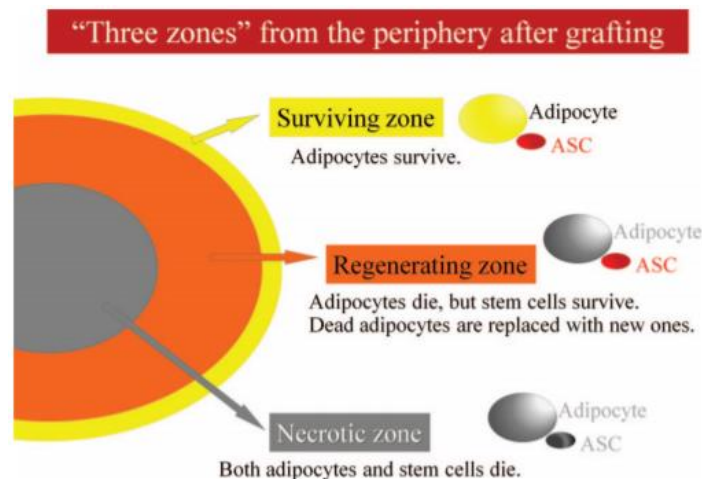


Figura 22 – A extração e subsequente implantação do lipoenxerto modifica radicalmente o ambiente onde este tecido se encontra inserido. O componente estaminal do lipoenxerto, sendo mais resistente a condições hipóxicas que as suas contrapartes diferenciadas, consegue adaptar-se melhor que os adipócitos a estas novas condições – sendo que apenas as porções mais superficiais oferecem um gradiente de difusão de nutrientes e oxigénio conducentes à sobrevivência dos adipócitos. Enxertos de tamanhos maiores poderão condicionar uma difusão insuficiente de oxigénio e nutrientes à totalidade do componente celular localizado mais profundamente, levando à formação de um centro necrótico. Retirado de Eto et. al [54]

Como tal, o uso de calibres maiores durante a colheita do lipoaspirado tem não só um efeito mecanicamente permissivo como também se associa a menores forças de cisalhamento, permitindo que o tecido flua livremente e com perturbação mínima da relação estrutural do tecido aspirado [98] [99] [25]. De um modo geral, o uso de calibres maiores para a colheita do lipoaspirado correlaciona-se positivamente com um maior número de adipócitos viáveis [100] [101]. Também a conformação da cânula aspirativa pode ser uma variável a considerar, já que cânulas multiperfuradas conseguem colher aspirados sob pressões menores, diminuindo o dano celular induzido pela técnica [102]. É também aceite que quanto mais traumática a colheita melhor a viabilidade adipocitária e subsequente retenção do tecido enxertado [30] [28]. O calibre das cânulas aspirativas é um factor que influencia a viabilidade e sobrevida do enxerto, e, apesar das *guidelines* recomendarem o uso de calibres até 3mm, os calibres maiores (5 a 6 mm) parecem apresentar resultados mais favoráveis [23]. Apesar de tudo, existe ainda alguma controvérsia no que concerne ao calibre ideal das cânulas aspirativas, sendo aceite que este deve ser amplo o suficiente para evitar exercer pressões de cisalhamento deletérias para adipócitos e outros componentes celulares do lipoaspirado [67].

# Eficácia

Apesar de já ser uma técnica altamente disseminada e amplamente usada, os resultados obtidos hoje em dia pelo lipoenxerto são ainda algo pouco previsíveis e consistentes [24]. Geralmente, entre 30 a 40% do volume implantado é gradualmente perdido no pós-operatório [12]. Contudo, após este período pós-operatório inicial, o volume mamário mantém-se estável, mesmo com *follow-ups* prolongados [12]. Também outra consideração no que concerne ao tamanho do lipoenxerto prende-se com o facto de ser, contrariamente aos implantes, composto de tecido vivo e biologicamente activo, sujeito a mudanças na sua conformação consoante a disponibilidade de nutrientes e o estado nutricional do organismo [103]. Um estudo demonstrou que, contando que o peso dos pacientes se mantivesse constante, os resultados morfológicos volumétricos do lipoenxerto mantinham-se estáveis durante três a quatro meses pós-operatório [12].

Os principais determinantes do sucesso do lipoenxerto são os métodos utilizados para colher, processar e enxertar o tecido adiposo [9]. Também a manipulação mínima do lipoenxerto e a sua implantação rápida e eficaz são determinantes no sucesso da técnica. [52]

O lipoenxerto requer habitualmente mais do que uma intervenção para a obtenção de resultados favoráveis, tanto devido aos volumes modestos que consegue enxertar de forma segura como também pela regressão volumétrica que se observa após o enxerto. Mais de 55% dos pacientes precisam de mais de 1 sessão de lipoenxerto para obterem resultados satisfatórios. Contudo, o lipoenxerto oferece taxas de satisfação extremamente satisfatórias para as pacientes que escolhem submeter-se ao procedimento.

# Complicações

Apesar dos benefícios óbvios subjacentes à técnica, qualquer procedimento cirúrgico tem-lhe inerentes complicações. A frequência de complicações associadas ao lipoenxerto é, no entanto, francamente menor que a maioria de outras técnicas cirúrgicas

[43]. Assim, o lipoenxerto assume-se como uma técnica segura, com pouca frequência de complicações major [9].

É importante destacar que a experiência e familiaridade do cirurgião plástico com a técnica do lipoenxerto são descritas como as condições mais preponderantes não só para o sucesso da técnica como também para a baixa frequência de complicações daí resultantes. [12]

As complicações observam-se, sobretudo, no território enxertado, e as complicações reportáveis ao território dador são raras e prendem-se sobretudo com cicatrizes associadas à técnica de lipoaspiração. As repercussões estéticas destas cicatrizes podem ser minoradas se a incisão for realizada numa prega. Outras complicações, como assimetrias volumétricas ou infecções locais, são pouco frequentes e praticamente evitáveis pela correcta aplicação da técnica de lipoaspiração por um cirurgião plástico experiente. [12]

A esteatonecrose é uma complicação que, embora relativamente comum, ocorre fundamentalmente em contexto de aprendizagem e habituação à técnica, sendo que a sua incidência é inversamente proporcional ao número de procedimentos realizados pelo cirurgião. Esta complicação, como já foi discutido anteriormente, é resultado de uma aplicação incorrecta da técnica, geralmente devido a implantações de grandes volumes de enxerto adiposo, com uma incidência de cerca de 3%. Contudo, a sobrecorreção do defeito de contorno, sobretudo quando superior a 10%, aumenta a incidência da liponecrose e subsequente risco de transformação quística [9] [12]. É importante ressaltar, no entanto, que a necrose adiposa é transversal a todos os procedimentos cirúrgicos no território da mama, e não exclusivamente do lipoenxerto [104] [105].

