LIPOINYECCIÓN: CONCEPTOS BÁSICOS Y APLICACIÓN CLÍNICA

FAT GRAFTING: FUNDAMENTALS AND CLINICAL APPLICATION

DR. MANUEL MERUANE N. (1)

(1) Cirujano Plástico, Clínica Tabancura. Magíster en Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, Santiago, chile.

Email: mmeruane@vtr.net

RESUMEN

El injerto de grasa autóloga es actualmente un procedimiento común, tanto en cirugía estética como reconstructiva. Muchos avances en cirugía plástica se han generado con esta técnica y ha sido tema central de muchos congresos.

La técnica moderna de lipoinyección se ha popularizado por Coleman hace más de 20 años, quien ha sistematizado la técnica de cosecha, purificación e injerto. Con anterioridad esta técnica tenía una mala reputación por ser impredecible.

En el año 2001 Zuk y colaboradores demuestran que el tejido adiposo es una fuente de células madres mesenquimales, capaces de diferenciarse en otros tejidos. Si bien muchos estudios preclínicos soportan su beneficio, más estudios clínicos son necesarios para dilucidar su verdadero rol.

En el detalle de este artículo se discuten tópicos relevantes acerca del comportamiento del tejido adiposo como injerto, diferencias en las técnicas de procesamiento y rol de la criopreservación. En relación a la utilización actual de la lipoinyección se menciona su uso en rejuvenecimiento facial, cirugía corporal, mamaria y cirugía reconstructiva.

Palabras clave: Lipoinyección, procesamiento de tejido adiposo, Coleman, células madre, cirugía mamaria, rejuvenecimiento facial.

SUMMARY

Autologous fat grafting is now a popular procedure, both aesthetic as reconstructive surgery. Many advances in plastic surgery were generated with this technique and has been "hot topic" of many plastic surgery meetings.

Modern fat grafting technique has been popularized by Coleman over 20 years, who has systematized the technique of harvesting, purification and graft. Previously this technique had a bad reputation for being unpredictable.

In 2001 Zuk and colleagues demonstrated that adipose tissue have mesenchymal stem cells able to differentiate into other tissue source. While many preclinical studies support its benefit, more clinical studies are needed to elucidate its true role.

In this article detailing relevant topics about the behavior of adipose tissue as a graft, differences in processing techniques and the role of cryopreservation are discussed. In relation to the current use fat grafting, facial rejuvenation, body contouring, breast surgery and reconstructive surgery uses are mentioned.

Key words: Fat grafting, adipose tissue processing, Coleman, stem cells, breast surgery, facial rejuvenation.

Artículo recibido: 23-10-2015
Artículo aprobado para publicación: 29-12-2015

HISTORIA DE LA LIPOINYECCIÓN

En 1893 el cirujano alemán Gustav Neuber reporta el primer injerto de tejido adiposo desde el brazo a la región periorbitaria para corregir una secuela de osteomielitis (1). En 1895 otro alemán, Viktor Czerny, transfiere un lipoma a la mama para reestablecer simetría, posterior a una mastectomía parcial (2).

Antes del injerto en jeringas como lo conocemos ahora, el injerto graso se realizaba en bloque, a veces con dermis. El beneficio de este injerto fue descrito ampliamente por Erich Lexer (1867-1937) quien dedica más de 300 páginas de su libro a describir un amplio rango de aplicaciones clínicas desde la corrección de deformidades de contorno facial, a microsomía hemifacial, microgenia, asimetría mamaria, rigidez postraumática de mano y enfermedad de Dupuytren (3). Harold Gillies (1882-1960) en su libro "*Plastic Surgery of the face*" publica numerosos casos de la Primera Guerra Mundial tratados con injerto graso (4) (Figura 1). Los resultados posteriores del injerto graso no fueron muy buenos debido a la reabsorción impredecible y a la tendencia a formar quistes oleosos.

En 1926 Charles C. Miller de Chicago publica en su libro "*Cannula Implants*", el injerto graso con jeringas (5). Sin embargo, nunca fue popular hasta el advenimiento de la liposucción.

En la década de los 50 Lyndon Peer investiga el comportamiento del injerto graso al año, demostrando que cerca del 50% de las células adiposas se rompe y muere después del injerto, siendo reemplazado por tejido fibroso. Demostró además que la nueva circulación sanguínea se establece al día 4, de no ocurrir, el injerto muere (6).

En los 80 Pierre Founier (7) e Yves-Gerard Illouz (8), ambos de París, en forma independiente introducen la liposucción, un nuevo procedimiento para remover grasa del abdomen y muslos. Esta técnica tiene un gran éxito, se expande rápidamente y la reintroducción de la grasa aspirada se vuelve a explorar.

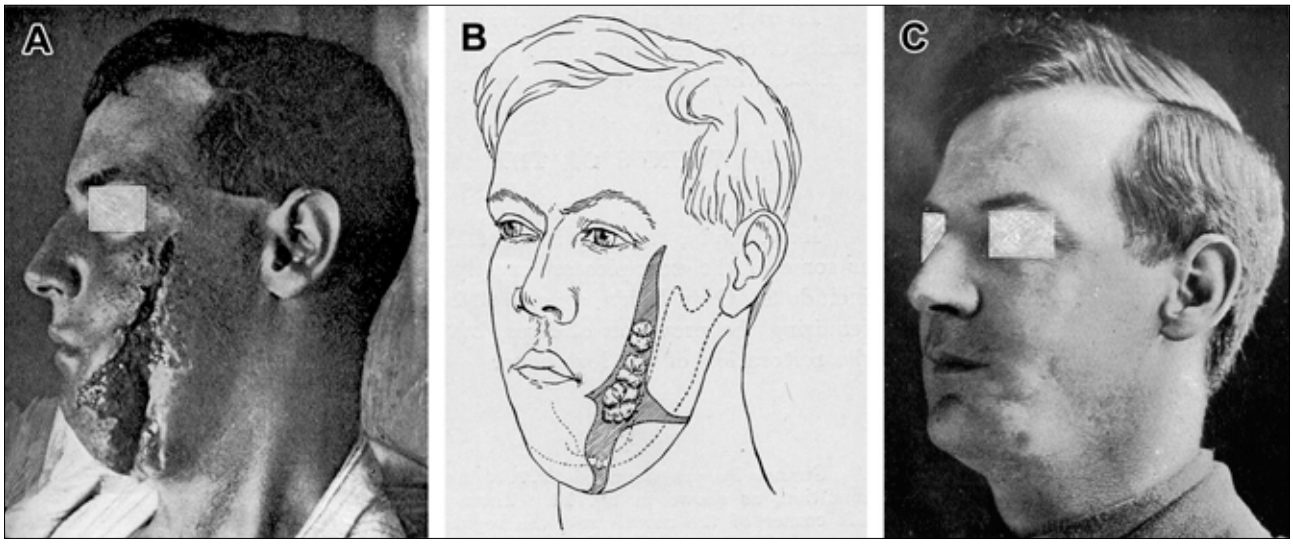
En los 90 Sydney Coleman sistematiza el procedimiento de lipoinyección. Sus recomendaciones fueron cosechar la grasa con una cánula roma de 3 mm conectada a una jeringa de 10 ml a baja presión negativa para disminuir el trauma, purificación de la grasa por medio de la centrifugación separando la capa oleosa y acuosa de los componentes adiposos, finalmente introducir la grasa en múltiples túneles con un contacto estrecho de un tejido receptor bien vascularizado, utilizando un cánula 18G (9, 10).

En el año 2001 un grupo de cirujanos plásticos e investigadores de Pittsburgh coordinados por Bill Futrell, demuestran que el tejido adiposo es una gran fuente de células madres mesenquimales adultas denominadas "células madres derivadas del tejido adiposo" (ASCs), capaces de diferenciarse en varios tejidos. Se identifica la fracción vascular estromal (SVF) como fuente de estas células (11, 12).

El año 2007 Gino Rigotti y colaboradores publican una serie de casos de tejidos irradiados tratados con injerto graso, atribuyendo esta propiedad regenerativa a las ASCs (13).

Es así como el injerto graso se ha constituido en una herramienta de relleno con expectativas regenerativas, objeto de estudio continuo en la actualidad.

