

Masarykova univerzita

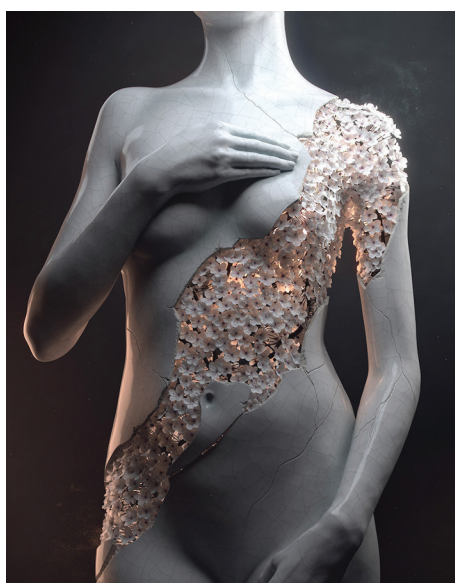
Lékařská fakulta

Klinika plastické a estetické chirurgie



# PŘENOS AUTOLOGNÍ TUKOVÉ TKÁNĚ V PLASTICKÉ A REKONSTRUKČNÍ CHIRURGII PRSU

HABILITAČNÍ PRÁCE



**MUDr. Libor Streit, Ph.D.**

Brno 2018

## Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem habilitační práci vypracoval samostatně a uvedl v seznamu literatury všechny použité odborné zdroje.

## Poděkování

Chtěl bych tuto práci věnovat těm, kteří se podíleli na mém chirurgickém životě, inspirovali mě ke klinické, experimentální a tvůrčí práci, a tím jim poděkovat: prof. MUDr. Jiřímu Veselému, CSc., doc. MUDr. Luboši Dražanovi, Ph.D., doc. MVDr. Aleši Hamplovi, Ph.D., MUDr. Tomáši Mrázkovi, MUDr. Petrovi Hýžovi, Ph.D., dr. Emmanuelovi Delayovi a dr. Danielovi Labbému.

Poděkování patří také mým kolegyním a kolegům, spoluautorům, kteří se podíleli na citovaných publikacích a přednáškách.

Děkuji své rodině a manželce Natalii za trpělivost a bezpodmínečnou podporu.

V neposlední řadě děkuji pacientům, kteří do mě vložili důvěru.

# Obsah

Abstrakt.....	V
Abstract (English).....	VI
Úvod.....	VII
Cíl práce – dílčí témata.....	IX
1. Přehled problematiky, popis operační techniky .....	1
1.1. Historie a začlenění přenosu tuku do moderní plastické chirurgie prsu. ....	1
1.2. Struktura a fyziologie tukové tkáně .....	3
1.3. Předoperační vyšetření, kontraindikace operace .....	5
1.4. Odběr tukové tkáně .....	7
1.5. Zpracování lipoaspirátu .....	8
1.6. Aplikace tukové tkáně .....	10
1.7. Pooperační péče .....	13
1.8. Komplikace .....	13
2. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro .....	17
3. Korekce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku lipomodelací .....	31
4. Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi s lipomodelací .....	41
5. Rekonstrukce prsu po mastektomii technikou lipomodelace.....	49
Výhledy do budoucna .....	64
Soupis literatury a pramenů .....	65
Seznam zkratk .....	75
Seznam obrázků.....	76
Seznam tabulek .....	77
Seznam grafů .....	78
Přílohy – nejvýznamnější práce vztahující se k tématu in extenso .....	79

# Abstrakt

## Přenos autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii prsu

**Úvod a cíl:** Přenos tukové tkáně technikou lipomodelace představuje významný pokrok v plastické a rekonstrukční chirurgii prsu. Vyznačuje se nízkou invazivitou při využití vlastních tkání a je rychle začleňována do stávajících léčebných protokolů. Cílem habilitační práce bylo shrnout poznatky o technice přenosu tuku v několika dílčích tematických okruzích, ve kterých bylo autorem a jeho spolupracovníky dosaženo nejvýznamnějších výsledků.

**Metody:** Práce je členěna do šesti kapitol, které korespondují s nejdůležitějšími výsledky vědeckovýzkumné a klinické činnosti autora. Vychází převážně z odborných prací publikovaných autorským kolektivem Kliniky plastické a estetické chirurgie a Ústavu histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity. Poznatky byly čerpány pomocí studia literatury, během diskusí na odborných českých i mezinárodních setkáních a na zahraničních stážích.

**Výsledky:** Nejvýznamnějším výsledkem experimentální práce autora bylo komplexní porovnání vlastností tukové tkáně zpracované nejčastěji používanými technikami in vitro. V závislosti na použité technice zpracování (sedimentace, centrifugace a filtrace s promýváním přes membránu) byly laboratorně detekovány rozdíly v podílu vodnatých složek, v koncentraci kmenových buněk (ASCs) a v morfologii tukové tkáně na submikroskopické úrovni. V klinické praxi jsme lipomodelaci prsu použili v řadě indikací, buď samostatně jako hlavní operační techniku, anebo jako nedílnou součást kombinovaných chirurgických postupů, z nichž některé byly zcela nové, např. rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi s lipomodelací. Výsledkem práce autora je také funkční vzorek zdravotnického prostředku, který zefektivňuje způsob odběru a zpracování tukové tkáně pro vysokoobjemový fat grafting, a mezinárodní patentová přihláška PCT.

**Závěr:** Porovnání vlastností tukové tkáně po zpracování nejčastěji používanými technikami je důležité pro správný výběr metody zpracování tuku pro klinickou praxi, protože kvalita tukového štěpu přímo ovlivňuje výsledky po operacích založených na přenosu tukové tkáně. Technika lipomodelace prsu přináší velmi dobré výsledky, které v některých indikacích nelze dosáhnout jinou operační technikou. To platí zejména o korekci vývojových vad prsu a hrudníku. Trend navyšování počtu těchto operací lze předpokládat rovněž do budoucna, a to i díky novým technologiím, které zrychlují odběr a zpracování tukové tkáně.

# Abstract (English)

## Autologous Fat Transfer in Plastic and Reconstructive Breast Surgery

**Background:** Fat transfer (lipomodelling) is a promising surgical technique that represents an important advance in plastic and reconstructive breast surgery. It is characterized by the low invasiveness, by using the patient's own fat and its quick integration into existing treatment protocols. The aim of this habilitation thesis was to summarize the knowledge of the lipomodelling technique in several chapters with the relevant publications of the author and his colleagues.

**Methods:** This thesis is divided into six chapters which correspond to the most important results of the scientific, research, and clinical activities of the author. It is based on the scientific works published by the author's team, mostly at the Department of Plastic and Aesthetic Surgery and the Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic. Knowledge has been continuously updated by studying literature and also through domestic and international scientific meetings and fellowships.

**Results:** The most important result of the author's experimental work was a comprehensive in vitro comparison of the preparation techniques for fat grafting — decantation, centrifugation and membrane-based filtration. Depending on the processing technique, significant differences in the proportions of the aqueous component, stem cells concentration (ASCs), and adipose tissue morphology at the submicroscopic level were detected. In clinical practice, we used breast lipomodelling in several indications, either as a principal surgical technique or as an integral part of combined surgical procedures. Some of these were completely new, like autologous breast reconstruction with latissimus dorsi muscle and lipomodelling. The result of the author's inventive work is a functional specimen of an innovative medical device for more effective preparation of adipose tissue for high-volume fat grafting.

**Conclusions:** Comprehensive knowledge of how the preparation technique affects the properties of adipose tissue is essential for surgeons, especially for the choice of preparation technique for their clinical practice, because the quality of the fat graft directly affects the results after a surgery based on the fat transfer. Lipomodelling is a reliable and effective technique that makes it possible to achieve very good and natural results, which are unattainable in some indications, especially in the correction of congenital hypoplastic breast and thoracic malformations. An increased number of these surgeries can be expected in the future thanks to new technologies that accelerate the harvesting and preparation of adipose tissue.

# Úvod

Transplantace autologní tukové tkáně je chirurgická metoda, pomocí které se přenáší tuková tkáň z míst jejího nadbytku do oblastí, kde je potřebná pro doplnění objemu, zvětšení velikosti, anebo pro svoje regenerační účinky.

Tuková tkáň může být přenášena jako kompaktní tkáň spolu s hlubokou vrstvou kůže, koríem ve formě štěpu bez cévního zásobení (koriotukové štěpy), anebo jako vaskularizovaná tkáň ve formě laloků (koriotukové laloky).

Častěji je dnes tuk po odsátí přenášen v injekční formě. Metoda pak bývá označována anglickými termíny **lipofilling**, **fat grafting**, lipotransfer, lipografting, nebo českými termíny lipoinjekce, anebo přenos tuku. V plastické a rekonstrukční chirurgii prsu je nejvýstižnější český název **lipomodelace prsu**, který nejlépe vystihuje značné možnosti techniky ve smyslu tvarování prsu. Ať už je metoda nazývána jakkoliv, základní principy zůstávají vždy stejné.

Lipotransfer lze rozdělit podle objemu přenášené tkáně na vysokoobjemový, kdy se přenáší více než 100 ml tukové tkáně, a nízkoobjemový, kdy se přenáší menší objemy. Vysokoobjemový fat grafting je prováděn především za účelem doplnění chybějícího objemu nebo ke zvětšení velikosti operované oblasti. Regenerační účinek je druhotný. Lipomodelace prsu je typickým příkladem vysokoobjemového fat graftingu.<sup>1-7</sup>

U nízkoobjemového lipofillingu je v popředí regenerační účinek, zvětšení objemu příjmové oblasti je pak do jisté míry druhotné. Příkladem může být léčba radioterapií poškozené kůže, léčba sklerodermie a korekce plošných jizev po popálení.<sup>8-11</sup> Nízkoobjemový fat grafting je dále vhodnou chirurgickou technikou k doplnění objemu u progresivní hemifaciální atrofie. V estetické chirurgii je nízkoobjemový fat grafting využíván k regeneraci stárnoucí kůže a podkoží při rejuvenaci obličeji, dekoltu a na ruku.<sup>12-17</sup>

Přenos tuku se skládá ze tří na sebe navazujících kroků: 1) odběru, 2) zpracování a 3) aplikace tukové tkáně. Mohou se značně lišit podle toho, co je hlavním cílem operace. Technika zpracování má zásadní vliv na kvalitu tukového štěpu. Tuková tkáň se v klinické praxi zpracovává nejčastěji pomocí tří základních fyzikálních principů, mezi které patří sedimentace, centrifugace a filtrace přes membránu.<sup>18,19</sup>

Technika lipomodelace představuje významný pokrok v chirurgii prsu posledních 15-20 let. Lipomodelací lze docílit mimořádně dobrých výsledků, které nelze v některých indikacích jinou operační technikou dosáhnout. Proto je technika lipomodelace začleňována stále častěji do stávajících léčebných protokolů.<sup>1,4,20-22</sup> Vyznačuje se nízkou invazivitou, krátkou dobou hospitalizace a rekonvalescence při využití vlastních tkání. Lipomodelace prsu je pacientkami velmi dobře tolerována vzhledem k minimální velikosti jizev na prsu a v místě odběru, pro nízký

počet chirurgických komplikací, a v neposlední řadě i pro jistý estetický bonus po liposukci v místě odběru tukové tkáně.

Lipomodelace může být použita samostatně jako hlavní operační technika:

- k rekonstrukci vrozených vývojových vad prsu a hrudníku,
- při sekundární rekonstrukci prsu,
- ke zvětšení prsou a ke korekci prsních asymetrií z kosmetických důvodů,
- ke korekci deformit po záchovných operacích prsou,
- jako sekundární operace po jiných operacích prsou (např. k doplnění objemu po rekonstrukci prsou břišním lalokem nebo k doplnění objemu v dekoltu po redukcii prsou apod.).

Anebo je přenos tuku nedílnou součástí kombinovaných chirurgických postupů:

- rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi s lipomodelací,
- kůži šetřící nebo subkutánní mastektomie a okamžitá rekonstrukce prsu lipomodelací,
- lipomodelace při výměně implantátů,
- korekce vrozených deformit hrudníku a prsou prsním implantátem a lipomodelací,
- kompozitní augmentace prsou,
- modelace prsou s augmentací vlastním tukem.



# Cíl práce – dílčí témata

Bez nároku na kompletní pokrytí celé šíře problematiky přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii prsu lze téma rozdělit do několika dílčích oblastí, kterým se autor habilitační práce se svými spolupracovníky věnoval:

- přehled problematiky, popis operační techniky,
- porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro,
- korekce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku lipomodelací,
- rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi s lipomodelací,
- rekonstrukce prsu po mastektomii technikou lipomodelace,
- vývoj zdravotnického prostředku pro efektivní odběr a zpracování tukové tkáně pro vysokoobjemový fat grafting.

Výše zmíněným tematickým okruhům odpovídají jednotlivé kapitoly této práce. Vycházejí převážně z odborných prací publikovaných v minulosti autorem habilitační práce a jeho spolupracovníky a na ně bezprostředně navazující výsledky klinické práce. Některé publikace, které považuje za nejvýznamnější, jsou přiloženy in extenso. Jedna z kapitol je věnována vývoji zdravotnického prostředku pro zpracování tukové tkáně od prvního funkčního vzorku až po podání mezinárodní patentové přihlášky.

# 1. Přehled problematiky, popis operační techniky

## 1.1. Historie a začlenění přenosu tuku do moderní plastické chirurgie prsu

Myšlenka přenést tukovou tkáň z místa jeho relativního nadbytku za účelem zvětšení objemu prsu není nová. V roce 1895 zveřejnil německý chirurg prof. Vincenz Czerny první případ rekonstrukce prsu přenosem tukové tkáně, kdy defekt po odstranění ložiska fibrózní mastitidy prsu vyplnil objemným lipomem.<sup>23</sup> Eugene Holländer v roce 1910 popsal techniku přenosu tuku podobnou té, kterou používáme dnes. Tukovou tkáň chirurgicky odebral, rozmělnil a následně aplikoval lipoinjekcemi. Techniku přenosu tuku použil i ke korekci deformity prsu vzniklé po chirurgickém odstranění tumoru.<sup>24</sup>

Průkopníkem přenosu tuku byl i Erich Lexer. Ve své dvoudílné knize „*Die freien Transplantationen*“ věnoval přibližně 300 stran právě technice transplantace tukové tkáně. Domníval se, že přenos tuku nalezne široké uplatnění v rekonstrukční i estetické chirurgii. Techniku použil také ke korekci asymetrie prsu po exstirpaci benigního tumoru. Z důvodů četných infekčních komplikací, kterým nebylo možné na počátku 20. století zabránit vzhle-

dem k omezeným možnostem zajištění asepse a neexistenci antibiotik, nenašel přenos tukové tkáně v této době širší uplatnění. Pro další rozvoj přenosu tukové tkáně byla důležitá práce Lyndona A. Peera, který v roce 1950 publikoval teorii o přihojování tukové tkáně. Studoval stupeň vstřebání objemu a morfologii přenesené tkáně na mikroskopické úrovni v závislosti na velikosti tukového štěpu. Upozornil na citlivost tukové tkáně na způsob odběru a délku ischémie, poukázal na nutnost šetrného zacházení s tukovým štěpem.<sup>25</sup>

V Československu se přenosu koriotukového štěpu zabýval prof. Kubáček, který v 60. letech minulého století popularizoval přenos koriotukového štěpu při rekonstrukci břišní stěny (tzv. Rehnova plastika<sup>26</sup>). Koriotukové štěpy používal k augmentaci prsu prof. Fára.<sup>27</sup> Na brněnské Klinice plastické a estetické chirurgie byly prof. Veselým a dr. Molitorem v roce 2006 přeneseny volně koriotukové laloky s našitím výživných cév ke korekci propadlin v obličeji u Seipova syndromu.

Koncem 70. let minulého století byla pařížským chirurgem Illouzem vyvinuta technika liposukce. Liposukcí odebraný tuk začal Illouz v 80. letech používat k augmentaci prsu.<sup>28</sup> Pravděpodobně nezávisle ve stejné

době a ve stejném měště popsal techniku přenosu odsátého tuku Fournier. Tukové injekce aplikoval pouze pod žlázu prsu (retroglandulárně) a operaci nabízel výhradně pacientkám, které si přály mírné zvětšení prsou a současně odmítaly augmentaci pomocí prsního implantátu.<sup>29</sup>

Následně se tyto operace začaly provádět ve větší míře a postupně se navyšovaly přenášené objemy, s čímž souvisel i vyšší výskyt tukových nekróz. Radiologové poukazovali na nemožnost odlišení mikrokalcifikací a olejových cyst od karcinomu prsu. Proto Americká společnost plastické chirurgie (ASPS) v roce 1987 odsoudila použití injekcí autologního tuku pro zvětšení prsou, což ve svých důsledcích znamenalo v USA dočasné pozastavení klinického i experimentálního výzkumu v dané oblasti. Později se potvrdilo, že i kalcifikace vznikající po přenosu tukové tkáně do oblasti prsu jsou diagnosticky rozpoznatelné od mamografického nálezu při podezření na karcinom.<sup>30,31</sup>

V devadesátých letech 20. století proto docházelo k rychlejšímu začleňování techniky přenosu tuku do plastické a rekonstrukční chirurgie mimo USA. Značné zásluhy na tom má francouzský plastický chirurg Emmanuel Delay, který v roce 1998 začal se svými kolegy fat graftingem doplňovat chybějící objem prsu zrekonstruovaného pomocí laloku latissimus dorsi. Postupně se navyšovaly objemy přenášeného tuku, pacientky byly paralelně vyšetřovány mamograficky, ultrazvukem a magnetickou rezonancí, aniž by se tím navyšoval počet tukových nekróz. Výsledky těchto studií tedy oprávněnost dřívějších obav nepotvrdily. Na stejném pracovišti se postupně rozšiřovalo indikační spektrum, nejprve lipomodelace ke korekci nedostatků

po rekonstrukci prsu břišními laloky nebo implantáty, následně rekonstrukce prsu lipomodelací po mastektomii, dále u vrozených vad prsu a hrudníku, ke korekci deformit prsu po konzervativní léčbě karcinomu prsu. Lipomodelace se tak postupně znovu začala používat i v estetické chirurgii k augmentaci prsu.<sup>1,4,32,33</sup>

Lipomodelace prsu začala být následně znovu náplní kongresů plastických chirurgů, nejprve v roce 2001 na kongresu společnosti francouzské plastické chirurgie SoFCPRE v Paříži, a poté ve stejném roce v Miláně. Na mezinárodní úrovni byla lipomodelace prsu hlavní náplní kongresu IPRAS v roce 2003.

Italský mikrochirurg Gino Rigotti se světově proslavil zejména tím, že poukázal na regenerační účinek přenesené tukové tkáně v léčbě defektů vzniklých následkem radioterapie. Regenerační účinky dal do souvislosti s přítomností mezenchymálních kmenových buněk v přenesené tukové tkáni, práci publikoval v roce 2007<sup>8</sup>. Rigotti je dále autorem myšlenky jehlové fasciotomie, kdy se perkutánně pomocí jehly protínají vazivové pruhy nebo jizvy v podkoží, které by jinak zamezovaly expanzi kůže po přenosu tukového štěpu. Někdy jsou pak tyto fasciotomie označovány jako rigottomie.

Ve stejném roce publikoval americký plastický chirurg Sydney Coleman svoje zkušenosti s lipofillingem prsu na souboru 17 pacientek a vyzval Americkou společnost plastické chirurgie k přehodnocení postojů k využití této operační techniky.<sup>34</sup> Zdokonalil, standardizoval a vědecky popsal techniku přenosu tuku, podílel se na vývoji odběrových a aplikačních kanyl, které se následně staly vůbec nejčastěji používanými kanyly a někdy jsou označovány jako Colemanovy

kanyly. Dále vytvořil protokol zpracování tukové tkáně centrifugací při otáčkách 3000 min<sup>-1</sup> na speciální centrifuze určené pro centrifugaci 10 ml stříkaček. Po přepočtu podle použitého průměru rotoru odpovídají otáčky 3000 min<sup>-1</sup> relativní odstředivé síle 1286 g. A nakonec Coleman popsal hlavní technické zásady aplikace tukové tkáně. Doporučil aplikovat malé objemy tuku při zpětném pohybu kanyly z mnohočetných vpichů vějířovitě a v různých vrstvách, aby se minimalizovalo riziko hromadění tukové tkáně v příjmovém místě. Techniku přenosu tuku nazval „lipostructure“.<sup>13-15,35</sup>

Roger Khouri vynalezl a popularizoval systém zevní tkáňové expanze (BRAVA™), pomocí kterého lze expandovat kůži prsu. Současně se tak vytváří edém a narůstá výchozí objem příjmových měkkých tkání a jejich prokrvení. Tím se navyšuje i jejich kapacita pro přihojení většího objemu tukové tkáně.<sup>6,7,36,37</sup>

V posledních 15-20 letech jsme byli svědky obrovského rozmachu v používání přenosu tuku v plastické a rekonstrukční chirurgii prsu. Vznikla samostatná mezinárodní vědecká společnost regenerativní plastické chirurgie ISPRES, pod jejíž záštitou bylo v březnu 2012 zorganizováno první mezinárodní setkání společnosti. Fat grafting se stal uznávanou součástí plastické a rekonstrukční chirurgie.<sup>1,4</sup>

## 1.2. Struktura a fyziologie tukové tkáně

Tuková tkáň patří mezi pojivové tkáně. Pro přenos tukové tkáně je využívána bílá tuková tkáň, která se nachází v podkoží. Je tvořena tukovými buňkami, adipocyty, jedněmi

z největších buněk v lidském těle s velikostí 50-120 μm. Obsahují jednu centrálně uloženou tukovou kapénku obklopenou prstencem cytoplazmy a jádro umístěné na periferii buňky. Adipocyty jsou obklopeny mezibuněčnou hmotou, kterou označujeme jako extracelulární matrix (ECM). ECM má: 1) fibrilární komponentu složenou z kolagenních, retikulárních a elastických vláken a 2) amorfní komponentu, která je tvořena glykosaminoglykany, proteoglykany, glykoproteiny. V tukové tkáni je fibrilární komponenta tvořena především retikulárními vlákny, vytvářejícími jemnou síť kolem adipocytů, a kolageními vlákny, které se nacházející především na rozhraní lalůček a laloků tukové tkáně.

Většina objemu tukové tkáně je tvořena plně diferencovanými adipocyty. Tuková tkáň obsahuje v menším počtu i jiné typy buněk, mezi které patří fibroblasty, vaskulární endoteliální buňky, preadipocyty a nakonec mezenchymální kmenové buňky, na které poukázali Van et al. již v roce 1976, když z enzymaticky natrávené tukové tkáně izolovali fibroblastům podobné buňky, které v průběhu kultivace proliferovaly a získaly některé morfologické a biochemické. Dopusud neexistuje protokol, pomocí kterého bychom dokázali izolovat zcela jednotnou populaci ASCs (tedy monoklonální populaci buněk). Princip izolace těchto buněk lze zjednodušeně popsat jako enzymatické natrávení lipoaspirátu s následnou centrifugací, po které se ze spodiny zkumavek odebírá sediment. Izolovaná skupina buněk se označuje jako vaskulární stromální frakce (SVF). SVF je směs více druhů buněk, mezi které patří mimo ASCs i fibroblasty, vaskulární endoteliální buňky, preadipocyty, bílé krvinky apod. Izolace monoklonální populace ASCs pomocí průtokové cytometrie či magnetické separace je limitována

doposud nejednotnými názory na klíčovou kombinaci buněčných markerů.<sup>8,18,41-45</sup> Rozdíly v jednotlivých CD markerech použitými jednotlivými autory jsou přehledně zpracovány v Tabulce 1. Určení ASCs pouze na základě povrchových markerů není proto dostačující. Mezinárodní společnost pro buněčnou terapii (ISCT) doporučuje definovat ASCs jako buňky, které mají následující vlastnosti:

- 1) schopnost buněk adherovat k plastu *in vitro*,
- 2) přítomnost resp. absence povrchových buněčných CD markerů,
- 3) schopnost diferenciovat do mnohočetných buněčných linií.<sup>43</sup>

Chápání procesů probíhajících v tukové tkáni se v posledních letech výrazně změnilo.

Autor, název práce, citace	Charakteristika ASCs pomocí povrchových buněčných CD markerů
Rigotti, G., et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. <sup>8</sup>	CD 29+, CD44+, CD 73+, CD90+, CD105+
Mitchell, J. B., et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: Temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. <sup>45</sup>	CD14+, CD34+, CD45+, CD73+, CD90+, CD105+,
Yoshimura, K., et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. <sup>41</sup>	CD 31-, CD34+, CD45-, CD90+, CD105-, CD146-
Yang, X.-F., et al. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. <sup>44</sup>	CD 29+, CD31-, CD34-, CD 44+, CD45-, CD 73+, CD105+, CD166+, HLA-DR-
Yoshimura, K., et al. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. <sup>42</sup>	CD 31-, CD34+, CD45-, CD90+, CD105-, CD146-
Dominici, M., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. <sup>43</sup>	CD14-, CD34-, CD45-, CD73+, CD90+, CD105+
Condé-Green, A., et al. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: A comparative study. <sup>18</sup>	CD 34+, CD45-, CD105+
Condé-Green, A., et al. Effects of Centrifugation on Cell Composition and Viability of Aspirated Adipose Tissue Processed for Transplantation. <sup>46</sup>	CD 34+, CD45-, CD105+

**Tabulka 1.** Definice ASCs na základě povrchových CD markerů podle jednotlivých autorů.

Bylo prokázáno, že počet adipocytů v těle nezůstává konstantní. Adipocyty mohou být doplňovány z preadipocytů, resp. z ASCs. Tímto způsobem se zvětšuje počet adipocytů při nárůstu hmotnosti, kdy současně dochází i ke zvětšování objemu adipocytů. Při stabilní hmotnosti by měly být tyto pochody v rovnováze.<sup>47</sup>

Analogicky jsou z prekurzorových buněk nahrazovány i poškozené buňky, v tukové tkáni tyto procesy probíhají ve srovnání s jinými tkáněmi relativně pomalu. Jedná se o tkáň s pomalým obratem buněk, tedy tzv. o flexibilní (F-ty) tkáň. Při ozáření dochází k selektivnímu poškozování ASCs a prekurzorových buněk, přirozená obměna buněk ve tkáních je tak narušena. To se projeví v odstupu týdnů až měsíců po ozáření jako pozdní nežádoucí účinky radioterapie – atrofie, fibróza, teleangiektázie, nekróza.<sup>48</sup> Regenerační efekt fat graftingu se vysvětluje přítomností ASCs v tukovém štěpu. Spolu s tukovým štěpem se do radioterapií poškozených tkání dostávají i ASCs. Dochází tak k obnově fyziologických procesů ve tkáních včetně obměny poškozených buněk, k regeneraci.<sup>8</sup>

### 1.3. Předoperační vyšetření, kontraindikace operace

Lipomodelace prsu je prováděna zpravidla v celkové anestézii.<sup>1,4</sup> Lokální anestézie v kombinaci s analgosedací se používá méně často. Nevýhodou lokální anestézie je infiltrace příjmového místa lokálním anestetikem, což snižuje přesnost tvarování prsu a současně kapacitu přijmout objem tukové tkáně. Navíc byl prokázán toxický vliv lokálních

anestetik na adipocyty a preadipocyty.<sup>49,50</sup> Na začátku operace se podávají profylakticky intravenózní antibiotika.

Kontraindikace lipomodelace prsu nejsou časté. Mezi kontraindikace patří přítomnost aktivního onkologického onemocnění, přítomnost jiného vážného systémového onemocnění a akutně probíhající infekční onemocnění.