A confluência de múltiplas áreas de necrose adiposa pode coalescer e formar um quisto esteatonecrótico. Estes podem ser múltiplos e de pequenas dimensões, ou apresentarem-se como quisto único de grandes dimensões, com repercussão estética evidente e necessidade de excisão cirúrgica [9]. A reabsorção dos mesmos pode demorar vários anos, sendo que a sua incidência foi maior em lipoenxertos processados por lavagem e sedimentação [44] [104]. Qualquer quisto ou aumento de volume deve ser microbiopsado de forma a excluir transformação neoplásica [12].

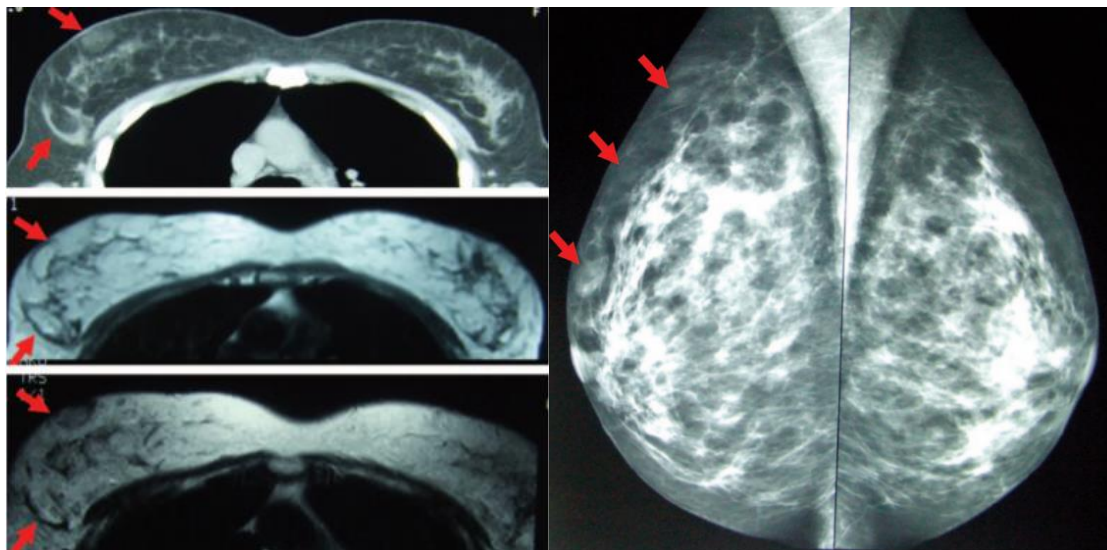


Figura 23 – Consequências da aplicação indevida da técnica. Esta paciente de 41 anos de idade terá recorrido ao lipoenxerto com vista a aumentar o volume mamário há cerca de 2 anos, sendo que recentemente a mesma terá notado várias áreas nodulares de consistência firme nas mamas, com assimetria mamária evidente, pelo que recorreu ao seu serviço de saúde. À esquerda: as imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 e T2 evidenciaram múltiplas áreas encapsuladas de baixa densidade (assinaladas a vermelho), provavelmente devido a um enxerto demasiadamente ambicioso ou pouco profundo e traduzindo um processo esteatonecrotico; À direita: uma mamografia realizada à paciente revela áreas de confluência de esteatonecrose e transformação quística (assinaladas a vermelho), com calcificações *egg-shell* também visíveis. Após intervenção e excisão, a histologia confirmou o diagnóstico de quisto esteatonecrotico, com áreas extensas de necrose encapsuladas por tecido fibroso. Retirado de Hyakusoku et.al [105].

Outra repercussão muito comum da técnica do lipoenxerto são as anomalias imagiológicas, das quais se destacam as microcalcificações. Estas são lesões benignas, com impacto negligível em termos estéticos ou de qualidade ou esperança de vida, sendo o resultado de pequenas áreas de necrose adiposa [9]. De facto, a maior preocupação com as microcalcificações prende-se com o padrão suspeito que estas produzem na mamografia, podendo despertar num observador menos experiente a dúvida sobre uma eventual recidiva neoplásica. Apesar de tudo, as microcalcificações não devem suscitar dúvidas num observador experiente, sendo facilmente distinguíveis de outros possíveis achados por observadores experientes [104]. Como tal, actualmente, não existe evidência que permita inferir um efeito negativo das microcalcificações na detecção precoce do cancro da mama [106] [107] [108] [109].

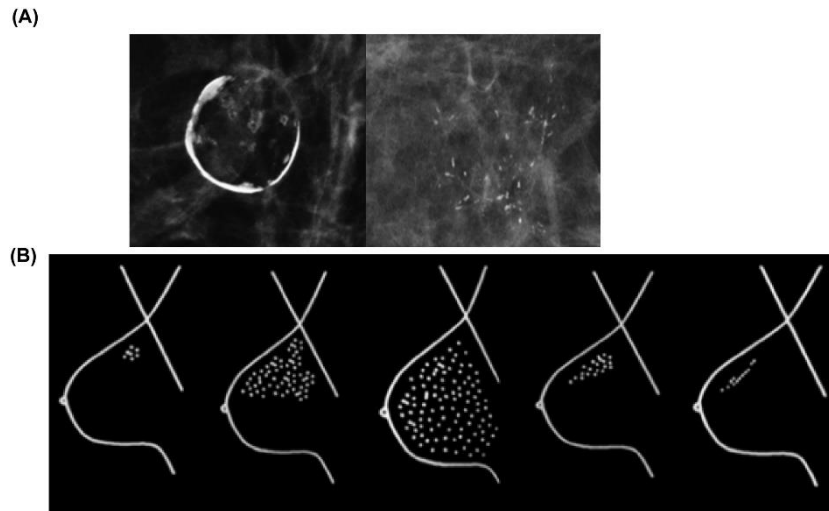


Figura24 – Morfologia e padrões de distribuição de microcalcificações na mama. A: imagens de mamografia de calcificação *egg-shell*, benigna (à esquerda) e de microcalcificações suspeitas (à direita); B: Padrões distributivos mais comumente observados, ordenados por probabilidade crescente de traduzirem processo neoplásico maligno. Da esquerda para a direita: calcificações difusas, regionais, em *cluster*, segmentares e lineares. Retirado de O’Grady et.al [110].

À semelhança de outras técnicas cirúrgicas, há um risco de infecção localizada tanto no local dador como na mama enxertada. Esta apresenta-se geralmente como uma tumefacção localizada, acompanhada de sinais inflamatórios locais como calor local, eritema, dor e, por vezes, febre. Esta complicação pode ser evitada pela observação da técnica asséptica e uso profilático de antibioterapia [104]. A repercussão da infecção é altamente variável, podendo resolver completamente sem sequelas, condicionar perda total do enxerto, a formação de um abscesso ou, em casos muito raros, sépsis [111].