FIGURA 1. SEGMENTOS DE GRASA PUESTOS EN UNA HERIDA, RESULTADOS FINALES



Gillies H. Plastic surgery of the face. London: Frowde, Hodder, Stoughton; 1920.

CÉLULAS MADRES DERIVADAS DEL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo ha emergido en los últimos 15 años como una excelente fuente de células aptas para ingeniería tisular y terapias regenerativas. El tejido adiposo más que un mero soporte de órganos, es un tejido complejo y dinámico que envuelve diversos procesos fisiológicos y patológicos. En los años 60, Rodbell (14) describe la separación del tejido adiposo en sus componentes celulares, lo que ha permitido comprender la existencia de células precursoras de adipositos y sus programas de diferenciación (15, 16). En el año 2001 Zuk y cols. muestran al tejido adiposo como una nueva fuente células madres mesenquimales con potencial de diferenciación multilinaje (11).

Las células madre derivadas del tejido adiposo (ASCs) se encuentran rodeando los vasos sanguíneos y en el tejido conectivo del tejido adiposo humano. Estas células estromales no lipídicas, se obtienen de la digestión enzimática del tejido adiposo y luego centrifugación (Figura 2), el pellet celular obtenido se compone de tipos celulares heterogéneos y se denomina fracción vascular estromal (SVF). Si las células del SVF son cultivadas a 37ºC con 5% de CO_2 por más de 8 horas, las células adheridas a la placa de cultivo corresponderán a las ASCs, las células no adherentes son eliminadas con solución buffer fosfato (Figura 3). Para expandir el número de ASCs se puede mantener las células en cultivo con un medio estándar consistente en DMEM (*Dulbecco´s Modified Eagle Medium*) con 10% de suero y 1% de antibióticos. Una vez en cultivo, se pueden agregar diferentes factores de crecimiento u otros aditivos para apreciar la diferenciación a un linaje celular específico como tejido adiposo, cartílago, hueso o músculo (17).

A las ASCs se las categoriza dentro del grupo de las células estromales mesenquimáticas multipotentes (*mesenchymal stem cells o MSCs*) que corresponden a células madres obtenidas de tejido adultos. La Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT) ha establecido criterios para poder denominar a una célula como MSC. Primero las MSC deben ser adherentes al plástico en condiciones de cultivo estándar. Segundo, 95% de las MSC medido por citometría de flujo debe expresar CD105, CD73 y CD90 y perder la expresión (2% positivo) para CD45, CD34, CD14 o CD11b, CD79a o CD19 y HLA clase II. Tercero estas células deben ser capaces de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condroblastos en condiciones de cultivo estándar (18) (Tabla 1).

FIGURA 2. DIGESTIÓN ENZIMÁTICA DE LA GRASA

A la izquierda se observa el tejido adiposo luego la digestión enzimática con colagenasa. A la derecha se aprecia el contenido luego de la centrifugación, el pellet contenido en el fondo del tubo corresponde a la fracción vascular estromal (SVF).

FIGURA 3. CÉLULAS ADHERENTES A LA PLACA DE CULTIVO, CARACTERIZADAS POR SU FORMA DE HUSO

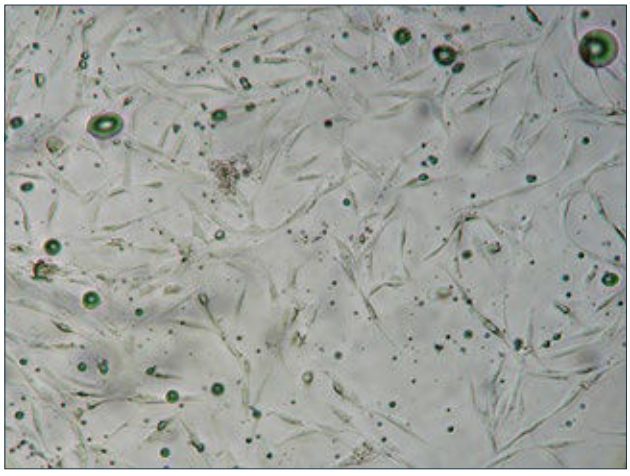


TABLA 1. CRITERIOS PARA IDENTIFICAR MSC

1. Adherencia al plástico en condiciones de cultivo estándar		
2. Fenotipo	Positivo (≥ 95%)	Negativo (≤ 2%)
	CD105	CD45
	CD73	CD34
	CD90	CD14 o CD11b
		CD79α o CD19
3. Diferenciación in Vitro: osteoblastos, adipositos, condroblastos (demostrado por tinción del cultivo celular)		

(Dominici el al.) ref 18.

Existen múltiples estudios preclínicos que evidencian el potencial regenerativo de las ASCs (17), ya sea por diferenciación directa en múltiples tejidos con el uso de factores de crecimiento o por un efecto estimulador paracrino de angiogénesis y proliferación celular (19, 20).

El principal problema actual es la falta de evidencia clínica para el amplio uso de este tipo de terapia, a la fecha hay más de 120 ensayos clínicos registrados en el sitio web del Instituto Nacional de Salud Norteamericano (clinicaltrials.gov) y muchas instituciones académicas, privadas y hospitales se encuentran realizando estudios con ASCs (21). Es cierto que ya existen protocolos de procesamiento de acuerdo a las guías de buenas prácticas de manufactura (GMP) (22), pero aún faltan estudios aleatorizados con resultados contundentes y además no hay un pronunciamiento favorable de las diferentes sociedades científicas en nivel mundial respecto al tema clínico.

Las regulaciones respecto el uso clínico de ASCs varían dependiendo del país. En Estados Unidos pueden ser consideradas como "producto tisular" o como "producto celular". Los productos tisulares deben cumplir normas estrictas de preparación, almacenamiento y transporte para ser utilizados, mientras que los productos celulares caen dentro de la categoría "droga biológica" y debe ser testeada su eficacia en estudios de fase 1, 2 y 3. Por lo tanto, el debate actual se centra en si la digestión enzimática y uso clínico de la SVF constituye mínima manipulación del tejido o se pasa a la categoría de droga biológica. En la última actualización de la FDA al respecto consideran la digestión enzimática y disrupción mecánica más que mínima manipulación de tejido, ya que se eliminan componentes estructurales de soporte, alterando las características originales del tejido (http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccinesGuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm427795.htm).

SOBREVIDA DEL TEJIDO ADIPOSO INJERTADO

La teoría clásica de "sobrevida celular" sostiene que el tejido adiposo trasplantado se mantiene vivo en tejido receptor si recibe una adecuada nutrición (23). Por otro lado, existe la teoría de "reemplazo celular" que sostiene que gran parte de los adipocitos mueren y son subsecuentemente reemplazados por una nueva generación durante los primeros tres meses. Esta novedosa teoría propuesta por Kotaro Yoshimura evidencia como las ASCs trabajan en respuesta a los cambios microambientales, tales como la isquemia y las fuerzas mecánicas (24, 25).

El tejido adiposo no es sólo un órgano almacenador de energía, también es un órgano endocrino, que libera múltiples hormonas como leptina y adiponectina, regulando homeostasis. Se compone de adipocitos, ASCs, células vasculares, pericitos, fibroblastos, macrófagos, linfocitos y tejido conectivo. El tamaño de un adipocito es entre 50 y 150 µm y vive aproximadamente 10 años en humanos. Las ASCs se localizan alrededor de los capilares, responden ante la isquemia liberando factor de crecimiento vascular y se diferencian en adipocitos y células endoteliales (26). Los adipocitos muy grandes de individuos obesos mueren de isquemia relativa y son rodeados por los macrófagos inflamatorios M1.

La remodelación del tejido adiposo es un balance entre la apotosis/necrosis y la adipogénesis mediada por las ASCs. En los tejido deficientes de células, como irradiados o crónicamente inflamados, cualquier tipo de remodelación del tejido adiposo o cicatrización se ven limitada; por lo que el injerto graso permitiría fertilizar este territorio y sería teóricamente la solución correcta (27). La atrofia adiposa de la edad sería un desbalance de este reemplazo celular.