Lipomodelace prsu by měla být kontraindikována u pacientek s potvrzenou mutací v genech BRCA 1, 2 s ponechanou mléčnou žlázou. To stejné platí i pro pacientky, které splňují kritéria pro genetické testování těchto mutací, ale ještě nebyly testované. Mezi tyto pacientky patří 1) nemocné osoby bez pozitivní rodinné anamnézy (pacientky s diagnostikovaným karcinomem prsu nebo ovaria do 40 let, pacientky s duplicitou karcinomu prsu a ovaria nebo pacientky s bilaterálním karcinomem prsu v jakémkoliv věku), 2) nemocné osoby s pozitivní rodinnou anamnézou (dvě příbuzné prvního nebo paternálně druhého stupně s karcinomem prsu nebo ovaria, kdy alespoň jedna je diagnostikována ve věku pod 50 let, anebo tři a více karcinomů prsu nebo ovaria v jedné linii bez věkové limitace) a nakonec 3) zdravé pacientky, jejichž rodinní příslušníci měli geneticky potvrzenou mutaci v genech BRCA 1 nebo BRCA 2.<sup>51</sup> Rekonstrukce prsu po mastektomii, kdy je rizikový parenchym prsu odstraněn, není ani u těchto rizikových pacientek kontraindikována. Naopak korekce deformit po partiálních mastektomiích u těchto pacientek kontraindikována je.<sup>52</sup>

Lipomodelace prsu v estetických indikacích je kontraindikována i u pacientek s anamnézou karcinomu prsu, a to i v rámci úprav druho-

stranného zdravého prsu při asymetriích po rekonstrukci prsu. Obezřetnost v indikaci je na místě i u jinak zdravých pacientek s pozitivní rodinnou anamnézou karcinomu prsu a ovaria v rodině.<sup>52</sup>

Lipomodelace prsou za účelem korekce deformity po parciální mastektomii a adjuvantní radioterapii by neměla být prováděna dříve než 5 let od operace, a to pouze v případech, kdy v tomto období nebyl výskyt lokálně-regionální recidivy.<sup>52</sup> U výrazných deformit, u kterých je vhodné plánovat korekci dříve než 5 let od parciální mastektomie, je ke zvážení odstranit spolu s jizvami i ponechanou mléčnou žlázu a provést rekonstrukci celého prsu (zpravidla jinou operační technikou, než přenosem tuku).

Metoda není vhodná pro štíhlé pacientky. V rámci předoperační rozvahy dokáže zkušený plastický chirurg na základě tělesné konstituce pacientky odhadnout, kolik tuku lze u pacientky odebrat a určit, zda to bude dostatečné pro dosažení očekávaného výsledku u dané indikace. Je třeba zohledňovat skutečnost, že se zpracováním tukové tkáně eliminují vodnaté složky lipoaspirátu, tedy zejména tumescentního roztoku. V některých případech může být štíhlost pacientky spíše pouze technickou překážkou, kdy je třeba lipoaspirát odebírat z více odběrových míst. Již při první konzultaci je tedy třeba posoudit, zda je na odběrových místech dostatek tukové tkáně pro dosažení požadovaného výsledku.<sup>53</sup>

Relativní kontraindikací je nestabilní hmotnost pacientky před operací. Přenesený tuk si s sebou totiž nese vlastnosti z odběrových míst, tento jev můžeme volně označit jako vnitřní paměť tuku. Pokud pacientka ztrácí po operaci na váze, ubývá i objem přeneseného tuku, a naopak.<sup>1,4</sup>

Tuk by neměl být přenášen do oblastí, kde je prokázána tuková nekróza. Menší tukové nekrózy vzniklé přenosem tuku se mohou spontánně vstřebat, vstřebávání můžeme usnadnit masírováním. Větší tukové nekrózy lze před operací odstranit fragmentací pomocí menší liposukce v lokální anestézii, případně exstirpací. Následně s odstupem minimálně 3-6 měsíců je možné přenos tuku opět realizovat.

Předoperační vyšetření u pacientek před lipomodelací prsu by mělo obsahovat tato **doplňková vyšetření podle diagnózy:**

a) pacientky po mastektomii: vyjádření onkologa potvrzující, že je pacientka v remisi,

b) pacientky s deformitou prsu po záchovné operaci a adjuvantní radioterapii: vyjádření onkologa potvrzující, že je pacientka v remisi onemocnění. Nezbytné je ultrazvukové a mamografické vyšetření, někdy také magnetická rezonance,

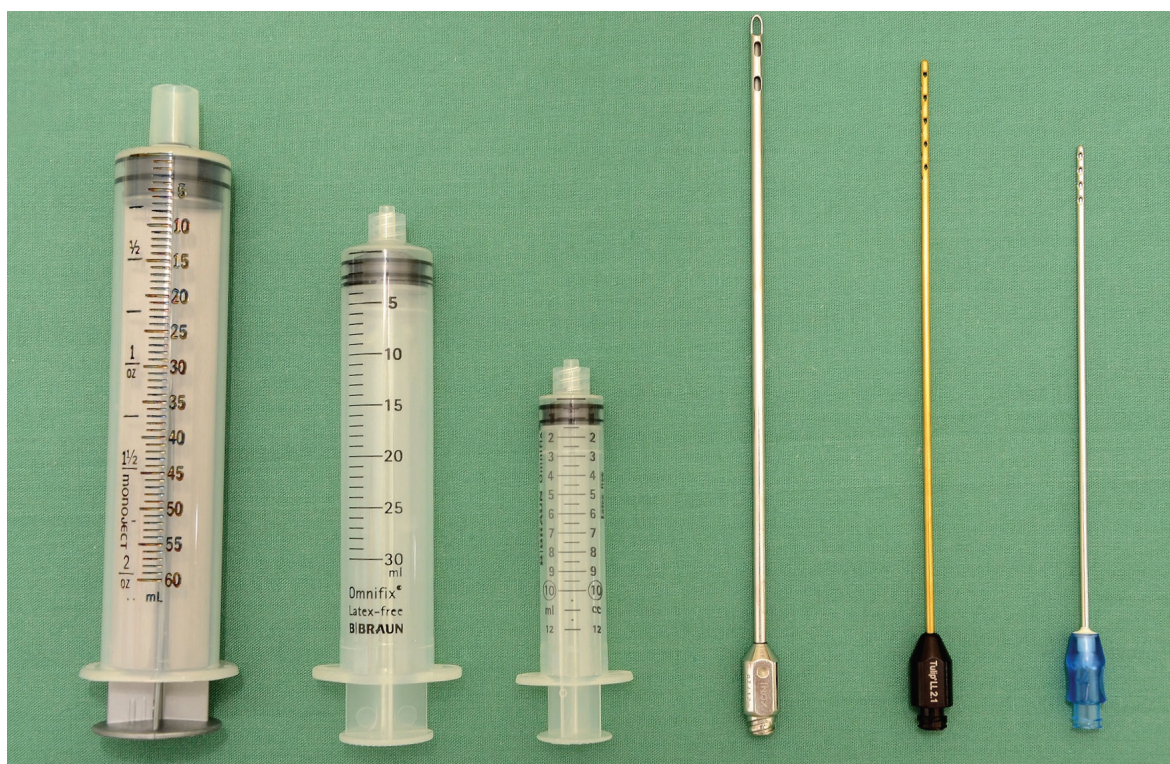
c) pacientky před estetickou operací prsu (např. zvětšení prsu vlastním tukem) nebo před korekcí prsní malformace prsu lipomodelací (Polandův syndrom, tuberózní prs, pectus excavatum). Před operací je vyžadováno ultrazvukové a mamografické vyšetření bez nálezu podezřelého ložiska – tedy nález 1. nebo 2. stupně dle klasifikace BI-RADS. Mamografické vyšetření není nutné provádět u žen mladších 40 let. Ultrazvukové vyšetření není třeba provádět u dívek a žen s hypoplastickými vrozenými vadami prsou do 25 let při negativním palpačním vyšetření prsu, anebo v případech aplazie prsu v libovolném věku.

## 1.4. Odběr tukové tkáně

Tuková tkáň se odebírá liposukcí podkožních tukových depozit z lokalit, kde je v nadbytku. Technika odběru zásadně ovlivňuje kvalitu tukového štěpu.

K infiltraci odběrových partií se zpravidla používají nižší objemy tumescentního roztoku než u liposukcí z kosmetických důvodů. Na Klinice plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny v Brně infiltrujeme fyziologickým roztokem s přídatkem adrenalinu v koncentraci 1:50000.<sup>1,4</sup> Smyslem infiltrace není mechanické rozepnutí tkání pro snadnější odběr, ale

zejména nasycení tkání adrenalinem. Pro další aplikaci je podíl vodnatých složek v tukovém štěpu spíše nevýhodou, protože vodnaté složky lipoaspirátu se snažíme během zpracování naopak odstranit. Při použití vyšších objemů tumescentního roztoku se prodlužuje doba odběru a zpracování tuku. Dále se nedoporučuje přidávat do tumescentního roztoku lokální anestetika, protože byl prokázán jejich toxický vliv na adipocyty a preadipocyty.<sup>49,50</sup> Infiltrace odběrových partií naředěným lokálním anestetikem (ideálně s vazokonstrikčním účinkem) lze doporučit po skončení odběru ke snížení pooperačních bolestí.



**Obrázek 1.** Odběrové kanyly a stříkačky.

V pořadí zleva doprava:

- 1) 60 ml stříkačka typu „toomey“ – součástí setu PureGraft™,
- 2) 30 ml stříkačka se závitem typu „luer-lock“ – na naší klinice používáme při lipomodelaci prsu,
- 3) 10 ml stříkačka se závitem typu „luer-lock“ – na naší klinice používáme při odběru při fat graftingu v obličeji, anebo k aplikaci při lipomodelaci prsu,
- 4) odběrová kanyla o průměru 3,5 mm délky 17cm s 6 otvory na hrotu kanyly (model PLA187, Pouret Medical, Francie) – používáme k lipomodelaci prsu,
- 5) odběrová kanyla od firmy Tulip pro micro fat grafting – sterilizovatelná,
- 6) odběrová kanyla z jednorázového setu „St’rim“ od firmy Thiebaud pro micro fat grafting.



V klinické praxi se používají odběrové kanyly o různých průměrech, různých velikostech otvorů a jejich prostorového uspořádání na hrotu kanyly.

Odběr se provádí nejčastěji ručně pomocí stříkaček se šroubovacím uzávěrem typu luer-lock nebo s konickým uzávěrem typu toomey pro nasazení kanyly. Průměr uzávěru typu toomey je větší než u typu luer-lock (Obrázek 1). Podtlak se vytváří pohybem pístu stříkačky plynule pomocí tlaku palce. Komerčně jsou dostupné různé pomůcky fixující píst stříkačky v natažení. Odběrovou liposukční kanylu je možné napojit prostřednictvím hadice na sběrnou nádobu (kolektor), uvnitř které se vytváří podtlak napojením na chirurgickou odsávačku. Kolektory začínají být používány ve větší míře zejména na pracovištích, které provádějí přenos tukové tkáně častěji.

Průměr odběrové liposukční kanyly a velikost otvorů má na vlastnosti odebrané tukové tkáně pravděpodobně největší vliv. Rozdíly ve viabilitě adipocytů názorně zdokumentoval Tonnard et al. ve své práci o nanofat graftingu, kde popsal vyšší viabilitu při použití kanyl o průměru 3 mm se dvěma otvory 2x7 mm po stranách (klasický odběr) oproti kanylám stejného průměru s mnohočetnými otvory průměru 1 mm po stranách (technika microfat grafting). Ještě nižší viabilitu pak zdokumentovali při opakovaném pasážování tukové tkáně přes úzké hrdlo stříkačky s koncovkou luer-lock (technika nanofat grafting).<sup>54</sup>

Nepotvrdilo se, že by velikost podtlaku zásadně ovlivňovala viabilitu odebrané tukové tkáně.<sup>55-57</sup>

## 1.5. Zpracování lipoaspirátu

Odebraná tuková tkáň, tzv. lipoaspirát, je směsí fragmentů tukové tkáně, tukových kapének, buněčného detritu, tumescentního roztoku a krve. Kvalita a poměrné zastoupení jednotlivých složek lipoaspirátu závisí na způsobu odběru. Cílem dalšího zpracování lipoaspirátu je získání purifikované buněčné směsi, která se po přenosu minimálně vstřebává a má co nejvyšší regenerační účinky.

Nejjednodušší a nejdéle používanou technikou je **sedimentace**, při které se jednotlivé složky lipoaspirátu od sebe oddělují působením gravitační síly. Její výhodou je jednoduchost, nevýhodou pak časová náročnost a vysoký podíl vodnatých složek ve zpracovaném tuku.<sup>58</sup> V nejjednodušším provedení se ponechá lipoaspirát sedimentovat přímo v odběrových stříkačkách (princip sedimentace je využíván u komerčně dostupných sběrných nádob lipoaspirátu, ve kterých je vytvářen podtlak napojením na zdravotnickou odsávačku, a které jsou uzpůsobené pro napojení sběrné hadice spojující sběrnou nádobu s odběrovou kanylou. Tyto kolektory lze umístit přímo na operační stůl, některé jsou sterilizovatelné, spodina kolektoru bývá zpravidla vybavena výpustí na vodnaté složky lipoaspirátu.

Snad nejčastěji používanou technikou zpracování lipoaspirátu je **centrifugace**. Byla popularizována Colemanem, který detailně popsal techniku zpracování tukové tkáně tří minutovou centrifugací použitím relativní odstředivé síly 1286 g. Centrifugace se provádí přímo v odběrových stříkačkách (nejčastěji v 10 ml stříkačkách dle Colemana). Odstředěním se lipoaspirát rozdělí do čtyř vrstev (Obrázek 7, str. 18). Horní „olejová



**Obrázek 2.** Centrifugace lipoaspirátu.

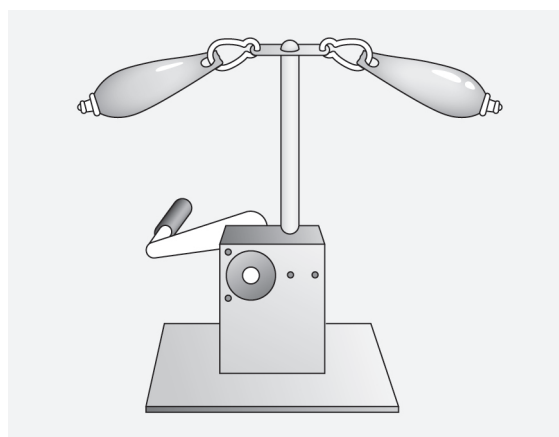
Na snímcích znázorněna centrifugace odebrané tukové tkáně ve 30 ml odběrových stříkačkách a následné odstraňování dolní vodnaté vrstvy jednoduchým povolením uzávěru stříkačky. Překlopením stříkačky se odstraňuje horní olejová vrstva, vylití vrstvy tukové tkáně je možné zabránit přiložením mulu, který současně absorbuje zbytky olejové vrstvy. Poslední snímek zachycuje přepouštění zpracované tukové tkáně do aplikačních 10 ml stříkaček.

vrstva“ obsahuje glyceridy z vakuol rozpadlých tukových buněk. Pod ní se nachází „vrstva tukové tkáně“, která se nejčastěji jako celek odděluje od ostatních vrstev a používá se k vlastnímu přenosu. Pod ní je světle růžová „vodnatá vrstva“ obsahující tumescenční roztok a složky plasmy. Poslední dolní vrstva (sediment) bývá v literatuře označována jako pellet, obsahuje zbytky pojiva, erytrocyty, leukocyty a další jaderné buňky.

Na Klinice plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny v Brně centrifugujeme relativní odstředivou silou 1 200 g přímo v odběrových 30 ml stříkačkách, čímž se oproti práci s 10 ml stříkačkami snižuje počet manipulací a celý proces se zrychluje. Po centrifugaci se uvolní zátky z uzávěru stříkačky a dolní vodnatá vrstva se nechá volně vytéct. Částečně se při tom ze spodiny odstraní i frakce pellet. Horní tukovou vrstvu lze odstranit vylitím po překlopení stříkačky (Obrázek 2).

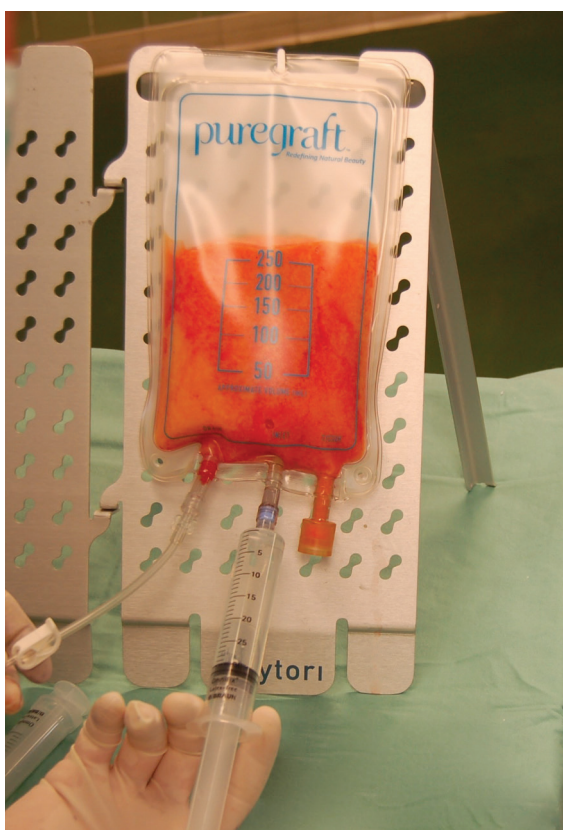
Na některých pracovištích v USA se dnes používá ruční centrifugace v infuzních setech označovaná jako „bag centrifugation technique“. Vzhledem k ručnímu pohonu je velikost odstředivé síly výrazně nižší a nekonstantní (Obrázek 3).

Třetím základním principem zpracování lipoaspirátu je **filtrace přes membránu**. Používají se filtrační jednotky v podobě



**Obrázek 3.** Ruční centrifugace v infuzních setech.

sběrných kanystrů, jejichž vstupní část je oddělena od výtokové části membránou, přes kterou probíhá filtrace. Jiným komerčně dostupným systémem na zpracování tuku filtrací jsou sety PureGraft™ (Obrázek 4). Jsou uzpůsobeny na odběr ruční liposukcí stříkačkami s uzávěrem „toomey“. Mají podobu vaků, uvnitř jsou rozděleny dvojitou membránou na vstupní a výtokovou část. Do vstupní části je nejprve z odběrových stříkaček přepuštěn lipoaspirát, do stejného otvoru se instiluje Ringerův roztok, uvolní se uzávěrka odtokové části a zahájí se proces filtrace. První filtrace trvá tři minuty, pak se opět instiluje Ringerův roztok, délka druhé filtrace je 7 minut.



**Obrázek 4.** Promývání a filtrace lipoaspirátu přes membránu v systému PureGraft™.

Na obrázku je znázorněno napouštění vaku s lipoaspirátem Ringerovým roztokem při uzavření odtokové části.

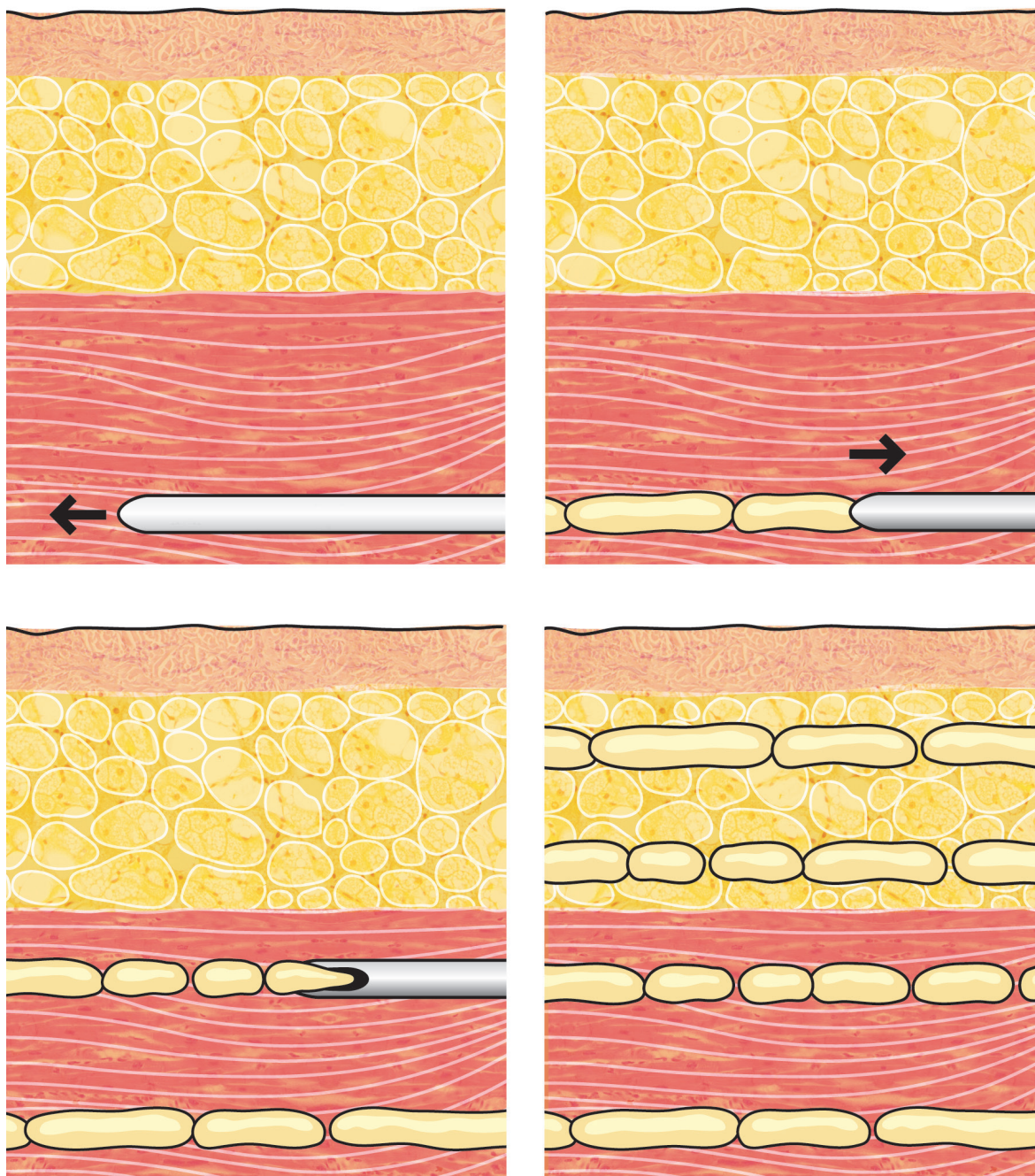
## 1.6. Aplikace tukové tkáně

Zpracovaná tuková tkáň se aplikuje pomocí injekčních stříkaček a speciálních aplikačních kanyl. Plastický chirurg vybírá průměr, délku, tvar špičky a velikost otvorů aplikační kanyly zejména podle příjmové lokality. Kanyla se zavádí skrz vícečetné vpichy vytvořené jehlou. Při lipomodelaci prsu se vpichy umísťují do submamární rýhy a do dvorce, anebo do jizev, pokud jsou na prsu již přítomny. Naopak se vyvarujeme oblasti dekoltu, kde je výrazně vyšší riziko vzniku keloidních jizev.

Z každého vpichu jsou aplikační kanyly vedeny tak, že v příjmové oblasti vzniká imaginární trojrozměrná paprscitá síť mikrotunelů, do kterých se při zpětném pohybu kanyly aplikuje tuková tkáň. Postupuje se z hlubších vrstev k povrchově uloženým. V případě lipomodelace prsu se začíná aplikací do m. pectoralis a pokračuje až do povrchové vrstvy podkoží, délka mikrotunelu je 10-15 cm a při jednom zpětném pohybu se aplikuje obvykle 0,5-1 ml zpracovaného tuku.<sup>4,13,15</sup> Velmi důležité je vyvarovat se opakované aplikaci tuku ve stejném směru a vrstvě. Dodržováním těchto zásad se zamezuje ukládání větších objemů tuku na jednom místě. Přenesený tukový štěp tak může být obklopen okolní vaskularizovanou tkání, která je nezbytná k jeho přihojení. Fragменты tukové tkáně, které mají při námi používaných odběrových kanylách pro lipomodelaci prsu velikost do 1 mm v největším rozměru (viz Kapitola 1.4, str. 7), jsou vyživovány nejprve difuzí, obdobně jako např. kožní štěp po autotransplantaci. Následně dochází k prorůstání neokapilár z okolních tkání. ASCs přítomné v tukové tkáni dobře

tolerují ischemii a reagují na ni produkcí angiogenních růstových faktorů. Tím napomáhají přihojení přenesené tukové tkáně do přijmových tkání.<sup>42,59</sup> Uvedená preventivní opatření jsou nejúčinnějším nástrojem proti vzniku tukových nekróz.<sup>1,4</sup>

Po operaci dochází k částečné resorpci přenesené tukové tkáně. V prvních pooperačních dnech se vstřebávají vodnaté složky obsažené ve zpracované tukové tkáni, zejména zbytky tumescenčního roztoku. To ale není klinicky patrné vzhledem k rozvoji pooperačního otoku, který se vstřebává relativně rychle



**Obrázek 5.** Aplikace tukové tkáně do imaginární trojrozměrné sítě mikrotunelů, postupujeme od hlubokých vrstev k povrchovým.

v prvních pooperačních týdnech. Současné jsou poškozené přenesené adipocyty fagocytovány a degradovány makrofágy. Degradaci poškozených buněk dochází k částečné resorpci přeneseného objemu tuku v prvních 3-4 měsících po operaci.

Vstřebávání části objemu přeneseného tuku pacientky dobře tolerují, pokud je jim náležitě a před operací vysvětleno, že k resorpci dochází. Delay et al. udávají na základě klinického hodnocení založeném na porovnávání předoperačních a pooperačních fotografií a na porovnání 3D obrazu získaného sumarizací kamerou snímaných obrazů (Inspeck®), že se po operaci vstřebává 30-40% objemu přenesené tukové tkáně, pokud je aplikována do zdravé neozářené tkáně.<sup>1,60,61</sup> To odpovídá i našim výsledkům.<sup>21</sup> Po aplikaci do projizveného nebo ozářeného terénu může být stupeň resorpce vyšší. Pokud je pacientka stabilní na váze, tak zůstává po 3-4 měsících objem prsů stabilní. Se vstřebáváním části přeneseného objemu je třeba počítat, a příjmové místo odpovídajícím způsobem objemově překorigovat, zejména při korekci prsních asymetrií.<sup>1,4,21</sup>

Kapacita pro přihojení tukového štěpu je nejvíce ovlivněna původním objemem příjmových tkání. Nižší kapacitu mají pak tkáně po předchozí radioterapii a tkáně projizvené. Pro dosažení požadovaného objemu prsu je třeba často postupovat etapovitě. Platí zásada, že pokud jsou tkáně aplikovaným tukem nasyceny, má se aplikace tuku ukončit i v případě, že chirurgovi ještě zbývá zpracovaná tuková tkáň, anebo že si chirurg nebo pacient přál radikálnější změnu najednou. Vždy je lepší lipomodelaci zopakovat, než navyšovat riziko vzniku tukových nekrot. Stupeň nasycení se vyhodnocuje pohmatem podle tuhosti a konzistence prsu, což je velmi subjektivní.

Aplikaci by tedy měl provádět pouze plastický chirurg, který je náležitě erudován a má potřebné zkušenosti.

Objem příjmové oblasti je možné zvětšit použitím zevní tkáňové expanze BRAVA™. Jedná se o plastový korset, který je v místě kontaktu s kůží vybaven měkkými silikonovými okraji. Plastový korset je v kontaktu s automatickou kapesní vývěvou, která udržuje v korsetu podtlak. Pacientky si systém BRAVA™ aplikují po zaškolení doma samostatně nejprve pouze na noc, následně pak 10 dnů před operací i přes den se sundáváním pouze na osobní hygienu. Celková doba nošení systému BRAVA™ je 4 týdny. Kromě kůže se expandují i hlouběji uložené měkké tkáně, ve kterých se vytváří edém a dochází ke zmnožení vaskularity. Lze tak přenášet vyšší objemy tukové tkáně.<sup>6,7,36,37</sup> V ČR není systém BRAVA™ hrazen ze zdravotního pojištění.

Tuková tkáň by se měla obezřetně aplikovat v dolních a laterálních částech prsu, protože může velmi snadno dojít k rozšíření báze prsu laterálně a k posunu submamární rýhy kaudálně i bez použití fasciotomií (viz dále). Oboje nepůsobí esteticky dobře a vzniklý nedostatek se sekundárně koriguje nesnadně.

Přenos tukové tkáně může být doplněn celou řadou tzv. modelačních prvků. Nejdůležitější jsou fasciotomie, někdy označovány jako rigottomie. Jedná se o přerušování vazivových nebo jizevnatých pruhů v podkoží. Provádějí se perkutánně krouživými pohyby pomocí silné jehly nebo trokaru (G17-G23) s ostrou špičkou. Efekt fasciotomií bude demonstrován v jednotlivých kapitolách, zejména v kapitole o korekci vrozených vad prsu a hrudníku (Kapitola 3). Projekci prsu lze zvýraznit menší liposukcí.<sup>1,4,62</sup>

## 1.7. Pooperační péče

Pacienti zpravidla vnímají bolesti více v místech odběru tukové tkáně liposukcí než v místě aplikace. Bolestem lze účinně předcházet infiltrací odběrových míst lokálním anestetikem na konci operace.