Apesar do uso generalizado de cânulas rombas para a implantação do lipoenxerto, há sempre risco de lesão permanente das estruturas subjacentes, incluindo tecido glandular, nervoso ou vasos sanguíneos, embora este seja extremamente baixo [103].

Embora o risco de embolia gorda esteja presente, esta complicação é mais frequentemente descrita no contexto do lipoenxerto em território facial, sobretudo no nariz e glabella, onde o material adiposo pode facilmente embolizar para a retina e sistema nervoso central, resultando em défices neurológicos focais e amaurose [9]. No contexto da cirurgia mamária, a região subclávia é de extremo risco e deve ser intervencionada com cautela. É ainda importante ressaltar que, em pacientes com síndrome de Poland, os vasos subclávios podem estar num plano anatómico mais superficial [12]. Pode ainda haver lesão da pleura com a cânula, podendo induzir uma pneumonia ou condicionar um pneumotórax iatrogénico, apesar desta complicação ser

extremamente rara e associada à aprendizagem da técnica [9] [103]. Outras complicações menos comuns associadas ao procedimento incluem necrose cutânea (associada a sobrecorreção de defeitos de contorno), lesão nervosa ou vascular iatrogénica, entre outras [104].

## Risco Oncológico

Um dos principais obstáculos à aplicação generalizada da técnica é, de facto, a incerteza em relação à sua segurança oncológica [26]. Com cada vez mais dados indicando a importância das células estaminais no processo do lipoenxerto, este receio voltou a surgir, associando a presença desta população celular à possível estimulação de tipos celulares neoplásicos quando usadas num contexto reconstutivo [26]. De facto, uma revisão sistemática recente demonstrou que as células estaminais estão associadas à promoção da sobrevivência de tipos celulares tumorais, tendo este efeito sido associado sobretudo ao papel pró-angiogénico das mesmas [112]. Outras interações propostas incluem a sinalização de certas vias celulares ou a secreção parácrina de factores de crescimento. [113] [114]

Contudo, apesar destes efeitos demonstráveis, a literatura disponível actualmente não associa o lipoenxerto a um risco aumentado de neoplasia. Vários estudos demonstram a ausência de risco de recidiva loco-regional após o lipoenxerto [66] [12]. Tendo estudado por 10 anos um grupo de 181 pacientes pós-lipoenxerto, um estudo não conseguiu demonstrar quaisquer casos novos de cancro [115]. Outro estudo retrospectivo com uma amostragem de 886 pacientes revelou que o lipoenxerto não afecta a recorrência loco-regional quando comparado a outros procedimentos reconstutivos [116]. Também não parece haver risco aumentado de recorrência loco-regional num estudo de 321 pacientes [117]. Igualmente, a suplementação com ADSC aparenta ser seguro para o paciente, com um estudo clínico avaliando o seu uso sem registo de quaisquer recorrências loco-regionais ao longo de um período de 1 ano [118]. Finalmente, uma meta-análise recente demonstrou não haver risco elevado de recorrência loco-regional após lipoenxerto, ao analisar mais de 4000 pacientes distribuídos por 59 estudos [26].

É, no entanto, importante referir que um estudo coorte de 118 pacientes com neoplasia mamária (sobretudo carcinoma ductal *in situ*) registou um aumento das recorrências locais no grupo de lipoenxerto [119]. Contudo, é necessário ressaltar que o tamanho pequeno da amostra, a natureza retrospectiva do estudo e os achados ainda não replicados tornam este estudo algo difícil de valorizar. Para além disto, um estudo recente não encontrou diferenças na recidiva loco-regional entre tipos histológicos (*in situ*/invasivo) quando comparando o lipoenxerto com um controlo [26].

Apesar de ainda serem necessários estudos mais completos, de alta qualidade e *follow-up* mais prolongado para pôr término à controvérsia, os resultados preliminares parecem favorecer a segurança oncológica da técnica.

## Conclusão

A patologia mamária é uma constelação complexa e abrangente, com impacto multifacetado na saúde da mulher e na sua vivência enquanto pessoa. Os defeitos da mama, pelo seu grande potencial deletério na saúde e bem-estar da mulher, são altamente nefastos e determinam uma necessidade de intervenções reconstructivas eficazes e esteticamente aceitáveis. Neste sentido o lipoenxerto, outrora ostracizado pela comunidade médica, tem vindo cada vez mais a assumir-se como uma técnica altamente popular e difundida. Aliando um procedimento seguro e eficaz a resultados satisfatórios e sustentados, o lipoenxerto revelou-se uma opção viável e plenamente adaptada à realidade clínica da cirurgia plástica, tendo sido adoptado pela mesma em variados contextos.

A ausência de uma standardização transversal e a paucidade de dados no que concerne à comparação entre técnicas no contexto clínico tornam difícil a comparação e uniformização dos padrões técnicos pelos diferentes centros cirúrgicos. No entanto, os novos horizontes envolvendo medicina molecular e regenerativa revelam novas e interessantes avenidas de inovação, trazendo cada vez mais a perspectiva tecidual e celular para destaque e de importância cimeira para o sucesso da técnica como um todo.

As novas descobertas tanto no campo técnico como no contexto molecular, celular e regenerativo irão, sem dúvida, não só aumentar a eficácia e difusão do lipoenxerto como também ajudar a cimentar o seu lugar enquanto técnica franca da especialidade de cirurgia plástica e reconstructiva.

# Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de deixar a minha enorme apreciação e agradecimento ao Professor Manuel Caneira por ter aceite orientar a minha tese, por me ter inspirado desde a primeira lição, e por ter-se disponibilizado, desde o primeiro momento, a guiarme e a ajudar-me. Também ao Professor Guimarães Ferreira, um enorme agradecimento à sua disponibilidade e inspiração, que ajudaram a moldar este trabalho.

À minha família, por todos os momentos de que tivemos de abdicar e deixar meios por viver. Por nunca terem deixado o meu lado. Por me terem sempre recebido com carinho, sorrisos e amor infindável. Não poderia, sendo esta a minha tese, deixar passar um agradecimento especial à minha tia Augusta, que desde sempre foi a minha inspiração e referência para o que um médico realmente deve ser. Sem ela estas páginas não estariam aqui.

Aos meus avós, pela sagacidade e carinho que sempre me transmitiram, por serem modelos de vida em todos os sentidos da palavra. Sinto-me e sempre me senti extremamente afortunado por vos ter como segundos pais. Cresci e cresço sempre com os vossos ensinamentos ao meu lado.

Aos meus pais, por tanto terem lutado, sofrido e perseverado lado a lado, comigo, tanto nos momentos mais fáceis como especialmente nos mais difíceis. Estas páginas são tanto vossas como minhas. Não existem palavras para o que vos devo, nem o quão grato estou por serem exactamente quem são. Trago-vos sempre comigo e tenho orgulho de me poder chamar vosso filho.