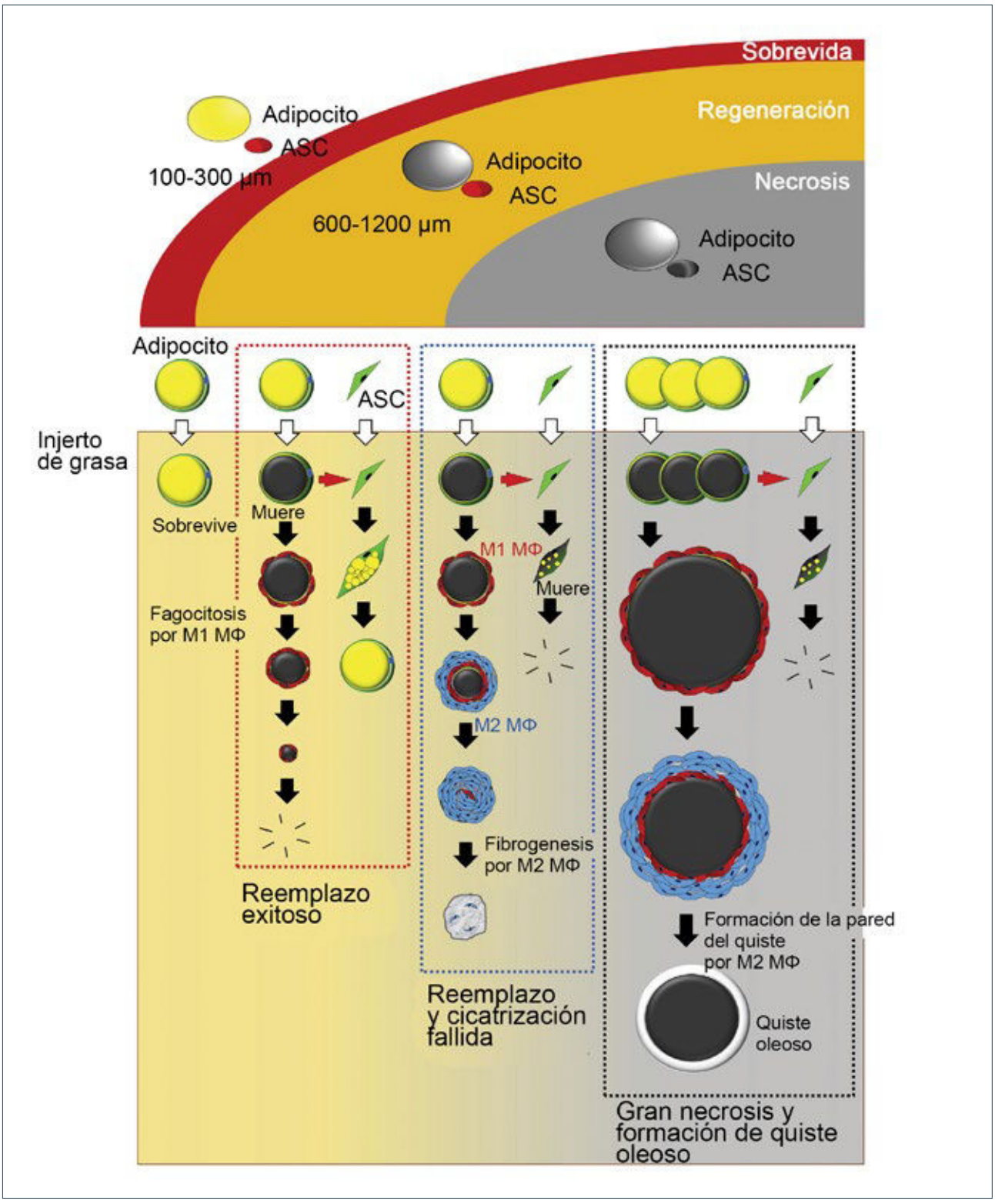
Dentro de los componentes del tejido adiposo, los adipocitos son más susceptibles de morir en condiciones isquémicas. En contraste, las ASCs pueden permanecer vivas hasta tres días y se pueden activar por señales de las células moribundas, contribuyendo a la adipogénesis y angiogénesis (24, 25).

Luego del injerto graso, el tejido es sometido a isquemia y se nutre por difusión plasmática proveniente del tejido receptor por unos pocos días hasta la revascularización. Esto resulta en muerte de muchos adipocitos en las primeras 24 horas y liberación de múltiples factores procedentes tanto del tejido moribundo como del tejido receptor. El tejido se infiltra de células inflamatorias y luego de 72 horas las ASCs son activadas y tratan de reparar el daño en conjunto con otras células (24, 28).

En los primeros tres meses luego del injerto existe un período de remodelación sin adipogénesis. El injerto es categorizado en tres zonas de la periferia al centro (1). **Sobrevida** (superficial), **regeneración** (intermedia), y **necrosis** (central) (figura 4). La demarcación de la zona de sobrevida (100-300 µm de grosor) de la zona de regeneración se define a la semana, mientras que la demarcación entre la zona de regeneración y la de necrosis ocurre entre la 2 y la 4 semana. La muerte de los adipocitos ocurre desde las 24 horas de injerto y los adipocitos muertos son rodeado por macrófagos M1 para fagocitosis, sin embargo, el proceso de reabsorción toma meses. Por lo tanto, el injerto puede mantener su volumen en las primeras 4 semanas aún existiendo necrosis. Los nuevos y pequeños preadipocitos aparecen alrededor de los adipocitos muertos, separados por una capa de macrófagos entre la 1º y 2º semana, en la zona de regeneración y reemplazan a los muertos totalmente a los tres meses. Mientras tanto, no se observa regeneración en la zona de necrosis. El radio de las 3 zonas puede variar, dependiendo de la vacularidad del tejido receptor y de los cuidados postoperatorios(24).

Aunque el *peak* del proceso de regeneración ocurre a 4 semanas, se completa a los 3 meses. La estabilización persiste por varios meses y la reducción del volumen se puede apreciar hasta el año. Los remanentes oleosos pequeños son absorbidos por los macrófagos, mientras que las gotas de

FIGURA 4. ESQUEMA REPRESENTATIVO DEL COMPORTAMIENTO DE LOS ADIPOCITOS EN EL INJERTO



Pueden haber 4 opciones: sobrevida, regeneración, cicatrización o formación de quistes oleosos. La zona más superficial de 300µm es la zona de sobrevida. La segunda zona de regeneración varía de 600 a 1200 µm de grosor dependiendo de las condiciones locales. La zona más central es la de necrosis donde en donde no hay regeneración, y es espacio muerto puede llevar a fibrosis o convertirse con un quiste oleoso. *(Modificado de: Kato H, Mineda K, Eto H, et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. Plast Reconstr Surg 2014;133:312e).*