Důležitá je prevence vzniku hematomů a nerovností v místě odběru. Pacientkám doporučujeme používání kompresivního prádla, které se nasazuje ihned po ukončení operace a které pacienti obvykle nosí 3-6 týdnů po operaci.

V rámci péče o příjmové místo se nám osvědčilo krýt příjmová místa mastným tylem a chladivým obkladem, který fixujeme volným, tedy nikoliv kompresivním obvazem. Stehy je možné extrahovat týden po výkonu.

## 1.8. Komplikace

Lipomodelace prsu patří mezi operace s nízkým počtem chirurgických komplikací.

### KOMPLIKACE V OBLASTI ODBĚROVÉHO MÍSTA

Jizvy bývají pacientkami velmi dobře tolerovány, umísťují se do přirozených kožních záhybů. Bývají malé (do 1 cm) a po přechodné době, kdy jsou červené, blednou. Možnost vzniku hypertrofické a keloidní jizvy nelze vyloučit. Po liposukci se mohou vyskytnout nepravidelnosti kontur odběrového místa. Nebývají časté, pokud odběr provádí zkušený plastický chirurg. Ve velké většině případů jsou pacientky se změnou na odběrovém místě spokojeny a odstranění tuku v místě jeho

relativního nadbytku vnímají jako estetický benefit. I to může být jeden z důvodů vysoké míry spokojenosti pacientů s touto technikou.<sup>1,4</sup> Mohou se ovšem vyskytnout i další komplikace, které se všeobecně vyskytují při jiných operacích, nejsou ale časté. Patří mezi ně zejména krvácení a infekce, zpravidla ale dobře reagující na cílenou antibiotickou léčbu.

### KOMPLIKACE V OBLASTI PŘÍJMOVÉHO MÍSTA

Přítomnost jizev bývá velmi dobře tolerována vzhledem k jejich velikosti. Přesto je třeba dbát na jejich umístění. Za nevhodné je považováno lokalizovat jizvy mediálně do oblasti dekoltu, kde je obecně vyšší riziko vzniku hypertrofických nebo i keloidních jizev.

Může se vyskytnout místní infekce, která se projevuje místním zčervenáním, případně teplotou. Vyskytují se zřídka. Delay et al. udávají na základě retrospektivního hodnocení 1440 operovaných pacientů 10 případů lokální infekce, tedy méně než v 0,1 % případů.<sup>4</sup> Tato komplikace je řešitelná zpravidla lokální léčbou, celkově se podávají antibiotika.

Při lipomodelaci prsu se může vzácně vyskytnout pneumotorax, ve výše uvedeném souboru pacientů byl pozorován jedenkrát.<sup>4</sup>

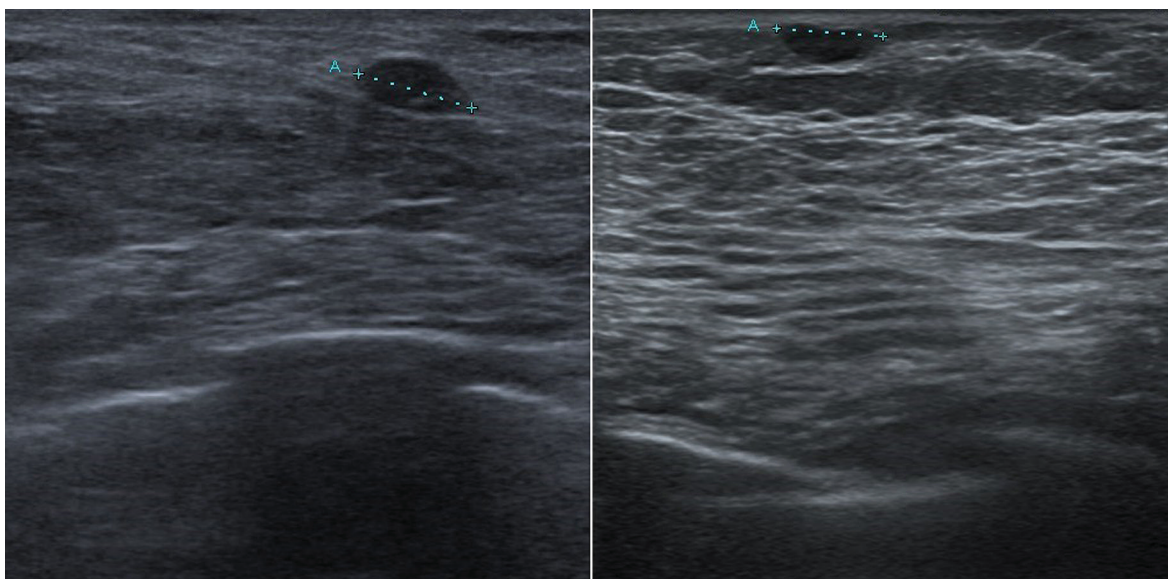
Doposud nebyl popsán případ tukové embolie po přenosu tuku.<sup>1,4,20</sup> Přesto je na místě obezřetnost a respektování průběhu velkých cév, jako je v. subclavia, která může být u Polandova syndromu uložena níže.<sup>4,33</sup>

Následkem nepřihojení přenesené tukové tkáně mohou vznikat tukové nekrózy, správně

nazývané olejové liponekrotické pseudocysty nebo olejové cysty. Jedná se o nezhoubné nebolestivé a často hmatatelné léze prsu. Vznikají i po poranění prsu, anebo po jiných operacích na prsu.<sup>31,63</sup> Jedná se o oblasti odumřelých tukových buněk, které jsou obaleny fibrotickým vazivem. Ve vazivovém obalu se mohou usazovat ionty vápníku, které jsou pak patrné na mamografu. Tukové nekrózy, resp. olejové liponekrotické pseudocysty jsou dobře diagnostikovatelé pomocí ultrazvukového vyšetření. Mají typický obraz a zkušený radiolog je umí odlišit od jiných suspektních lézí (Obrázek 6). Delay et al. zjistili, že výskyt tukových nekróz, koreluje se zručností a zkušeností plastického chirurga s technikou lipomodelace prsu. Uvádějí, že se vyskytují až v cca 15 % u chirurgů s iniciální zkušeností, naopak pouze ve 3 %

případů u zkušených chirurgů. Tukové nekrózy se zpravidla nezvětšují, naopak se mohou resorbovat, čemuž napomáhají tlakové masáže v pooperačním období. Punkční biopsie k vyloučení nádorového růstu je indikována vždy, pokud se suspektní tuková nekróza zvětšuje.<sup>1,4,64</sup>

Velmi cennou studii, která je zaměřena na vyhodnocení chirurgických komplikací po lipomodelaci prsu v rekonstrukčních indikacích, publikovali Agha et al.<sup>20</sup> Údaje o četnosti chirurgických komplikací jsou v ní získány analýzou 24 publikovaných studií. Počty chirurgických komplikací jsou vztaženy k počtu operovaných prsou, kterých bylo celkem 2832. Tukové nekrózy se vyskytovaly ve 4,6 % případů. Vznik tukové nekrózy byl nejčastěji vyskytující se komplikací, která představovala 62 % chirurgických komplikací.



**Obrázek 6.** Tuková nekróza, resp. olejová (liponekrotická) pseudocysta v ultrasonografickém obraze.

Ložisko tukové nekrózy - dobře ohraničené, pravidelné, hypo- až anechogenní ložisko, s pravidelnou, jemnou a hladkou stěnou, echogenita může být lehce nehomogenní (tekutina je hustší – olejovitá, může tvořit hladinky).

## ONKOLOGICKÁ BEZPEČNOST

Karcinom prsu je nejčastější malignitou žen. V ČR bylo v roce 2006 hlášeno 5884 nových případů (112/100000) a asi 2000 žen na toto onemocnění zemřelo. To orientačně znamená, že každá třetí žena svému onemocnění podlehně. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu se v naší populaci pohybuje okolo 8-10 %.<sup>65</sup> Riziko vzniku karcinomu prsu u jinak zdravé ženy je tedy relativně vysoké i bez jakékoliv operace prsu. Nelze ani předpokládat, že by jakákoliv operace, při které se neredukuje mléčná žláza, tato rizika snižovala. Relativně často se tedy setkáváme s případy, kdy je karcinom prsu diagnostikován u pacientky po předchozí operaci prsu.

Nebylo prokázáno, že by lipomodelace prsu zvyšovala riziko vzniku karcinomu prsu u zdravých žen.<sup>4,34,66,67</sup>

Ukázalo se, že rekonstrukce prsu po mastektomii nezvyšuje četnost lokoregionálních recidiv onemocnění.<sup>68</sup> Onkologické bezpečnosti rekonstrukce prsu technikou fat graftingu byla v posledních letech věnována celá řada studií a jejich počet se nadále zvyšuje.<sup>20,52,69-71</sup> Všechny z nich však potvrdily, že rekonstrukce prsu technikou lipomodelace po mastektomii nezvyšuje četnost lokálních recidiv karcinomu prsu. Pravděpodobnou příčinou zvýšené pozornosti na danou problematiku je skutečnost, že se v posledním desetiletí stal lipoaspirát nejjednodušeji dostupnou tkání, ze které lze izolovat ASCs. Vznikají tak obavy, že se může dostat přenesený tuk přímo do blízkosti tkání, které mohly být před mastektomií v kontaktu s tumorem, resp. s jeho blízkým okolím.

Za poznámku na tomto místo stojí skutečnost, že doposud nebyla publikována

vědecká práce, která by zkoumala vliv přímého kontaktu lalokové plastiky obsahující podkožní tukovou tkáň (např. DIEP nebo MS-TRAM lalok) na četnost lokálních recidiv karcinomu prsu. Tuková tkáň přitom obsahuje značné množství ASCs.<sup>52</sup> Kmenové buňky jsou nakonec obsaženy prakticky ve všech lidských tkáních, proto by se otázka onkologické bezpečnosti měla vztahovat i na ostatní druhy autologní rekonstrukce prsu. To se ale neděje. Důvodem je pravděpodobně historická posloupnost objevů v plastické chirurgii, kdy byla rekonstrukce lalokovými plastikami přijata odbornou společností dříve, než byly publikovány dvě průlomové publikace Zuka et al., které popisují protokol izolace ASCs z lipoaspirátu.<sup>39,40</sup>

Samostatnou kapitolou je rekonstrukce deformit prsu po parciálních mastektomiích a adjuvantní radioterapii, kdy je v prsu ponechán zbytek zdravé mléčné žlázy. Riziko vzniku lokální recidivy, anebo koincidence karcinomu prsu je vzhledem k ponechané mléčné žláze vyšší než po prosté mastektomii.<sup>68</sup> Klinické studie, které byly zaměřeny na vyhodnocení onkologické bezpečnosti fat graftingu při rekonstrukci deformit prsu po parciálních mastektomiích, neprokázaly signifikantně významné změny v četnosti lokoregionálních recidiv po lipomodelace prsu.<sup>20,69,70</sup> Doporučuje se však rekonstrukci vzniklých deformit provádět s minimálním intervalem 5 let po zachovné operaci prsu bez recidivy.<sup>52</sup>

Při zvažování přenosu tuku obohaceného při zpracování tukové tkáně o izolované ASCs (resp. buňky SVF) je třeba dbát zvláštních doporučení a indikačních omezení, které byly popsány ve studii publikované Dr. Krumboeckem.<sup>52</sup>



## VĚDECKÉ VÝSLEDKY AUTORA VZTAHUJÍCÍ SE K TOMUTO TÉMATU

- **STREIT, Libor**, Využití přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita. Brno 2015. Disertační práce.
- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. SEDLAKOVA, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, M. SVOBODA, J. POSPISIL, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2017, 139(3):670e-682e. DOI: 10.1097/PRS.00000000000003124. IF 3.784. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. JURTIKOVA, J. VESELY a A. HAMPL. Effect of Sedimentation, Centrifugation and Membrane-Based Filtration on Human Adipose Derived Stem Cell Content and on Viability and Morphology of the Fat Graft. In: EURAPS Research Council 27-28th May 2015. Book of abstracts, s. 18. <http://research-council.euraps.org/wp-content/uploads/Full-Programme-4th-EURAPS-Research-Council-Meeting-Edinburgh-27-28th-May-2015.pdf>. Edinburg. Velká Británie.
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, I. STUPKA, P. NOVÁK., T. VÝŠKA, J. VESELY a A. HAMPL. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro. XXXVI. Národní kongres plastické chirurgie s mezinárodní účastí, 24.-26.9.2015, Praha. Sborník abstrakt, s. 31. ISBN 978-80-87562-43-7.
- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. JURTIKOVA, J. POSPISIL, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, P. HYZA, Z. DVORAK, I. STUPKA, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting: Effect of Decantation, Centrifugation and Membrane-Based Tissue Filtration on ASCs Content of Human Adipose Tissue Stem Cells and Viability and Morphology of the Fat Graft. In: 11th IQUAM CONGRESS AND CONSENSUS CONFERENCE, 10.-13.4.2014, Budapešť, Maďarsko. <http://zitafiles.info/IQUAM%202014/IQUAM%20FINAL%20PROGRAM-2014%20low-res.pdf>
- JAROS, Josef, **L. STREIT**, V. JURTIKOVA, J. POSPISIL, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, P. HYZA, Z. DVORAK, I. STUPKA, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. Comparison of Preparation Techniques for Lipomodelling: Effect of Decantation, Centrifugation, and Membrane-Based Tissue Filtration on Content, Viability, and Morphology of Human Adipose Tissue Stem Cells. In: ISSCR 12th Annual Meeting, 18.-21.6.2014, Vancouver. Kanada. 2014.
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, M. SEDLÁČKOVÁ, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, I. STUPKA, J. VESELY a A. HAMPL. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro. In: Konferenční sborník XXI. ročníku KML 2014. Brno: Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně. 2014, s. 28. ISSN 1805-7977.

## 2. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro

### VÝCHODISKA A CÍLE

Autologní tuková tkáň se stala díky pokroku v technice přenosu tukové tkáně atraktivním materiálem k doplnění objemu formou lipo-injekcí.<sup>28,72-74</sup> Kmenovým buňkám přítomných v tukové tkáni (ASCs) jsou přisuzovány regenerační účinky.<sup>8</sup> Míra přihojení tukového štěpu a stupeň vstřebávání jsou ovlivněny podílem vodnatých složek, koncentrací ASCs a viabilitou přenášené tukové tkáně a prokrvením příjmového místa<sup>49,75-79</sup>.

Tuková tkáň pro vysokoobjemový fat grafting se zpracovává přímo na operačním sále nejčastěji pomocí tří základních fyzikálních principů, mezi které patří sedimentace, centrifugace a filtrace přes membránu. Doposud existuje pouze limitovaný počet vědeckých prací, které porovnávají některé jednotlivé vlastnosti tukového štěpu v závislosti na zvolené technice zpracování tukové tkáně. Chybí však vědecká práce, která by výše uvedené základní techniky zpracování tukové tkáně porovnávala komplexně a mezi sebou.

Cílem práce bylo porovnat nejčastěji používané techniky zpracování lipoaspirátu

(sedimentaci, centrifugaci a filtraci přes membránu) s ohledem na vybrané vlastnosti tukového štěpu *in vitro*:

- podíl vodnatých složek zpracované tukové tkáně,
- viabilita tukového štěpu,
- struktura tkáně znázorněná pomocí skenovací elektronové mikroskopie,
- koncentrace kmenových buněk ve zpracované tukové tkáni.

### METODY

Do studie bylo od ledna 2012 do června 2014 prospektivně zařazeno 14 pacientů indikovaných k abdominoplastice. Tukové tkáň byla odebrána z kožních nadbytků v oblasti hypogastria. Odběrové partie byly nejprve infiltrovány tumescenčním roztokem (500 ml fyziologického roztoku, 1 mg adrenalinu). Odběr byl proveden ruční liposukcí pomocí odběrových 30 ml stříkaček s uzávěrem typu luer-lock vytvořením mírného podtlaku ve stříkačce postupným vytahováním pístu.

Kodběru byly použity speciální odběrové kanyly pro vysokoobjemový fat grafting průměru 3,5 mm délky 17 cm (model PLA187, Pouret Medical, Francie). Od každého pacienta bylo odebráno celkem 200 ml lipoaspirátu. Vzorky lipoaspirátu byly transportovány do laboratoře v přenosném inkubátoru při konstantní teplotě 37 °C v 50 ml sterilních zkumavkách.

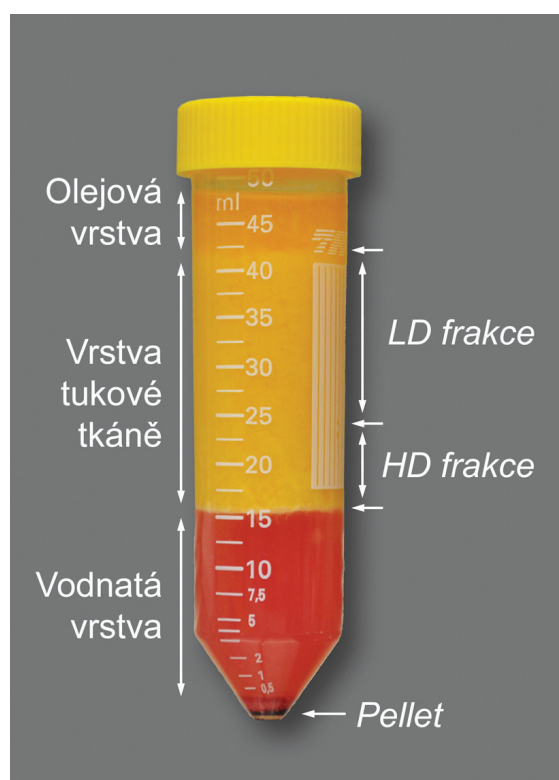
## Zpracování tukové tkáně

Odebraná tuková tkáň byla zpracována sedimentací, centrifugací a filtrací přes membránu. V případě zpracování tukové tkáně **sedimentací** byl vzorek ponechán v inkubátoru při teplotě 37 °C na dobu 20 min. Jednotlivé frakce se oddělily na základě rozdílných hustot složek lipoaspirátu působením gravitační síly. V případě zpracování lipoaspirátu **centrifugací** byly vzorky centrifugovány odstředivou silou 1200 g po dobu 3 minut.

Sedimentací i centrifugací byl lipoaspirát ve zkumavce rozdělen na tři vrstvy: 1) vrchní olejová vrstva obsahující glyceridy z vakuol rozpadlých tukových buněk – po sedimentaci je málo výrazná, až sotva patrná; 2) prostřední vrstva tukové tkáně (vrstva, která se používá k přenosu) a 3) spodní vodnatá vrstva obsahující zejména složky tumescenčního roztoku. Po centrifugaci lze na spodině zkumavky identifikovat „sediment“, který bude v textu označován dle anglosaské terminologie jako *pellet* (Obrázek 7). Prostřední vrstva tukové tkáně byla po zpracování sedimentací izolována jako celek a v dalším textu je označována jako *sedimentovaný tuk*. Prostřední vrstva tukové tkáně byla po zpracování centrifugací dále rozdělena na dvě frakce: *LD frakce centrifugovaného tuku* – horní dvě třetiny

vrstvy tukové tkáně o nižší hustotě (v angličtině uváděná jako *low-density fraction*) a *HD frakce centrifugovaného tuku* – dolní třetina vrstvy tukové tkáně o vyšší hustotě (*high-density fraction*). Některé vlastnosti byly zkoumány i pro celou vrstvu tukové tkáně, označované jako *centrifugovaný tuk*.

Poslední vzorek byl zpracován **promýváním a filtrací přes membránu**. Při prvním promývání byl vzorek lipoaspirátu ve vstupní části systému smíchan s 30 ml fosfátového pufru (0.1 M, pH 7.4) a následně po dobu 3 minut filtrován přes dvojitou membránu (PureGraft™, Cytospor Therapeutics, Inc., USA). Při druhém promývání se použilo stejné množství pufru, ale doba filtrace byla 7 minut. V následujícím textu bude pro označení tukové tkáně zpracované promýváním a filtrací přes membránu použit termín *tuk zpracovaný na membráně*, anebo *membránou zpracovaný tuk*.



Obrázek 7. Vrstvy a frakce centrifugovaného tuku.

Vlastnosti uvedených frakcí byly zkoumány separátně. Při každém měření byly zaznamenávány objemy jednotlivých frakcí. Pro každou frakci byl vypočten objemový podíl frakce zpracované tkáně k původnímu objemu lipoaspirátu.

## Skenovací elektronová mikroskopie

Ve vzorcích zpracované tkáně byla hodnocena její morfologie pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Jednotlivé vzorky tkáně byly fixovány 3 % glutaraldehydem, nabarveny 1 % osmium tetroxidem a dehydratovány vzestupnou alkoholovou řadou. Dehydratované vzorky byly pokoveny zlatem. Takto připravené vzorky tkáně byly skenovány v elektronovém mikroskopu (MIRA3, Tescan Orsay Holding, Brno, Česká republika) a získané obrazy byly dále pozorovány a analyzovány.

## Viabilita zpracované tukové tkáně

Dále byla stanovena viabilita pomocí fluorescenční mikroskopie. Jednotlivé vzorky zpracované tukové tkáně byly obarveny pomocí akridinové oranže a ethidium bromidu. Pro zobrazení živých a neživých buněk byl použit konfokální laserový skenovací mikroskop Fluoview 500, (Olympus C&S Ltd., Praha, Česká republika). Pro každý vzorek tkáně byly pořízeny fotografie 3 zorných polí, ze kterých byl ručně stanoven počet živých a neživých buněk. Viabilita zpracované tukové tkáně byla definována jako procento živých buněk podle následujícího vzorce:

$$Viabilita = \frac{\text{počet živých buněk}}{\text{počet živých buněk} + \text{počet mrtvých buněk}} \times 100 [\%]$$

Pro každý vzorek byla ze tří zorných polí vypočtena průměrná hodnota viability. Tyto průměrné hodnoty byly statisticky porovnány mezi jednotlivými skupinami, resp. frakcemi.

## Koncentrace kmenových buněk ve zpracované tukové tkáni

Buňky vaskulární stromální frakce (SVF), izolované z jednotlivých vzorků po digesti kolagenázou pomocí modifikovaného protokolu dle Zuka<sup>39,40</sup>, byly spočítány a nasazeny na kultivační misky. Izolované buňky SVF byly po naředění do kultivačního media nasazeny na 24 jamkové kultivační destičky. Po 24 hodinové kultivaci byl vyhodnocován počet adherovaných buněk pomocí fluorescenční mikroskopie. Buněčná jádra adherovaných buněk byla nabarvena fluorescenčním barvivem DAPI. Obrazy adherovaných DAPI pozitivních buněk byly zaznamenány pomocí fluorescenčního mikroskopu. Pro každý vzorek lipoaspirátu bylo pořízeno pět fotografií, spočítaly se DAPI pozitivní buňky pro každý obraz a vypočítala se průměrná hodnota. Průměrný počet adherovaných buněk vztažený na 1 cm<sup>2</sup> zorného pole byl dán do poměru k počtu nasazených buněk (84746 buněk na 1 cm<sup>2</sup>). Koncentrace kmenových buněk ( $\approx$  adherovaných buněk) v 1 ml zpracované tukové tkáně byla vypočtena podle následujícího vzorce:

$$Koncentrace\ ASCs = Koncentrace\ buněk\ SVF \times \frac{\% adherovaných\ buněk}{100}$$

Průslušnost adherovaných buněk k ASCs byla verifikována imunoflorescencí (CD105+, CD90+, CD31+, CD45-) a indukovanou diferenciací do adipogenních a osteogenních buněčných linií.

## VÝSLEDKY

### Podíl vodnatých složek ve zpracované tukové tkáni

Rozdíly objemových podílů v závislosti na použité technice zpracování tukové tkáně jsou přehledně zobrazeny v Tabulce 2 a na Grafu 1. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami byly vždy signifikantní. Objemový podíl *membránou zpracovaného tuku* (46 %) byl signifikantně nižší než u *centrifugovaného*

*tuku* (56 %). Objemové podíly *membránou zpracovaného tuku* a *centrifugovaného tuku* byly pak oba signifikantně nižší oproti podílu pro sedimentovaný tuk (70 %).

### Mikrostruktura tukové tkáně

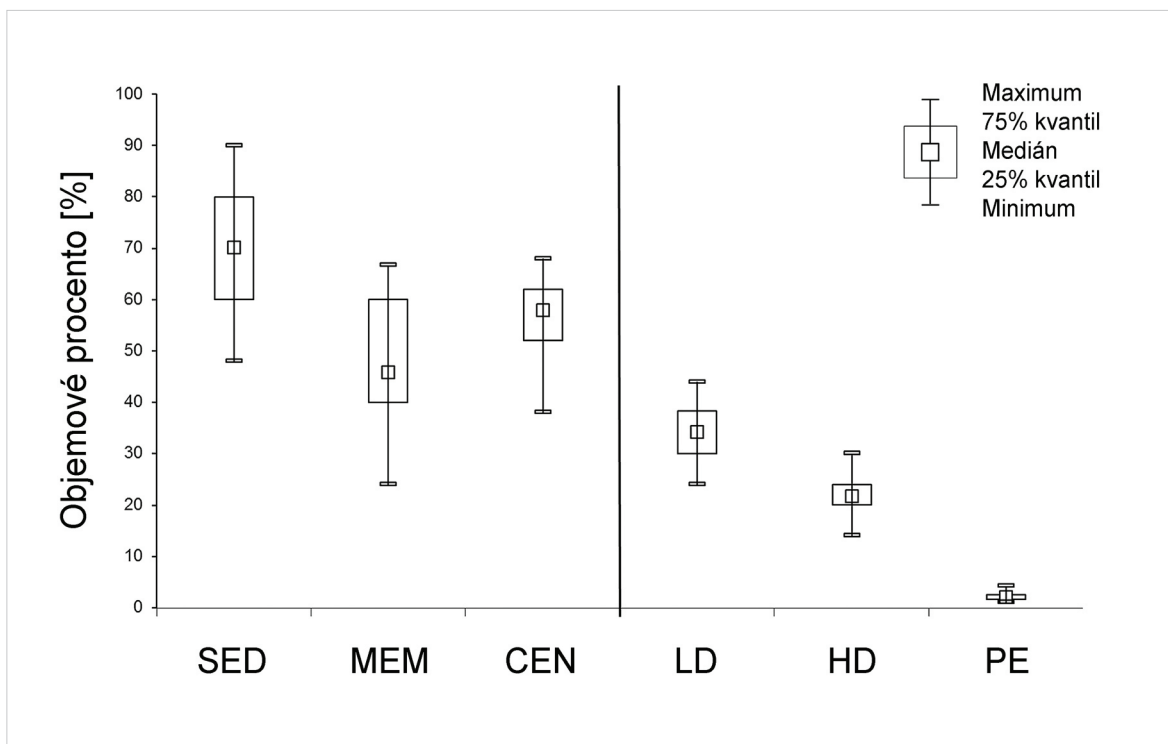
Struktura vzorků tkáně byla zkoumána pomocí skenovací elektronové mikroskopie a porovnávána v závislosti na použité technice zpracování lipoaspirátu. Rozdíly byly pozorovány zejména v uspořádání extrac-

č.	♀/♂	Věk [let]	BMI	Objemový podíl frakce zpracované tukové tkáně [%]					
				SED	MEM	CEN	Frakce centrifugovaného tuku		
							LD	HD	PE
I	♀	47	23.4	-	-	60	30	30	2.5
II	♀	60	25.7	70	44	55	35	20	2.0
III	♀	60	29.4	70	30	52	30	22	2.0
IV	♀	54	28.4	83	67	63	36	26	2.0
V	♀	30	29.4	60	60	50	30	20	3.0
VI	♀	49	27.1	48	24	38	24	14	1.0
VII	♀	18	25.4	60	30	62	35	27	4.0
VIII	♀	19	24.2	70	48	60	38	21	2.0
IX	♀	49	27.6	65	46	50	33	17	2.0
X	♀	42	30.5	90	60	62	40	22	2.0
XI	♀	34	39.7	58	40	52	32	20	1.6
XII	♀	37	26.6	74	44	56	32	24	1.6
XIII	♀	37	33.9	80	60	68	44	24	1.6
XIV	♂	51	43.2	90	50	60	40	20	4.2
<b>Median (min, max.)</b>		<b>44.5</b> (18; 60)	<b>28.0</b> (23; 43)	<b>70.0</b> (48;90)	<b>45.8</b> (24; 67)	<b>57.8</b> (38; 68)	<b>35.0</b> (24; 44)	<b>21.6</b> (14; 30)	<b>2.0</b> (1; 4.2)
<b>Hodnoty P Wilcoxnova párového testu</b>				<b>&lt;0.01 mezi všemi skupinami</b>					

**Tabulka 2.** Soubor pacientů a objemy zpracované tukové tkáně vyjádřené v procentech k objemu vzorku lipoaspirátu před jeho zpracováním (50 ml). Rozdíly zjištěné pomocí Wilcoxonových testů mezi jednotlivými skupinami byly vždy signifikantní.