Ao meu irmão por ser uma constante fonte de amizade, compreensão, inspiração e camaradagem, sem o qual eu não seria nem metade de quem sou hoje.

A ti, por tudo. Pelo teu porto seguro. Pela tua amizade e carinho, que brotam duma fonte infindável. Por seres mais do que eu alguma vez poderia imaginar e por me fazeres acreditar que nada é impossível.

À minha avó e ao meu padrinho, que já não chegaram a poder ler estas páginas, mas que seguramente estiveram comigo enquanto as escrevi.

# Bibliografia

- [1] International Agency for Research on Cancer, “Cancer Fact Sheets - Breast,” 2018. [Online]. Available: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>. [Acedido em 21 Fevereiro 2019].
- [2] D. R. Youlten, S. M. Cramb, N. A. Dunn, J. M. Muller, C. M. Pyke e P. D. Baade, “The descriptive epidemiology of breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality,” *Cancer Epidemiology*, vol. 36, nº 3, pp. 237-248, 2012.
- [3] J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. M. Parkin, D. Forman e F. Bray, “Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012,” *International Journal of Cancer*, vol. 136, nº 5, pp. e359-386, 2015.
- [4] L. A. Gottschalk e J. Hoigaaard-Martin, “The emotional impact of mastectomy,” *Psychiatry Research*, vol. 17, nº 2, pp. 153-167, 1986.
- [5] G. Margolis, R. L. Goodman e A. Rubin, “Psychological effects of breast-conserving cancer treatment and mastectomy,” *Psychosomatics*, vol. 31, nº 1, pp. 33-39, 1990.
- [6] A. Y. Zhang e J. G. Meine, “Flaps and Grafts Reconstruction,” *Dermatologic Clinics*, vol. 29, nº 2, pp. 217-230, 2011.
- [7] V. Czerny, “Plastischer ersatz der brustdruse durch ein lipom,” *Verhandl Deutsche Ges Chir*, vol. 24, pp. 216-217, 1895.
- [8] H. Riyat, L. L. Touil, M. Briggs e K. Shokrollahi, “Autologous fat grafting for scars, healing and pain: a review,” *Scars, Burns & Healing*, vol. 3, pp. 1-16, 2017.
- [9] P. C. Neligan, *Plastic Surgery - Breast*, 4ª ed., vol. 5, Londres, Inglaterra: Elsevier, 2018.
- [10] E. Cigna, D. Ribuffo, V. Sorvillo, M. Atzeni, A. Piperno, P. G. Calò e N. Scuderi, “Secondary lipofilling after breast reconstruction with implants,” *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, vol. 16, nº 12, pp. 1729-1734, 2012.
- [11] A. Hamza, V. Lohsiriwat e M. Rietjens, “Lipofilling in breast cancer surgery,” *Gland Surgery*, vol. 2, nº 1, pp. 7-14, 2013.
- [12] E. Delay, S. Garson, G. Tousson e R. Sinna, “Fat Injection to the Breast: Technique, Results and Indications Based on 880 Procedures Over 10 Years,” *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 29, nº 5, pp. 360-376, 2009.
- [13] R. K. Khouri, M. Eisenmann-Klein, E. Cardoso, B. C. Cooley, D. Kacher, E. Gombos e T. J. Baker, “Brava and Autologous Fat Transfer Is a Safe and Effective Breast Augmentation Alternative: Results of a 6-Year, 81-Patient, Prospective Multicenter Study,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, pp. 1173-1187, 2012.
- [14] S. Coleman e A. Saboeiro, “Fat Grafting to the Breast Revisited: Safety and Efficacy,”

*Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 119, n° 3, pp. 775-785, 2007.

- [15] J. S. Carpenter, M. A. Andrykowski, P. Sloan, L. Cunningham, M. J. Cordova, J. L. Studts, P. C. McGrath, D. Sloan e D. E. Kenady, "Postmastectomy/Postlumpectomy Pain in Breast Cancer Survivors," *Journal of Clinical Epidemiology*, vol. 51, n° 12, pp. 1285-1292, 1998.
- [16] R. Cuomo, I. Zerini, G. Botteri, L. Barberi, G. Nisi e C. D'Aniello, "Postsurgical Pain Related to Breast Implant: Reduction with Lipofilling Procedure," *In vivo*, vol. 28, n° 5, pp. 993-996, 2014.
- [17] S. Huang, S. H. Wu, K. P. Chang, C. H. Lin, C. H. Chang, Y. C. Wu, S. S. Lee e C. S. Lai, "Alleviation of neuropathic scar pain using autologous fat grafting," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 74, n° S2, pp. S99-104, 2015.
- [18] D. Ulrich, F. Ulrich, L. van Doorn e S. Hovius, "Lipofilling of perineal and vaginal scars: a new method for improvement of pain after episiotomy and perineal laceration," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 129, n° 3, pp. 593e-594e, 2012.
- [19] F. Caviglioli, L. Maione, D. Forcellini, F. Klinger e M. Klinger, "Autologous fat graft in postmastectomy pain syndrome," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 128, n° 2, pp. 349-352, 2011.
- [20] F. Simonacci, N. Bertozzi, M. Pio Grieco, E. Grignaffini e E. Rapisio, "Procedure, applications and outcomes of autologous fat grafting," *Annals of Medicine and Surgery*, vol. 20, pp. 49-60, 2017.
- [21] E. Bellini, M. P. Grieco e E. Rapisio, "The science behind autologous fat grafting," *Annals of Medicine and Surgery*, vol. 24, pp. 65-73, 2017.
- [22] E. R. Zielins, E. A. Brett, M. T. Longaker e D. C. Wan, "Autologous Fat Grafting: The Science Behind the Surgery," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 36, n° 4, pp. 488-496, 2016.
- [23] British Association of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgeons, "Lipomodelling Guidelines for Breast Surgery - Joint Guidelines from the Association of Breast Surgery, the British Association of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgeons, and the British Association of Aesthetic Plastic Surgeons," Agosto 2012. [Online]. Available: <http://www.bapras.org.uk/docs/default-source/commissioning-and-policy/2012-august-lipomodelling-guidelines-for-breast-surgery.pdf?sfvrsn=0>. [Acedido em 24 Fevereiro 2019].
- [24] A. Gabriel, C. M. Champaneria e G. P. Maxwell, "Fat grafting and breast reconstruction: tips for ensuring predictability," *Gland Surgery*, vol. 4, n° 3, pp. 232-243, 2015.
- [25] T. M. Gause, II, R. E. Kling, W. N. Sivak, K. G. Marra, J. P. Rubin e L. E. Kokai, "Particle size in fat graft retention: A review on the impact of technique in lipofilling surgical outcomes," *Adipocyte*, vol. 3, n° 4, pp. 273-279, 2014.
- [26] T. K. Krastev, S. J. Schop, J. Hommes, A. A. Piatkowski, E. M. Heuts e R. R. W. J. van der Hulst, "Meta-analysis of the oncological safety of autologous fat transfer after breast cancer," *The British Journal of Surgery*, vol. 105, n° 9, pp. 1082-1097, 2018.