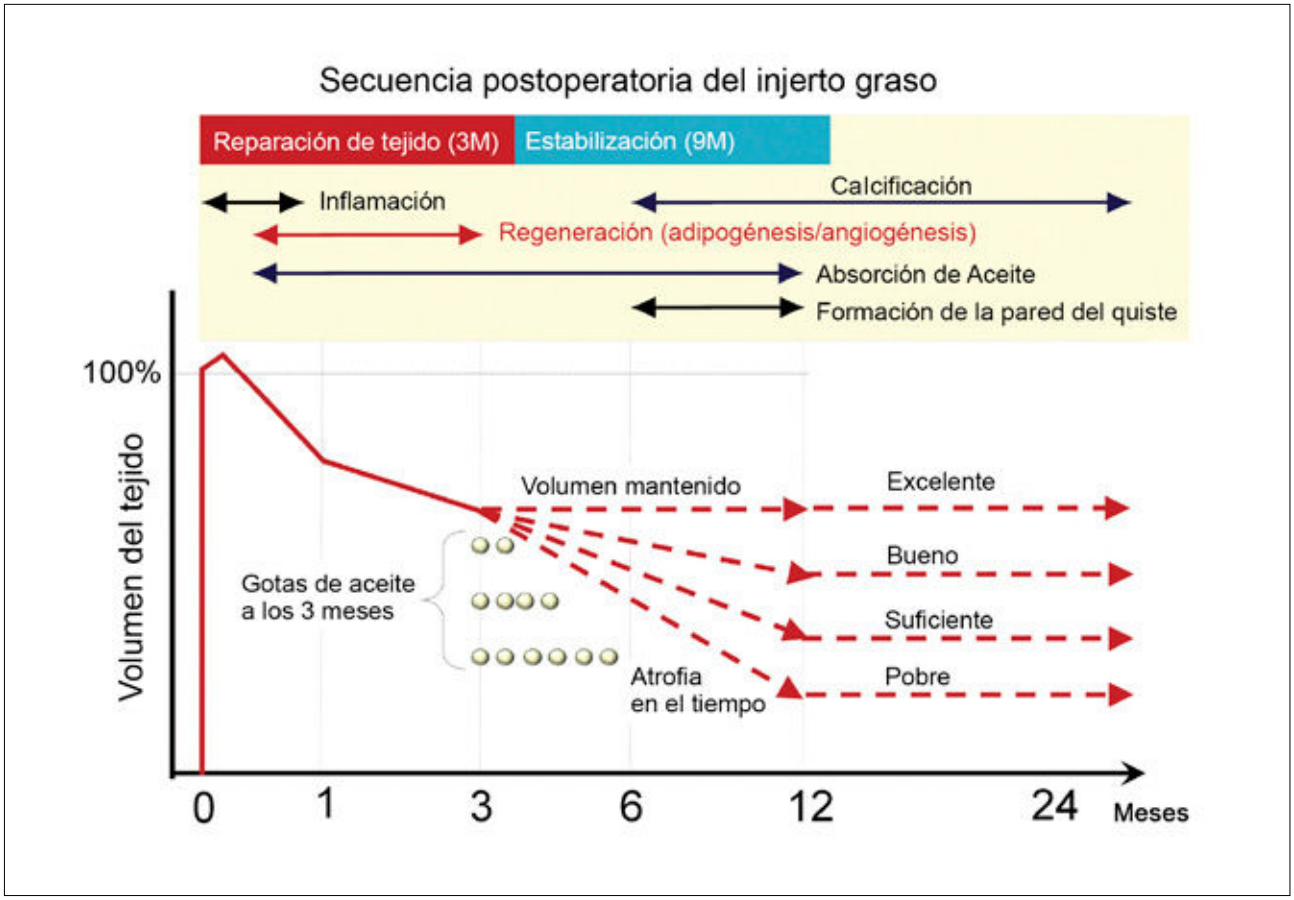
más de 8 mm forman quistes oleosos, quedando en forma permanente y se pueden acompañar de inflamación y calcificación (29). Los adipocitos muertos actúan como espaciadores, para guardar el espacio de los nuevos adipocitos durante el proceso de regeneración. Por lo tanto, el volumen final después de un injerto es un balance entre degeneración y regeneración (Figura 5).

La comprensión de este mecanismo de sobrevida permite considerar una serie de implicancias clínicas. La mejor vascularidad del sitio receptor incrementa la zona de sobrevida. La presión interna excesiva disminuye la zona de sobrevida. La inmovilización ayuda a la re-vascularización. El tamaño del injerto en relación a la superficie receptora es crítico para minimizar la zona de necrosis, el diámetro del injerto debiera ser menor de 2 mm.

TÉCNICAS DE OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO E INJERTO GRASO

Los refinamientos en las técnicas de lipoinyección han sido ampliamente investigados para mantener la viabilidad del tejido adiposo y mantener el mejor ambiente en el tejido receptor para la sobrevida. La discusión se centra en cómo cosechar el tejido, cómo procesar, cómo preparar el sitio receptor y cómo inyectar la grasa. Uno de los principales problemas encontrados al momento de evaluar estos pasos, es analizar la información que nos entregan los estudios en relación a la medición de la viabilidad. Los estudios presentan variaciones importantes en la técnicas de medición, las cuales no son siempre válidas y no siempre permiten comparar de un estudio a otro (30). Dentro de las técnicas para evaluar viabilidad podemos mencionar: La evaluación histológica, la cual depende mucho del evaluador y de la manipulación del tejido. La medición de viabilidad en

FIGURA 5. SECUENCIA POSTOPERATORIA DEL INJERTO GRASO



La adipogénesis finaliza al 3° mes y los adipocitos muertos son reabsorbidos durante los siguientes 9 meses. Las gotas lipídicas son absorbidas por macrófagos en forma lenta, si las gotas son de más de 8 mm se formarán quistes. El volumen final del injerto depende del éxito de reemplazo de los adipocitos muertos. En presencia de grandes gotas oleosas residuales en tejido se atrofiará entre los 3 y 12 meses, evidenciando un resultado pobre. *(Modificado de: Yoshimura K, Eto H, Kato H, et al. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. Regen Med 2011;6 (6 Suppl):38)*

forma indirecta por colorimetría de actividad de mitocondrial, es buena técnica, pero depende de la manipulación que se le de al tejido. La densidad de ASCs es un buen parámetro, pero no se sabe si el número de células es proporcional al éxito de un injerto. Por último, la evaluación de sobrevida de un injerto en una rata inmunosuprimida aparentemente es una de las mejores técnicas, pero requiere infraestructura de laboratorio y tiempo prolongado de medición.

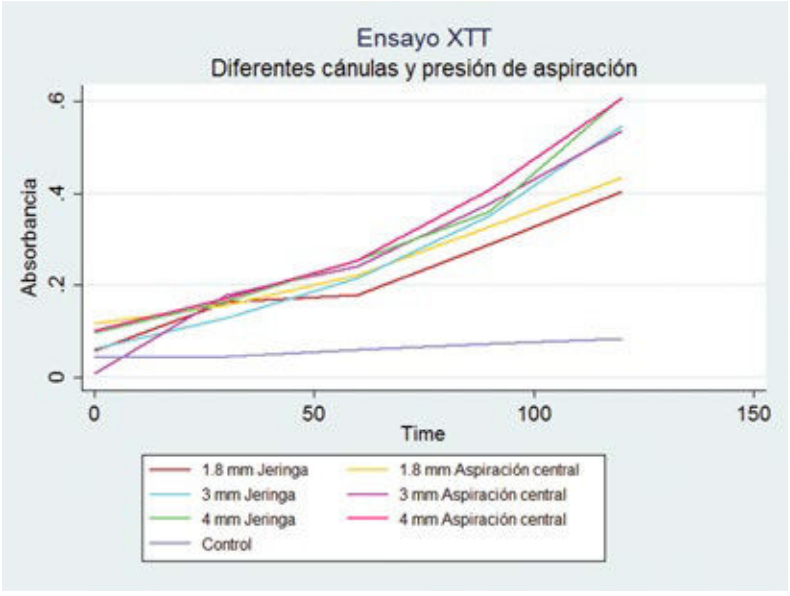
La lipoinyección se puede dividir en tres categorías arbitrarias en base al volumen utilizado: Lipoinyección de pequeño volumen (<100 ml), utilizada habitualmente para cirugía plástica facial; lipoinyección de gran volumen (100-200 ml), utilizada de preferencia para mamas y contorno corporal; y lipoinyección de mega volumen (>300 ml) para aumento primario de glúteos, mamas o cirugía reconstructiva (31).

Elección del sitio dador: Como regla general, el sitio dador debe ser seleccionado en base al mejoramiento del contorno corporal dador y la accesibilidad dependiendo de la posición del paciente. Aunque no hay evidencia a favor un sitio dador, porque la viabilidad del tejido adiposo es igual, una mayor concentración de ASCs es encontrada en el abdomen inferior y en la cara interna de los muslos en un estudio (32). Estas últimas zonas son ideales si el paciente se encuentra en supino, pero si el paciente está en prono, la cara medial del muslo el trocánter y el flanco son áreas elegibles como sitio dador. La palma de la mano y el *pinch test* pueden predecir la cantidad de tejido a extraer (33). La palma de la mano mide 200 cm^2 aprox, multiplicado por un *pinch test* de un cm da un volumen de 200 ml.

Cosecha de la grasa: La aspiración con jeringa y la aspiración con baja presión son avaladas por estudios recientes (34, 35). Khouri y cols, promueven la presión a menos de 300 mmHg con un dispositivo especial denominado KVAC-Syringe que decanta al mismo tiempo a baja fuerza (33). Muchas otras marcas promueven equipos que cosechan, procesan y transfieren, pero pocos dispositivos han sido estudiados adecuadamente.

En nuestra experiencia hemos evaluado la viabilidad de grasa obtenida con jeringa y con aspiración central, con el método de medición de actividad mitocondrial y no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas. La ventaja de esta técnica de medición de viabilidad, es que permite obtener valores relativamente inmediatos, sin mayor procesamiento (30). Si hemos encontrado diferencias en relación el grosor de la cánula con que se obtiene el injerto, a favor de las cánulas de mayor calibre (Figura 6).

