

Mémoire de Maîtrise en médecine No

Lipofilling : rôle de la centrifugation

Une revue de littérature

Etudiant

Martenet Sébastien

Tuteur

Prof. Wassim Raffoul

Dpt de l'appareil locomoteur, service de chirurgie plastique et
reconstructive, CHUV

Expert

Prof. Dpt, CHUV

Lausanne, 18.12.2012

Lipofilling : rôle de la centrifugation

Une revue de littérature

Introduction : Le lipofilling s'est développé au cours du 20^{ème} siècle, mais nécessite encore d'être amélioré, notamment à cause de sa grande variabilité. Dans cette revue de littérature, nous tenterons de déterminer les caractéristiques et les rôles de la centrifugation dans le transfert graisseux autologue.

Méthodes : La discussion est fondée sur les 14 articles (Pubmed) qui traitent directement ou non de la centrifugation et ses implications.

Discussion : Quelques auteurs s'accordent à penser que la centrifugation crée un gradient de cellules stromales le long du tube centrifugé et statuent que cette sous-couche dense de la phase graisseuse est la plus viable. La centrifugation apparaît donc délétère pour la partie peu dense du tissu prélevé, mais semble, pour certains, améliorer la survie de la sous-couche dense, puisqu'elle est enrichie en ADSC's/MSC's.

Conclusion : Dans la mesure où le prélèvement est traumatique pour le tissu graisseux, son taux de survie est relativement faible. Mais si toutes les mesures sont prises en influant sur les déterminants de la prise de greffe, la survie s'optimise et les résultats sont meilleurs.

Mots-clés : **lipofilling • centrifugation • viabilité • adipocytes • ADSC's/MSC's**

Introduction

La technique de transfert graisseux autologue fut décrite la première fois par Neuber en 1893 (1). Puis, Czerny décrivit 2 ans plus tard le transfert d'un lipome autologue pour une reconstruction esthétique du sein (2). Dans les années 80, alors que la liposuction prenait son essor, le transfert graisseux autologue voyait le jour sous sa technique moderne, soit de microinjections de graisse, notamment avec les travaux de Bircoll (3), mais la technique, appliquée à la chirurgie mammaire, fut unanimement contre-indiquée par l'American Society of Plastic and Reconstructive Surgery (ASPRS), puisqu'elle induisait des cytotéatonécroses pouvant interférer avec le suivi radiologique et le diagnostic de cancer (4,5,7). Ces kystes huileux sont le témoin de la nécrose du tissu greffé et représentent la complication la plus fréquente de l'opération (7,9,31). Aujourd'hui, les radiologues peuvent distinguer les nécroses graisseuses des récidives de cancer, qui créent toutes deux des microcalcifications mais

différentes, et si un doute persiste la biopsie reste toujours possible (6-9). Le transfert graisseux autologue, lipomodelage ou encore lipofilling consiste en la récolte de la graisse par aspiration à la seringue ou liposuccion, le traitement et l'injection de la graisse (également par seringue), afin de restaurer l'esthétique d'un organe lésé, par un traumatisme, une maladie ou un geste chirurgical, le caractère atraumatique de chacune des étapes (10) étant la première condition pour la réussite de l'opération. Les avantages de la méthode résident dans le caractère autologue de la greffe, la facilité de prélèvement, ainsi que le faible taux de complications. Actuellement, la technique du Dr S. Coleman, développée en 1994, reste la technique de choix de la plupart des chirurgiens pour le lipomodelage, bien que de nombreuses variantes existent, comme nous allons le découvrir dans le prochain paragraphe (11).