- [27] M. R. Kaufman, T. A. Miller, C. Huang, J. Roostacian, K. L. Wasson, R. K. Ashley e J. P. Bradley, "Autologous fat transfer for facial recountouring: is there science behind the art?," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 119, n° 7, pp. 2287-2296, 2007.
- [28] D. Kakagia e N. Pallua, "Autologous Fat Grafting: In Search of the Optimal Technique," *Surgical Innovation*, vol. 21, n° 3, pp. 327-336, 2014.
- [29] M. Keck, J. Kober, O. Riedl, H. B. Kitzinger, S. Wolf, T. M. Stulnig, M. Zeyda e A. Gugerell, "Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 67, n° 1, pp. e1-8, 2014.
- [30] L. L. Pu, S. Coleman, X. Cui, R. E. Ferguson Jr e H. C. Vasconez, "Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 122, n° 3, pp. 932-937, 2008.
- [31] J. H. Moore Jr., J. W. Kolaczynski, L. Morales, R. V. Considine, Z. Pietrzkowski, P. F. Noto e J. Caro, "Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 19, n° 4, pp. 335-339, 1995.
- [32] M. Livaoglu, C. K. Buruk, M. Uraloglu, S. Ersöz , A. Livaoglu, E. Sözen e O. Agdoğan, "Effects of lidocaine plus epinephrine and prilocaine on autologous fat graft survival," *Journal of Craniofacial Surgery*, vol. 23, n° 4, pp. 1015-1018, 2012.
- [33] K. E. Weichman e S. M. Warren, "Effects of lidocaine plus epinephrine and prilocaine on autologous fat graft survival," *Journal of Craniofacial Surgery*, vol. 23, n° 4, p. 1019, 2012.
- [34] T. Agostini, D. Lazzeri, A. Pini, G. Marino, A. Li Quattrini, D. Bani e M. Dini, "Wet and dry techniques for structural fat graft harvesting: histomorphometric and cell viability assessments of lipoaspirated samples.," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 130, n° 2, pp. 331e-339e, 2012.
- [35] A. M. Gonzalez, C. Loboeki, C. P. Kelly e I. T. Jackson, "An alternative method for harvest and processing fat grafts: an in vitro study of cell viability and survival," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 120, n° 1, pp. 285-294, 2007.
- [36] R. E. Ferguson, X. Cui, B. F. Fink, H. C. Vasconez e L. L. Pu, "The viability of autologous fat grafts harvested with the LipiVage system: a comparative study," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 60, n° 5, pp. 594-597, 2008.
- [37] R. J. Rohrich, E. S. Sorokin e S. A. Brown, "In Search of Improved Fat Transfer Viability: A Quantitative Analysis of the Role of Centrifugation and Harvest Site," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 113, n° 1, pp. 391-395, 2004.
- [38] S. M. Lam, R. A. Glasgold e M. J. Glasgold, "Fat Harvesting Techniques for Facial Fat Transfer," *Facial Plastic Surgery*, vol. 25, n° 1, pp. 356-361, 2010.
- [39] A. V. Padoin, J. Braga-Sliva, P. Martins, K. Rezende, A. R. Rezende, B. Grechi, D. Gehlen e D. C. Machado, "Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 122, n° 2, pp. 614-618, 2008.

- [40] A. Condé-Green, L. S. Baptista, N. F. Gontijo de Amorim, E. D. Oliveira, K. R. Silva, C. G. Pedrosa, R. Borojevic e I. Pitanguy, "Effects of Centrifugation on Cell Composition and Viability of Aspirated Adipose Tissue Processed for Transplantation," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 30, n° 2, pp. 249-255, 2010.
- [41] I. Sarfati, R. F. D. van la Parra, C. A. Terem-Rapoport, D. Benyahi, C. Nos e K. B. Clough, "A prospective randomized study comparing centrifugation and sedimentation for fat grafting in breast reconstruction," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 70, n° 9, 2017.
- [42] D. J. Gerth, B. King, L. Rabach, R. A. Glasgold e M. J. Glasgold, "Long-Term Volumetric Retention of Autologous Fat Grafting Processed With Closed-Membrane Filtration," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 34, n° 7, pp. 985-994, 2014.
- [43] S. R. Coleman, "Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 118, n° 108S, 2006.
- [44] A. Condé-Green, I. Wu, I. Graham, J. J. Chae, C. B. Drachenberg, D. P. Singh, L. Holton III, S. Slezak e J. Elisseff, "Comparison of 3 Techniques of Fat Grafting and Cell-Supplemented Lipotransfer in Athymic Rats: A Pilot Study," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 33, n° 5, pp. 713-721, 2013.
- [45] L. Hoareau, K. Bencharif, A.-C. Girard, L. Gence, P. Delarue, O. Hulard, F. Festy e R. Roche, "Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: A new method to improve graft efficiency," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 66, n° 5, pp. 712-719, 2013.
- [46] K.-W. Minn, K.-H. Min, H. Chang, S. Kim e E.-J. Heo, "Effects of Fat Preparation Methods on the Viabilities of Autologous Fat Grafts," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 34, n° 5, pp. 626-631, 2010.
- [47] P. Gentile, M. G. Scioli, A. Orlandi e V. Cervelli, "Breast Reconstruction with Enhanced Stromal Vascular Fraction Fat Grafting: What Is The Best Method?," *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*, vol. 3, p. e406, 2015.
- [48] M. Pfaff e E. Zeliner, "Processing Technique for Lipofilling Influences Adipose-Derived Stem Cell Concentration and Cell Viability in Lipoaspirate," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 38, n° 1, pp. 224-229, 2014.
- [49] H. M. Salinas, G. F. Broelsch, J. R. Fernandes, M. C. McCorkmack, A. M. Meppelink, M. A. Randolph, A. S. Colwell e W. G. Austen Jr., "Comparative Analysis of Processing Methods in Fat Grafting," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 134, n° 4, pp. 675-683, 2104.
- [50] Y. Ramon, O. Shoshani, I. J. Peled, A. Gilhar, N. Carmi, L. Fodor, Y. Risin e Y. Ullmann, "Enhancing the Take of Injected Adipose Tissue by a Simple Method for Concentrating Fat Cells," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 115, n° 1, pp. 197-203, 2005.
- [51] J. G. Rose Jr., M. J. Lucarelli, B. N. Lemke, R. K. Dortzbach, C. A. Boxrud, S. Obagi e S. Patel, "Histologic Comparison of Autologous Fat Processing Methods," *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 22, n° 3, pp. 195-200, 2006.