FIGURA 6. ENSAYO XTT PARA MEDICIÓN DE VIABILIDAD CON DIFERENTES CÁNULAS Y DIFERENTE PRESIÓN DE ASPIRACIÓN



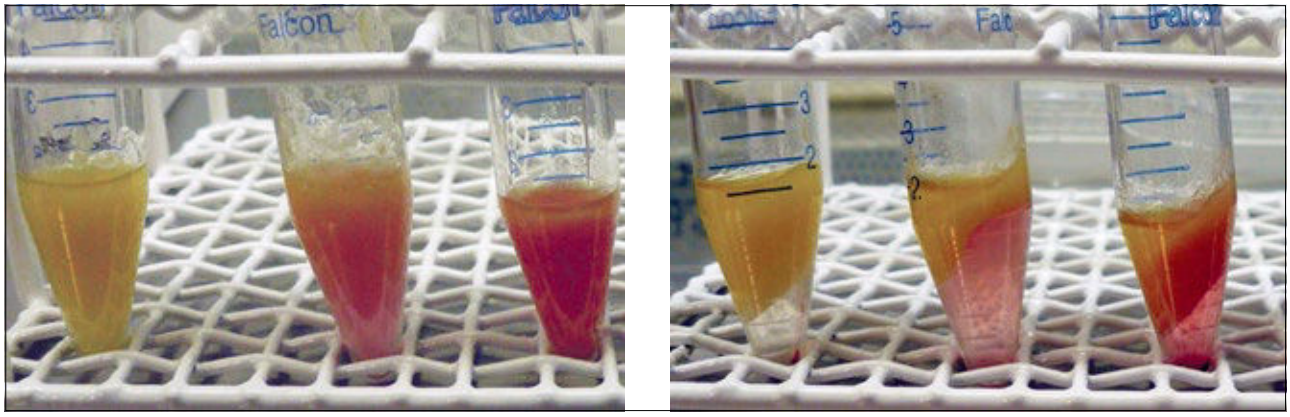
No se encuentra una diferencia significativa entre jeringa y presión central. Las cánulas de mayor diámetro obtienen mejores resultados de viabilidad en esta medición.

Procesamiento del tejido adiposo: Varios procedimientos se han propuesto para preparar un injerto más puro. Los métodos clásicos de procesamiento incluyen la decantación por gravedad, la centrifugación y filtración. Todas estas técnicas promueven eliminar la mayor cantidad de componente acuoso y no vital, pero la mayor discusión se centra no producir daño al tejido adiposo con cualquier técnica.

La centrifugación propuesta por Coleman (36), a 1200 G x 3 minutos. Es una muy buena técnica para separar el componente graso útil, el cual queda al centro del tubo, de los adipocitos destruidos que quedan formando una capa oleosa superior y del componente acuoso que queda al fondo del tubo (Figura 7). 1200 G son equivalentes a 3000 rpm, una fuerza mayor que esta no es recomendada. Algunos autores han propuesto disminuir la fuerza de centrifugación a 50 G con mejores resultados. En nuestra experiencia, hemos evaluado que viabilidad del tejido efectivamente aumenta con la centrifugación (Figura 8).

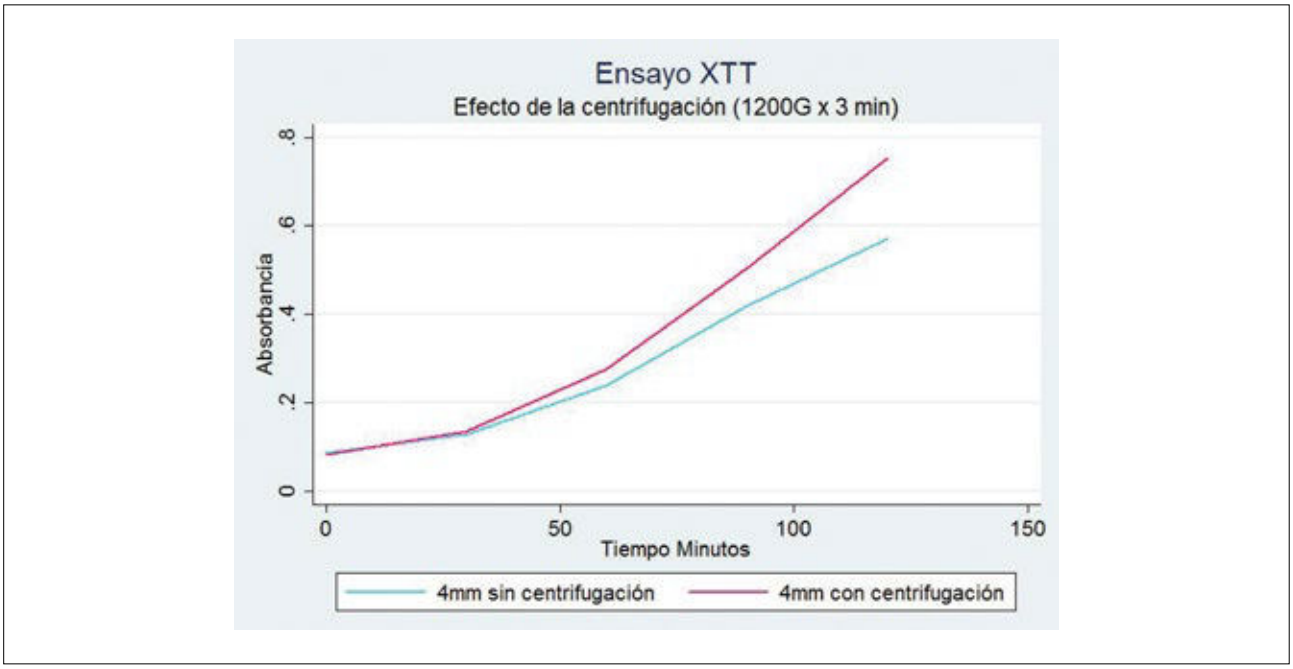
La centrifugación es muy práctica para pequeños volúmenes de grasa, pero el proceso se torna más demandante para grandes volúmenes.

FIGURA 7.



Izquierda: Tejido lipoaspirado reciente en tubos de centrifugación. Derecha: Aspecto luego de la centrifugación a 1200 G x 3 minutos, se aprecian 3 capas: una capa oleosa superior, una capa intermedia de tejido útil y una capa acuosa inferior.

FIGURA 8. ENSAYO XTT PARA MEDICIÓN DE VIABILIDAD EN TEJIDO LIPOASPIRADO CON CÁNULAS DE 4 MM Y APLICANDO CENTRIFUGACIÓN. SE ENCUENTRA UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA



Filtración: Un estudio reciente demuestra que la filtración con gasa sería equivalente a la centrifugación, lo cual es un método sencillo. Algunos dispositivos nuevos como *Revolve sytem* (*LifeCell Corporation*) o *Puregraft* (*Cytori Therapeutics*) promueven concentraciones equivalentes o superiores a la técnica de Coleman (37, 38). Sin embargo, estos estudios tienen problemas de diseño experimental y no cuentan con una revisión independiente.

Injerto del tejido adiposo: Uno de los puntos más importantes, es cómo posicionar los injertos. La idea es proporcionar el máximo contacto entre la grasa y el sitio receptor. El injerto debe ser posicionado con múltiples pasadas en múltiples planos y en múltiples direcciones (36, 39). La inyección debe ser lenta y en pequeña cantidad (40). El tamaño de cánula elegido debe ser en relación al sitio anatómico, idealmente una cánula roma con una apertura en un lado.

Si al momento de inyectar, estando en el plano adecuado, el volumen no aumenta lo esperado, se debe considerar factores restrictivos locales como adherencias fibróticas, ligamentos o envoltorio cutáneo muy estrecho. La fibrosis y la adhesión pueden ser resueltos con una aguja 18-G o con una cánula con punta tipo Toledo. El envoltorio cutáneo estrecho requiere pre-expansión.

Aún no está clara la utilidad de la sobrecorrección, ya que pone en riesgo la sobrevida del injerto, genera más necrosis, calcificación e incluso infección (41).