SED – sedimentovaný tuk,  
MEM – tuk zpracovaný na membráně,  
CEN – centrifugovaný tuk,

LD – LD frakce centrifugovaného tuku,  
HD – HD frakce centrifugovaného tuku,  
PE – pellet.



**Graf 1.** Objemové procento zpracované tukové vztažené k objemu lipoaspirátu před zpracováním znázorněné pomocí B-W diagramu. Patrný je medián, minimální a maximální hodnoty vypovídající o rozptylu a také 25 % a 75 % kvantily.

SED: sedimentovaný tuk,

MEM: tuk zpracovaný na membráně,

CEN: centrifugovaný tuk,

LD: LD frakce centrifugovaného tuku,

HD: HD frakce centrifugovaného tuku,

PE: pellet.

lulární matrix, v množství tukových kapének a buněčného detritu.

Vzorky tukové tkáně odebrané chirurgicky en bloc ostrou preparací nůžkami a vzorky lipoaspirátu byly referenčními kontrolními vzorky. V obou těchto případech byla dobře zachována amorfní i fibrilární část ECM a morfologie zachovalých adipocytů. Vzorek tkáně odebraný chirurgicky se vyznačoval tím, že struktura tukové tkáně byla velmi kompaktní a adipocyty byly pevně spojeny navzájem mezi sebou. Současně bylo ve vzorku pozorováno minimální množství tukových kapének. Na okrajích vzorků jsme pozorovali značný počet poškozených adipocytů a buněčný detritus. Vzorky lipoaspirátu se od chirurgicky odebrané tkáně lišily ještě vyšším počtem

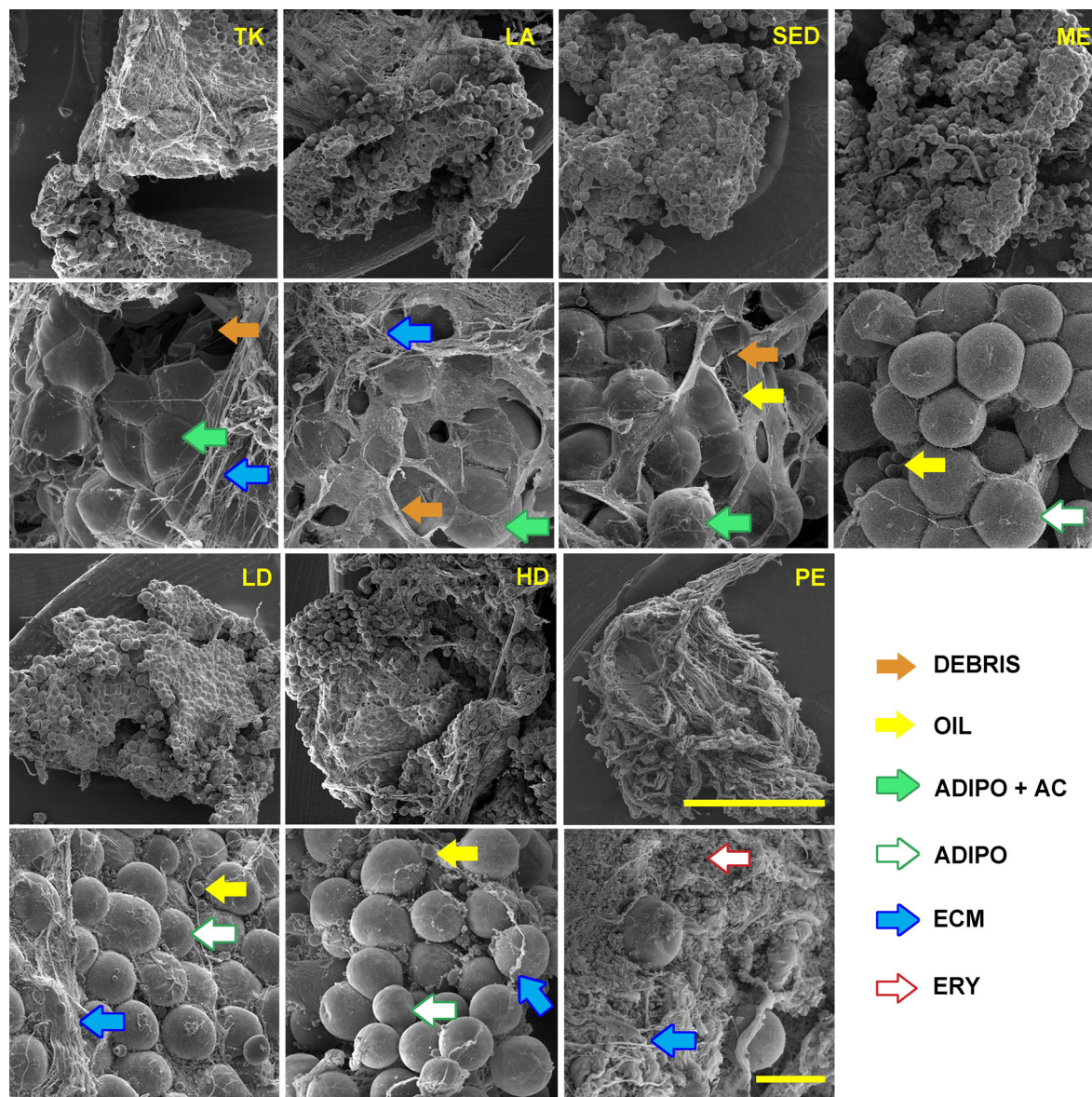
poškozených adipocytů, zbytků poškozených membrán a tukových kapének, pravděpodobně v důsledku pasáže tkáně liposukční kanylou.

Vzorky sedimentovaného tuku obsahovaly značný počet tukových kapének, poškozených adipocytů a buněčného detritu podobně jako u lipoaspirátu. Rovněž byla zachovalá amorfní i fibrilární ECM. Amorfní složku tukové tkáně můžeme pozorovat na snímcích jako „mukózní“ vrstvu na povrchu adipocytů a fibrilární ECM.

Zbytky poškozených membrán (buněčný detritus) byly z velké části ze vzorků odstraněny ostatními technikami zpracování – centrifugací a filtrací přes membránu. Po centrifugaci zůstala zachovalá významná část fibrilární komponenty ECM, zejména pak v LD frakci, ale

prakticky celá byla odstraněna komponenta amorfni. LD frakce obsahovala vyšší počet tukových kapének než HD frakce centrifugovaného tuku. Hlavními složkami pelletu byly erythrocyty a fibrilární komponenta ECM. Ve vzorcích tuku

zpracovaného na membráně byla s tukovými kapenkami eliminována vedle amorfni komponenty ECM i velká část komponenty fibrilární (Obrázek 8).



**Obrázek 8.** Skenovací elektronová mikroskopie vzorků tukové tkáně.

Barevné šipky na obrázku značí:

DEBRIS: buněčný detritus, zbytky membrán poškozených buněk,  
 OIL: tukové kapénky,  
 ADIPO + AC: nepoškozený adipocyt se zachovalou amorfni komponentou ECM,  
 ADIPO: nepoškozený adipocyt bez zachovalé amorfni komponenty ECM,  
 ECM: extracelulární matrix,  
 ERY: erythrocyty,

TK: vzorek chirurgicky odebrané tkáně,  
 LA: vzorek lipoaspirátu před zpracováním,  
 SED: sedimentovaný tuk,  
 MEM: tuk zpracovaný na membráně,  
 LD: LD frakce centrifugovaného tuku,  
 HD: HD frakce centrifugovaného tuku,  
 PE: pellet.  
 Měřitko pro přehledné snímky = 500 μm, měřitko pro detaily = 100 μm.

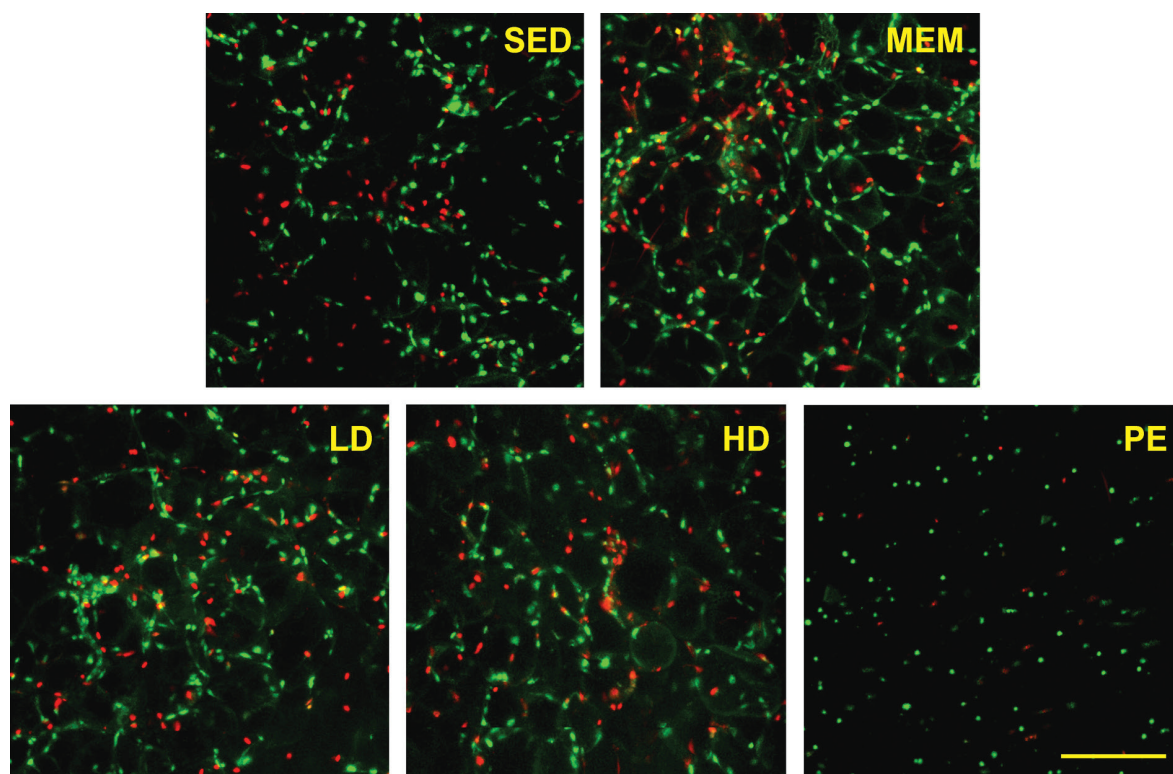
## Viabilita zpracované tukové tkáně

Existence rozdílů ve viabilitě tukového štěpu v závislosti na použité technice zpracování byla testována pomocí neparametrického ANOVA (Friedmanova) testu a následných Wilcoxonových post-hoc testů s nulovou hypotézou o shodných mediánech. Viabilita frakce *pellet* (medián 85%) byla signifikantně vyšší než viabilita ostatních frakcí centrifugovaného tuku. Rozdíly ve viabilitě *sedimentovaného tuku* (66%), *membránou zpracovaného tuku* (60 %), a *HD* (58 %) a *LD frakcí* (60 %) *centrifugovaného tuku* nebyly signifikantní. Příklady fotografií pořízených na konfokálním laserovém skenovacím mikroskopu zobrazující živé a neživé buňky nabarvené fluorescenčním barvivem (Obrázek 9).

## Koncentrace kmenových buněk ve zpracované tukové tkáni

Prvním krokem pro stanovení koncentrace kmenových buněk ve zpracované tukové tkáni bylo stanovení počtu buněk v sedimentu po digesci kolagenázou. Tento sediment je obvykle označován jako vaskulární stromální frakce. SVF obsahuje různé typy buněk, ale pouze část z nich má vlastnosti kmenových buněk (viz kapitola 1.2).

Pro stanovení koncentrace kmenových buněk je třeba nejprve správně definovat vlastnosti kmenových buněk. V této práci byla respektována definice kmenovosti buněk podle mezinárodní společnosti pro buněčnou terapii ISCT<sup>43</sup>, podle které je jednou ze základních



**Obrázek 9.** Zobrazení živých a mrtvých buněk na konfokálním fluorescenčním mikroskopu.

Mrtvé buňky jsou obarveny červeně etidiem bromidem vázaným na jádro buněk. Živé buňky jsou obarveny akridinovou oranží, která se váže na jádra i živých buněk.

SED: sedimentovaný tuk,

MEM: tuk zpracovaný na membráně,

LD: LD frakce centrifugovaného tuku,

HD: HD frakce centrifugovaného tuku,

PE: pellet.

Měřítka = 200  $\mu$ m.

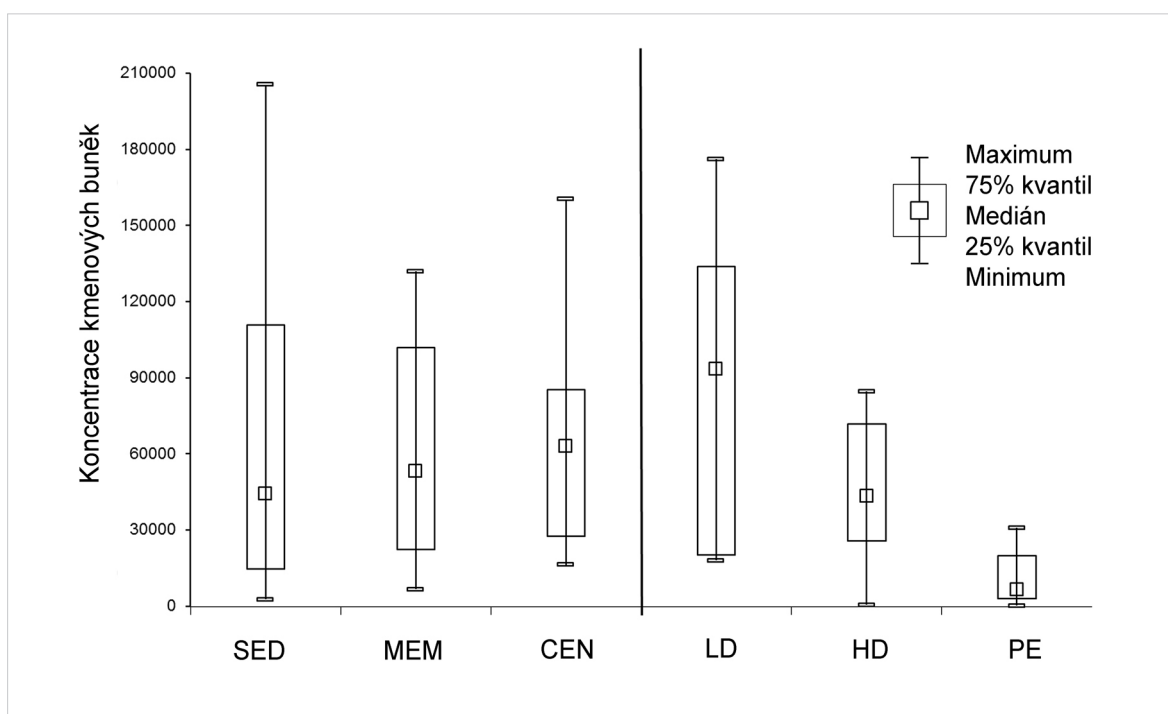


vlastností kmenové buňky schopnost adherovat k plastovému dnu kultivační misky. Proto byly buňky SVF nejprve nasazeny v jednotné koncentraci na kultivační misky a po 24 hod fixovány a obarveny pomocí DAPI. Stanovilo se tak procento adherovaných buněk. Počet adherovaných buněk (tedy ASCs) ve vzorku byl přepočten na jednotku objemu zpracované tukové tkáně.

Tímto způsobem byla stanovena koncentrace kmenových buněk ASCs ve vzorku. V koncentraci kmenových buněk nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi *sedimentovaným tukem*, *tukem zpracovaným na membráně* a *centrifugovaným tukem*. Překvapivá a pro klinickou praxi podstatná zjištění se týkala koncentrací kmenových buněk v jednotlivých frakcích centrifugovaného tuku. Ve frakci *pellet* bylo množství kmenových buněk signifikantně nižší

než ve všech ostatních skupinách. V *LD frakci centrifugovaného tuku* byla naopak detekována signifikantně vyšší koncentrace kmenových buněk oproti *HD frakci*, a dokonce i oproti tukové vrstvě *centrifugovanému tuku* jako celku (tedy na frakce nerozdělené vrstvě tukové tkáně po centrifugaci). Výsledky jsou přehledně uvedeny na Grafu 2 a v Tabulce 3.

Druhý určujícím kritériem pro kmenovost buněk vedle schopnosti adherovat k plastru je podle Mezinárodní společnosti pro buněčnou terapii (ISCT) přítomnost buněčných povrchových markerů. Adherované buňky byly po 24hodinové kultivaci fixovány a nabarveny imunofluorescenčním barvivem. Byla potvrzena očekávaná charakteristika adherovaných buněk, tedy negativní pro CD31 a CD45 a pozitivní pro CD90 a CD105.



**Graf 2.** Koncentrace kmenových buněk v 1 ml zpracované tukové tkáni znázorněná pomocí B-W diagramu. Patrný je medián, minimální a maximální hodnoty vypovídající o rozptylu a také 25 % a 75 % kvantily.

SED: sedimentovaný tuk,

MEM: tuk zpracovaný na membráně,

CEN: centrifugovaný tuk,

LD: LD frakce centrifugovaného tuku,

HD: HD frakce centrifugovaného tuku,

PE: pellet.

		SED	MEM	CEN	Frakce centrifugovaného tuku		
					LD	HD	PE
SED		-	0.721	0.859	0.139	0.139	<b>0.017</b>
MEM		0.721	-	0.859	0.203	0.093	<b>0.017</b>
CEN		0.859	0.859	-	<b>0.038</b>	0.086	<b>0.012</b>
Frakce centrifugovaného tuku	LD	0.139	0.203	<b>0.038</b>	-	<b>0.013</b>	<b>0.012</b>
	HD	0.139	0.093	0.086	<b>0.013</b>	-	<b>0.012</b>
	PE	<b>0.017</b>	<b>0.017</b>	<b>0.012</b>	<b>0.012</b>	<b>0.012</b>	-

**Tabulka 3.** Výsledky Wilcoxonových testů znázorňující rozdíly v koncentraci ASCs mezi jednotlivými skupinami. Statisticky signifikantní rozdíly jsou zvýrazněny tučně, ostatní rozdíly nebyly signifikantní.

Multipotentní charakter buněk, tedy schopnost dělení do různých typů, je třetí základní kritérium určující kmenovost buňky. Schopnost dělení adheovaných buněk do adipogenních a osteogenních buněčných populací byla potvrzena ve všech skupinách zpracované tukové tkáně bez rozdílů v kvalitě růstu buněk mezi jednotlivými vzorky. Pomocí histologického barvení byly ve vzorcích detekovány tukové kapénky, resp. depozita kalcia.

## DISKUSE

Účelem zpracování lipoaspirátu je získání buněčné směsi nejlepších biologických vlastností pro přihojení tukového štěpu. Cílem práce bylo porovnat vybrané vlastnosti tukové tkáně zpracovávané pomocí nejčastěji používaných technik v klinické praxi.

## Podíl vodnatých složek ve zpracované tukové tkáni

Každá tkáň má určitou kapacitu přijmout přenesenou tukovou tkáň. Kapacita přijmových tkání je dána jednak původním objemem a kvalitou prokrvení, množstvím pevných vazivových spojení v podkoží, resp. i v jizvě, a nakonec také vlastní operační technikou aplikace tukové tkáně. Pokud je kapacita přijmových tkání překračována, mohou vznikat ve zvýšeném počtu tukové nekrózy, vznikající na podkladě nepřihojení tukového štěpu. Pro určení míry nasycení přijmových tkání tukem, tedy momentu, kdy je třeba od další aplikace upustit, je důležitý zejména cit a zkušenost plastického chirurga<sup>1,4</sup>. Přenos tukové tkáně s vyšším nebo nekonstantním obsahem vodnatých složek je dle názoru autora zatížen větší subjektivitou při odhadování stupně nasycení tkání.

Vodnaté složky obsažené ve zpracované tukové tkáni (např. zbytky tumescenčního roztoku) se navíc po přenosu tukové tkáně rychle resorbují, vyšší je tedy i resorpce přeneseného tuku v časném pooperačním období.

Kurita et al. zjistili, že se objemy olejové a vodnaté vrstvy po centrifugaci zvyšují, a naopak objem tukové vrstvy se snižuje, se zvyšující se odstředivou silou až do hodnoty odstředivé síly 3000 g.<sup>80</sup> To jsou ale již hodnoty, při kterých podle některých autorů dochází k poškozování buněk, resp. ke snižování viability tukové štěpu.<sup>81-83</sup> Při použití techniky sedimentace se zmenšuje objem tukové vrstvy (dochází k zahušťování tukového štěpu) v závislosti na délce trvání sedimentace. Tedy až do určité mezní doby, po které se již objemy jednotlivých frakcí nemění. Podíl vodnatých složek ve zpracované tukové tkáni analogicky klesá s délkou trvání filtrace přes membránu.

Z našich výsledků jednoznačně vyplývá, že nejméně vodnatých složek obsahuje *na membráně zpracovaný tuk*, u kterého tedy můžeme očekávat nejnížší resorpci objemu přenesené tukové tkáně v časném pooperačním období.

## Viabilita zpracované tukové tkáně

Viabilita tukového štěpu je považována za jeden z faktorů ovlivňující vstřebávání tukové tkáně. Předpokládá se, že poškozené buňky se po transplantaci vstřebávají ve větší míře. Bylo prokázáno, že procento živých buněk v době transplantace koreluje s objemem přiložené tkáně.<sup>49,75,78,79</sup> Z těchto důvodů bylo jedním z hlavních cílů této práce vyhodnotit, zda se viabilita tukového štěpu liší podle použité techniky zpracování lipoaspirátu.

Pro vyhodnocení viability tukové tkáně existuje celá řada technik. Příkladem může být stanovení metabolické aktivity buněk MTT testem, XTT testem, testem glukózového transportu, anebo testem na řízené uvolňování glycerolu po indukci lipolýzy.<sup>78,81,84</sup> Stanovení metabolické aktivity tkáně se mimo jiné častěji používá pro testování farmakologických profilů léčiv. Další možností testování viability tkáně je barvení vzorků akridinovou oranží a ethidium bromidem a porovnávání počtu živých a mrtvých buněk pomocí fluorescenční mikroskopie. V naší studii jsme testovali zpracovanou tukovou tkáň rozdílné konzistence a obsahu vodnatých složek. Proto jsme pro stanovení viability upřednostnili techniku fluorescenční mikroskopie znázorňující živé a mrtvé buňky bez ohledu na jejich koncentraci ve vzorku tukové tkáně.

V naší studii jsme neprokázali signifikantní rozdíly mezi viabilitou *sedimentovaného tuku*, mezi *LH a HD frakcí centrifugovaného tuku* a mezi *tukem zpracovaným na membráně*. Výsledky této studie tedy nekorrespondují se závěry práce Zhu et al., kteří na základě porovnání uvolňování glycerolu po adrenergní stimulaci adipocytů v experimentu poukázali na signifikantně vyšší viabilitu tukové tkáně po zpracování v systému PureGraft™, založeném na filtraci přes membránu, než po centrifugaci.<sup>19</sup>

## Mikrostruktura tukové tkáně

Tuková tkáň je při zpracovávání vystavena působení různých fyzikálních podnětů. V dostupné literatuře jsme nenašli publikaci, která by porovnávala submikroskopickou strukturu tukové štěpu po zpracování sedimentací, centrifugací a filtrací přes membránu. I proto byla při realizaci této práce věnována

zkoumání submikroskopické struktury zpracované tukové tkáně značná pozornost. Z našich výsledků jsou patrné významné rozdíly mezi zkoumanými vzorky zejména ve složení extracelulární matrix, v počtu buněčného detritus a tukových kapének.

ECM má jednak fibrilární komponentu složenou z kolagenních, retikulárních a elastických vláken, a pak amorfní komponentu, která je tvořena různými proteoglykany, glykoproteiny a navázanou vodou. Zdá se, že právě extracelulární matrix vytváří pro kmenové buňky tukové tkáně potřebné mikroprostředí ovlivňující chování buněk – proliferační aktivitu, diferenciaci, migraci, apod.<sup>85</sup> Lze se domnívat, že extracelulární matrix na sebe může vázat i další substance jako např. růstové faktory, které mohou být zodpovědné za část regeneračního potenciálu přenášené tukové tkáně.

V souladu s naším očekáváním se potvrdilo, že *sedimentovaný tuk* má morfologii velmi podobnou lipoaspirátu. Vzorky obsahují v obou případech značné množství tukových kapének a zbytků poškozených adipocytů. Ve vzorcích jsme pozorovali velmi dobře zachovanou fibrilární komponentu ECM a na rozdíl od ostatních technik zpracování jsme na povrchu adipocytů *sedimentovaného tuku* pozorovali i velmi dobře zachovalou amorfní složku ECM.

Tukové kapénky a zbytky poškozených adipocytů byly ze vzorků účinně eliminovány jak centrifugací, tak filtrací přes membránu. Amorfní složka extracelulární matrix byla centrifugací nebo filtrací přes membránu ze vzorků eliminována pravděpodobně působením odstředivé síly nebo promýváním přes membránu. Vzorky tuku *zpracovaného na membráně* se vyznačovaly vyjasněnou povrchovou kresbou adipocytů a obsahovaly

i méně fibrilární komponenty ECM, která byla ve větší míře zachovalá na povrchu buněk *LD frakce centrifugovaného tuku*. Množství fibrilární komponenty bylo pak nejvyšší v *pelletu*. Vzhledem k potenciální vazbě růstových faktorů na ECM<sup>86</sup> je možné se domnívat, že i stupeň zachování ECM může do jisté míry ovlivňovat výsledný regenerační efekt přenesené tukové tkáně.

## Koncentrace a význam kmenových buněk ve zpracované tukové tkáni

Kmenové buňky přítomné v tukové tkáni (ASCs) se podílejí na procesech připojení přeneseného tukového štěpu do příjmových tkání a jsou odolné na ischemii. Adipocyty, které poskytují kmenovým buňkám vhodné mikroprostředí, se naopak vyznačují vysokou citlivostí na ischemii v průběhu hojení.<sup>42</sup> ASCs působí v ischemických podmínkách angiogenně, neboť ischemie indukuje vyplavování angiogenních růstových faktorů z ASCs.<sup>42,59</sup> Koncentrace ASCs v přenášené tukové tkáni je některými autory považována za jeden z činitelů, který ovlivňuje stupeň resorpce tukového štěpu.<sup>75-77</sup>

V této práci byla respektována doporučení Mezinárodní společnosti pro buněčnou terapii (ISCT), která definuje ASCs podle následujících kritérií:

- 1) schopnost buněk adherovat k platu *in vitro*,
- 2) přítomnost resp. absence povrchových buněčných CD markerů,
- 3) schopnost diferenciovat do mnohočetných buněčných linií.<sup>43</sup>

Na základě rešerše jsme definovali ASCs jako CD31 a CD45 negativní a CD90 a CD105 pozitivní buňky. Kmenovost adherovaných buněk jsme pak potvrdili i pomocí diferenciací do osteogenních a adipogenních buněčných linií.