- [52] P. Smith, W. P. Adams Jr., A. H. Lipschitz, B. Chau, E. Sorokin, R. J. Rohrich e S. A. Brown, "Autologous Human Fat Grafting: Effect of Harvesting and Preparation Techniques on Adipocyte Graft Survival," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 117, n° 6, pp. 1836-1844, 2006.
- [53] R. Khater, P. Atanassova, Y. Anastassov, P. Pellerin e V. Martinot-Duquennoy, "Clinical and Experimental Study of Autologous Fat Grafting After Processing by Centrifugation and Serum Lavage," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 33, pp. 37-43, 2008.
- [54] H. Eto, H. Kato, H. Suga, N. Aoi, K. Doi, S. Kuno e K. Yoshimura, "The Fate of Adipocytes after Nonvascularized Fat Grafting: Evidence of Early Death and Replacement of Adipocytes," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 129, n° 5, pp. 1081-1092, 2012.
- [55] A. Condé-Green, N. F. Gontijo de Amorim e I. Pitanguy, "Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: A comparative study," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 63, n° 8, pp. 1375-1381, 2010.
- [56] G. A. Ferraro, F. De Francesco e V. Tirino, "Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 35, n° 3, pp. 341-348, 2011.
- [57] A. M. Pulsfort, T. P. Wolter e N. Pallua, "The Effect of Centrifugal Forces on Viability of Adipocytes in Centrifuged Lipoaspirates," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 66, n° 3, pp. 292-295, 2011.
- [58] M. Zhu, S. R. Cohen, K. C. Hicok, R. K. Shanahan, B. M. Strem, J. C. Yu, D. M. Arm e J. K. Fraser, "Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 131, n° 4, pp. 873-880, 2013.
- [59] A.-C. Girard, S. Mirbeau, L. Gence, V. Hivernaud, P. Delarue, O. Hulard, F. Festy e R. Roche, "Effect of Washes and Centrifugation on the Efficacy of Lipofilling With or Without Local Anesthetic," *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*, vol. 3, n° 8, p. e496, 2015.
- [60] C. Rubino, V. Mazzarello, M. Faenza, A. Montella, F. Santanelli e F. Farace, "A Scanning Electron Microscope Study and Statistical Analysis of Adipocyte Morphology in Lipofilling," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 74, n° 6, pp. 718-721, 2015.
- [61] P. Palumbo, G. Miconi, B. Cinque, C. La Torre, F. Lombardi, G. Zoccali, G. Orsini, P. Leocata, M. Giuliani e M. G. Cifone, "In vitro evaluation of different methods of handling human liposuction aspirate and their effects on adipocytes and adipose derived stem cells," *Journal of Cell Physiology*, vol. 230, n° 8, pp. 1974-1981, 2015.
- [62] L. Baptista, K. R. Silva, R. Borojevic e C. Pedrosa, "Processing of Lipoaspirate Samples for Optimal Mesenchymal Stem Cells Isolation," em *Advanced Techniques in Liposuction and Fat Transfer*, IntechOpen, 2011.
- [63] E. C. Cleveland, N. J. Albano e A. Hazen, "Roll, Spin, Wash or Filter? Processing of Lipoaspirate for Autologous Fat Grafting: An Updated, Evidence-Based Review of the

- Literature,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 136, n° 4, pp. 706-713, 2015.
- [64] G. Botti, M. Pascali, C. Botti, F. Bodog e V. Cervelli, “A clinical trial in facial fat grafting: filtered and washed versus centrifuged fat,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 127, n° 6, pp. 464-473, 2011.
- [65] C. Fisher, T. L. Grahovac, M. E. Schafer, R. D. Shippert, K. G. Marra e J. P. Rubin, “Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation,” *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 132, n° 2, pp. 351-361, 2013.
- [66] A. Kasem, U. Wazir, H. Headon e K. Mokbel, “Breast Lipofilling: A Review of Current Practice,” *Archives of Plastic Surgery*, vol. 42, n° 2, pp. 126-130, 2015.
- [67] T. Fontes, I. Brandão, R. Negrão, M. J. Martins e R. Monteiro, “Autologous fat grafting: Harvesting techniques,” *Annals of Medicine and Surgery*, vol. 36, pp. 212-218, 2018.
- [68] A. Nguyen, J. Guo, D. A. Banyard, D. Fadavi, J. D. Toranto, G. A. Wirth, K. Z. Paydar, G. R. D. Evans e D. A. Widgerow, “Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature,” *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 69, n° 2, pp. 170-179, 2016.
- [69] M. Zhu, Z. Zhengyu, Y. Chen, R. Schreiber, J. T. Ransom, J. K. Fraser, M. H. Hedrick, K. Pinkernell e H.-C. Kuo, “Supplementation of Fat Grafts With Adipose-Derives Regenerative Cells Improves Long-Term Graft Retention,” *Annals of Plastic Surgery*, vol. 64, n° 2, pp. 222-228, 2010.
- [70] K. Yoshimura, T. Shigeura, D. Matsumoto, T. Sato, Y. Takaki, E. Aiba-Kojima, K. Sato, K. Inoue, T. Nagase, I. Koshimura e K. Gonda, “Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates,” *Journal of Cell Physiology*, vol. 208, n° 1, pp. 64-76, 2006.
- [71] H. Eto, H. Suga, D. Matsumoto, K. Inoue, N. Aoi, H. Kato, J. Araki e K. Yoshimura, “Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue,” *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 124, n° 4, pp. 1087-1097, 2009.
- [72] M. Dashty, “Differential Role of AMP-Activated Protein Kinase in Brown and White Adipose Tissue Components and Its Consequences in Metabolic Diseases,” *Journal of Diabetes & Metabolism*, vol. 5, n° 7, 2014.
- [73] L. Aust, B. Devlin, S. J. Foster, Y. D. Halvorsen, K. Hicok, T. du Laney, A. Sen, G. D. Willingmyre e J. M. Gimble, “Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates,” *Cytotherapy*, vol. 6, n° 1, pp. 7-14, 2004.
- [74] L. Frese, P. E. Dijkman e S. P. Hoerstrup, “Adipose Tissue-Derived Stem Cells in Regenerative Medicine,” *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, vol. 43, n° 4, pp. 268-274, 2016.
- [75] P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. J. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz e M. H. Hedrick, “Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies,” *Tissue Engineering*, vol. 7, n° 2, pp. 211-228, 2001.
- [76] C. Scanarotti, A. M. Bassi, M. Catalano, C. Guida, R. Coradeghini, C. Falugi, M. Aluigi, P. Santi e E. Raposio, “Neurogenic-committed human pre-adipocytes express CYP1A