Lors du prélèvement de la graisse, S. Coleman préconise une canule émoussée de 3mm reliée à une seringue de 10ml pour une aspiration en douceur de la graisse (12), le tout réduisant un maximum la pression négative. Une étude a démontré un indice apoptotique grandissant, pour des valeurs comprises entre -500 et -700 mmHg, au sein du lipoaspirat (13), lors d'utilisation de liposuccion à pression négative élevée. Egalement, Pu et al trouvent une moins bonne viabilité adipocytaire dans les prélèvements par liposuccion par rapport à celle mesurée au sein de graisse excisée (14), cependant ils obtiennent aussi de tels résultats avec des pressions faibles de liposuccion (20cmH₂O = 14.7 mmHg) (12). Par contre le site donneur aurait peu d'influence sur la viabilité de la greffe selon une étude quantitative menée par Rohrich et al. (15), et on retrouve aussi cet avis dans des revues de la littérature (8,16), bien que selon une autre étude la graisse au niveau des hanches et celle du bas abdomen contiendrait plus de cellules souches qu'ailleurs (17). De plus, l'utilisation de canules d'un diamètre plus élevé, de 4 voire 6 mm, a été évaluée comme meilleure, considérant la viabilité cellulaire, dans une étude menée par Erdim (18). Concernant l'étape du prélèvement, il nous faut enfin parler de l'effet potentiellement délétère de l'anesthésique local, injecté au site donneur, sur les préadipocytes, comme des études l'ont suggéré (19,20), bien que d'autres auteurs concluent leur étude sur un effet négligeable pour un temps d'exposition normalement court et pour de faibles doses (lidocaïne 0.06% et adrénaline 1:1000000) (21). A présent, il convient de parler de la préparation de la graisse prélevée, étape qui est réalisée dans la technique de Coleman, grâce à la centrifugation, afin de séparer le tissu graisseux utilisable, au milieu du tube, de l'huile surnageant, au sommet du tube, et de la phase séro-sanguine, au fond du tube (5). Cependant certaines études sont en défaveur de la centrifugation, puisque selon leur résultat la viabilité adipocytaire diminue en fonction de forces de centrifugation croissantes (22) et même selon une étude expérimentale menée par Smith et al., la réinjection

directe sans préparation semble mener à une meilleure prise de greffe (23). Ainsi de nombreux chirurgiens optent pour la technique de lavage et d'autres laissent la graisse décanter. Par contre, les arguments en faveur de la centrifugation avancent que cette méthode concentre les progéniteurs, les cellules souches et les facteurs de croissance, facilitant ainsi la prise de greffe (24-26) et sépare le tissu graisseux de l'huile, résultant de la lyse adipocytaire, et des débris vasculaires. Une étude récente, sous forme de revue de la littérature, tente de rationaliser ces différentes approches et opte pour une centrifugation de 3 minutes à 1200g (27), qui correspond à ce que Coleman conseille, soit 3000 RPM (1286 g) pendant 3 minutes (7). Enfin, il nous faut évoquer les techniques de réinjection. Le principe général consiste à transférer la graisse, à nouveau doucement pour limiter la pression délétère, en de multiples fins filaments, afin d'optimiser la surface de contact de la greffe avec son site receveur, puisque là sa survie dépend de la diffusion de l'oxygène et des nutriments. Ainsi le diamètre de la canule de réinjection se doit d'être le plus petit possible, une recommandation d'un diamètre de 2 à 2.5 mm a été prononcée par l'ASPRS (8), et de plus, une bonne vascularisation du site receveur est souhaitable, notamment au niveau sous-cutané, intra-glandulaire dans le sein, ou intra-musculaire, comme le suggère une étude expérimentale (28). Enfin Coleman préconise une injection de 0.2 ml par retrait (7), tandis que d'autres vont jusqu'à 2 à 3 ml (29). Dans l'application particulière du lipomodelage pour la prise en charge des séquelles du traitement conservateur du cancer du sein, la quantité totale réinjectée peut être nettement inférieure à la normale du fait de site receveur fibrosé après radiothérapie (30). De plus, dans ce même cadre, il est intéressant de noter que la trophicité cutanée de la peau irradiée est augmentée par la greffe adipocytaire (31). Finalement, puisque nous nous sommes intéressés à bon nombre de déterminants de la prise de greffe, il est inévitable de nommer l'utilité des cellules souches, ADSC ou MSC (adipose-derived stem cells/mesenchymal stem cells) dans la survie de la greffe, puisqu'elles sécrètent des agents angiogéniques (VEGF) et anti-apoptotiques (32). Ainsi certains chercheurs pensent qu'il y a avantage à "booster" la greffe avec un ajout d'ADSC préalablement isolées (33).