Allen et al. zkoumali separátně jednotlivé frakce tukové vrstvy centrifugovaného tuku, obdobně jako my. Oproti naší studii však byly rozdílné velikosti zkoumaných frakcí. Konkrétně porovnávali horních 9/10 tukové vrstvy o nižší hustotě (low-density fraction) a dolní 1/10 o vyšší hustotě (high-density fraction). V experimentu *in vivo* zjistili, že objem dolní frakce o vyšší hustotě přetrvává v místě aplikace ve vyšším objemovém procentu a že tato dolní frakce obsahuje vyšší koncentraci progenitorových buněk. Počet progenitorových buněk stanovili izolací mononukleární buněčné populace vasculární stromální frakce pomocí magnetického buněčného separátoru za použití protilátek (anti-CD5, CD45R (B220), CD11b, Gr-1 (Ly-6G/C) a Ter-119) značených pomocí magnetických mikrokuliček.<sup>87</sup>

V naší studii byla velikost frakcí definována odlišně tím, že objem frakce o vyšší hustotě byl vyšší – dolní 1/3 tukové vrstvy (*HD frakce*). Naopak objem frakce o nižší hustotě byl menší – horní 2/3 tukové vrstvy (*LD frakce*). V klinické praxi je tak ještě reálné uvažovat o použití samostatné *LD* nebo *HD frakce* i při přenosech vyšších objemů tukové tkáně, jako je tomu například při lipomodelaci prsu. Pokud by se zvažoval separátní přenos frakce menší než 1/3 tukové vrstvy, tak by se v těchto indikacích i nepřiměřeně navyšovaly požadavky na objem odebraného lipoaspirátu. To může být limitující zejména u štíhlých pacientů. Odlišně jsme dále definovali ASCs jako buňky CD105+, CD90+, CD45-, CD31-.

Při porovnávání koncentrace ASCs v jednotlivých frakcích jsme ale překvapivě dospěli k opačným výsledkům, když jsme při porovnávání *LD a HD frakcí* zjistili signifikantně vyšší koncentraci ASCs v *LD frakci* ( $P = 0,013$ ). Současně jsme prokázali vyšší koncentraci ASCs v *LD frakci centrifugovaného tuku* oproti na frakce nerozdělené tukové vrstvě *centrifugovaného tuku* ( $P = 0,038$ ). *LD frakce centrifugovaného tuku tedy obsahuje nejvyšší koncentrací ASCs*. Rozdílnost výsledků naší studie oproti výsledkům Allena et al. si vysvětlujeme odlišným způsobem definice ASCs. Nižší koncentrace ASCs v *HD frakci centrifugovaného tuku* může souviset s vyšším obsahem vazivové tkáně, např. zbytků vazivových sept, které v klinické praxi pozorujeme jako světlé vláknité fragmenty tkáně ucpávající odběrové a aplikační kanyly. Dolní část *HD frakce centrifugovaného tuku* má často obdobně světlejší až bělavé zbarvení (Obrázek 7). Při zkoumání *HD frakce centrifugovaného tuku* na submikroskopické úrovni jsme však vyšší obsah vazivové tkáně v porovnání s *LD frakcí centrifugovaného tuku* nedetekovali.

## ZÁVĚRY

Potvrdilo se, že centrifugace a filtrace přes membránu jsou účinné techniky zpracování tukové tkáně, které lze doporučit pro fat grafting. Centrifugací se vrstva tukové tkáně rozděluje na frakce s odlišným obsahem ASCs, a tedy i s rozdílným potencionálním regeneračním účinkem. Informace o tom, jakým způsobem ovlivňuje technika zpracování vlastnosti tukového štěpu, může být zásadní pro výběr techniky pro klinickou praxi.

## VĚDECKÉ VÝSLEDKY AUTORA VZTAHUJÍCÍ SE K TOMUTO TÉMATU

- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. SEDLAKOVA, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, M. SVOBODA, J. POSPISIL, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2017, 139(3):670e-682e. DOI: 10.1097/PRS.00000000000003124. IF 3.784. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, Využití přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita. Brno 2015. Disertační práce.
- GOLUNOVA, Anna, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, I. KOTELNIKOV, J. KOTEK, H. HLÍDKOVÁ, **L. STREIT**, A. HAMPL, F. RYPÁČEK, V. PROKS. N (2-Hydroxypropyl) methacrylamide based cryogel synthesis and biomimetic modification for stem cell applications. *Physiological research*. 2015, 64(1) Suppl: S19-27. IF 1.290.
- GOLUNOVA, Anna, D. CHVÁTIL, P. KRIST, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, I. KOTELNIKOV, L. ABELOVÁ, J. KOTEK, T. SEDLAČÍK, J. KUČKA, J. KOUBKOVÁ, H. STUDENOVSKÁ, **L. STREIT**, A. HAMPL, F. RYPÁČEK, V. PROKS. Toward Structured Macroporous Hydrogel Composites: Electron Beam-Initiated Polymerization of Layered Cryogels. *Biomacromolecules*. 2015, 16(4), 1146-1156. doi: 10.1021/bm501809t. ISSN 1526-4602. IF 5.788.
- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. JURTIKOVA, J. VESELY a A. HAMPL. Effect of Sedimentation, Centrifugation and Membrane-Based Filtration on Human Adipose Derived Stem Cell Content and on Viability and Morphology of the Fat Graft. In: EURAPS Research Council 27 – 28th May 2015. Book of abstracts, s. 18. <http://research-council.euraps.org/wp-content/uploads/Full-Programme-4th-EURAPS-Research-Council-Meeting-Edinburgh-27-28th-May-2015.pdf>. Edinburg. Velká Británie.
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, I. STUPKA, P. NOVÁK, T. VÝŠKA, J. VESELY a A. HAMPL. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro. XXXVI. Národní kongres plastické chirurgie s mezinárodní účastí 24.-26. 9. 2015, Praha. Sborník abstrakt, s. 31. ISBN 978-80-87562-43-7.
- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. JURTIKOVÁ, J. POSPISIL, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, P. HYZA, Z. DVORAK, I. STUPKA, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting: Effect of Decantation, Centrifugation and Membrane-Based Tissue Filtration on ASCs Content of Human Adipose Tissue Stem Cells and Viability and Morphology of the Fat Graft. In: 11th IQUAM CONGRESS AND CONSENSUS CONFERENCE, 10.-13.4.2014, Budapešť, Maďarsko. <http://zitafiles.info/IQUAM%202014/IQUAM%20FINAL%20PROGRAM-2014%20low-res.pdf>

- JAROS, Josef, **L. STREIT**, V. JURTIKOVA, J. POSPISIL, M. SEDLACKOVA, L. DRAŽAN, P. HYŽA, Z. DVORAK, I. STUPKA, T. VYSKA, J. VESELY a A. HAMPL. Comparison of Preparation Techniques for Lipomodelling: Effect of Decantation, Centrifugation, and Membrane-Based Tissue Filtration on Content, Viability, and Morphology of Human Adipose Tissue Stem Cells. In: ISSCR 12th Annual Meeting, 18.-21.6.2014, Vancouver. Kanada. 2014
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, M. SEDLÁČKOVÁ, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, I. STUPKA, J. VESELÝ a A. HAMPL. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro. In: Konferenční sborník XXI. ročníku KML 2014. Brno: Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně. 2014, s. 28. ISSN 1805-7977.
- JAROŠ, Josef, **L. STREIT**, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, Š. STIBOROVÁ, J. VESELÝ a A. HAMPL. MSC and lipomodelling – techniques of ADSC isolation for plastic surgery. In 5th Annual meeting on stem cells, DNA damage and apoptosis. 10. - 13. 10. 2013. Dolní Bojanovice.
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTIKOVÁ, J. POSPÍŠIL, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, Š. STIBOROVÁ, VESELÝ a A. HAMPL. Zpracování tukové tkáně k lipomodelaci – porovnání technik sedimentace, centrifugace a filtrace přes membránu s ohledem na koncentraci kmenových buněk a na viabilitu a morfologii přenášené tkáně. In: Mezinárodní kongres plastickej chirurgie a X. Demjénov deň. 16.-17. 5. 2013. Nitra, Slovensko. 2013.

# 3. Korekce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku lipomodelací

## VÝCHODISKA A CÍLE

Vrozené deformity hrudníku lze u chlapců vnímat jako jeden estetický a funkční problém. U dívek a žen však deformovaný tvar hrudníku značně esteticky ovlivňuje vzhled poprsí, a to i v případech, kdy je vývoj prsou nepostížen. Vrozené deformity hrudníku a vrozené vady prsou je pak třeba při plánování léčebné strategie vnímat komplexně.

Vrozené deformity hrudníku mohou být zřetelně patrné již po narození. Pro některé vady, jako např. pectus excavatum, je však typické, že se deformita stává zřetelněji patrná až v předškolním nebo raném školním věku a postupně se dále zvyrazňuje směrem k pubertě a adolescenci. Vrozené hypoplastické vady prsu se projevují zpravidla až v době puberty. Vada může mít nepříznivý vliv na osobní i společenský život dospívajícího jedince, přičemž dívky zpravidla vnímají vadu citlivěji. Mohou prožívat pocity méněcennosti, které jsou umocňovány právě tím, že si začnou vadu uvědomovat v období, kdy jsou emočně nestabilní, stydliví(é) a snadno zranitelní(é) nešetrnými poznámkami z okolí.

Polandův syndrom je vrozená vada hrudníku a horní končetiny pojmenovaná

po britském anatomu Alfredu Polandovi. Základním znakem syndromu je aplazie nebo hypoplazie m. pectoralis major, která může být asi ve 12 % případů spojená s další vrozenou anomálií na horní končetině.<sup>88-90</sup> Postižení horní končetiny může být značně variabilní, častá je měkká syndaktylie a hypoplazie středních článků prstů ruky. Polandův syndrom se vyskytuje cca 3x častěji u chlapců než u dívek. U dívek s Polandovým syndromem bývá na postižené straně zpravidla narušen i vývoj prsu, častá je jeho výrazná hypoplazie nebo aplazie, méně často i athélie (nevyvinutí bradavek). Pokud je bradavka vyvinuta, tak je uložena atypicky kraniálněji a dvorec je menší. Odhaduje se, že Polandův syndrom představuje 14 % vývojových vad spojených s hypoplázií prsu.<sup>91</sup>

Tuberózní deformita prsu je podmíněna poruchou vývoje baze prsu, kdy rudiment žlázy zůstává uložen centrálně a je obalen vazivovitým prstencem (tzv. constricting ring). V pubertě pak dochází pod vlivem hormonálních změn k typickému vyklenutí dvorce a bradavky.<sup>92-94</sup> Závažnost vady lze hodnotit pomocí Grolleauovy klasifikace<sup>94</sup>:



- typ I – deficit vnitřního dolního kvadrantu prsu,
- typ II – deficit obou dolních kvadrantů,
- typ III – deficit všech 4 kvadrantů prsů, kdy vzniká charakteristické tuberózní vyklenutí prsu v oblasti dvorce.

Tuberózní deformita bývá vyjádřena častěji oboustranně, přičemž stupeň deformity se může na každé straně značně lišit.

Pectus excavatum neboli vpáčený hrudník je vrozená vada projevující se vpáčením hrudní kosti a přilehlých žebních chrupavek obvykle distálně od 3. nebo 4. žebra. Kontralaterální žební chrupavky mohou být naopak elevovány. Vada může mít symetrický nebo asymetrický charakter, někdy můžeme pozorovat rotaci sternu.<sup>95</sup>

Ke korekci vrozených vad prsu a hrudníku byla popsána celá řada rekonstrukčních postupů. Doménou hrudních chirurgů je korekce výraznějších vad hrudníku, u kterých je třeba k uspokojivé korekci vady upravit postavení skeletu. Příkladem může být korekce vpáčeného hrudníku Nussovou operací.<sup>96</sup> Plastický chirurg řeší méně vyjádřené vady hrudníku pomocí doplnění objemu, a dále veškeré vrozené vady prsu (izolované nebo kombinované s deformitou hrudníku). Lipomodelace je miniinvazivní metoda léčby, která se při korekci vrozených vývojových vad prsu a hrudníku ukazuje jako velmi účinná a perspektivní. Může být použita samostatně, anebo může být nedílnou součástí kombinovaných rekonstrukčních postupů. Cílem práce je poukázat na nové možnosti rekonstrukce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku technikou lipomodelace. Výsledky jsou prezentovány formou vybraných kazuistik, které navazují na dříve publikované práce autora.

## PACIENTI A METODY

Do souboru bylo zařazeno 8 pacientů, u kterých byla od ledna 2013 do prosince 2017 použita lipomodelace jako hlavní rekonstrukční technika ke korekci vrozené vady prsu nebo hrudníku. Jednalo se o dvě pacientky s Polandovým syndromem a aplazii prsu, o jednoho pacienta s Polandovým syndromem s agenezí m. pectoralis, dvě pacientky s tuberózním prsem a jednu pacientku s vpáčeným hrudníkem a asymetrií prsu.

Pacienti, resp. jejich rodiče, byli poučeni ústně a formou písemného informovaného souhlasu o zákroku, pooperační péči a možných komplikacích. Byli také poučeni o tom, že bude výsledku dosaženo v několika etapách a podle předoperačního nálezu byl operátorem i odhadnut jejich minimální počet. Součástí předoperačního vyšetření u žen/dívek bylo i sonografické vyšetření prsu s benigním nálezem BI-RADS 1 nebo 2. Ultrazvukové vyšetření naopak nebylo požadováno u dívek s aplazií prsu před první etapou lipomodelace.

Všechny operace byly provedeny v celkové anestézii autorem habilitační práce, místo odběru tukové tkáně bylo vybíráno s ohledem na přání pacienta/pacientky, tuková tkáň byla zpracována centrifugací. Tuková tkáň byla aplikována z několika (zpravidla 4-5) jehlových incizí umístěných v oblasti dvorce a podprsni rýhy po vrstvách – nejprve do hlubokých vrstev, pak povrchově, a v různých směrech tak, aby byl tukový štěp obalen dobře vaskularizovanou tkání (viz. Kapitola 1.6). Vzhledem k minimální tloušťce měkkých tkání v oblasti příjmového místa byly proto v prvních rekonstrukčních etapách i relativně malé objemy přenášeny tukové tkáně, přenášeny objemy pak byly navyšovány v následných etapách.

Klíčové pro dosažení požadovaného výsledku při korekci vrozených vad prsu a hrudníku je použití modelačních prvků. Nejdůležitější jsou fasciotomie. Jedná se o perkutánní přerušování podkožních vazivovitých sept. Lze tak posunovat podprsň rýhu kaudálně a modifikovat některé důležité vzdálenosti na prsu. U Polandova syndromu slouží fasciotomie k posunu bradavky kaudálně. U tuberózní deformity prsu lze modelovat dolní část prsu, kdy se pomocí fasciotomií rozrušují konstriční pruhy, které jsou příčinou této vrozené deformity.

V pooperačním období bylo provedeno:

- pooperační kontrola: 10-14 dnů od operace,
- vyšetření plastickým chirurgem a ultrazvukové vyšetření: 2-3 týdny před 2. a další etapou lipomodelace,
- vyšetření plastickým chirurgem a ultrazvukové vyšetření: 6 měsíců po závěrečné etapě lipomodelace,

Před operací a během kontrolních pooperačních vyšetření byla pořízena standardizovaná fotodokumentace.

## VÝSLEDKY

Do souboru bylo zařazeno 8 pacientů, u kterých byla od ledna 2013 do prosince 2017 použita lipomodelace jako hlavní rekonstrukční technika ke korekci vrozené vady prsu nebo hrudníku. Průměrný věk pacientů byl 18,7 let (14-25 let), průměrný počet etap lipomodelací byl 2,5 (1-5) a průměrné follow-up bylo 12,8 měsíce (3-26 měsíců). Jednotlivé indikace, počty rekonstrukčních etap a objemy přenášené tukové tkáně jsou přehledně uvedeny v Tabulce 4. Rekonstruované prsy byly vyšetřeny ultrazvukem s nálezem homogenní tkáně s výskytem ojedinělých benigních cystoidů (olejových liponekrotických pseudocyst) do velikosti 12 mm (viz publikace přiložená in extenso<sup>21</sup>). Nebyly pozorovány žádné

č.	Diagnóza	♀/♂	Věk [let]	Počet etap	Objem aplikovaného tuku v jednotlivých etapách [ml]				
					I	II	III	IV	V
1	Polandův syndrom s aplazií prsu vlevo	♀	14	5	187	200	210	245	240
2	Tuberózní deformita pravého prsu (Greleau III)	♀	19	2	441	230			
3	Tuberózní deformita pravého prsu (Greleau II)	♀	17	2	240	220			
4	Polandův syndrom s aplazií prsu vpravo	♀	15	3	60	95	106		
5	Polandův syndrom vpravo (ageneze m. pectoralis)	♂	25	2	135	145	127		
6	Pectus excavatum, asymetrie prsou	♀	22	1	245				
7	Výrazná asymetrie prsou – hypoplastický prs vpravo	♀	21	2	245	230			
8	Výrazná asymetrie prsou – hypoplastický prs vpravo s tuberózní deformitou (Greleau II)	♀	18	2	260	295			
<b>Průměr</b>			18,0	2,4					

**Tabulka 4.** Objemy přenášené tukové tkáně v jednotlivých etapách.

chirurgické komplikace s výjimkou drobné nerovnosti v místě odběru liposukcí na vnitřních stehnech u jedné pacientky.

### **14letá pacientka s Polandovým syndromem vlevo (pacientka č. 1)**

Lipomodelací byla provedena rekonstrukce levého prsu u pacientky s Polandovým syndromem s aplazií prsu vlevo (bradavka se sotva patrným rudimentem mléčné žlázy lokalizována kraniálně v porovnání se zdravou stranou. Patrnost vady byla značně umocněna hypertrofickým růstem zdravého prsu. Vysoký stupeň asymetrie pacientka psychicky špatně tolerovala, proto jsme s rekonstrukcí prsu začali již ve věku 14 let. Prs byl rekonstruován pomocí pěti etap lipomodelace s rozestupem 3-8 měsíců a s postupně narůstajícím objemem přenášené tkáně. Při závěrečné etapě byla provedena redukční mammaplastika pravého prsu. Operací bylo dosaženo přirozeného tvaru a konzistence prsu velikosti C, uspokojivé symetrie a vysoké spokojenosti pacientky (Obrázek 10). Pomocí fasciotomií byl posunut dvorec kaudálně, stejně jako submamární rýha.

### **19letá pacientka s tuberózním prsem vpravo Greleau III (pacientka č. 2)**

Tuberózní deformita pravého prsu byla korigována pomocí dvou etap lipomodelace. Vzhledem k vyšší síle podkoží a objemnějšímu prsnímu svalu byl objem přenášeného tuku při první operaci vysoký (441 ml), při druhé etapě byl objem přenášené tkáně menší, z důvodu nepřekročení velikosti levého prsu. Podprsň rýha byla posunuta kaudálně pomocí

fasciotomií. Při druhé etapě lipomodelace byla současně provedena i modelace levého prsu. Bylo dosaženo vysokého stupně symetrie tvaru a velikosti prsu (Obrázek 11). Tvar a velikost rekonstruovaného prsu se výrazněji neměnily ani po těhotenství, což je podrobněji zdokumentováno v příslušné publikaci vztahující se k tomuto tématu přiložené in extenso).<sup>21</sup>

### **17letá pacientka s tuberózním prsem vlevo Greleau II (pacientka č. 3)**

Pomocí dvou etap lipomodelace byl rekonstruován objem chybějících dolních kvadrantů prsu u pacientky s tuberózní deformitou levého prsu (Greléau II). Submamární rýha byla posunuta kaudálně pomocí fasciotomií. Při druhé závěrečné etapě byla provedena i modelace pravého prsu s augmentací vlastním tukem (přeneseno 70 ml tukové tkáně do dekoltu). Malformace byla lipomodelací velmi dobře korigována a bylo dosaženo vysokého stupně symetrie tvaru a velikosti prsů (fotografie viz publikace přiložená in extenso<sup>21</sup>).

### **15letá pacientka s Polandovým syndromem vpravo (pacientka č. 4)**

Obdobně jako u pacientky č. 1 byla provedena rekonstrukce pravého prsu lipomodelací. Při první etapě byl doplněn objem podkoží, tím byla maskována ageneze m. pectoralis. Při následných dvou etapách byl vytvářen objem prsu. Přenášené objemy byly nižší než u pacientky č. 1 vzhledem k tenčímu podkoží a kompletní aplazii m. pectoralis a mléčné žlázy.



**Obrázek 10.** Rekonstrukce prsu 14leté pacientky s Polandovým syndromem vlevo.



**Obrázek 11.** Korekce tuberózního prsu u 19leté pacientky.

## 25letý pacient s Polandovým syndromem vpravo (pacient č. 5)

Asymetrie hrudníku u muže s Polandovým syndromem a agenezí m. pectoralis vpravo byla úspěšně korigována během 2 etap lipomodelace s rozstupem 5 měsíců (Obrázek 12).



**Obrázek 12.** Korekce asymetrie hrudníku u pacienta s agenezí m. pectoralis vpravo.

## 22letá pacientka s vpáčeným hrudníkem a asymetrií prsou (pacientka č. 6)

Technikou lipomodelace byla korigována asymetrie prsou u pacientky s pectus excavatum.

Deformita hrudníku umocňovala prsní asymetrii tím, že byla hrudní stěna vpravo posunuta dorzálně v porovnání s levou stranou. Rozdílná byla i velikost prsou (menší vpravo). Asymetrie byla korigována lipomodelací pravého prsu (aplikováno 200 ml tuku) a přenesením 45 ml tuku do oblasti vpáčeného hrudníku.

## DISKUSE

V literatuře je zdokumentována celá řada plasticko-chirurgických postupů korekce vrozených deformit hrudníku a vrozených vývojových vad prsu, mezi které patří použití tkáňových expandérů, silikonových prsních implantátů, individuálně připravených implantátů, lalokové plastiky ve formě místních nebo volných laloků. Ke korekci tuberózní deformity prsu se používá augmentace prsu silikonovým implantátem s vnitřní modelací žlázy.<sup>93,97-99</sup> Tyto rekonstrukční postupy mohou být vzájemně kombinovány. Použití expandéru/implantátu u vrozených vad prsu a hrudníku může být limitované velmi tenkou vrstvou podkoží, absencí prsního svalu nebo mléčné žlázy, případně atypicky umístěnou bradavkou. Implantáty je třeba u většiny pacientů/pacientek v pozdějším věku měnit. Mezi nevýhody lalokových plastik patří jizvy a vyšší morbidita v místě odběru, proto jsou dnes používány jako metoda první volby u vrozených vývojových vad prsu okrajově. Mohou ale být cenným nástrojem u sekundárních operací v pozdějším věku pacientky, kdy lze vlastní tkání, např. volným přenosem břišního laloku, nahradit chybějící objem po explantaci silikonové protézy.

První, kdo v roce 2001 použil techniku lipomodelace k rekonstrukci prsu u 12leté pacientky s Polandovým syndromem, byl francouzský chirurg E. Delay.<sup>2</sup> Účinnost a bezpečnost techniky

byla zdokumentována v řadě dalších studií.<sup>100-102</sup> Obdobně se přenos tukové tkáně ukázal jako účinný a miniinvazivní nástroj ke korekci tuberozní deformity prsu, a také ke korekci méně vyjádřených forem pectus excavatum.<sup>3,5,34</sup>

Technika lipomodelace má při korekci vrozených malformací prsu a hrudníku několik výhod. Prs je rekonstruován výhradně vlastní tkání, tedy bez implantátu. Operace přitom není spojena s větší morbiditou v oblasti odběrového místa, naopak liposukce je u většiny pacientek vnímána spíše jako jistý estetický bonus. Rozsah jizev je minimální – operace je realizována z několika drobných incizí. U tuberozní deformity prsu lze pomocí fasciotomií upravit deformovaný tvar prsu a posunout kaudálně podprsň rýhu.<sup>4,62</sup> U Polandova syndromu lze navíc stejným způsobem měnit pozici bradavky (Obrázek 10). Rekonstruovaný prs má přirozený tvar a konzistenci. V porovnání s jinými technikami lze dosáhnout vyššího stupně symetrie a přirozenějšího tvaru rekonstruovaného prsu.<sup>2,101</sup>

To, že se objem prsu vytváří přenosem tuku postupně v jednotlivých etapách, nemusíme považovat u dívek s vrozenými vadami prsu a hrudníku za nevýhodné. S korekcí vady je totiž možné začít dříve (od 12-14 let), kdy ještě není dokončen vývoj prsu druhé strany. Postupným doplňováním objemu lipomodelací lze citlivě reagovat na růst druhého zdravého prsu. Pacientky v tomto věku vnímají postupné narůstání prsu jako přirozený proces. Vrozené malformace prsu a hrudníku spojené s výraznou asymetrií proto doporučujeme

operovat již v adolescenci, aby byl co nejméně narušen osobní a společenský rozvoj dívky nebo mladé ženy. Při rekonstrukci prsu pomocí implantátu nebo pomocí lalokových plastik je naopak vhodné vyčkat na ustálení velikosti zdravého prsu.

Podmínkou rekonstrukce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku technikou lipomodelace je dostatek tukové tkáně v odběrových místech. S výjimkou velmi štíhlých jedinců je u většiny pacientů proveditelná jednostranná korekce vady. Oboustranná korekce vady je méně častá, příkladem mohou být pacientky s oboustrannou tuberozní deformitou prsu, anebo pacientky s vpáčeným hrudníkem, které si přejí zvětšení prsou z kosmetických důvodů. Dle zkušenosti autora je možné oboustrannou korekci plánovat u pacientek, které mají dostatek tukové tkáně v místech odběru (BMI zpravidla nad 24). U štíhlých pacientek s oboustranným postižením naopak převažují výhody použití silikonových implantátů. Případně je možné kombinovat implantáty s přenosem tuku, příkladem je augmentace prsou silikonovými implantáty s doplněním objemu přenosem tuku do oblasti vpáčeného hrudníku.

Volba operační techniky u vrozených vývojových vad prsu a hrudníku zůstává nadále značně individuální. Často je třeba u jednoho pacienta kombinovat více rekonstrukčních postupů. Zásadní pro výběr rekonstrukční techniky je přání, resp. rozhodnutí pacienta/pacientky, anebo rodičů u nezletilých pacientů, a zkušenost plastického chirurga.

## ZÁVĚRY

Technika lipomodelace představuje moderní způsob korekce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku.

Výhodou metody je její nízká invazivita, minimální množství jizev, nízký počet chirurgických komplikací, krátká doba hospitalizace a rekonvalescence. U správně indikovaných pacientů lze účinně doplnit chybějící objem prsu nebo hrudníku. U tuberózní deformity prsu lze navíc korigovat typické vyklenutí dvorce a posouvat podprsň rýhu kaudálně, u Polandova syndromu lze navíc měnit polohu dvorce a bradavky.

U dívek s výraznou asymetrií hrudníku je možné s výhodou začít s rekonstrukcí dříve, již v rané adolescenci, aby byl co nejméně narušen osobní a společenský rozvoj mladé ženy.



## VĚDECKÉ VÝSLEDKY AUTORA VZTAHUJÍCÍ SE K TOMUTO TÉMATU

- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, P. NOVÁK, M. SCHNEIDEROVÁ, Z. DVOŘÁK, K. TEPLÁ a J. VESELÝ. Lipomodelling – advanced technique for the correction of Congenital hypoplastic breast malformations and deformities. *Acta chirurgiae plasticae*. 2016, 58(2), 70-76. ISSN 0001-5423. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, P. NOVÁK, M. SCHNEIDEROVÁ, K. TEPLÁ a J. VESELÝ. Korekce vrozených vývojových vad prsu a hrudníku technikou lipomodelace. *Czech-Slovak Pediatrics*. 2017, 72(5), 308-313. ISSN 0069-2328.
- **STREIT, Libor**, R. LHOTSKY, O. MESTAK. Autologous Fat Transfer, Breast Lipomodelling and Fat Transfer to the Face: Current Gold Standards and Emerging New Data. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 97-108. ISSN 0001-5423. Publikace přiložena in extenso.
- DELAY, Emmanuel, **L. STREIT**, G. TOUSSOUN, S. LA MARCA a C. HO QUOC. Lipomodelling: an Important Advance in Breast Surgery. *Acta chirurgiae plasticae*. 2013, 55(2), 34-43. ISSN 0001-5423. Corresponding author. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, P. NOVÁK, Z. DVOŘÁK, M. SCHNEIDEROVÁ, a J. VESELÝ. Rekonstrukce vrozených vývojových vad prsu lipomodelací. XXXVI. Národní kongres plastické chirurgie s mezinárodní účastí 24.-26. 9. 2015, Praha. Sborník abstrakt, s. 34. ISBN 978-80-87562-43-7.
- **STREIT, Libor**, Využití přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita. Brno 2015. Disertační práce.