Segundo tiempo: Debido al porcentaje de reabsorción variable entre un 10% y un 50% (36, 39), frecuentemente se requieren procedimientos adicionales. No hay un estudio que indique el tiempo exacto para la reinyección, pero la opinión de expertos es mencionada en la literatura, sugiriendo diferir al menos en 6 meses las sesiones de lipoinyección adicionales, para disminuir la respuesta inflamatoria en el área (42). En general, la experiencia indica que al 3er mes hay una estabilización, aunque incompleta, por lo tanto, menos que este tiempo para un segundo tiempo no es aceptable.

Injertos grasos enriquecidos: Un mayor contenido de ASCs se correlacionaría positivamente con mayor retención del injerto en estudios experimentales (43), sin embargo, la eficacia y seguridad no han sido determinadas aún. Yoshimura promueve un procedimiento denominado *"cell assisted lipotransfer"* adicionando SVF al lipoinjerto (44). La hipótesis es una mejora en el prendimiento del injerto y regeneración de los adipocitos muertos. Sin embargo, más estudios aleatorizados deben ser llevados a cabo para probar estos beneficios.

Pre-expansión externa del tejido: Una novedosa técnica es propuesta por Khouri y cols (45), denominada pre-expansión (EVE, external volume expansion). Se basa en la preparación del sitio receptor para un mejor ambiente de sobrevivencia y retención del injerto. El dispositivo aplica presión negativa continua a la piel en forma similar al VAC y fue utilizado primariamente para aumento mamario. Este dispositivo ha logrado demostrar resultados exitosos en largo tiempo. La hipótesis es que EVE puede incrementar el grosor del tejido receptor y mejorar la angiogénesis. Lancerotto y cols (46), encontraron que EVE genera edema, estimulación mecánica, isquemia e inflamación del sitio receptor, manteniendo un ambiente conductivo a la proliferación celular y angiogénesis. Los inconvenientes del dispositivo son el uso interrumpido, rash cutáneos, dermatitis, e hiperpigmentación posinflamatoria.

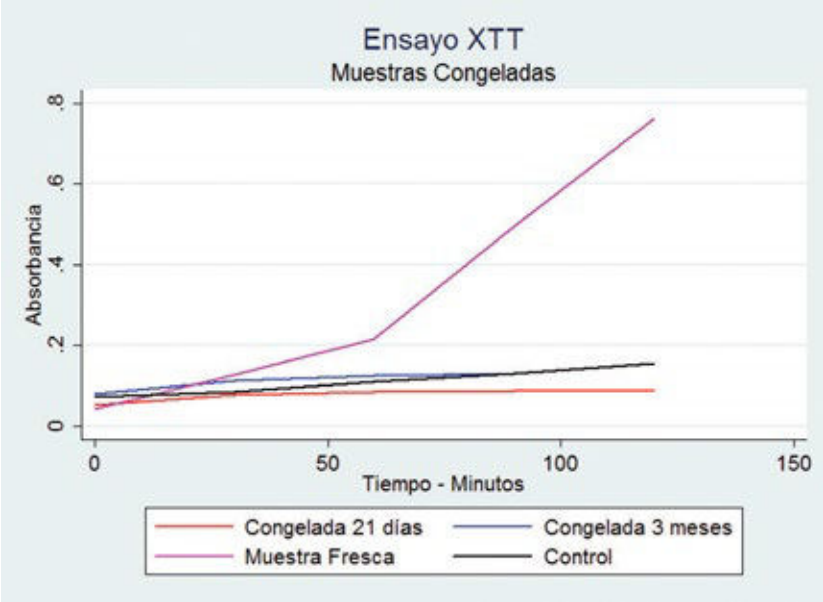
Criopreservación de tejido adiposo: La criopreservación de tejidos multicelulares es un tema complejo, en el que se debe velar por la sobrevida celular y la integridad estructural y funcional del tejido. Los principales problemas, son la crio-injuria celular, la formación de hielo extracelular, el daño vascular por hielo y el estrés térmico durante el proceso de descongelado (47). Los procesos críticos de la criopreservación incluyen la adición de agentes crio protectores (CPA, *cryoprotective agent*) y un proceso de congelado y descongelado uniforme y monitorizado. El problema de los CPA es su citotoxicidad y el problema de su eliminación posterior al descongelamiento es la lesión osmótica.

En relación a la viabilidad del tejido adiposo criopreservado, algunos estudios muestran datos contradictorios. Sin embargo, se mantienen los principios básicos de la conservación de tejidos. Se ha reportado que se puede congelar grasa en forma simple a -20°C, incluso sin CPA (48, 49). Sin embargo, esta opinión ha sido cuestionada y se estima que el congelamiento y descongelamiento simple de la grasa a -20°C sólo genera células muertas y su inyección no es más que un filler inerte (50, 51). En nuestra experiencia hemos verificado la ausencia de viabilidad tisular luego de la congelación a -20°C sin CPA (Figura 9). La discusión actual se centra en la búsqueda del mejor protocolo de congelamiento y descongelamiento, en estandarizar el método para evaluar la viabilidad tisular posdescongelamiento, en reducir el uso de DSMO (Dimetil Sulfoxido) como agente criopreservante y en eliminar el uso de sueros de origen animal (52).

REJUVENECIMIENTO FACIAL CON LIPOINYECCIÓN

La lipoinyección el en rejuvenecimiento facial, puede ser un procedimiento primario o complementario para tratar la atrofia de los tejidos. El injerto de grasa entrega un rejuvenecimiento

FIGURA 9. ENSAYO XTT PARA MEDICIÓN VIABILIDAD EN TEJIDO ADIPOSO CONGELADO A -20°C SIN AGENTES CITOPROTECTORES Y SU POSTERIOR DESCONGELAMIENTO A 21 DÍAS Y 3 MESES. SE APRECIA AUSENCIA DE VIABILIDAD



volumétrico con un material que se integra al tejido facial y entrega una apariencia natural mantenida en el tiempo. Adicionalmente la lipoinyección mejora la calidad del tejido facial, por un mecanismo aún no muy claro y que podría implicar la participación de ASCs.

Las áreas más frecuentemente tratadas son la frente, ceja, glabela, radix, reborde orbitario, mejillas, *"tear trough"*, tercio medio de la cara, labios, área perioral, surco nasogeniano, líneas de marioneta, contorno mandibular y mentón, entre otras zonas.

La cantidad de grasa a inyectar depende de la intuición y la observación del cirujano y se puede estimar en forma preoperatoria. La grasa debe ser inyectada en múltiples trayectos y en general menos de 0,5 ml deben ser aplicados en cada pasada. El manejo de la jeringa es esencial para evitar la sobreinyección. En caso de existir obstrucción de la cánula, se debe evitar el exceso de presión, revisar y limpiar.

En las zonas de la cara donde la piel es gruesa se puede realizar inyección en múltiples planos desde el periostio (ej: tercio medio y mentón), mientras que en el resto de la cara se debe colocar con mayor detalle y en forma más limitada para evitar irregularidades. La inyección en el área temporal es subcutánea, mientras en que el área periorbitaria la inyección es habitualmente suborbicular. En contorno de la mandíbula habitualmente se utiliza un plano preperióstico o submasetero.

El surco nasogeniano es una buena zona para ser lipoinyectada y la profundidad depende de la existencia o no de recesión maxilar. Los labios responden con un aspecto natural y parejo, sin embargo, el principal inconveniente es el excesivo edema que demora en resolver.

LIPOINYECCIÓN MAMARIA

En 1987 la Sociedad Americana de Cirugía Plástica (ASPS) condena la lipoinyección mamaria, porque el injerto podría confundir la imágenes de un cáncer de mama. Con posterioridad se ha logrado demostrar que el seguimiento radiológico que el injerto mamario no es tan problemático (53, 54). En el año 2009, la ASPS establece que el injerto graso si puede ser considerado en el aumento mamario y para la corrección de defectos asociados a cirugías mamaria previas; sin embargo los resultados son dependientes de la técnica y del cirujano (55).

La lipoinyección mamaria actualmente se desarrolla en cuatro escenarios:

1) Aumento mamario primario: Útil para pacientes que desean un incremento moderado de no más de una copa,

aunque se puede requerir un segundo tiempo para mayor volumen. También es una alternativa para el relleno de polo inferior en una mama tuberosa o simulación del volumen pectoral en un síndrome de Poland.