En conclusion, l'efficacité très variable du lipomodelage, entre 10 à 90% de résorption suivant les séries (11,16), nous amène à remettre en question chacune de ses étapes, afin d'optimiser les résultats et d'éviter des interventions à répétition. Bien sûr les variations interindividuelles, dépendant de facteurs génétiques, diététiques ou même pharmacologiques, influencent aussi le devenir de la greffe et restent encore à être déterminées. Ainsi, dans notre étude, qui consistera en une revue de la littérature, nous nous pencherons tout particulièrement sur l'influence de la centrifugation dans le devenir du greffon, en comparaison avec les autres

méthodes de « processing » de la graisse, afin de déterminer si elle se trouve être un moyen plus efficace de transfert de tissu adipeux autologue.

Méthode

Une revue systématique de la littérature a été effectuée sur Pubmed, grâce aux entrées, telles que « fat grafting », « centrifugation fat grafting », « autologous fat grafting », « processing methods fat grafting ». Les articles rapportant des études sur le lipofilling, qu'elles soient expérimentales ou cliniques, ainsi que les revues de littérature sur le lipomodelage, ont été retenus, notamment pour écrire l'introduction. Afin de parvenir à un avis raisonné sur la question, nous parcourons chacun des avantages et des désavantages de la centrifugation en fondant notre discussion sur les 14 articles qui traitent plus particulièrement de cette technique et ses implications, et en la comparant avec les autres méthodes courantes, comme le lavage et la décantation.

Discussion

La technique de centrifugation

L'introduction de ce travail, qui est en somme un résumé succinct des différentes méthodes de transfert graisseux, ainsi que de ses principes directeurs, nous est utile à deux niveaux. Premièrement, elle nous éclaire sur l'importance accordée par la majorité des auteurs, quant à la vulnérabilité du tissu adipeux et donc aux précautions à porter lors de sa manipulation. Les cellules les plus vulnérables sont bien sûr les cellules adipeuses matures qui se rompent aisément vu leur volumineuse taille. Deuxièmement, l'introduction soulève l'importance des cellules souches en tant que principe régénérateur de la greffe implantée in vivo. Ainsi la survie de la greffe dépend de manière non négligeable du nombre de cellules graisseuses adultes vivantes dans le transplant, comme l'a postulé Peer dans les années '50 avec sa théorie de la survie cellulaire, ainsi que des cellules qui vont reconstruire l'organe, les cellules stromales, soit les préadipocytes et les ADSC's, mais aussi, et pourrions nous dire surtout, les cellules souches vasculaires responsables de la reconstruction du réseau vasculaire. La théorie de Peer est soutenue par bien des chercheurs, surtout depuis la découverte relativement récente des ADSC's (16) et les études expérimentales et cliniques témoignant de la survie à long terme de la greffe (43).

Il est intéressant de noter que la centrifugation influe précisément sur ces deux facteurs. En effet, des forces excédant tant de g, conduisent à une diminution du nombre d'adipocytes matures intacts, ainsi que s'accordent quelques études à ce sujet (22, 26), mais aussi créent un gradient de cellules stromales (25, 26, 39) le long du tube, allant d'une densité faible pour le haut à une forte densité dans la partie du bas, région appelée les « pellets », suivant l'expression de A. Condé-Green (26). Nous voyons donc que la centrifugation contient l'inconvénient d'être délétère pour les adipocytes, et l'avantage de concentrer les cellules « régénératrices » souches dans la partie basse de l'implant graisseux. Ainsi, la centrifugation, utilisée depuis plus de 30 ans (26) dans les microgreffes de tissu graisseux, est utile en ce sens qu'elle concentre la phase graisseuse (39) et la sépare efficacement des constituants indésirables, soit la phase huileuse, la phase liquide séro-sanguine et les lipases, protéases et produits de l'anesthésie locale. Elle permet donc de supprimer les substances nocives, selon l'avis de bien des auteurs (7, 40), mais aussi en concentrant la phase graisseuse, « permet une meilleure évaluation du volume à injecter » (39). L'avis suivant lequel la phase graisseuse doit être séparée de ces constituants a conduit les chirurgiens à adopter la centrifugation (7), ainsi que les techniques de décantation et de lavage (26), mais aussi des techniques récentes, comme par exemple l'utilisation de lingettes stériles absorbant les phases huileuses et séro-sanguines (41).