## 4. Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi s lipomodelací

### VÝCHODISKA A CÍLE

Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi je jednou z nejspolehlivějších a také nejstarších metod rekonstrukce prsu. První zmínka v literatuře je dostupná z roku 1896, kdy Tansini přenesl m. latissimus dorsi ze zad na hrudník ve formě stopkovaného muskulokutanního laloku.<sup>103</sup> Lalok latissimus dorsi však začal být používán ve větší míře až poté, co v roce 1976 Olivari popsal jeho cévní zásobení. Pro další vývoj byla důležitá i práce Schneidera, který o rok později publikoval práci o použití laloku v rekonstrukci prsu.<sup>104,105</sup> Prvním, kdo v Československu poprvé použil lalok latissimus dorsi k rekonstrukci prsu, byl prof. Bařinka.<sup>106</sup> Nevýhodou laloku latissimus dorsi je jeho limitovaný objem v porovnání s plánovanou velikostí rekonstruovaného prsu. Proto je lalok latissimus dorsi velmi často používán v kombinaci s implantátem tak, jak zavedl Bostwick et al.<sup>107,108</sup> Lalokem je nahrazována chybějící kůže, implantátem chybějící objem. Při této rekonstrukční technice se ovšem kombinují i nevýhody použití laloku (morbidita, jizva na zádech) s riziky spojenými s použitím prsních implantátů (riziko infekce, kapsulární kontraktury a ruptury).

Objem laloku lze navýšit i pokud je m. latissimus vypreparován včetně přilehlých tkání ze zad. Hokin v roce 1983 a Marschal v roce 1984 tak navýšili objem laloku o lumbální fascii.<sup>109,110</sup> Germann v roce 1996 a Delay v roce 1998 zdokumentovali své zkušenosti s navýšením objemu laloku o přilehlé tukové zóny uložené pod povrchovou fascií skapulárně a paraskapulárně.<sup>111,112</sup> Delay tyto tukové zóny následně popsal anatomicky<sup>113</sup>, a také je autorem čistě autologní techniky rekonstrukce prsu založené na kombinaci extendovaného laloku latissimus dorsi s posuvným břišním lalokem, čímž dále posunul možnosti této techniky ve smyslu navýšení rekonstruovaného objemu.<sup>114</sup>

V posledních letech se ukázalo, že technika fat graftingu je cenným nástrojem v rekonstrukční plastické chirurgii prsu. Sinna et al. v roce 2010 prokázali na souboru 200 pacientek, že lipomodelace zlepšuje výsledky po rekonstrukci prsu lalokem latissimus dorsi doplněním objemu a domodelováním tvaru.<sup>1,4,61</sup> A nakonec v roce 2014 byla publikována práce italských kolegů (Santaneli et al.), kteří dále navýšili objem laloku latissimus dorsi aplikací tukové tkáně do podkoží kožního ostrova laloku.<sup>115</sup>

Cílem práce bylo představit nový koncept čistě autologní rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi kombinovaným s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi, a poukázat na potenciál této strategie stran navýšení objemu rekonstruovaného prsu a stran snížení počtu následných etap fat graftingu.

## PACIENTI A METODY

Od dubna 2013 do února 2016 bylo na Klinice plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny v Brně provedeno 14 jednostranných rekonstrukcí lalokem latissimus dorsi kombinovaných s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi. Tato rekonstrukční technika byla metodou volby u pacientek:

- u kterých byla plánována výsledná velikost prsu do velikosti C,
- u kterých byla kontraindikována rekonstrukce implantátem, anebo tuto možnost odmítaly,

- u kterých byla kontraindikována rekonstrukce mikrochirurgickým přenosem břišního laloku, anebo tuto možnost odmítaly např. z důvodu jizvy na břiše.

Odběr laloku byl zakreslen u pacientky v sedě s nasazenou podprsenkou tak, aby výsledná jizva na zádech po odběru laloku mohla být překryta lemem podprsenky. Současně byl zakreslen rozsah laloku rozšířený o přilehlé tukové zóny (Obrázek 13). Dále byly zakresleny oblasti plánovaného odběru tukové tkáně liposukcí. Preferovanými místem pro odběr tukové tkáně bylo břicho a vnitřní stehna z důvodů menšího počtu polohování při operaci. Naopak jsme se vyvarovali odběru z boků z důvodu potencionálního rizika poruchy prokrvení kůže zad v místě odběru laloku. U žen s dobrou laxitou kůže na hrudi pod jizvou po mastektomii byl naplánován a zakreslen posuvný břišní lalok.

Lalok byl preparován v první fázi operaci v poloze pacientky na boku současně s nadzvednutím mastektomických laloků a vyprepa-



**Obrázek 13.** Uložení kožního ostrova laloku do lemu podprsenky při předoperačním plánování a výsledná jizva na zádech po odběru laloku.

rováním kapsy pro umístění laloků. Lalok byl preparován včetně tukových zón modifikovanou technikou dle Delaye s ponecháním supra-iliakální tukové zóny. V oblasti axily byl m. latissimus dorsi subtotálně přerušen, zachován byl pouze tenký proužek svalu (max. 1x1cm) jako ochrany stopky laloku proti natažení. Motorický nerv (n. thoracodorsalis) jsme nepřerušovali. Lalok byl transponován na přední stranu hrudníku do vypreparované kapsy. Odběrové místo bylo uzavřeno primárně přímou suturou. Další etapa byla realizována v poloze pacientky na zádech, v indikovaných případech byl vypreparován posuvný břišní lalok a byla vytvořena nová podprsni rýha. Současně byl po předchozí infiltraci tumescenčním roztokem

proveden odběr tukové tkáně z oblasti břicha nebo vnitřních stehen. Použitá technika odběru a zpracování tukové tkáně je popsána v Kapitolách 1.4 a 1.5.

Tuková tkáň byla aplikována pomocí speciálních kanyl mezi svalová vlákna transverzálně i longitudinálně pod vizuální kontrolou, postupně od hlubokých vrstev svalu k povrchovým. Přenesením tukové tkáně se navýšil objem svalů, prsní sval tak získal nápadně vypouklý tvar. U 11 pacientek bylo s rozstupem minimálně tříměsíců provedeno doplnění objemu prsu přenosem tukové tkáně. S odstupem 3-6 měsíců od operace byly pacientky vyšetřeny ultrazvukem.

č.	Věk [let]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	RT	AAF	Follow-up [měsíce]	Objem přenášeného tuku [ml]			Následné etapy lipomodelace		
						Celkem	PM	LTD	Počet etap	Objem tuku [ml]	
										I. etapa	II. etapa
1	44	21,1	ano	ne	34	50	30	20	2	288	72
2	50	28,7	ne	ne	29	50	50	0	1	190	
3	53	23,4	ano	ano	25	50	50	0	1	255	
4	41	20,4	ano	ano	25	60	30	30	2	200	165
5	53	20,6	ne	ne	25	80	80	0	1	140	
6	43	24,2	ano	ano	22	90	40	50	2	205	130
7	59	21,9	ano	ne	22	60	30	30	1	135	
8	63	27,5	ne	ne	15	80	40	40	2	130	225
9	44	37,6	ne	ne	11	160	110	50	0		
10	34	24,9	ano	ano	9	120	60	60	1	150	
11	35	23,7	ne	ano	8	155	120	35	0		
12	52	20,8	ano	ano	5	40	40	0	1	110	
13	64	26,6	ne	ano	4	130	100	30	0		
14	40	23,5	ano	ne	3	80	30	55	1	210	
15	58	27,2	ano	ano	3	130	130	0	1	205	
<b>Mean</b>	<b>49,2</b>	<b>24,6</b>	<b>9 z 15</b>	<b>8 z 15</b>	<b>16,9</b>	<b>89,0</b>	<b>61,9</b>	<b>26,4</b>	<b>1</b>		

**Tabulka 5.** Soubor pacientů a objemy přenášeného tuku v jednotlivých etapách.

RT: adjuvantní radioterapie po mastektomii,

PM: m. pectoralis major,

AAF: použití posuvného břišního laloku,

LTD: m. latissimus dorsi.

## VÝSLEDKY

Od dubna 2013 do února 2016 bylo na našem pracovišti provedeno 14 jednostranných rekonstrukcí lalokem latissimus dorsi kombinovaných s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi. Průměrný věk pacientek byl

48,2 let (34–64 let), průměrný BMI (body mass index) byl 24,6 kg/m<sup>2</sup> (20,4–37,6 kg/m<sup>2</sup>). U 7 pacientek byl použit posuvný břišní lalok k nahrazení chybějící kůže v dolních kvadrantech prsu.

Průměrný objem přenášené tkáně byl 86,4 ml (50–160 ml), přičemž objemy přenášeného tuku



**Obrázek 14.** Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi a lipomodelací.

43letá pacientka po modifikované radikální mastektomii levého prsu s exenterací axily po prodělané adjuvantní radioterapii. V první fázi byla provedena rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi v kombinaci s posuvným břišním lalokem a přenosem 90 ml tuku (pacientka č. 6 v Tabulce 5). Následovaly dvě etapy lipomodelace, při kterých bylo aplikováno 205 ml a 130 ml tuku. Výsledek po rekonstrukci bradavky modifikovanou technikou arrow flap a tetováží dvorce.

do m. pectoralis byly postupně navyšovány až na 130 ml (Tabulka 5).

Nejčastější pooperační komplikací byl sérom v oblasti zad po odběru laloku (57,1 %). U dvou pacientek bylo třeba revizní operace pro hematom v oblasti odběrového místa na zádech časně po operaci. Nebyly pozorovány žádné chirurgické komplikace spojené s přenosem tukové tkáně v oblasti donorského ani recipientního místa.

U 7 pacientek byla indikována s minimálním rozestupem tří měsíců jedna doplňková etapa lipomodelace za účelem doplnění chybějícího objemu a dosažení požadované velikosti prsu, u 4 pacientek byly provedeny následné 2 etapy. Zjistili jsme, že vyšší objemy přenášeného tuku při rekonstrukci prsu lalokem latissimus dorsi korelují s nižším počtem doplňkových lipomodelací. U 4 pacientek byla provedena mastopexie nebo redukční mammaplastika zdravého prsu z důvodů asymetrie způsobené ptózou nebo relativní hypertrofií 3-6 měsíců od závěrečné etapy lipomodelace.

Deset pacientek se dostavilo na plánované vyšetření ultrazvukem. Vyhodnocovali jsme počet a velikost olejových cyst, resp. olejových liponekrotických pseudocyst, a tukových nekróz separátně vždy pro svalovou vrstvu složenou m. pectoralis a m. latissimus, a pro vrstvu podkoží. Počet a velikost těchto útvarů byla významně nižší ve svalových vrstvách. Současně jsme měřili maximální tloušťku jednotlivých vrstev a také maximální tloušťku obou vrstev dohromady. Tloušťka svalové vrstvy se navyšovala i po doplňkových etapách lipomodelace. Výsledný objem prsu byl tvořen převážně objemem svalové vrstvy, pro kterou byl charakteristický sonografický nálezní homogenní svalové tkáně s lipomatózní přestavbou.

Fotografie demonstrující výsledek jedné z rekonstrukcí prsu lalokem latissimus dorsi kombinovaných s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi jsou na Obrázku 14. Výsledky jsou detailněji popsány v příslušné publikaci přiložené in extenso, kde jsou k nahlédnutí i další z fotografií.

## DISKUSE

Rekonstrukce prsu po mastektomii je dnes považována za nedílnou součást komplexní onkologické léčby karcinomu prsu. Napomáhá obnově fyzické a psychologické integrity a významně zlepšuje kvalitu života žen.<sup>51</sup> Výběr rekonstrukční techniky je multifaktoriální rozhodnutí vycházející z přání pacientky, jejího věku, přidružených onemocnění a typu postavy. Volba rekonstrukční techniky je značně ovlivněna i tím, zda žena po mastektomii podstoupila adjuvantní radioterapii, dále velikostí prsu na druhé straně, a v neposlední řadě zkušeností chirurga a možnostmi pracoviště.

Rekonstrukce prsu založené na použití silikonových prsních implantátů jsou spojeny zpravidla s nízkou morbiditou v oblasti odběrového místa. S použitím implantátu je ale spojené riziko infekčních komplikací, extruze nebo ruptury implantátu a kapsulární kontraktury, a také recentně popisovaná asociace se vznikem lymfomu (anaplastic large-cell lymphoma - ALCL).<sup>116</sup>

K rekonstrukci prsou výhradně vlastní tkáně se nejčastěji používají břišní laloky a m. latissimus dorsi, přičemž volné břišní laloky (např. DIEP nebo MS-TRAM lalok) jsou některými autory považovány za zlatý standard autologní rekonstrukce prsou. Na našem pracovišti bylo v posledních 5 letech ročně

prováděno přibližně 110-130 těchto rekonstrukcí prsou, což představuje přibližně 80 % autologních rekonstrukcí prsou.<sup>117-119</sup> Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi je metoda volby u pacientek, které nejsou vhodnými kandidátkami k rekonstrukci prsou břišními laloky, anebo u pacientek, které si nepřejí mít jizvu na břicho nebo nechtějí podstoupit delší mikrochirurgický výkon s rizikem ztráty laloku. Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi představuje na našem pracovišti cca 10 % autologních rekonstrukcí prsu.

Nevýhodou laloku latissimus dorsi je jeho limitovaný objem ve srovnání s plánovanou velikostí rekonstruovaného prsu. Santaneli et al. recentně popsali techniku navýšení jeho objemu aplikací tukové tkáně do podkoží kožního ostrova laloku, kdy průměrný objem přenesené tukové tkáně byl 101 ml. Za limitaci jejich práce lze považovat značnou velikost kožních ostrovů, jejichž průměrná velikost byla 19,7 x 11,0 cm.<sup>115</sup> Dle našich zkušeností je tato velikost kožního ostrova často spojena s viditelnou defigurací odběrového místa. Z tohoto důvodu doporučujeme minimalizovat velikost kožního ostrova. Maximální velikost kožního ostrova v naší studii byla do velikosti 6 x 14 cm.

V uvedené studii jsme navyšovali rekonstrukční objem přenosem tukové tkáně do m. latissimus dorsi, a také do m. pectoralis major. Objem přenášeného tuku jsme postupně navyšovali až na 60 ml do m. latissimus dorsi a na 130 ml do m. pectoralis. Zjistili jsme, že kapacita m. pectoralis přijmout objem tukové tkáně je cca 2x vyšší než u m. latissimus dorsi, což můžeme vysvětlit rozdílnou tloušťkou těchto svalů a také tím, že není m. pectoralis odpojen od hrudní stěny. Při aplikaci se tedy nedeformuje jeho tvar, lze tak snáze a přesněji apliko-

vat tuk po vrstvách. Naopak při aplikaci do m. latissimus dorsi je třeba respektovat průběh cévní stopky laloku a vyvarovat se aplikace tuku do jejího okolí. Proto doporučujeme tuk aplikovat pouze do m. pectoralis, pokud potřeba navýšení objemu rekonstruovaného prsu není větší než 120-130 ml.

Pomocí ultrazvukového vyšetření jsme potvrdili, že je svalová tkáň vhodnou recipientní tkání pro přenesenou tukovou tkáň. Četnost a velikost tukových nekróz, resp. liponekrotických pseudocyst byla velmi nízká ve svalových vrstvách rekonstruovaného prsu i u pacientek, které podstoupily k navýšení výsledného objemu doplňkové následné etapy lipomodelace. Přisuzujeme to dobrému prokrvení svalové tkáně obklopující přenesenou tukovou tkáň. Vyšší četnost těchto útvarů jsme naopak pozorovali v podkoží.

Příčně pruhovaný sval lze považovat za vhodnou příjemovou tkáň pro přenos tuku. Adipocyty se v ní vyskytují přirozeně<sup>120</sup>. Obsah tukové tkáně ve svalu se navyšuje u věkem podmíněné atrofie svalů, anebo při parézách<sup>121</sup>. Přenos tukové tkáně do svalů lze tedy chápat spíše jako navýšení obsahu tukových buněk než jako přenos tkáně, která do svalů a priori nepatří.

Na základě našich zkušeností lze předpokládat, že je možné ještě mírně navýšit objemy přenášeného tuku na 140-160 ml do m. pectoralis a 60-70 ml tuku do m. latissimus dorsi. Podmínkou je dostatečná tloušťka recipientních svalů. Při přenášení vyšších objemů bychom již očekávali komplikace spojené s nepřihojením přenesené tukové tkáně. Techniku nedoporučujeme u velmi štíhlých pacientek s BMI pod 20 kg/m<sup>2</sup>, u kterých lze předpokládat velmi malou

tloušťku svalů a také nedostatek tukové tkáně v místech odběru.

Limitací naší studie je retrospektivnost a absence kontrolní skupiny. Závěry z ní vyplývající je třeba potvrdit v prospektivní klinické studii.

## ZÁVĚRY

Náš nový koncept čistě autologní rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi kombinovaným s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi je bezpečnou a spolehlivou metodou, umožňující navýšit objem rekonstruovaného prsu. Lze tak předpokládat snížení počtu doplňkových následných etap lipomodelací, které jinak po čistě autologní rekonstrukci prsu lalokem latissimus dorsi často následují. Prokázali jsme, že příčně pruhované svaly m. pectoralis a m. latissimus dorsi jsou vhodnými příjemci tukové tkáně.



## VĚDECKÉ VÝSLEDKY AUTORA VZTAHUJÍCÍ SE K TOMUTO TÉMATU

- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, M. SCHNEIDEROVÁ, T. KUBEK, P. ŠÍN, K. VESELÝ, O. COUFAL a J. VESELÝ. Intraoperative Fat Grafting into the Pectoralis and Latissimus Dorsi Muscles – Novel Modification of Autologous Breast Reconstruction with Extended Latissimus Dorsi Flap. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 72-81. ISSN 0001-5423. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, R. LHOTSKY, O. MESTAK. Autologous Fat Transfer, Breast Lipomodelling and Fat Transfer to the Face: Current Gold Standards and Emerging New Data. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 97-108. ISSN 0001-5423. Publikace přiložena in extenso.
- DELAY, Emmanuel, **L. STREIT**, G. TOUSSOUN, S. LA MARCA a C. HO QUOC. Lipomodelling: an Important Advance in Breast Surgery. *Acta chirurgiae plasticae*. 2013, 55(2), 34-43. ISSN 0001-5423. Corresponding author. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, Využití přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii. Lékařská fakulta, Masarykova univerzity. Brno 2015. Disertační práce.
- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, M. SCHNEIDEROVÁ, T. KUBEK, P. ŠÍN, M. PACIOREK, K. VESELÝ a J. VESELÝ. Extended latissimus dorsi flap with intraoperative fat grafting into the pectoralis and latissimus dorsi muscles – novel modification of autologous breast reconstruction. XI. International Congress on Plastic Surgery. 7. – 9. června 2017. Brno. Sborník abstrakt, s. 31. ISBN 978-80-88112-06-8.
- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, M. SCHNEIDEROVÁ, T. KUBEK, P. ŠÍN, M. PACIOREK, K. VESELÝ a J. VESELÝ. Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi kombinovaná s přenosem tukové tkáně do m. pectoralis a m. latissimus dorsi. In: Sborník abstrakt, XLI. Brněnské onkologické dny a XXXI. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky. 26. - 28. 4. 2017, Brno. *Klinická onkologie*. 2017, 30(Suppl 1), s. 73. ISSN 0862-495X.

# 5. Rekonstrukce prsu po mastektomii technikou lipomodelace

## VÝCHODISKA A CÍLE

Nejčastěji používané metody rekonstrukce prsu po mastektomii silikonovými implantáty a pomocí lalokových plastik mají své nevýhody. Nevýhodou silikonových implantátů je např. riziko vzniku kapsulární kontraktury a ruptury implantátu, vyžadujících sekundární operace během dalšího života ženy. Hlavní nevýhodou lalokových plastiky je přidružená morbidita v oblasti odběrového místa.

Rekonstrukce prsu lipomodelací je naopak spojena s minimální morbiditou při použití tělu vlastních tkání.<sup>20</sup> Maximální množství přenesené tukové tkáně je ale limitováno objemem příjmových tkání, který není po mastektomii veliký. Proto je třeba při rekonstrukci prsu technikou lipomodelace postupovat etapovitě. Objem měkkých tkání lze před operací navyšovat pomocí zevní tkáňové expanze BRAVA™, což se zdá být perspektivní zejména při sekundární rekonstrukci prsu.<sup>37,122</sup>

Cílem kapitoly je představit zkušenosti autora a jeho spolupracovníků s rekonstrukcí prsu založené na technice přenosu tuku. Výsledky jsou prezentovány formou vybraných kazuistik, které navazují na dříve publikované práce autora.

## PACIENTI A METODY

Do souboru bylo od srpna 2012 do listopadu 2017 zařazeno 10 pacientek, u kterých byla lipomodelace použita jako hlavní operační technika rekonstrukce prsu.

Pacientky byly poučeny ústně a formou písemného informovaného souhlasu o zákroku, pooperační péči, možných komplikacích a o tom, že bude výsledku dosaženo v několika etapách, jejichž počet byl odhadnut operátorem podle předoperačního nálezu.

Použitá operační technika odběru, zpracování a aplikace tuku je popsána v Kapitolách 1.4, 1.5 a 1.6. Operace se začíná zpravidla odběrem tukové tkáně, u sekundární rekonstrukce prsu je to pravidlem. V případě okamžité rekonstrukce je vhodné plánovat odběr z břicha nebo vnitřních stehien, který lze snadno realizovat v poloze pacientky na zádech bez polohování. Operaci je pak možné zahájit mastektomií, a až následně provést odběr. Snižuje se tím délka ischemie tukového štěpu.

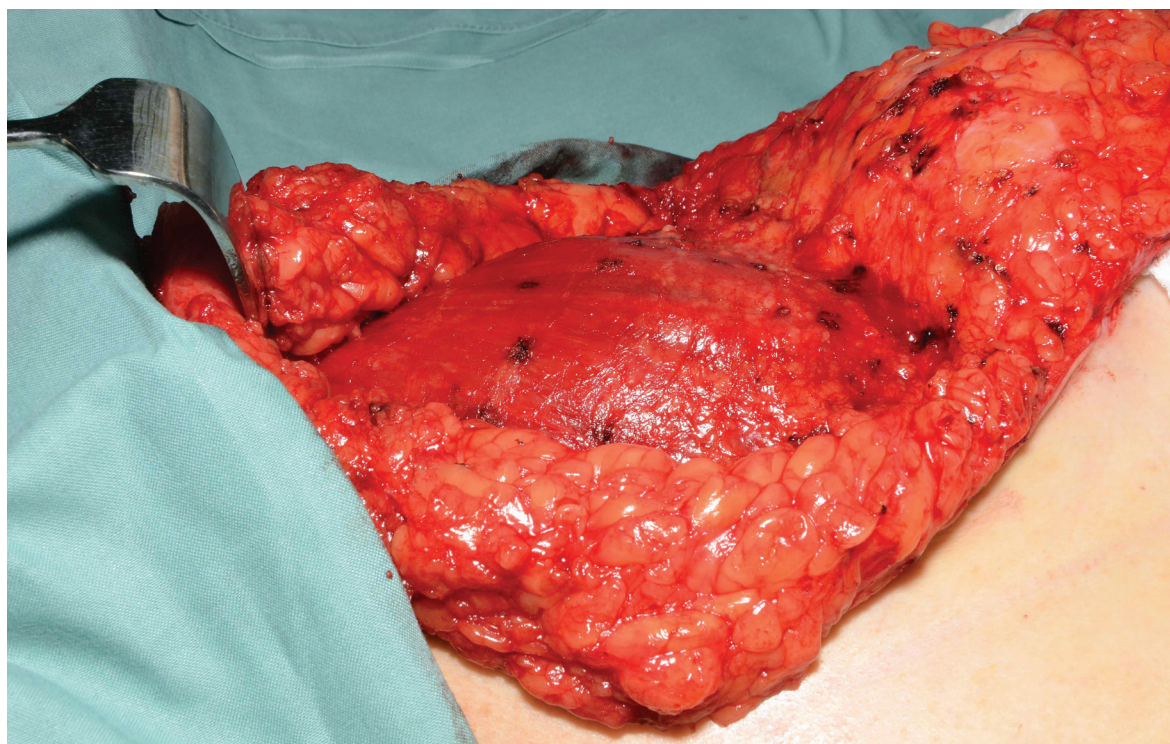
Specifické pro sekundární rekonstrukci prsu přenosem tuku je umístění jehlových incizí pro aplikaci tuku. S výhodou se umísťují do stávajících jizev, případně do podprsní

rýhy. Aplikuje se nejprve do hlubokých vrstev, tedy do m. pectoralis, pak povrchově do podkoží mastektomických laloků. Klíčové je přerušení jizevnatých a fibrotických pruhů v podkoží, které by jinak zamezovaly expanzi kůže. Používají se k tomu fasciotomie, provádějí se perkutánně krouživými pohyby pomocí silné jehly nebo trokaru s ostrou špičkou (G17-G23). U pacientek, které po mastektomii podstoupily adjuvantní radioterapii, aplikujeme podle tloušťky podkoží menší objemy tuku, protože kůže po radioterapii má menší kapacitu přijmout objem tukové tkáně než neozářená zdravá tkáň (viz níže v diskusi).

Subkutánní nebo kůži šetřící mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsu je kombinovaný výkon. Profylaktickou mastektomii provádí zpravidla plastický chirurg, terapeutickou mastektomii onkochirurg. Radikalita výkonu, resp. tloušťka mastektomických laloků se neliší od jiných rekonstrukčních technik.

V případě subkutánní mastektomie s pexí může být výživa bradavky zajištěna na horní, dolní, horní i dolní (McKissock), případně na supermediální stopce podle stupně prsní ptózy, umístění stávajících jizev na prsu a zkušenosti plastického chirurga. U pacientek s hypertrofií prsu je možné využít nadbytek kůže, tedy ponechat kaudálně stopkovaný a dekortikovaný mastektomický lalok, a využít ho k rekonstrukci části objemu.

Rekonstrukční část operace spočívá v aplikaci tukové tkáně do m. pectoralis major. Používají se speciální kanyly a tuk se aplikuje mezi svalová vlákna transverzálně i longitudinálně, a to postupně od hlubokých vrstev svalu k povrchovým. Přenesením tukové tkáně se navyšuje objem, prsní sval získává nápadně vypouklý tvar (Obrázek 15). Po skončení aplikace je možné pomocí fixačních stehů zmodelovat do správného postavení kaudálně stopkovaný mastektomický lalok a dále tak navýšit objem rekonstruovaného prsu.



**Obrázek 15.** M. pectoralis major po aplikaci tuku získává nápadně vypoulený tvar – „autoprotéza“.

Do prostoru mezi m. pectoralis a mastektomické laloky vkládáme Redonovy drény. Nepoužíváme kompresivní bandáž hrudníku.

Všechny pacientky byly fotografovány ve standardizovaných projekcích před operací a při kontrolních pooperačních vyšetřeních. Pacientky byly vyšetřeny sonograficky před první etapou, 2-3 týdny před druhou a další etapou lipomodelace, a také cca 6 měsíců po závěrečné etapě lipomodelace.

## VÝSLEDKY

Do souboru byly od srpna 2012 do listopadu 2017 zařazeny:

- 4 pacientky po mastektomii, u kterých byla k sekundární rekonstrukci prsu použita lipomodelace jako hlavní operační technika,
- 6 pacientek indikovaných k profylaktické mastektomii, u kterých byla přenosem tuku realizována okamžitá rekonstrukce prsu.