2) Reconstrucción mamaria: En tejidos irradiados la lipoinyección mejora la calidad de la piel (13) y genera un mejor terreno para una reconstrucción. En la reconstrucción con colgajos o implantes, se puede mejorar defectos residuales específicos. Por último en mastectomías parciales se puede utilizar como único tratamiento de relleno, aunque aún existen dudas del comportamiento oncológico de este "*lipo-filling*" (56).

3) En combinación con implantes: El concepto consiste en incrementar el grosor cutáneo o "*pinch test*" mamario con el objeto de evitar la visibilidad del implante y como reemplazo de la técnica de dual-plane (57). A esta técnica se la conoce también con el nombre de "Aumento mamario compuesto" (58).

4) En combinación con brava®: La expansión adecuada crea un sitio receptor más apropiado para el injerto graso. Si bien esta técnica se utilizó inicialmente para aumento mamario primario, posteriormente se expandió su uso a reconstrucción mamaria, tanto inmediata como diferida (59).

CONTORNO CORPORAL

La lipoinyección glútea es una técnica ampliamente difundida, con resultados variables, pero que en la práctica actual se asocia a gran parte de la cirugía de contorno corporal. Toledo reporta una amplia serie de lipoinjertos glúteos con más de 500 ml en cada lado, puestos en plano muscular y subcutáneo con una reabsorción de un 20-50% (60). Mendieta por otro lado estima su tasa de reabsorción entre un 10-15% (61).

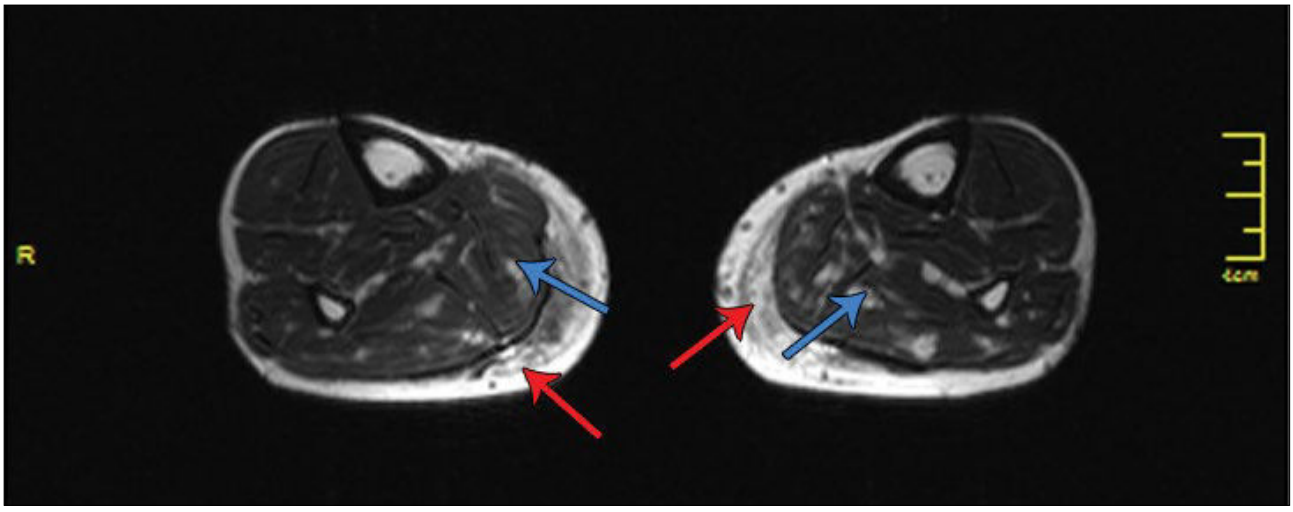
Otro sitio corporal frecuente de ser remodelado con lipoinyección son las pantorrillas. Toledo inyecta un volumen de entre 50 y 150 cc en cada pantorrilla (60). Hoppmann inyecta un volumen promedio de 125cc en el plano muscular y subcutáneo (Figura 10) con una reabsorción estimada de 30% a los 6 meses (62).

LIPOINYECCIÓN EN CIRUGÍA RECONSTRUCTIVA

Los beneficios de la lipoinyección se han incorporado al área reconstructiva de trauma y quemaduras. Adicional a su uso como relleno de partes blandas, se está utilizando para el tratamiento de heridas crónicas y para mejorar cicatrices retráctiles e hipertróficas. Este beneficio ha sido correlacionado positivamente con hallazgos histológicos (63, 64).

Khouri y cols. describen un procedimiento de aponeurotomía y lipoinyección para el tratamiento de la contractura palmar de Dupuytren (PALF, *Percutaneous aponeurotomy and lipofilling*). Realizan múltiples cortes con una aguja 19G y cuando la cuerda está completamente liberada inyectan la grasa. Reportan satisfacción de paciente de un 95% de los casos, encontrando un resultado igual de bueno que la aponeurectomía tradicional (65).

FIGURA 10. RESONANCIA MAGNÉTICA DE LIPOINYECCIÓN DE PANTORRILLAS A LOS 6 MESES



Se aprecia la grasa injertada en plano muscular y subcutáneo.
(De: Hoppmann R, Meruane M, Gonzalez D, Wisnia P, Hasbun A, Villalobos B. Calf lipo-reshaping. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2013;66(7):956-61).

El autor declara no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. *Neuber G. Über die Wiederanheilung vollständig vom Körper getrennter, die ganze Fettschicht en thaltender Hautstücke. Zbl f Chir. 1893;30:16-7.*
2. *Czerny V. Drei plastische Operationen. III. Plas- tischer Ersatz der Brustdrü se durch ein Lipom. Arch F Klin Chir 1985;50:544-50.*
3. *Lexer E. Die freien Transplantationen. Stuttgart (Germany): Enke. 1919-24 p.*
4. *Gillies H. Plastic surgery of the face. London: Frowde, Hodder, Stoughton; 1920.*
5. *Miller CC. Cannula implants and review of implanta- tion technics in esthetic surgery. Chicago: Oak Press; 1926. 25-30, 66-71 p.*
6. *Peer LA. Transplantation of tissues. Baltimore (MD): Williams & Wilkins; 1955.*
7. *Fournier PF. Microlipoextraction et microlipoinjection. Rev Cir Esthét Langue. 1985;10:36-40.*
8. *Illouz YG. The fat cell "graft": a new technique to fill depressions. Plastic and reconstructive surgery. 1986;78(1):122-3.*
9. *Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. Aesthetic Plast Surg. 1995;19(5):421-5.*
10. *Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. Clin Plast Surg. 1997;24(2):347-67.*
11. *Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng. 2001;7(2):211-28.*
12. *Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002;13(12):4279-95.*
13. *Rigotti G, Marchi A, Galie M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. Plastic and reconstructive surgery. 2007;119(5):1409-22; discussion 23-4.*
14. *Rodbell M. Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. J Biol Chem. 1964;239:375-80.*
15. *Loffler G, Hauner H. Adipose tissue development: the role of precursor cells and adipogenic factors. Part II: The regulation of the adipogenic conversion by hormones and serum factors. Klin Wochenschr. 1987;65(17):812-7.*
16. *Dardick I, Poznanski WJ, Waheed I, Setterfield G. Ultrastructural observations on differentiating human preadipocytes cultured in vitro. Tissue Cell. 1976;8(3):561-71.*
17. *Meruane M, Rojas M. Células Troncales Derivadas del Tejido Adiposo. International Journal of Morphology. 2010;28:879-89.*
18. *Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.*
19. *Meruane MA, Rojas M, Marcelain K. The use of adipose tissue-derived stem cells within a dermal substitute improves skin regeneration by increasing neoangiogenesis and collagen synthesis. Plastic and reconstructive surgery. 2012;130(1):53-63.*
20. *Meruane M, Benítez S, Rojas M, Sagredo A, Marcelain K, Villalobos B. Epitelización inducida por células troncales derivadas del tejido adiposo. Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana. 2014;40:125-31.*
21. *Gimble JM, Bunnell BA, Guilak F. Human adipose-derived cells: an update on the transition to clinical translation. Regen Med. 2012;7(2):225-35.*
22. *Sensebe L, Gadelorge M, Fleury-Cappellesso S. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. Stem Cell Res Ther. 2013;4(3):66.*
23. *Smahel J. Adipose tissue in plastic surgery. Ann Plast Surg. 1986;16(5):444-53.*
24. *Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, et al. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. Plastic and reconstructive surgery. 2012;129(5):1081-92. Epub 2012/01/21.*
25. *Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. Plastic and reconstructive surgery. 2014;133(3):303e-13e.*
26. *Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, Andre M, Nibbelink M, Tamarat R, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. Circulation. 2004;109(5):656-63.*
27. *Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. Regen Med. 2011;6(6 Suppl):33-41.*
28. *Eto H, Suga H, Inoue K, Aoi N, Kato H, Araki J, et al. Adipose injury-associated factors mitigate hypoxia in ischemic tissues through activation of adipose-derived stem/progenitor/stromal cells and induction of angiogenesis. Am J Pathol. 2011;178(5):2322-32.*
29. *Mineda K, Kuno S, Kato H, Kinoshita K, Doi K, Hashimoto I, et al. Chronic inflammation and progressive calcification as a result of fat necrosis: the worst outcome in fat grafting. Plastic and reconstructive surgery. 2014;133(5):1064-72.*
30. *Meruane M, Ford A, Swett A, Ibarra A. The Impact of Liposuction Technique, Centrifugation and Freezing in Adipose Tissue Viability. Plastic and reconstructive surgery. 2014;134(4S-1):53-4.*