Contenu des trois phases après centrifugation

Selon l'étude de Yoshimura (42), le volume de la phase huileuse augmente graduellement en fonction de forces de centrifugation croissantes, ce qui pour eux signifie une meilleure séparation des deux phases plus la centrifugation est forte. Par contre la partie liquide séro-sanguine semble contenir un maximum de globules rouge à 700g et il n'en faudrait donc pas plus pour ce qui est de la séparation de la phase graisseuse d'avec les globules rouge. Aussi, les cellules progénitrices restent confinées dans la phase graisseuse, quelque soit la force de centrifugation employée. On en retrouve donc pas plus dans la phase séro-sanguine, avec des g croissants et l'explication réside en ce que ces cellules adhèrent fortement au stroma adipeux. Enfin, Pallua et al. (44) après leur étude sur le contenu du lipoaspirat en facteurs de croissance (b-FGF, IGF-1, VEGF, PDGF-BB), statuent que la centrifugation n'influe pas négativement sur leur concentration dans la phase graisseuse, mais au contraire les concentre dans celle-ci.

Domage cellulaire dans la phase graisseuse après centrifugation

Tout d'abord, pour être en mesure de bien comprendre comment ont été réalisés les études dont nous allons présenter les détails ci-dessous, nous devons nous pencher un peu sur les méthodes d'évaluation de la viabilité et de la survie du tissu adipeux. La viabilité peut être évaluée de différentes façons. Une histologie du tissu (avec coloration : PAS, hématoxyline, éosine, trypan blue, ...) sous microscope optique ou électronique nous donne des informations sur la quantité d'adipocytes, ainsi que leur aspect morphologique (taille, forme). De plus, des appareils spéciaux peuvent effectuer un comptage cellulaire sur un ensemble de coupes souvent choisies au hasard et certaines colorations (p.ex. propidium iodide) sont directement corrélées avec la viabilité adipocytaire. L'activité métabolique des adipocytes est mesurée dans certaines études, au moyen du XTT ou du MTT (sels de tétrazolium), dont les sels sont réduits en substrats colorés par le métabolisme cellulaire, colorant ainsi plus ou moins les échantillons observés en fonction de leur activité métabolique. L'équipe de Xie a utilisé le « glucose transport test » qui est, selon eux, bien corrélé avec le MTT assay (22). Aussi, les cellules peuvent être isolées et mises en culture pour déterminer leur capacité à proliférer et le degré d'apoptose. Finalement, la survie du tissu adipeux est appréhendée grâce aux études cliniques et aux modèles animaux qui ont été transplantés puis sacrifiés pour étudier l'histologie de l'implant ainsi que son poids et volume. Des études d'imagerie peuvent révéler la fraction survivante de la greffe.

L'étude de Condé-Green et al. insiste bien sur le fait qu'un lipoaspirat centrifugé contient plus d'adipocytes rompus qu'une préparation décantée (26). Ce n'est pas pour autant que la décantation devient une méthode miracle, car comme A. Condé-Green le souligne elle ne sépare pas autant les débris indésirables que ne le fait la centrifugation. Cependant tous les auteurs ne sont pas aussi formels que Condé-Green pour ce qui est de l'altération du tissu centrifugé. Les avis sont parfois même divergents. Mais il persiste une majorité qui déclare que la centrifugation est délétère une fois excédé un certain nombre de g. Seule la limite fixée reste floue. Boschert et al. (39) optent pour une centrifugation à 50 g pendant deux minutes, car ils remarquent une quantité d'huile augmentée dans le tube centrifugé déjà à 100g et pense que la stratification (la séparation en 3 couches) est terminée après 2 minutes. Ainsi ces auteurs prennent avantage de la formation de particules de graisse (pour utiliser leur expression) denses, riches en cellules progénitrices obtenues par centrifugation, tout en minimisant les dégâts sur les adipocytes matures. De plus, ils précisent bien que seule la partie basse de l'implant graisseux est utilisable, celle qui est la plus dense et la plus viable, et garantit la meilleure chance de survie. Il est à noter que Puckett l'un des coordinateurs de