č.	Věk	Strana	Počet etap	Objem aplikovaného tuku v jednotlivých etapách [ml]						TN* nebo OLP** nad 20 mm	Výsledná velikost prsu (poznámka)
				I	II	III	IV	V	VI		
Sekundární rekonstrukce prsu lipomodelací											
1	44	vlevo	4	170	210	140	300			ne	B (st.p. RT)
2	31	vlevo	6	150	160	120	200	150	200	ne	B (tenká kůže, st.p. RT)
3	48	vpravo	3	300	230	190				TN* 2x po I. et (exstirpace)	C (silné podkoží, bez RT, st.p. SSM)
		vlevo		336	270	190				TN* 1x po I. et (exstirpace)	C (silné podkoží, bez RT, st.p. SSM)
4	61	vlevo	4	150	200	230	225			ne	C (silné podkoží, bez RT, st.p. SSM)
Profylaktická subkutanní nebo kůži šetřící mastektomie a okamžitá rekonstrukce prsu lipomodelací											
5	45	vlevo	3	135	240	212				ne	A (SCM)
6	53	vlevo	3	120	150	175				ne	B (SCM s pexi [McKissock])
7	38	vlevo	1	130						ne	B (SCM s pexi [horní stopka] + DLMF)
8	52	vpravo	1	110						OLP** 1x (punkce)	B (SSM + DLMF)
		vlevo		110						ne	B (SSM + DLMF)
9	39	vpravo	1	170						ne	B (SSM + DLMF)
		vlevo		170						ne	B (SSM + DLMF)
10	54	vpravo	2	140	170					ne	B+ (SSM + DLMF)
TN = tuková nekróza OLP = olejová liponekrotická pseudocysta B- (SCM = subkutanní mastektomie) DLMF = deepithelialized lower mastectomy flap – deelitizovaný kaudální mastektomický lalok											

**Tabulka 6.** Objemy přenášené tukové tkáně v jednotlivých etapách.

Průměrný věk pacientů byl 46,4 let (31-61 let), průměrný počet etap fat graftingu byl při sekundární rekonstrukci prsou 4,6 (3-6), u pacientek po okamžité rekonstrukci prsou 1,8 (1-3). V Tabulce 6 jsou uvedeny objemy přenášeného tuku v jednotlivých etapách a výsledné velikosti prsou. Na Obrázcích 16 a 17 jsou příklady výsledků rekonstrukce prsu.

U jedné pacientky po sekundární rekonstrukci prsu (pacientka č. 3) bylo třeba před 2. etapou lipomodelace exstirpovat ložiska tukové nekrózy (dvě z pravého prsu velikosti 47 x 7 mm a 35 x 8 mm, jedno z levého prsu velikosti 35 x 11 mm). Exstirpace byla pro-

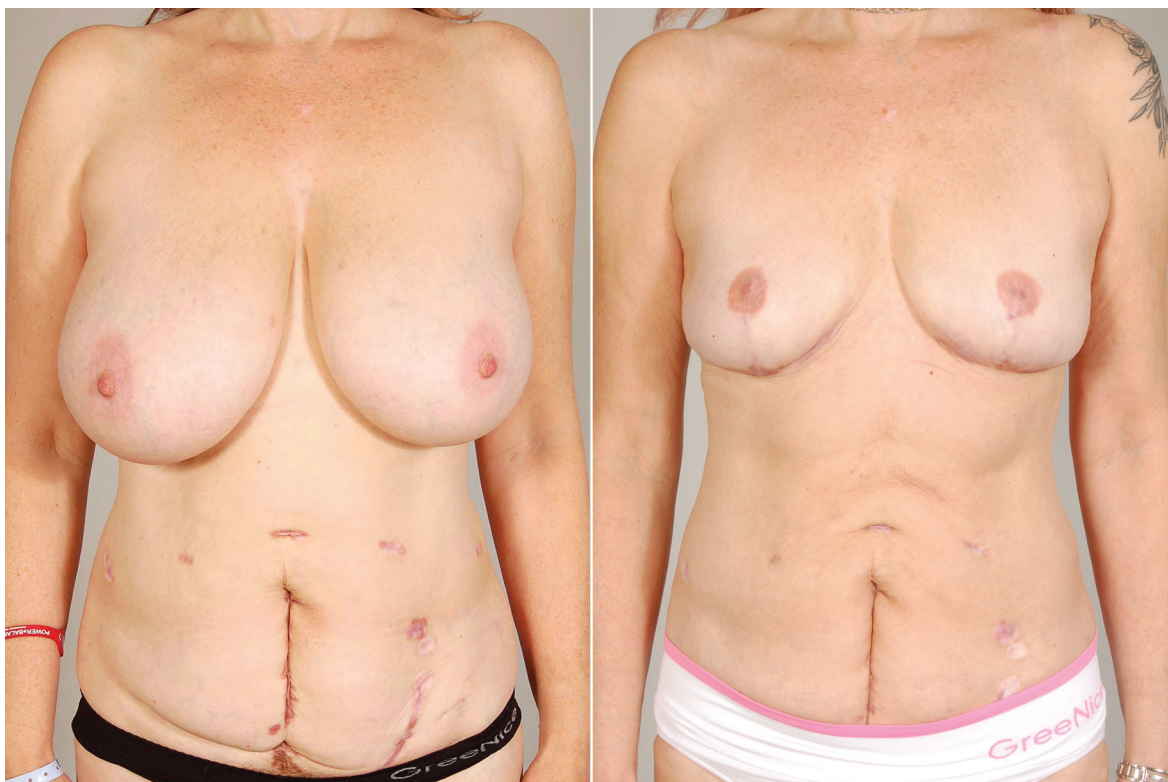
vedena ambulantně v lokální anestézii, bylo provedeno histologické vyšetření, které potvrdilo, že se jedná o tukové nekrózy. U jedné pacientky po okamžité rekonstrukci (pacientka č. 8) bylo sanováno izolované ložisko liponekrotické pseudocysty vel. 2 x 3 cm punkcí. U ostatních pacientek nebyla sonograficky detekována ložiska tukových nekróz, resp. ložiska liponekrotických pseudocyst velikosti nad 15 mm.

Nebyly pozorovány jiné chirurgické komplikace s výjimkou menší nerovnosti na vnitřních stehnech vzniklé po odběru u jedné pacientky.



**Obrázek 16.** Rekonstrukce prsu po mastektomii lipomodelací.

48letá pacientka (č. 3) 2 roky po oboustranné kůži šetřící mastektomii (vpravo byla mastektomie alternativou adjuvantní radioterapie po parciální mastektomii, vlevo profylakticky na přání pacientky). Pacientka odmítla rekonstrukci prsou břišními laloky i rekonstrukci implantáty. Na fotografii vpravo je pacientka 11 měsíců po rekonstrukci bradavky modifikací techniky arrow flap a rekonstrukci dvorce přenosem kožního štěpu v plně tloušťce z vnitřní strany stehen.



**Obrázek 17.** Profylaktická kůži šetřící mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsou lipomodelací a deepitelizovanými kaudálními mastektomickými laloky.

52letá pacientka (č. 8) s mutací v genu BRCA 1 s výraznou hypertrofií prsou indikovaná k profylaktické kůži šetřící mastektomii. Rekonstrukce prsou břišními laloky nebyla proveditelná pro jizvy na břicho po revizi břicha pro krvácení po předchozí adnexektomii. Výsledek 24 měsíců po profylaktické kůži šetřící mastektomii s okamžitou rekonstrukcí prsou lipomodelací a deepitelizovanými kaudálními mastektomickými laloky. Dvorce byly imitovány tetováží, bradavky rekonstruovány nebyly vzhledem k vysokému riziku keloidního hojení. Výsledná velikost prsu B.

## DISKUSE

Rekonstrukce prsu po mastektomii je dnes považována za nedílnou součást komplexní onkologické léčby karcinomu prsu. Napomáhá obnově fyzické a psychické integrity a významně zlepšuje kvalitu života žen.<sup>51</sup> Výběr rekonstrukční techniky je multifaktoriální rozhodnutí. Operační techniku vybíráme zejména podle toho, zda se jedná o jednostrannou nebo oboustrannou rekonstrukci, a podle toho, zda byla pacientka po mastektomii ozařována. Volba operační techniky je značně ovlivněna i požadavkem na velikost rekonstruovaného prsu, kterou plánujeme tak, aby odpovídala postavě. Současně respektujeme

velikost prsu zdravé strany a přání pacientky. Volba rekonstrukční techniky je značně ovlivněna i věkem pacientky a anamnézou. Mezi rizikové faktory patří kromě přidružených onemocnění kouření, hluboká žilní trombóza nebo plicní embolie v anamnéze, a nakonec BMI nad 30.

Výhodou rekonstrukce prsu pomocí silikonových implantátů je menší časová náročnost operace v porovnání s jinými technikami. Pokud není třeba nahrazovat chybějící kůži lalokovou plastikou, tak není spojena s žádnou morbiditou v místě odběrového místa. S použitím implantátu je ale spojené riziko infekčních komplikací, extruze nebo ruptury

implantátu a kapsulární kontraktury, a také recentně popisovaná asociace se vznikem lymfomu (anaplastic large-cell lymphoma - ALCL).<sup>116</sup> Pro tyto komplikace je třeba prsní implantáty často měnit, a to ve vyšším věku pacientky, kdy může být celková anestézie rizikovější.

K rekonstrukci prsou výhradně vlastní tkáni se nejčastěji používají břišní laloky a m. latissimus dorsi. Nevýhodou lalokových plastik je větší rozsah výkonu, resp. morbidita spojená s odběrem laloku. Prsy rekonstruované vlastní tkání mají ale přirozenější konzistenci a zcela odpadá nutnost výměn implantátů.

Nízká invazivita při použití vlastních tkání dělá z lipomodelace atraktivní nástroj pro rekonstrukci prsu. Hlavní nevýhodou je limitovaná kapacita přijmout tuk, a tím související etapovitost této rekonstrukční techniky.

Kůže mastektomických laloků obsahuje v různém množství jizevnatou tkáň, anebo může být i fibrózně změněná po adjuvantní radioterapii. Vaskularita takto změněné kůže je menší. Nižší je tedy i kapacita pro přijetí tukového štěpu. Pokud se kapacita překročí, neúměrně se navyšuje riziko nepřihojení tuku a vzniku tukových nekrot, resp. liponekrotických pseudocyst. Výskyt tukových nekrot u referované pacientky č. 3 si vysvětlujeme právě překročením kapacity tkání přijmout tukový štěp. Proto u pacientek po mastektomii doporučujeme aplikovat v prvních rekonstrukčních etapách menší objemy tuku. Klíčové je také přerušení jizevnatých a fibrotických pruhů v podkoží, které by jinak zamezovaly expanzi kůže a mohly vytvářet vnitřní tlak tkání na tukový štěp, což může být spojeno s vyšší resorpcí tukového štěpu.

S kapacitou přijetí tukového štěpu souvisí otázka, jaké maximální velikosti prsu lze

pomocí přenosu tuku docílit při ještě rozumném počtu rekonstrukčních etap. Na tuto otázku neexistují v dostupné literatuře jasné odpovědi. Dle názoru autora by k sekundární rekonstrukci prsu lipomodelací neměly být indikovány pacientky, u kterých je již před první etapou evidentní, že k dosažení požadovaného objemu prsu nebudou stačit čtyři rekonstrukční etapy. Příkladem, kdy není možné při čtyřech rekonstrukčních etapách garantovat dosažení velikosti B, jsou pacientky s tenkým podkožím mastektomických laloků, zejména pokud mají po adjuvantní radioterapii. Anebo pacientky po selhání jiných rekonstrukčních technik. Naopak vhodnými kandidátkami pro sekundární rekonstrukci mohou být ženy, u kterých byla při mastektomii ponechána kůže v nadbytku (Obrázek 16).

Objem příjmové oblasti před sekundární rekonstrukcí prsu je možné navýšit použitím systému zevní tkáňové expanze BRAVA™, jehož princip a způsob použití byl podrobně popsán v Kapitole 1.6. Podtlak vytváří edém měkkých tkání, stimuluje angiogenezu. Navyšuje se tak kapacita příjmových tkání pro přihojení tukového štěpu.<sup>6,7,36,37</sup> K dosažení požadované velikosti prsou pak může být potřeba menšího počtu operací. Někteří autoři používají systém BRAVA™ i v rámci časného pooperačního období z důvodu snížení vnitřního tlaku na tukový štěp. Ze stejného důvodu se nedoporučuje v pooperačním období používat elastickou bandáž hrudníku. V ČR není systém BRAVA™ hrazen ze zdravotního pojištění. V prezentovaném souboru pacientů proto nebyla BRAVA™ použita.

U okamžité rekonstrukce by dle mého názoru neměly být primárně plánovány více než tři rekonstrukční etapy včetně té, která se provádí společně s mastektomií. U většiny

pacientek tak lze dle našich zkušeností dosáhnout během tří etap velikost B (eventuálně B-) i bez ponechání kaudálně stopkovaného mastektomického laloku. U pacientek s hypertrofickými prsy, u kterých je možné při mastektomii použít deepitelizovaný kaudální mastektomický lalok k částečné rekonstrukci objemu, je velikost B (eventuálně B-) dosažitelná již při první etapě.

U pacientek po profylaktické subkutání nebo kůži šetřící mastektomii s primární rekonstrukcí přenosem tuku jsme nepozorovali poruchy nebo dehiscence ran, ani poruchy prokrvení bradavky v případě subkutánních mastektomií s pexí. To lze vysvětlit tím, že je primárně rekonstruována pouze část objemu (další objem se rekonstruuje v následných etapách). Je tak minimální vnitřní tah na mastektomické laloky, resp. na suturu.

Rekonstrukci prsu lipomodelací je možné indikovat u spolupracujících pacientek, které mají dostatek tukové tkáně v odběrových partiích a které mají současně realistické představy o výsledné velikosti prsu. V těchto případech je dle mého názoru na místě doporučit jinou operační techniku nebo techniku lipomodelace kombinovat s jinou rekonstrukční technikou.

## ZÁVĚRY

Rekonstrukce prsu po mastektomii technikou lipomodelace představuje u dobře indikovaných pacientek plnohodnotnou alternativu k rekonstrukci prsu implantáty nebo lalokovými plastikami. Nespornou výhodou je minimální invazivita.

Vhodnými kandidátkami pro sekundární rekonstrukci prsu jsou pacientky, u kterých byla

při mastektomii ponechána kůže v nadbytku (skin sparing). Vzhledem k relativně vysokému počtu rekonstrukčních etap zatím nadále převládají u většiny pacientek výhody jiných rekonstrukčních technik. K odlišným závěrům lze dojít v budoucnosti při využití zevní tkáňové expanze (BRAVA™).

Přenos tuku se naopak ukazuje jako velmi perspektivní při okamžité rekonstrukci prsu technikou lipomodelace. Metoda může být optimální rekonstrukční technikou pro pacientky s malými prsy. Přenos tuku je i základem unikátního rekonstrukčního postupu, kdy je objem rekonstruovaného prsu tvořen jednak tukem přeneseným do m. pectoralis major, a pak deepitelizovaným kaudálním mastektomickým lalokem. Metoda je tedy vhodná pro pacientky s hypertrofickými prsy. Tato strategie okamžité rekonstrukce prsu může ve vybraných indikacích v budoucnu nahradit jiné rekonstrukční techniky.

Naše závěry je třeba potvrdit na větším počtu operovaných pacientek.



## VĚDECKÉ VÝSLEDKY AUTORA VZTAHUJÍCÍ SE K TOMUTO TÉMATU

- **STREIT, Libor**, R. LHOTSKY, O. MESTAK. Autologous Fat Transfer, Breast Lipomodelling and Fat Transfer to the Face: Current Gold Standards and Emerging New Data. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 97-108. ISSN 0001-5423. Publikace přiložena in extenso.
- DELAY, Emmanuel, **L. STREIT**, G. TOUSSOUN, S. LA MARCA a C. HO QUOC. Lipomodelling: an Important Advance in Breast Surgery. *Acta chirurgiae plasticae*. 2013, 55(2), 34-43. ISSN 0001-5423. Corresponding author. Publikace přiložena in extenso.
- **STREIT, Libor**, Využití přenosu autologní tukové tkáně v plastické a rekonstrukční chirurgii. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita. Brno 2015. Disertační práce.
- **STREIT, Libor**, J. JAROŠ, V. JURTÍKOVÁ, J. POSPÍŠIL, L. DRAŽAN, P. HÝŽA, Z. DVOŘÁK, I. STUPKA, P. NOVÁK, T. VÝŠKA, J. VESELÝ a A. HAMPL. Porovnání technik zpracování tukové tkáně pro fat grafting in vitro. XXXVI. Národní kongres plastické chirurgie s mezinárodní účastí 24.-26.9.2105, Praha. Sborník abstrakt, s. 31. ISBN 978-80-87562-43-7.

# Výhledy do budoucna

V blízké budoucnosti není pravděpodobné, že by se technika vysokoobjemového přenosu tukové tkáně, resp. technika lipomodelace prsu, změnila v základních principech. Prostor pro inovace lze vidět zejména ve zefektivňování procesu odběru a zpracování tukové tkáně pro fat grafting. Pravděpodobně budou tedy častěji používány infiltrační pumpy urychlující napouštění odběrových míst tumescentním roztokem. Chirurgové budou častěji nahrazovat ruční odběr do stříkaček automatizovaným odběrem do sběrných nádob, ve kterých lze lipoaspirát zpracovat bez dalších manipulací a přepouštění. Na základě nových poznatků lze očekávat, že moderní systémy na zpracování tuku budou založeny na principu centrifugace nebo filtrace přes membránu a méně často na principu sedimentace. A že bude minimalizován počet pasáží tuku úzkými průchodkami, např. konektory typu luer lock.

V následujících letech lze v plastické a rekonstrukční chirurgii prsu očekávat spíše pozvolnější nárůst počtu nových indikací pro přenos autologní tukové tkáně v porovnání s rychlým začleňováním techniky do klinické praxe v posledních letech. Velký potenciál mají ovšem dva nové kombinované postupy založené na přenosu tuku. Jedná se o techniku okamžité rekonstrukce prsu založené na přenosu tuku a použití kaudálně stopkovaného deepitelizovaného laloku, která může představovat optimální rekonstrukční alternativu pro pacientky s hypertrofií prsou indikovaných k profylaktické mastektomii. V estetické chirurgii vidím jako perspektivní využití fat graftingu k doplnění objemu při modelaci prsou u žen s povislými atrofickými prsy.

V blízké budoucnosti bude dle názoru autora lipomodelace všeobecně doporučována jako rekonstrukční technika první volby u většiny pacientek s hypoplastickými vrozenými vývojovými vadami prsu a hrudníku. Naopak se bude vzhledem k vysokému počtu rekonstrukčních etap pravděpodobně snižovat počet indikací sekundárních rekonstrukcí prsou založených pouze na přenosu tuku u pacientek po mastektomii bez ponechání kůže v nadbytku.

Četnost prováděných výkonů založených na přenosu autologní tukové tkáně se může dále navyšovat i díky osvětě a vzdělávání plastických chirurgů a také díky zkrácení operačních časů při využití k tomu určených zařízení a dobré organizaci práce operačního týmu.

# Soupis literatury a pramenů

## References

1. Delay E, Garson S, Tousson G, Sinna R. Fat Injection to the Breast: Technique, Results, and Indications Based on 880 Procedures Over 10 Years. *Aesthetic Surgery Journal*. 2009;29(5):360-376.
2. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodeling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2010;34(2):218-225.
3. Ho Quoc C, Delaporte T, Meruta A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Breast asymmetry and pectus excavatum improvement with fat grafting. *Aesthetic Surgery Journal*. 2013;33(6):822-829.
4. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. Lipomodelling: An important advance in breast surgery. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 2013;55(2):34-43.
5. Delay E, Sinna R, Ho Quoc C. Tuberos breast correction by fat grafting. *Aesthetic Surgery Journal*. 2013;33(4):522-528.
6. Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, Biggs TM. Megavolume autologous fat transfer: Part I. Theory and principles. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2014;133(3):550-557.
7. Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, Biggs TM. Megavolume autologous fat transfer: Part II. Practice and techniques. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2014;133(6):1369-1377.
8. Rigotti G, Marchi A, Galiè 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):1409-1422.
9. Roh MR, Jung JY, Chung KY. Autologous fat transplantation for depressed linear scleroderma-induced facial atrophic scars. *Dermatol Surg*. 2008;34(12):1659-1665.
10. Pallua N, Baroncini A, Alharbi Z, Stromps JP. Improvement of facial scar appearance and microcirculation by autologous lipofilling. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2014;67(8):1033-1037.
11. Brongo S, Nicoletti GF, La Padula S, Mele CM, D'Andrea F. Use of lipofilling for the treatment of severe burn outcomes. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2012;130(2):374e-376e.

12. Hunstad JP, Shifrin DA, Kortesis BG. Successful treatment of Parry-Romberg syndrome with autologous fat grafting: 14-year follow-up and review. *Annals of Plastic Surgery*. 2011;67(4):423-425.
13. Coleman SR. Structural fat grafting: More than a permanent filler. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;118(3):1085-1205.
14. Coleman SR. Facial recountouring with lipostructure. *Clinics in Plastic Surgery*. 1997;24(2):347-367.
15. Coleman SR, Mazzola RF. *Fat Injection: from Filling to Regeneration*. St. Louis: Quality Medical Publishing; 2009.
16. Marten TJ, Elyassnia D. Fat Grafting in Facial Rejuvenation. *Clinics in Plastic Surgery*. 2015;42(2):219-252.
17. Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2015;135(4):999-1009.
18. Conde-Green A, Gontijo 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. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2010;63(8):1375-1381.
19. Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, 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):873-880.
20. Agha RA, Fowler AJ, Herlin C, Goodacre TE, Orgill DP. Use of autologous fat grafting for breast reconstruction: a systematic review with meta-analysis of oncological outcomes. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2015;68(2):143-161.
21. Streit L, Dražan L, Novák P, et al. Lipomodelling - advanced technique for the correction of Congenital hypoplastic breast malformations and deformities. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 2016;58(2):70-76.
22. Streit L, Dražan L, Novák P, Schneiderová M, Teplá K, Veselý J. Correction of Congenital Breast and Chest Wall Malformations by Lipomodelling Technique [Korekce vrožených vývojových vad prsu a hrudníku technikou lipomodelace]. *Czech-Slovak Pediatrics*. 2017;72(5):308-313.
23. Czerny, Vincenz. Drei plastische Operationen. III Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein Lipom. In: *Archiv klin Chir*; 1895:7-8.

24. Holländer, Eugene. Über einen Fall von fortschreitenden Schwund des Fettgewebes und seinen kosmetischen Ersatz durch Menschenfett. In:1910:1794–1795.
25. Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts - with postulation of a cell survival theory. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1950;5(3):217-230.
26. Rehn E. Das kutane und subkutane Bindegewebe als plastisches Material. *Münchener Med Wochenschrift*. 1914;(61):118-124.
27. Fára M, Topinka H, Nejedlý A, et al. Social and health aspects of augmentation mammoplasty. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 1986;28(3):129-144.
28. Illouz YG. The fat-cell graft - a new technique to fill depressions. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1986;78(1):122-123.
29. Fournier, PF. Microlipoextraction et microlipo-injection. *Rev Chir Esthet Lang Fr*. 1985;10:36-40.
30. 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):1289-1299.
31. Rubin JP, Coon D, Zuley M, et al. Mammographic changes after fat transfer to the breast compared with changes after breast reduction: A blinded study. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2012;129(5):1029-1038.
32. Delay E, Gosset J, Toussoun G, Delaporte T, Delbaere M. Efficacy of lipomodelling for the management of sequelae of breast cancer conservative treatment. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthétique*. 2008;53(2):153-168.
33. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodelling of Poland's syndrome: A new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2010;34(2):218-225.
34. Coleman SR, Saboeiro AP. Fat grafting to the breast revisited: Safety and efficacy. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2007;119(3):775-785.
35. Coleman SR. Long-Term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plastic Surgery*. 1995;19(5):421-425.
36. Khouri RK, Eisenmann-Klein M, Cardoso 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):1173-1187.

37. Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, et al. Tissue-engineered breast reconstruction with brava-assisted fat grafting: a 7-year, 488-patient, multicenter experience. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2015;135(3):643-658.
38. Van RLR, Bayliss CE, Roncari DAK. Cytological and enzymological characterization of adult human adipocyte precursors in culture. *Journal of Clinical Investigation*. 1976;58(3):699-704.
39. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*. 2001;7(2):211-228.
40. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell*. 2002;13(12):4279-4295.
41. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *Journal of Cellular Physiology*. 2006;208(1):64-76.
42. Yoshimura K, Suga H, Eto H. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regenerative Medicine*. 2009;4(2):265-273.
43. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.
44. Yang X-F, He X, He J, et al. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Biomedical Science*. 2011;18.
45. Mitchell JB, McIntosh K, Zvonic S, et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: Temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells*. 2006;24(2):376-385.
46. Conde-Green A, Baptista LS, Gontijo de Amorim NF, et al. Effects of Centrifugation on Cell Composition and Viability of Aspirated Adipose Tissue Processed for Transplantation. *Aesthetic Surgery Journal*. 2010;30(2):249-255.
47. van Harmelen V, Skurk T, Röhrig K, et al. Effect of BMI and age on adipose tissue cellularity and differentiation capacity in women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27(8):889-895.
48. Hynková L, Šlampa P. *Radiační onkologie – učební texty*. Brno: Masarykův onkologický ústav; 2009.

49. Moore JH, Kolaczynski JW, Morales LM, et al. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesthetic Plastic Surgery*. 1995;19(4):335-339.
50. Keck M, Zeyda M, Gollinger K, et al. Local anesthetics have a major impact on viability of preadipocytes and their differentiation into adipocytes. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2010;126(5):1500-1505.
51. Dražan L, Veselý J, Hýža P, Kubek T, Foretová L, Coufal O. Surgical prevention of breast carcinoma in patients with hereditary risk. *Klinická Onkologie*. 2012;25(SUPPL.):S78-S83.
52. Krumboeck A, Giovanoli P, Plock JA. Fat grafting and stem cell enhanced fat grafting to the breast under oncological aspects-recommendations for patient selection. *Breast*. 2013;22(5):579-584.
53. Delay E, Sinna R, Delaporte T, Flageul G, Tourasse C, Tousson G. Patient information before aesthetic lipomodelling (lipoaugmentation): a French plastic surgeon's perspective. *Aesthetic Surgery Journal*. 2009;29(5):386-395.
54. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat grafting: Basic research and clinical applications. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2013;132(4):1017-1026.
55. Keck M, Kober J, Riedl O, et al. 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 and Aesthetic Surgery*. 2014;67(1):e1-8.
56. 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):1125-1136.
57. Leong DT, Hutmacher DW, Chew FT, Lim TC. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci*. 2005;37(3):169-176.
58. Streit L, Jaros J, Sedlakova V, et al. A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2017;139(3):670e-682e.
59. Rehman J, Traktuev D, Li JL, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*. 2004;109(10):1292-1298.
60. Sinna R, Garson S, Delay E. Three-dimensional imaging [2]. *Annals of Plastic Surgery*. 2005;55(6):696-697.

61. Sinna R, Delay E, Garson S, Delaporte T, Toussoun G. Breast fat grafting (lipomodelling) after extended latissimus dorsi flap breast reconstruction: A preliminary report of 200 consecutive cases. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2010;63(11):1769-1777.
62. Ho Quoc C, Sinna R, Gourari A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Percutaneous fasciotomies and fat grafting: indications for breast surgery. *Aesthetic Surgery Journal*. 2013;33(7):995-1001.
63. Brown FE, Sargent SK, Cohen SR, Morain WD. Mammographic changes following reduction mammoplasty. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1987;80(5):691-698.
64. Delay E, Gosset J, Toussoun G, Delaporte T, Delbaere M. [Efficacy of lipomodelling for the management of sequelae of breast cancer conservative treatment]. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthétique*. 2008;53(2):153-168.
65. Coufal O, Foretová L, Palácová M. Epidemiologie, riziko a prevence karcinomu prsu. In: Oldřich C, Vuk F, eds. *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. Praha: Grada Publishing a.s.; 2011:337-349.
66. Villani F, Caviggioli F, Giannasi S, Klinger M, Klinger F. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS Fat Graft Task Force. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2010;125(2):758-759; author reply 759.
67. Gutowski KA, Force AFGT. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2009;124(1):272-280.
68. Coufal O. Lokálně regionální recidivy. In: Oldřich C, Vuk F, eds. *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. Praha: Grada Publishing a.s.; 2011:277-291.
69. Petit JY, Lohsiriwat V, Clough KB, et al. The oncological outcome and immediate surgical complication of lipofilling in breast cancer patients: A multicenter study, Milan-Paris-Lyon experiences of 646 lipofilling procedures. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2011.
70. Petit JY, Botteri E, Lohsiriwat V, et al. Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2012;23(3):582-588.
71. Petit JY, Rietjens M, Botteri E, et al. Evaluation of fat grafting safety in patients with intraepithelial neoplasia: a matched-cohort study. *Ann Oncol*. 2013;24(6):1479-1484.
72. Bircoll M. Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1987;79(2):267-271.