- isoforms,” *Chemico-Biological Interactions*, vol. 184, n° 3, pp. 474-483, 2010.
- [77] E. Raposio, C. Guida, I. Baldelli, F. Benvenuto, M. Curto, L. Paleari, F. Filippi, R. Fiocca, G. Robello e P. L. Santi, “Characteriation and inducton of huma pre-adipocytes,” *Toxicology In Vitro*, vol. 21, n° 2, pp. 330-334, 2007.
- [78] R. Coradeghini, C. Guida, C. Scanarotti, R. Sanguineti, A. M. Bassi, A. Parodi, P. L. Santi e E. Raposio, “A Comparative Study of Proliferation and Hepatic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells,” *Cells Tissues Organs*, vol. 191, pp. 466-477, 2010.
- [79] M. G. Alugi, R. Coradeghini, C. Guida, C. Scanarotti, A. M. Bassi, C. Falugi, P. Santi e E. Raposio, “Pre-adipocytes commitment to neurogenesis 1: Preliminary localisation of cholinergic molecules,” *Cell Biology International*, vol. 33, n° 5, pp. 594-601, 2009.
- [80] K. Yoshimura, H. Suga e H. Eto, “Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodelling and potential use for soft tissue augmentation,” *Regenerative medicine*, vol. 4, n° 2, pp. 265-273, 2009.
- [81] K. Yoshimura, H. Eto, H. Kato, K. Doi e N. Aoi, “In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction,” *Regenerative Medicine*, vol. 6, n° 6, pp. 33-41, 2011.
- [82] K. Yoshimura, K. Sato, A. Noriyuki, M. Kurita, T. Hirohi e K. Harii, “CellAssisted Lipotransfer for Cosmetic Breast Augmentation: Supportive Use of Adipose-Derived Stem/Stromal Cells,” *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 32, n° 1, pp. 48-55, 2008.
- [83] H. Suga, H. Eto, N. Aoi, H. Kato, J. Araki, K. Doi, T. Higashino e K. Yoshimura, “Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells,” *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 126, n° 6, pp. 1911-1923, 2010.
- [84] S. Sadat, S. Gehmert, Y. H. Song, Y. Yen, X. Bai, S. Gaiser, H. Klein e E. Alt, “The cardioprotective effect of mesenchymal stem cells is mediated by IGF-I and VEGF,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 363, n° 3, pp. 674-679, 2007.
- [85] D. Matsumoto, K. Sato, K. Gonda, Y. Takaki, T. Shigeura, T. Sato, E. Aiba-Kojima, F. Iizuka, K. Inoue, H. Suga e K. Yoshimura, “Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection,” *Tissue Engineering*, vol. 12, n° 2, pp. 3375-3382, 2006.
- [86] S. Han, H. M. Sun, K.-C. Hwang e S.-W. Kim, “Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility,” *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, vol. 25, n° 2, pp. 145-152, 2015.
- [87] K. Yoshimura, K. Sato, N. Aoi, M. Kurita, T. Hirohi e K. Harii, “Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells,” *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 32, n° 1, pp. 48-57, 2008.
- [88] N. M. Toyserkani, M. L. Quaade e J. A. Sorensen, “Cell-Assisted Lipotransfer: A Systematic Review of its Efficacy,” *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 40, n° 2, pp. 309-318, 2016.

- [89] E. R. Zielins, E. A. Brett, C. P. Blackshear, J. Flacco, R. C. Ransom, M. T. Longaker e D. C. Wan, "Purified Adipose-Derived Stromal Cells Provide Superior Fat Graft Retention Compared with Unenriched Stromal Vascular Fraction," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 139, n° 4, pp. 911-914, 2017.
- [90] C. H. Chiu, "Does Stromal Vascular Fraction Ensure a Higher Survival in Autologous Fat Grafting for Breast Augmentation? A Volumetric Study Using 3-Dimensional Laser Scanning," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 39, n° 1, pp. 41-52, 2019.
- [91] P. Kontoes e G. Gounaris, "Complications of Fat Transfer for Breast Augmentation," *Aesthetic Plastic Surgery*, p. Published online, 2017.
- [92] C. W. Chan, S. J. McCulley e R. D. Macmillan, "Autologous fat transfer -- a review of the literature with a focus on breast cancer surgery," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 61, n° 12, pp. 1438-1448, 2008.
- [93] S. R. Coleman, "Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 19, n° 5, pp. 421-425, 1995.
- [94] S. L. Spear, H. B. Wilson e M. D. Lockwood, "Fat injection to correct contour deformities in the reconstructed breast," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 116, n° 5, pp. 1300-1305, 2005.
- [95] N. Scuderi e B. A. Toth, *International Textbook of Aesthetic Surgery*, Berlin: Springer, 2016.
- [96] D. von Heimburg, K. Hemmrich, S. Zachariah, H. Staiger e N. Pallua, "Oxygen consumption in undifferentiated versus differentiated adipogenic mesenchymal precursor cells," *Respiratory Physiology & Neurobiology*, vol. 146, n° 2-3, pp. 107-116, 2005.
- [97] D. Del Vecchio e R. J. Rohrich, "A classification of clinical fat grafting: different problems, different solutions," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 130, n° 3, pp. 511-522, 2012.
- [98] J. C. Kirkham, J. H. Lee e W. G. Austen, "Fat graft survival: physics matters: invited commentary to "The impact of liposuction cannula size on adipocyte viability"," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 73, n° 3, p. 359, 2014.
- [99] D. Tambasco, V. Arena, V. Finocchi, F. Grussu e D. Cervelli, "The impact of liposuction cannula size on adipocyte viability," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 73, n° 2, pp. 249-251, 2014.
- [100] Z. Ozsoy, Z. Kul e A. Bilir, "The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 26, n° 3, pp. 287-289, 2006.
- [101] M. Erdim, E. Tezel, A. Numanoglu e A. Sav, "The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 62, n° 9, pp. 1210-1214, 2009.
- [102] V. Hivernaud, B. Lefourn, J. Guicheux, P. Weiss, F. Festy, A. C. Girard e R. Roche, "Autologous Fat Grafting in the Breast: Critical Points and Technique Improvements.,"

*Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 39, n° 4, p. 547-561, 2015.