l'étude statue sur les mêmes positions dans son étude de 2010 (45) et remarque que peu d'auteur font la distinction entre les différentes sous-couches de la phase grasseuse, comme par exemple Kurita et al., qu'il critique pour cette raison. Leur étude sur la viabilité des adipocytes et des progéniteurs soumis à différentes forces de centrifugation (42), critique les résultats de Boschert en affirmant que s'il trouve plus d'huile dans l'échantillon centrifugé à 100g que dans celui centrifugé à 50g, c'est uniquement à cause d'une meilleure séparation de la phase huileuse et grasseuse, et que cela n'est pas dû à la rupture des adipocytes. Cependant ils affirment que l'échantillon contrôle non-centrifugé a une masse volumique plus grande que celui centrifugé à 400g (mais pas de différence entre 400g et les autres forces de centrifugation : 700, 1200, 3000 et 4000), ce qui indiquerait une moins bonne viabilité du tissu grasseux centrifugé à 400g. L'interprétation que donne l'équipe à ce résultat est qu'il y aurait des adipocytes rompus dans les couches superficielles qui protégeraient les adipocytes des couches plus internes des forces mécaniques. Enfin, dans leur discussion, ils font la remarque intéressante que ces adipocytes rompus n'augmentent pas tant selon des forces de centrifugation croissantes, mais plutôt selon les différents individus. Par contre, le comptage des ADSC's décline à partir de 3000g, ce qui indique une souffrance de ces cellules à partir de cette force de centrifugation. Cette observation rejoint celle de A. Condé-Green qui note un déclin du nombre de MSC's après centrifugation en faveur des « pellets » (26). C'est pourquoi prenant en compte l'effet délétère de la centrifugation sur les cellules souches, mais le balançant avec l'effet de concentration et de purification de la phase grasseuse, Kurita et al. préconisent une force de centrifugation optimale de 1200g. Pour Pulsfort et al. (46) l'histologie du tissu fraîchement prélevé n'est pas modifiée même pour des valeurs allant jusqu'à 20'000g. Egalement, la mise en culture ne révèle pas une viabilité moindre, une moins bonne capacité à proliférer, ni des phénomènes apoptotiques plus importants. En outre, ils font une remarque intéressante au sujet de la force de centrifugation. Comme Kurita et al. le disent, ce sont les g qui sont importants et non les RPM (puisque les g sont déterminés par les RPM et par le rayon de la centrifugeuse), mais aussi la masse des cellules isolées, ainsi que la distribution des forces qu'elles subissent sur leur pourtour. Pulsfort et al affirme que leurs échantillons sont néanmoins comparables, puisqu'ils utilisent la même technique de prélèvement et comparent des volumes identiques. Ces observations doivent donc être prise en compte lors de recherches étudiant les effets de la centrifugation sur la viabilité cellulaire.

Ce chapitre met bien en évidence les divergences d'opinions des différents chercheurs sur la question du caractère délétère de la centrifugation sur la viabilité adipocytaire. Ceci s'explique, du moins en partie, par les différents protocoles d'étude et les nombreuses méthodes d'évaluation de la viabilité des adipocytes. Boschert et al. critique ceux qui

emploient de grandes forces de centrifugation car ce faisant ils dénaturent le tissu graisseux et préconise une centrifugation de seulement 50 g pour une viabilité optimale de la greffe adipocytaire.

Survie à long terme des greffes centrifugées

Suite aux observations du paragraphe précédent et en s'appuyant sur la théorie de Peer nous comprenons que la question n'est pas tant de se demander si des adipocytes ne survivront pas suite aux forces mécaniques de la centrifugeuse, mais plutôt s'ils seront suffisamment en contact avec leur stroma, et leurs cellules souches. Comme nous le disions implicitement jusque là, la centrifugation a tendance à séparer les adipocytes matures du stroma, soit les cellules souches et la charpente conjonctive du tissu, ainsi l'on obtient une séparation des cellules stromales et des adipocytes matures le long du tube centrifugé au sein même de la phase graisseuse, d'où le terme de fraction stromale vasculaire. Il résulte de ces observations que « les pellets », la fraction stromale de la phase graisseuse sont très riches en MSC's ou cellules stromales. C'est pourquoi A. Condé-Green statue sur le fait que les résultats esthétiques obtenus avec une centrifugation élevée sont tronqués, voire modifiés. En effet selon elle les bons résultats obtenus par les méthodes de centrifugation sont à mettre au bénéfice des cellules souches et de leur excellente viabilité comparé aux cellules plus différenciées, mais cela se répercute sur la qualité adipeuse de la greffe lui ôtant des cellules adipeuses matures ou des préadipocytes sur la voie de la différenciation, et qui résulte en un matériel plutôt fibrotique, imitant l'aspect naturel du tissu adipeux. La discordance entre Boschert et al. et S. Coleman, tel qu'elle se dégage dans cette revue de littérature, ne saurait donc que nous encourager à pencher plus en faveur de méthodes douces et imitant la nature tels que les travaux de Boschert et Puckett. Grâce à leur approche le rendu final sera plus naturel, plus esthétique.