31. *Del Vecchio D, Rohrich RJ. A classification of clinical fat grafting: different problems, different solutions. Plastic and reconstructive surgery. 2012;130(3):511-22.*
32. *Padoin AV, Braga-Silva J, Martins P, Rezende K, Rezende AR, Grechi B, et al. Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. Plastic and reconstructive surgery. 2008;122(2):614-8.*
33. *Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, Khouri RK, Jr., Biggs TM. Megavolume autologous fat transfer: part II. Practice and techniques. Plastic and reconstructive surgery. 2014;133(6):1369-77.*
34. *Pu LL, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE, Jr., Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. Plastic and reconstructive surgery. 2008;122(3):932-7.*
35. *Cheriyan T, Kao HK, Qiao X, Guo L. Low harvest pressure enhances autologous fat graft viability. Plastic and reconstructive surgery. 2014;133(6):1365-8.*
36. *Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. Plastic and reconstructive surgery. 2006;118(3 Suppl):108S-20S.*
37. *Ansorge H, Garza JR, McCormack MC, Leamy P, Roesch S, Barere A, et al. Autologous fat processing via the Revolve system: quality and quantity of fat retention evaluated in an animal model. Aesthet Surg J. 2014;34(3):438-47.*
38. *Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, Shanahan RK, Strem BM, Yu JC, et al. Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system. Plastic and reconstructive surgery. 2013;131(4):873-80.*
39. *Xie Y, Zheng DN, Li QF, Gu B, Liu K, Shen GX, et al. An integrated fat grafting technique for cosmetic facial contouring. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010;63(2):270-6.*
40. *Lee JH, Kirkham JC, McCormack MC, Nicholls AM, Randolph MA, Austen WG, Jr. The effect of pressure and shear on autologous fat grafting. Plastic and reconstructive surgery. 2013;131(5):1125-36.*
41. *Sherman JE, Fanzio PM, White H, Leifer D. Blindness and necrotizing fasciitis after liposuction and fat transfer. Plastic and reconstructive surgery. 2010;126(4):1358-63.*
42. *Kanchwala SK, Glatt BS, Conant EF, Bucky LP. Autologous fat grafting to the reconstructed breast: the management of acquired contour deformities. Plastic and reconstructive surgery. 2009;124(2):409-18.*
43. *Philips BJ, Grahovac TL, Valentin JE, Chung CW, Bliley JM, Pfeifer ME, et al. Prevalence of endogenous CD34+ adipose stem cells predicts human fat graft retention in a xenograft model. Plastic and reconstructive surgery. 2013;132(4):845-58.*
44. *Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Hirohi T, Harii K. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. Aesthetic Plast Surg. 2008;32(1):48-55; discussion 6-7.*
45. *Khouri RK, Eisenmann-Klein M, Cardoso E, Cooley BC, Kacher D, Gombos E, et al. 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. 2012;129(5):1173-87.*
46. *Lancerotto L, Chin MS, Freniere B, Lujan-Hernandez JR, Li Q, Valderrama Vasquez A, et al. Mechanisms of action of external volume expansion devices. Plastic and reconstructive surgery. 2013;132(3):569-78.*
47. *Karlsson JO, Toner M. Long-term storage of tissues by cryopreservation: critical issues. Biomaterials. 1996;17(3):243-56.*
48. *Shoshani O, Ullmann Y, Shupak A, Ramon Y, Gilhar A, Kehat I, et al. The role of frozen storage in preserving adipose tissue obtained by suction-assisted lipectomy for repeated fat injection procedures. Dermatol Surg. 2001;27(7):645-7.*
49. *MacRae JW, Tholpady SS, Ogle RC, Morgan RF. Ex vivo fat graft preservation: effects and implications of cryopreservation. Ann Plast Surg. 2004;52(3):281-2; discussion 3.*
50. *Wolter TP, von Heimburg D, Stoffels I, Groeger A, Pallua N. Cryopreservation of mature human adipocytes: in vitro measurement of viability. Ann Plast Surg. 2005;55(4):408-13.*
51. *Moscatello DK, Dougherty M, Narins RS, Lawrence N. Cryopreservation of human fat for soft tissue augmentation: viability requires use of cryoprotectant and controlled freezing and storage. Dermatol Surg. 2005;31(11 Pt 2):1506-10.*
52. *Cui X, Pu LL. The search for a useful method for the optimal cryopreservation of adipose aspirates: part II. In vivo study. Aesthet Surg J. 2010;30(3):451-6.*
53. *Veber M, Tourasse C, Toussoun G, Moutran M, Mojallal A, Delay E. Radiographic findings after breast augmentation by autologous fat transfer. Plastic and reconstructive surgery. 2011;127(3):1289-99.*
54. *Rigotti G, Marchi A, Stringhini P, Baroni G, Galie M, Molino AM, et al. Determining the oncological risk of autologous lipoaspirate grafting for post-mastectomy breast reconstruction. Aesthetic Plast Surg. 2010;34(4):475-80.*
55. *Gutowski KA. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. Plastic and reconstructive surgery. 2009;124(1):272-80.*
56. *Krastev TK, Jonasse Y, Kon M. Oncological safety of autologous lipoaspirate grafting in breast cancer patients: a systematic review. Ann Surg Oncol. 2013;20(1):111-9.*
57. *Tebbetts JB. Dual plane breast augmentation: optimizing implant-soft-tissue relationships in a wide range of breast types. Plastic and reconstructive surgery. 2006;118(7 Suppl):81S-98S; discussion 9S-102S.*
58. *Auclair E, Blondeel P, Del Vecchio DA. Composite breast augmentation: soft-tissue planning using implants and fat. Plastic and reconstructive surgery. 2013;132(3):558-68.*
59. *Khouri RK, Khouri RK, Jr., Rigotti G, Marchi A, Cardoso E, Rotemberg SC, et al. Aesthetic applications of Brava-assisted megavolume fat grafting to the breasts: a 9-year, 476-patient, multicenter experience. Plastic and reconstructive surgery. 2014;133(4):796-807; discussion 8-9.*
60. *Toledo LS. Syringe liposculpture. Clin Plast Surg. 1996;23(4):683-*

93. Epub 1996/10/01.

61. *Mendieta CG. Gluteal reshaping. Aesthet Surg J. 2007;27(6):641-55.*
62. *Hoppmann R, Meruane M, Gonzalez D, Wisnia P, Hasbun A, Villalobos B. Calf lipo-reshaping. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2013;66(7):956-61.*
63. *Bruno A, Delli Santi G, Fasciani L, Cempanari M, Palombo M, Palombo P. Burn scar lipofilling: immunohistochemical and clinical outcomes. J Craniofac Surg. 2013;24(5):1806-14.*
64. *Pallua N, Baroncini A, Alharbi Z, Stromps JP. Improvement of facial scar appearance and microcirculation by autologous lipofilling. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2014;67(8):1033-7.*
65. *Khouri RK, Smit JM, Cardoso E, Pallua N, Lantieri L, Mathijssen IM, et al. Percutaneous aponeurotomy and lipofilling: a regenerative alternative to flap reconstruction? Plastic and reconstructive surgery. 2013;132(5):1280-90.*