- [103] K. Yoshimura e S. R. Coleman, “Complications of Fat Grafting: How They Occur and How to Find, Avoid, and Treat Them,” *Clinics in Plastic Surgery*, vol. 42, pp. 383-388, 2015.
- [104] H. A. Khawaja e E. Hernández-Pérez, “Fat Transfer Review: Controversies, Complications, Prevention and Treatment,” *International Journal of Cosmetic Surgery and Aesthetic Dermatology*, vol. 4, n° 2, pp. 131-138, 2002.
- [105] H. Hyakusoku, R. Ogawa, S. Ono, I. Nobuaki e K. Hirakawa, “Complications after Autologous Fat Injection to the Breast,” *Plastic Reconstructive Surgery Journal*, vol. 123, n° 1, pp. 360-370, 2009.
- [106] M. Veber, C. Tourasse, G. Toussoun, M. Moutran, A. Mojallal e E. Delay, “Radiographic findings after breast augmentation by autologous fat transfer,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 127, n° 3, pp. 1289-1299, 2011.
- [107] R. P. Parikh, E. L. Doren, B. Mooney, W. V. Sun, C. Laronga e P. D. Smith, “Differentiating fat necrosis from recurrent malignancy in fat-grafted breast: an imaging classification system to guide management,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 130, n° 4, pp. 761-772, 2012.
- [108] S. R. Pulagam, T. Poulton e E. P. Mamounas, “Long-term clinical and radiologic results with autologous fat transplantation for breast augmentation: case reports and review of the literature,” *Breast Journal*, vol. 12, n° 1, pp. 63-65, 2006.
- [109] Gutowski, K. A.; ASPS Fat Graft Task Force, “Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force,” *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 124, n° 1, pp. 272-280, 2009.
- [110] S. O'Grady e M. P. Morgan, “Microcalcifications in breast cancer: From pathophysiology to diagnosis and prognosis,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, vol. 1869, n° 2, pp. 310-320, 2018.
- [111] S. G. Talbot, B. M. Parrett e M. J. Yaremchuk, “Sepsis after autologous fat grafting,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 126, n° 4, pp. 162e-164e, 2010.
- [112] K. E. Freese, L. Kokai, R. P. Edwards, B. J. Philips, M. A. Sheik, J. Kelley, J. Comerci, K. G. Marra, J. P. Rubin e F. Linkov, “Adipose-Derived Stem Cells and Their Role in Human Cancer Development, Growth, Progress and Metastasis: A Systematic Review,” *Cancer Research*, vol. 75, n° 7, pp. 1161-1168, 2015.
- [113] V. Eterno, A. Zambelli, L. Pavesi, L. Vilani, V. Zanini, G. Petrolo, S. Manera, A. Tuscano e A. Amato, “Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells (ASCs) may favour breast cancer recurrence via HGF/c-Met signaling,” *Oncotarget*, vol. 15, n° 5, pp. 613-633, 2014.
- [114] L. Kucerova, M. Kovacovicova, S. Polak, M. Bohac, J. Fedeles, D. Palencar e M. Matuskova, “Interaction of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells with breast cancer cells,” *Neoplasma*, vol. 58, n° 5, pp. 361-370, 2011.

- [115] M. L. Zocchi e F. Zuliani, "Bicompartmental breast lipostructuring," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 32, n° 2, pp. 313-328, 2008.
- [116] A. K. Seth, E. M. Hirsch, J. Y. Kim e N. A. Fine, "Long-term outcomes following fat grafting in prosthetic breast reconstruction: a comparative analysis.," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 130, n° 5, pp. 984-990, 2012.
- [117] J. Y. Petit, E. Botteri, V. Lohsiriwat, M. Rietjens, F. De Lorenzi, C. Garusi, F. Rossetto, S. Martella, A. Manconi, F. Bertolini, G. Curigliano, P. Veronesi, B. Santillo e N. Rotmensz, "Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients," *Annals of Oncology*, vol. 23, n° 3, pp. 582-588, 2012.
- [118] M. Alperovich, Z. H. Lee, P. L. Friedlander, B. G. Rowan, J. M. Gimble e E. S. Chiu, "Adipose stem cell therapy in cancer reconstruction: a critical review," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 73, pp. S104-107, 2014.
- [119] J. Y. Petit, M. Rietjens, E. Botteri, N. Rotmensz, F. Bertolini, G. Curigliano, P. Rey, C. Garusi, F. De Lorenzi, S. Martella, A. Manconi, B. Barbieri, P. Veronesi, M. Intra, T. Brambullo, A. Gottardi, M. Sommaro, G. Lomeo, M. Iera, V. Giovinazzo e V. Lohsiriwat, "Evaluation of fat grafting safety in patients with intraepithelial neoplasia: a matched-cohort study," *Annals of Oncology*, vol. 24, n° 6, pp. 1479-1484, 2014.
- [120] J. Laloze, A. Varin, J. Gilhodes, N. Bertheuil, J. L. Grolleau, J. Brie, L. Sensebe, T. Filleron e B. Chaput, "Cell-assisted lipotransfer: Friend or foe in fat grafting? Systematic review and meta-analysis," *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 12, n° 2, pp. e1237-e1250, 2018.
- [121] R. K. Khouri, R.-E. R. Khouri, J. R. Lujan-Hernandez, K. R. Khouri, L. Lancerotto e D. P. Orgill, "Diffusion and Perfusion: The Keys to Fat Grafting," *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*, vol. 2, n° 9, p. e220, 2014.
- [122] A. A. Fokin e F. Robicsek, "Poland's syndrome revisited," *The Annals of Thoracic Surgery*, vol. 74, n° 6, pp. 2218-2225, 2002.
- [123] J.-P. Bouvet, D. Leveque, F. Bernetieres e J.-J. Gros, "Vascular origin of Poland syndrome?," *European Journal of Pediatrics*, vol. 128, n° 1, pp. 17-26, 1978.
- [124] R. C. Shamberger, K. J. Welch e J. Upton III, "Surgical treatment of thoracic deformity in Poland's Syndrome," *Journal of Pediatric Surgery*, vol. 24, n° 8, pp. 760-766, 1989.
- [125] N. Brault, A. Stivala, D. Guillier, V. Moris, M. Revol, C. François e S. Cristofari, "Correction of tuberous breast deformity: a retrospective study comparing lipofilling versus implant breast augmentation," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 70, n° 5, pp. 585-595, 2017.
- [126] A. D. Mandrekas e G. J. Zambacos, "Aesthetic Reconstruction of the Tuberous Breast Deformity: A 10-Year Experience," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 30, n° 5, pp. 680-692, 2010.
- [127] M. G. Berry e D. Davies, "Liposuction: a review of principles and techniques," *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 64, n° 8, pp. 985-992, 2011.

- [128] R. M. Garza, K. J. Paik, M. Chung, D. Duscher, G. C. Gurtner, M. T. Longaker e D. C. Wan, "Studies in fat grafting: Part III. Fat grafting irradiated tissue -- improved skin quality and decreased fat graft retention," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 134, n° 2, pp. 249-257, 2014.
- [129] L. Shukla, W. A. Morrison e R. Shayan, "Adipose-derived stem cells in radiotherapy injury: a new frontier," *Frontiers in Surgery*, vol. 2, n° 1, 2015.
- [130] V. D. Thanik, C. C. Chang, R. A. Zoumalan, O. Z. Lerman, R. J. Allen Jr., P. D. Nguyen, S. M. Warren, S. R. Coleman e A. Hazen, "A novel mouse model of cutaneous radiation injury," *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 127, n° 2, pp. 560-568, 2011.