Il est évident que les chirurgiens en centrifugeant tentent de booster la greffe en s'assurant de réinjecter un tissu, certes dénaturé, mais dont la fraction la plus vitale est conservée, afin de donner à la greffe les meilleures chances de survie. D'ailleurs selon bien des auteurs c'est la seule partie qui donne les meilleurs succès de prise de greffe (25, 39, 42, 47), comparativement à la graisse peu dense créée par centrifugation. En effet les adipocytes matures de la phase graisseuse, se séparant de leur stroma par les forces de la gravité, sont privés de leurs constituants les plus importants et semblent être moins disposés à la survie une fois réimplantés, notamment parce qu'ils ne peuvent se passer de leur stroma pour fonctionner correctement. L'étude de Xie, significative à ce sujet, démontre que le métabolisme du

lipoaspirat centrifugé est modifié., voire amoindri. Dans la mesure où son « glucose transport test » semble reconnaître la viabilité adipocytaire avec plus de force que la viabilité des cellules souches, et qu'il note un déclin de l'activité métabolique adipocytaire, c'est la confirmation que les adipocytes ont souffert durant la centrifugation, non seulement à cause de leur possible rupture dans les zones moins denses mais aussi de leur séparation d'avec la fraction stromale. Comme le disent Boschert et al. dans leur discussion, les adipocytes matures à eux seuls ne remplissent pas de « space-filling function ». En dernière analyse, nous sommes forcés de constater que les forces de centrifugation modifient profondément l'histologie du tissu graisseux, tout comme sa viabilité. Il devient donc essentiel, lorsqu'on parle de viabilité de se demander ce que l'on est en train de mesurer et pourquoi.

Les méthodes de lavage/filtration et décantation

Il apparaît clairement que la centrifugation est délétère pour une partie de la graisse prélevée, mais la question qui se pose maintenant est de savoir si la graisse dense, les « pellets » ou « fat particles », créée par centrifugation, survit mieux que celle traitée par lavage ou décantation. Il semble que pour certains la question ne fait aucun doute et qu'une greffe contenant un maximum de cellules souches survivra mieux. Cependant il est légitime de se demander si une fois excédé un certain nombre de g, la fraction stromale souffre de l'absence des cellules matures, notamment à cause de phénomènes de diffusion restreints (nutriments et oxygène), question soulevée par Boschert et al. dans leur discussion (39). A l'heure actuelle il est encore difficile de répondre à ces questions, mais nous pouvons conclure que les trois méthodes se valent plus ou moins en terme de survie, si et seulement si seule la phase dense du lipoaspirat centrifugé est employée. Le désavantage de la centrifugation en regard de ces deux autres méthodes de préparation réside en ce que de plus petits volumes sont utilisables.

Selon A. Condé Green la graisse décantée contient moins de MSC's, tout comme lors de la centrifugation, mais plus de débris sanguins que cette dernière (26). Elle opte ainsi pour l'utilisation de la technique de lavage, qui semble selon elle la meilleure option bien qu'elle remarque l'avantage de la centrifugation sur la concentration des MSC's.

Références

- (1) Neuber. Fetttransplantation. *zentralbl. Chir.* 22:66, 1893
- (2) Czerny A. Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein lipoma. *Chir Kongr Verhandl* 1895;216:2
- (3) Bircoll M, Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques, *Plast Reconstr Surg.* 1987 Feb;79(2):267-71
- (4) ASPRS Ad-Hoc Committee on New Procedures. Report on autologous fat transplantation, September 30, 1987.
- (5) E. Delay, M. Moutran, G. Toussoun, C. Ho Quoc, S. Garson, R. Sinna. Apport des transferts graisseux en reconstruction mammaire. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Techniques chirurgicales - Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, 45-665-D, 2011.
- (6) Gosset J, Flageul G, Toussoun G, Guérin N, Tourasse C, Delay E. Lipomodelage et correction des séquelles du traitement conservateur du cancer du sein. Aspects médico-légaux. Le point de vue de l'expert à partir de cinq cas cliniques délicats. *Ann Chir Plast Esthet.* 2008 Apr;53(2):190-8
- (7) S.R. Coleman, M.D., A.P. Saboeiro, M.D. Fat grafting to the breast revisited: safety and efficacy. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Jan;121(1):340-1
- (8) Gutowski CA, M.D. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. *Plast Reconstr Surg* 2009;124:272-80
- (9) Gosset J, Guerin N, Toussoun G, Delaporte T, Delay E. Aspects radiologiques des seins traités par lipomodelage après séquelles du traitement conservateur du sein. *Ann Chir Plast Esthet.* 2008 Apr;53(2):178-89
- (10) Mojallal A, Foyatier JL. The effect of different factors on the survival of transplanted adipocytes. *Ann Chir Plast Esthet.* 2004 Oct;49(5):426-36
- (11) Kaufman MR, Bradley JP, Dickinson B, Heller JB, Wasson K, O'Hara C, Huang C, Gabbay J, Ghadjar K, Miller TA. Autologous fat transfer national consensus survey: trends in techniques for harvest, preparation, and application, and perception of short- and long-term results. *Plast Reconstr Surg.* 2007 Jan;119(1):323-31
- (12) Pu LL, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE Jr, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Sep;122(3):932-7
- (13) Shiffman, M.A., Mirrafati S. Fat Transfer Techniques: The Effect of Harvest and Transfer Methods of Adipocyte Viability and Review of the Literature. *Dermatologic Surgery* 27 (9) pp 819-826. (2001)
- (14) Pu LL, Cui X, Fink BF, Cibull ML., Gao D. The viability of fatty tissues within adipose aspirates after conventional liposuction: a comprehensive study. *Ann Plast Surg* 2005 Mar;54(3):288-92
- (15) Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg.* 2004 Jan;113(1):391-5; discussion 396-7
- (16) Locke MB, De Chalain TM. Current practice in autologous fat transplantation: suggested clinical guidelines based on a review of recent literature. *Ann Plast Surg* 2008 Jan;60(1):98-102
- (17) Padoin AV, Braga-Silva J, Martins P, et al. Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. *Plast Reconstr Surg* 2008 Aug;122(2):614-8
- (18) Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Sep;62(9):1210-4
- (19) Keck M, Zeyda M, Gollinger K, Burjak S, Kamolz LP, Frey M, Stulnig TM. Local anesthetics have a major impact on viability of preadipocytes and their differentiation into adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Nov;126(5):1500-5

- (20) Moore JH, Kolaczynski JW, Morales LM, et al. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesthetic Plast Surg* 1995 Jul-Aug;19(4):335-9
- (21) Shoshani O, Berger J, Fodor L, et al. The effect of lidocaine and adrenaline on the viability of injected adipose tissue--an experimental study in nude mice. *J Drugs Dermatol* 2005 May-Jun;4(3):311-6
- (22) Xie Y, Zheng D, Li Q, Chen Y, Lei H, Pu LL. The effect of centrifugation on viability of fat grafts: an evaluation with the glucose transport test. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Mar;63(3):482-7
- (23) Smith P, Adams WP Jr, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, Brown SA. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg*. 2006 May;117(6):1836-44
- (24) Butterwick KJ. Lipoaugmentation for aging hands: a comparison of the longevity and aesthetic results of centrifuged versus noncentrifuged fat. *Dermatol Surg*. 2002 Nov;28(11):987-91
- (25) Allen RJ Jr MD, Canizares O MD, Nguyen PD MD, Thanik VD MD, Warren SM MD, Saadeh PB MD, Coleman SR MD, Hazen A MD. The Effects of Graded Densities of Lipoaspirate on Fat Graft Survival. *Plastic & Reconstructive Surgery*: 2010 Oct; Volume 126; p 106
- (26) Condé-Green A, de Amorim NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Aug;63(8):1375-81
- (27) Pu LL. Towards more rationalized approach to autologous fat grafting. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Apr;65(4):413-9
- (28) Baran CN, Celebioglu S, Sensöz O, Ulusoy G, Civelek B, Ortak T. The behavior of fat grafts in recipient areas with enhanced vascularity. *Plast Reconstr Surg*. 2002 Apr 15;109(5):1646-51
- (29) Chan CW, McCulley SJ, Macmillan RD. Autologous fat transfer – a review of the literature with a focus on breast cancer surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008 Dec;61(12):1438-48
- (30) Amar O, Bruant-Rodier C, Lehmann S, Bollecker V, Wilk A. Greffe de tissu adipeux: restauration du volume mammaire après traitement conservateur des cancers du sein, aspect clinique et radiologique. *Ann Chir Plast Esthet*. 2008 Apr;53(2):169-77
- (31) Delay E, Gosset J, Toussoun G, Delaporte T, Delbaere M. Efficacité du lipomodélage pour la correction des séquelles du traitement conservateur du cancer du sein. *Ann Chir Plast Esthet*. 2008 Apr;53(2):153-68
- (32) ELFadl D, Garimella V, Mahapatra TK, McManus PL, Drew PJ. Lipomodelling of the breast: a review. *Breast*. 2010 Jun;19(3):202-9
- (33) Yingbo Z, Daping Y. Supplementation of fat grafts with adipose-derived regenerative cells improves long-term graft retention. *Ann Plast Surg* 2012 Jan;68(1):111
- (34) Vera S, Donnenberg, Ludovic Zimmerlin, Joseph Peter Rubin, and Albert D. Donnenberg. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. December 2010, 16(6): 567-575
- (35) Pearl RA, Leedham SJ, Pacifico MD. The safety of autologous fat transfer in breast cancer: Lessons from stem cell biology. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Mar;65(3):283-8
- (36) Donnenberg VS, Zimmerlin L, Rubin JP, Donnenberg AD. Regenerative therapy after cancer: what are the risks? *Tissue Eng Part B Rev*. 2010 Dec;16(6):567-75
- (37) Garrido I, Leguevaque P, Gangloff D, Mojallal A. Transfert de tissu adipeux dans le parenchyme mammaire (2ème partie): y a-t-il un risque carcinologique? *Revue de la littérature. Ann Chir Plast Esthet*. 2011 Feb;56(1):49-58
- (38) Mojallal A, Saint-Cyr M, Garrido I. Autologous fat transfer: controverses and current indications for breast surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009 May;62(5):708-10

- (39) Boschert MT, Beckert BW, Puckett CL, Concannon MJ. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast Reconstr Surg.* 2002 Feb;109(2):761-5; discussion 766-7
- 40) Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatol Surg.* 2000 Dec;26(12):1159-66
- 41) Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ, Gilhar A, Carmi N, Fodor L, Risin Y, Ullmann Y. Enhancing the take of injected adipose tissue by a simple method for concentrating fat cells. *Plast Reconstr Surg.* 2005 Jan;115(1):197-201; discussion 202-3
- 42) Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, Gonda K, Harii K, Yoshimura K. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Mar;121(3):1033-41; discussion 1042-3
- 43) Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fat of adipocytes after non-vascularized fat grafting: Evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* 2012 Jan 18
- 44) Pallua N, Pulsfort AK, Suschek C, Wolter TP. Content of the growth factors bFGF, IGF-1, VEGF, and PDGF-BB in freshly harvested lipoaspirate after centrifugation and incubation. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Mar;123(3):826-33
- 45) Crawford JL, Hubbard BA, Colbert SH, Puckett CL. Fine tuning lipoaspirate viability for fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1342-8
- 46) Pulsfort AK, Wolter TP, Pallua N. The effect of centrifugal forces on viability of adipocytes in centrifuged lipoaspirates. *Ann Plast Surg.* 2011 Mar;66(3):292-5
- 47) Butala P, Hazen A, Szpalski C, Sultan SM, Coleman SR, Warren SM. Endogenous stem cell therapy enhances fat graft survival. *Plast Reconstr Surg.* 2012 Aug;130(2):293-306