73. Bircoll M, Novack BH. Autologous fat transplantation employing liposuction techniques. *Annals of Plastic Surgery*. 1987;18(4):327-329.
74. Bircoll M. Autologous fat transplantation to the breast. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1988;82(2):361-362.
75. Lu F, Li J, Gao J, et al. Improvement of the Survival of Human Autologous Fat Transplantation by Using VEGF-Transfected Adipose-Derived Stem Cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2009;124(5):1437-1446.
76. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, et al. Supplementation of Fat Grafts With Adipose-Derived Regenerative Cells Improves Long-Term Graft Retention. *Annals of Plastic Surgery*. 2010;64(2):222-228.
77. Kakudo N, Tanaka Y, Morimoto N, et al. Adipose-derived regenerative cell (ADRC)-enriched fat grafting: optimal cell concentration and effects on grafted fat characteristics. *J Transl Med*. 2013;11:254.
78. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: A quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2004;113(1):391-395.
79. Niechajev I, Sevcuk O. Long-term results of fat transplantation – clinical and histologic studies. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1994;94(3):496-506.
80. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: Optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2008;121(3):1033-1041.
81. Xie Y, Zheng D, Li Q, Chen Y, Lei H, Pu LLQ. The effect of centrifugation on viability of fat grafts: an evaluation with the glucose transport test. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2010;63(3):482-487.
82. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, et al. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2011;35(3):341-348.
83. Hoareau L, Bencharif K, Girard AC, et al. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: A new method to improve graft efficiency. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2013;66(5):712-719.
84. Smith P, Adams WP, Lipschitz AH, et al. Autologous human fat grafting: Effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;117(6):1836-1844.

85. Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*. 2014;1840(8):2506-2519.
86. Brizzi MF, Tarone G, Defilippi P. Extracellular matrix, integrins, and growth factors as tailors of the stem cell niche. *Current Opinion in Cell Biology*. 2012;24(5):645-651.
87. Allen RJ, Jr., Canizares O, Jr., Scharf C, et al. Grading Lipoaspirate: Is There an Optimal Density for Fat Grafting? *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2013;131(1):38-45.
88. Poland A. Deficiency of the pectoral muscle. *Guy's Hosp Rep*. 1841;6:191-193.
89. Fournier-Masse M, Castaing H, Fournet JP, Glicenstein J, Duhamel B. [Poland's syndrome. Report of 20 cases]. *Ann Pediatr (Paris)*. 1976;23(4):285-292.
90. Foucras L, Grolleau JL, Chavoïn JP. [Poland's syndrome and hand's malformations: about a clinic series of 37 patients]. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique*. 2005;50(2):138-145.
91. Městák J, Zadorozná M, Cakrtová M. Breast reconstruction in women with Poland's syndrome. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 1991;33(3):137-144.
92. Rees TD, Aston SJ. The tuberous breast. *Clinics in Plastic Surgery*. 1976;3(2):339-347.
93. Puckett CL, Concannon MJ. Augmenting the narrow-based breast: the unfurling technique to prevent the double-bubble deformity. *Aesthetic Plastic Surgery*. 1990;14(1):15-19.
94. Grolleau JL, Lanfrey E, Lavigne B, Chavoïn JP, Costagliola M. Breast base anomalies: treatment strategy for tuberous breasts, minor deformities, and asymmetry. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1999;104(7):2040-2048.
95. Mitták M, Richter V, Slívová I, Dostalík J, Tulinský L. [Nuss miniinvasive procedure for pectus excavatum in adolescents and adults]. *Rozhl Chir*. 2012;91(2):68-71; discussion 71-62.
96. Nuss D, Kelly RE. Indications and technique of Nuss procedure for pectus excavatum. *Thorac Surg Clin*. 2010;20(4):583-597.
97. Borschel GH, Costantino DA, Cederna PS. Individualized implant-based reconstruction of Poland syndrome breast and soft tissue deformities. *Annals of Plastic Surgery*. 2007;59(5):507-514.
98. Chavoïn JP, Grolleau JL, Moreno B, et al. Correction of Pectus Excavatum by Custom-Made Silicone Implants: Contribution of Computer-Aided Design Reconstruction. A 20-Year Experience and 401 Cases. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016;137(5):860e-871e.

99. Masia J, Pons G, Loschi P, Sanchez Porro-Gil L, Nardulli ML, Olivares L. Autologous reconstruction of a complex form of Poland syndrome using 2 abdominal perforator free flaps. *Annals of Plastic Surgery*. 2015;74(5):580-583.
100. Klit A, Siemssen PA, Gramkow CS. Treatment of congenital unilateral hypoplastic breast anomalies using autologous fat grafting: A study of 11 consecutive patients. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2015;68(8):1106-1111.
101. Derder M, Whitaker IS, Boudana D, et al. The use of lipofilling to treat congenital hypoplastic breast anomalies: preliminary experiences. *Annals of Plastic Surgery*. 2014;73(4):371-377.
102. Coudurier J, Ho Quoc C, Ismail M, Dlimi C, Tourasse C, Delay E. [Long-term outcome of lipomodelling in Poland's syndrome: about our first case with an eleven-years' follow-up]. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthétique*. 2015;60(1):65-69.
103. Tansini I. T. Spora il mio nuova processo di amputazione della mammella. *Riforma Medica*. 1896;(22):757.
104. Olivari N. The latissimus flap. *Br J Plast Surg*. 1976;29(2):126-128.
105. Schneider WJ, Hill HL, Brown RG. Latissimus dorsi myocutaneous flap for breast reconstruction. *Br J Plast Surg*. 1977;30(4):277-281.
106. Barinka L. Latissimus dorsi musculocutaneous flap and its potential uses. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 1984;26(4):216-227.
107. Bostwick J, Vasconez LO, Jurkiewicz MJ. Breast reconstruction after a radical mastectomy. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1978;61(5):682-693.
108. Bostwick J, Nahai F, Wallace JG, Vasconez LO. Sixty latissimus dorsi flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1979;63(1):31-41.
109. Hokin JA. Mastectomy reconstruction without a prosthetic implant. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1983;72(6):810-818.
110. Marshall DR, Anstee EJ, Stapleton MJ. Soft tissue reconstruction of the breast using an extended composite latissimus dorsi myocutaneous flap. *Br J Plast Surg*. 1984;37(3):361-368.
111. Germann G, Steinau HU. Breast reconstruction with the extended latissimus dorsi flap. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1996;97(3):519-526.

112. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Comparin JP. Breast reconstruction with the autologous latissimus dorsi flap. Preliminary report of 60 consecutive reconstructions. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique*. 1997;42(2):118-130.
113. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Rivoire M. Autologous latissimus breast reconstruction: A 3-year clinical experience with 100 patients. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1998;102(5):1461-1478.
114. Delay E, Jorquera F, Pasi P, Gratadour AC. Autologous latissimus breast reconstruction in association with the abdominal advancement flap: A new refinement in breast reconstruction. *Annals of Plastic Surgery*. 1999;42(1):67-75.
115. Santanelli di Pompeo F, Laporta R, Sorotos M, Pagnoni M, Falesiedi F, Longo B. Latissimus dorsi flap for total autologous immediate breast reconstruction without implants. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2014;134(6):871e-879e.
116. Kim B, Predmore ZS, Mattke S, van Busum K, Gidengil CA. Breast Implant-associated Anaplastic Large Cell Lymphoma: Updated Results from a Structured Expert Consultation Process. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2015;3(1):e296.
117. Veselý J, Stupka I, Dražan L, Holusa P, Licata P, Corradini B. DIEP flap breast reconstruction - new experience. *Acta Chirurgiae Plasticae*. 2001;43(1):3-6.
118. Dražan L, Vesely J, Hyza P, et al. Bilateral breast reconstruction with DIEP flaps: 4 years' experience. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery* 2008;61(11):1309-1315.
119. Hyza P, Streit L, Vesely J, Stafova D, Sin P. New Technique of Immediate Nipple Reconstruction During Immediate Autologous DIEP or MS-TRAM Breast Reconstruction. *Annals of Plastic Surgery*. 2014.
120. Guo Z, Mishra P, Macura S. Sampling the intramyocellular triglycerides from skeletal muscle. *J Lipid Res*. 2001;42(7):1041-1048.
121. English C, Thoirs K, Coates A, Ryan A, Bernhardt J. Changes in fat mass in stroke survivors: a systematic review. *Int J Stroke*. 2012;7(6):491-498.
122. Mestak O, Mestak J, Bohac M, Edriss A, Sukop A. Breast Reconstruction after a Bilateral Mastectomy Using the BRAVA Expansion System and Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2013;1(8):e71.

# Seznam zkratek

ASCs	Adipose tissue-derived stem (or stromal) cells
ASPS	American Society of Plastic Surgeons
BI-RADS	Breast Imaging-Reporting and Data System
BMI	Body Mass Index
DAPI	Fluorescenční barvivo 4',6-diamidino-2-phenylindol
DIEP	Deep Inferior Epigastric Perforator
ECM	Extracelulární matrix
IPRAS	International Confederation for Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery
ISPRES	International Society of Plastic & Regenerative Surgeons
ISCT	International Society for Cellular Therapy
MS – TRAM	Muscle-Sparing Transverse Rectus Abdominis Myocutaneous
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie / Scanning Electron Microcopy
SoFCPRE	Société Française de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique
SVF	Stromal Vascular Fraction

# Seznam obrázků

<b>Obrázek 1.</b>	Odběrové kanyly a stříkačky. ....	7
<b>Obrázek 2.</b>	Centrifugace lipoaspirátu. ....	9
<b>Obrázek 3.</b>	Ruční centrifugace v infuzních setech. ....	9
<b>Obrázek 4.</b>	Promývání a filtrace lipoaspirátu přes membránu v systému PureGraft™. ....	10
<b>Obrázek 5.</b>	Aplikace tukové tkáně do imaginární trojrozměrné sítě mikrotunelů, postupujeme od hlubokých vrstev k povrchovým. ....	11
<b>Obrázek 6.</b>	Tuková nekróza, resp. olejová (liponekrotická) pseudocysta v ultrasonografickém obraze. ...	14
<b>Obrázek 7.</b>	Vrstvy a frakce centrifugovaného tuku. ....	18
<b>Obrázek 8.</b>	Skenovací elektronová mikroskopie vzorků tukové tkáně. ....	22
<b>Obrázek 9.</b>	Zobrazení živých a mrtvých buněk na konfokálním fluorescenčním mikroskopu. ....	23
<b>Obrázek 10.</b>	Rekonstrukce prsu 14leté pacientky s Polandovým syndromem vlevo. ....	35
<b>Obrázek 11.</b>	Korekce tuberózního prsu u 19leté pacientky. ....	36
<b>Obrázek 12.</b>	Korekce asymetrie hrudníku u pacienta s agenezí m. pectoralis vpravo. ....	37
<b>Obrázek 13.</b>	Uložení kožního ostrova laloku do lemu podprsenky při předoperačním plánování a výsledná jizva na zádech po odběru laloku. ....	42
<b>Obrázek 14.</b>	Rekonstrukce prsu lalokem latissimus dorsi a lipomodelací. ....	44
<b>Obrázek 15.</b>	M. pectoralis major po aplikaci tuku získává nápadně vypoulený tvar – „autoprotéza“. ....	50
<b>Obrázek 16.</b>	Rekonstrukce prsu po mastektomii lipomodelací. ....	52
<b>Obrázek 17.</b>	Profylaktická kůži šetřící mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsou lipomodelací a deepitelizovanými kaudálními mastektomickými laloky. ....	53
<b>Obrázek 18.</b>	Funkční vzorky 4. a 5. generace zdravotnického prostředku. ....	58
<b>Obrázek 19.</b>	Funkční vzorek 4. vývojové řady zdravotnického prostředku. ....	59
<b>Obrázek 20.</b>	Funkční vzorek 5. vývojové řady zdravotnického prostředku. ....	60

# Seznam tabulek

<b>Tabulka 1.</b>	Definice ASCs na základě povrchových CD markerů podle jednotlivých autorů.....	4
<b>Tabulka 2.</b>	Soubor pacientů a objemy zpracované tukové tkáně vyjádřené v procentech k objemu vzorku lipoaspirátu před jeho zpracováním (50 ml). Rozdíly zjištěné pomocí Wilcoxonových testů mezi jednotlivými skupinami byly vždy signifikantní. ....	20
<b>Tabulka 3.</b>	Výsledky Wilcoxonových testů znázorňující rozdíly v koncentraci ASCs mezi jednotlivými skupinami. Statisticky signifikantní rozdíly jsou zvýrazněny tučně, ostatní rozdíly nebyly signifikantní.....	25
<b>Tabulka 4.</b>	Objemy přenášené tukové tkáně v jednotlivých etapách.....	33
<b>Tabulka 5.</b>	Soubor pacientů a objemy přenášeného tuku v jednotlivých etapách. ....	43
<b>Tabulka 6.</b>	Objemy přenášené tukové tkáně v jednotlivých etapách.....	51

# Seznam grafů

- Graf 1.** Objemové procento zpracované tukové vztažené k objemu lipoaspirátu před zpracováním znázorněné pomocí B-W diagramu. Patrný je medián, minimální a maximální hodnoty vypovídající o rozptylu a také 25 % a 75 % kvantily. .... 21
- Graf 2.** Koncentrace kmenových buněk v 1 ml zpracované tukové tkáni znázorněná pomocí B-W diagramu. Patrný je medián, minimální a maximální hodnoty vypovídající o rozptylu a také 25 % a 75 % kvantily..... 24



## Přílohy – nejvýznamnější práce vztahující se k tématu in extenso

- **STREIT, Libor**, J. JAROS, V. SEDLAKOVA, M. SEDLACKOVA, L. DRAZAN, M. SVOBODA, J. POSPÍŠIL, T. VYSKA, J. VESELÝ a A. HAMPL. A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2017, 139(3):670e-682e. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003124. IF 3.784.
- **STREIT, Libor**, L. DRAZAN, M. SCHNEIDEROVA, T. KUBEK, P. SIN, K. VESELY, O. COUFAL a J. VESELÝ. Intraoperative Fat Grafting into the Pectoralis and Latissimus Dorsi Muscles – Novel Modification of Autologous Breast Reconstruction with Extended Latissimus Dorsi Flap. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 72-81. ISSN 0001-5423.
- **STREIT, Libor**, L. DRAŽAN, P. NOVÁK, M. SCHNEIDEROVÁ, Z. DVORAK, K. TEPLÁ a J. VESELÝ. Lipomodelling – advanced technique for the correction of Congenital hypoplastic breast malformations and deformities. *Acta chirurgiae plasticae*. 2016, 58(2), 70-76. ISSN 0001-5423.
- DELAY, Emmanuel, **L. STREIT**, G. TOUSSOUN, S. LA MARCA a C. HO QUOC. Lipomodelling: an Important Advance in Breast Surgery. *Acta chirurgiae plasticae*. 2013, 55(2), 34-43. ISSN 0001-5423. Corresponding author.
- **STREIT, Libor**, R. LHOTSKÝ, O. MESTAK. Autologous Fat Transfer, Breast Lipomodelling and Fat Transfer to the Face: Current Gold Standards and Emerging New Data. *Acta chirurgiae plasticae*. 2017, 59(2), 97-108. ISSN 0001-5423.

# A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting

Libor Streit, M.D., Ph.D.  
 Josef Jaros, Ph.D.  
 Veronika Sedlakova, M.D.  
 Miroslava Sedlackova, M.D.,  
 Ph.D.  
 Lubos Drazan, M.D., Ph.D.  
 Michal Svoboda, B.Sc.  
 Jakub Pospisil, M.Sc.  
 Tomas Vyska, M.D.  
 Jiri Vesely, M.D., Ph.D.  
 Ales Hampl, D.V.M., Ph.D.

Brno, Czech Republic



**Background:** Lipomodeling is a technique that uses the patient's own fat for tissue regeneration and augmentation. The extent of regenerative effect is reported to be determined by the numbers of adipose-derived stem cells and the viability of cells in processed adipose tissue which, together with other factors, influence the degree of graft retention. This study addresses whether differences exist in properties of fat graft obtained by three commonly used techniques.

**Methods:** Adipose tissue harvested from the hypogastric regions of 14 patients was processed by decantation, centrifugation, and membrane-based tissue filtration. The morphology of each preparation was assessed by electron microscopy and overall cell viability was assessed by live/dead assay. The number of adipose-derived stem cells was determined and their stem cell character was assessed by the presence of cell surface molecules (i.e., CD105, CD90, CD31, and CD45) and by their capacity to differentiate into adipogenic and osteogenic lineages.

**Results:** First, morphologies of processed fat samples obtained by individual procedures differed, but no preparation caused obvious damage to cellular or acellular components. Second, although the highest numbers of adipose-derived stem cells were contained in the upper fraction of centrifuged lipoaspirates, the difference between preparations was marginal. Third, the maximal concentration of adipose fraction (removal of watery component) of lipoaspirate was achieved by membrane-based tissue filtration. Finally, no significant differences in overall viability were detected.

**Conclusions:** Properties of processed lipoaspirate were influenced by the preparation procedure. However, the differences were not dramatic; both centrifugation and membrane-based filtration are methods of choice whose selection depends on other criteria (e.g., practicality) for individual surgical settings. (*Plast. Reconstr. Surg.* 139: 670e, 2017.)

The advent and refinement of liposuction and lipoinjection techniques have made autologous adipose tissue an attractive material for use as a soft-tissue filler.<sup>1-4</sup> The technique of

adipose tissue injection was systematically developed by Coleman,<sup>5-7</sup> and the first report confirming the regenerative effects of fat injection on the consequences of radiotherapy was published by

*From the Department of Plastic and Aesthetic Surgery and the International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno; and the Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, and the Institute of Biostatistics and Analysis, Masaryk University.*

*Received for publication January 5, 2016; accepted June 21, 2016.*

*Drs. Streit and Jaros are co-first authors.*

*Presented at XXXVI National Congress of Plastic Surgery, in Prague, Czech Republic, September 24 through 26, 2015; the Fourth Annual Research Council Meeting of the European Association of Plastic Surgeons, in Edinburgh, United Kingdom, May 27 through 28, 2015; the 12th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, in Vancouver, British Columbia, Canada, June 18 through 21, 2014; and the 11th Congress and Consensus Conference of the International Committee for Quality Assurance and Medical Technologies and Devices in*

*Plastic Surgery, in Budapest, Hungary, April 10 through 13, 2014.*

*Copyright © 2016 by the American Society of Plastic Surgeons*

*DOI: 10.1097/PRS.00000000000003124*

**Disclosure:** *The authors have no financial interest to declare in relation to the content of this article.*

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the text; simply type the URL address into any Web browser to access this content. Clickable links to the material are provided in the HTML text of this article on the *Journal's* website ([www.PRSJournal.com](http://www.PRSJournal.com)).

Rigotti et al.<sup>8</sup> These studies launched a boom of fat-grafting experimental and clinical studies. The most frequently used techniques for lipoaspirate processing in clinical practice are decantation, centrifugation, and filtering through a simple membrane (mesh) eventually combined with washing.

Although the volume of adipose tissue depends mainly on the presence of mature adipocytes, it contains other, less prominent cell types. Van et al. isolated fibroblast-like cells with adipogenic properties from enzymatically digested adipose tissue.<sup>9</sup> Zuk et al. demonstrated that human lipoaspirate contains mesenchymal stem cells that possess the capacity to differentiate into multiple cell lineages of mesodermal or ectodermal origin.<sup>10,11</sup> In this study, we refer to these multipotent cells as adipose tissue-derived stem cells. Differentiation of adipose-derived stem cells into adipocytes, chondrocytes, osteocytes, myocytes, angioblasts, hepatocytes, neurons, and glial cells has been achieved.<sup>12–22</sup> Although adipose-derived stem cells require particular attention, only a handful of studies address adipose-derived stem cells in the context of adipose tissue processing.<sup>23–27</sup>

Cell viability and adipose-derived stem cell content in processed adipose tissue are thought to influence the degree of long-term graft retention. Importantly, the unresolved question of how the processing of adipose tissue affects lipomodelling outcomes has interfered with consensus among

plastic surgeons on lipoaspirate processing. The goal of this study was to compare the effects of the most commonly used techniques for lipoaspirate processing comprehensively in vitro.

### PATIENTS AND METHODS

An experimental study was conducted in 14 healthy patients (Table 1) undergoing liposuction abdominoplasty between January of 2012 and July of 2014. The study was approved by the ethics committee according to an institutional protocol of St. Anne’s University Hospital in Brno, Czech Republic.

Low-volume tumescent abdominal liposuction was performed (500 ml of normal saline with 1:500,000 epinephrine) under general anesthesia. A total of 150 ml of adipose tissue was aspirated using a 3.5-mm-diameter cannula (PLA187; Pouret Medical, Clichy, France) and a 30-ml Luer-lock syringe. The lipoaspirate was transported immediately to the laboratory in a portable incubator at 37°C.

The lipoaspirate was stirred together and then divided into three aliquots of 50 ml that were processed by different procedures: decantation, centrifugation, and membrane-based tissue filtration. For decantation, one aliquot was left at 37°C for 20 minutes under the action of gravity. Centrifugation was achieved by spinning lipoaspirate at 1200 g for 3 minutes. Membrane-based tissue

**Table 1. Characteristics of Donor Patients and Percentages of Processed Adipose Tissue Volumes Related to the Initial Volume (50 ml) of Lipoaspirate Sample (Volume Percentage)\***

Measurement	Sex	Age (yr)	Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	Percentage of the Processed Fat Volume to the Initial Volume of Lipoaspirate Sample					
				Decanted Fat	Membrane-Processed Fat	Centrifuged Fat	Fractions of Centrifuged Fat		
							Low-Density Fraction	High-Density Fraction	Pellet
I	F	47	23.4	—	—	60	30	30	2.5
II	F	60	25.7	70	44	55	35	20	2.0
III	F	60	29.4	70	30	52	30	22	2.0
IV	F	54	28.4	83	67	63	36	26	2.0
V	F	30	29.4	60	60	50	30	20	3.0
VI	F	49	27.1	48	24	38	24	14	1.0
VII	F	18	25.4	60	30	62	35	27	4.0
VIII	F	19	24.2	70	48	60	38	21	2.0
IX	F	49	27.6	65	46	50	33	17	2.0
X	F	42	30.5	90	60	62	40	22	2.0
XI	F	34	39.7	58	40	52	32	20	1.6
XII	F	37	26.6	74	44	56	32	24	1.6
XIII	F	37	33.9	80	60	68	44	24	1.6
XIV	M	51	43.2	90	50	60	40	20	4.2
Median		44.5	28.0	70.0	45.8	57.8	34.2	21.6	2.0
Range		18–60	23.4–43.2	48–90	24–67	38–68	24–44	14–30	1.0–4.2

F, female; M, male.

\*Statistical analysis (Friedman, Wilcoxon) revealed significant differences in volume percentages of all examined fractions ( $p < 0.01$ ). Friedman’s analysis of variance,  $p < 0.01$ ;  $p$  values of Wilcoxon paired test,  $p < 0.01$  between all groups.

filtration was applied to the third aliquot using a commercial double-layer membrane (PureGraft; Cytori Therapeutics, Inc., San Diego, Calif.). The lipoaspirate was rinsed twice with 30 ml of phosphate-buffered saline (0.1 M, pH 7.4) for 3 and 7 minutes.

Both decantation and centrifugation distributed lipoaspirate into three clearly distinguished layers: (1) the superior oily layer; (2) the middle adipose layer; and (3) the inferior aqueous layer, consisting mainly of tumescent solution. Centrifugation also produced a pellet at the bottom of each tube (Fig. 1). From these fractions, only the adipose layers and the pellets were further analyzed. In decanted aliquots, the whole adipose layer was taken (decanted fat). In centrifuged aliquots, besides the pellet, the adipose layer was further divided into the top two-thirds (low-density fraction) and the bottom one-third (high-density fraction). Although low- and high-density fractions were always analyzed separately, for some parameters, the data from both fractions were combined and referred to as the centrifuged fat to provide information on the whole adipose fraction. Membrane-based tissue filtration produced only one fraction (adipose) because all liquid contents of the lipoaspirate were filtered out. This fraction was analyzed as a whole (membrane-processed fat).

### Viability of Cells

A 0.2-ml sample of fraction was stained with live/dead fluorescent solution for 5 minutes at

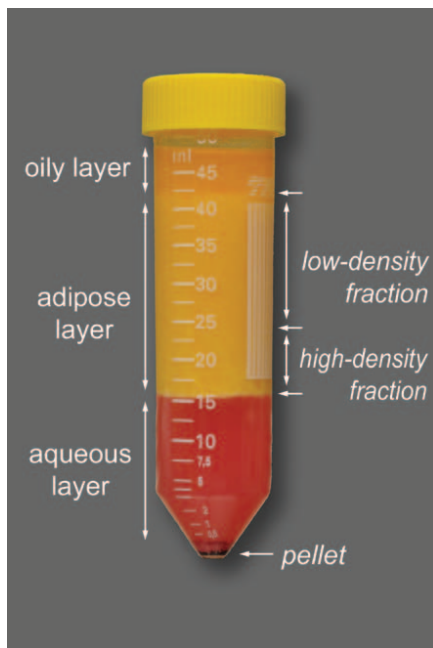


Fig. 1. Layers and fractions of centrifuged sample.

22°C. Fluorescent stock solution (1000×) contained 0.03% acridine orange (A6014; Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo.) and 0.1% of ethidium bromide (46065; Sigma-Aldrich) in 2% ethanol. Live/dead cells were visualized using a confocal laser-scanning microscope (Olympus Fluoview 500; Olympus C&S Ltd., Prague, Czech Republic).

After inspection of the whole sample, z-stacks (10 sections with 15-μm distance along z-column, 10× objective, image size 1280 × 1280 μm) were acquired in five to 10 randomly selected positions, and maximum intensity z-projection imaging was performed for each stack using ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, Md.). Three representative images were then chosen and the numbers of red (dead) and green (live) cells were counted using Cell Counter plugin in ImageJ software. The number of live/dead cells was averaged for each sample, and the viability was calculated as the percentage ratio:

$$Viability = \frac{live}{live + dead} \times 100$$

### Scanning Electron Microscopy

A portion of native adipose tissue sharply dissected with scissors from the skin excess (0.5 × 0.5 cm), unprocessed lipoaspirate (before its stirring and processing), and a 0.2-ml sample of the fraction samples produced by the individual separation techniques were fixed in 3% glutaraldehyde (Polysciences, Inc., Warminster, Pa.) in 0.2 M cacodylate buffer (SPI Supplies/Structure Probe, Inc., West Chester, Pa.). Subsequently, the samples were fixed with 1% osmium tetroxide (Degussa, Hanau, Germany), washed three times in 0.2 M cacodylate buffer, and dehydrated in ascending grades of ethanol. Samples were coated with gold and examined using a scanning electron microscope (MIRA3; Tescan Orsay Holding, Kohoutovice, Czech Republic).

### Isolation, Counting, and Culture of Cells in the Stromal Vascular Fraction

The examined adipose fractions were digested for 30 minutes at 37°C with 0.1% collagenase type IV (17104-019; Gibco, Life Technologies, Prague, Czech Republic) dissolved in basal media (Dulbecco's Modified Eagle Medium-F12, 11320-033; Gibco). Enzyme activity was neutralized by adding an equal volume of Dulbecco's Modified Eagle Medium-F12 media containing 10% fetal bovine serum (SV30180.03; Thermo Fisher Scientific, Inc.,

Paisley, United Kingdom) and incubating the mixture for 30 minutes at 37°C. The sample was then centrifuged for 10 minutes at 600 *g*. The pellet was resuspended in 10 ml phosphate-buffered saline and centrifuged for 2 minutes at 600 *g*. This washing step was repeated once. Subsequently, erythrocytes were lysed for 30 minutes in erythrocyte lysis buffer (155 mM ammonium chloride, 10 mM potassium bicarbonate; Ing. Petr Svec-PENTA, Prague, Czech Republic) containing 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (E5134; Sigma-Aldrich). After a final centrifugation for 4 minutes at 200 *g*, the stromal vascular fraction pellet was resuspended in 5 ml of Dulbecco's Modified Eagle Medium culture medium containing Glutamax I (32430-027; Gibco) supplemented with 10% fetal bovine serum and 1% penicillin/streptomycin (P11-010; PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria), further referred to as "complete culture medium." The number of cells in the stromal vascular fraction was determined using a hemocytometer and expressed as the number of cells per milliliter of examined fraction.

For further culture, stromal vascular fraction cells were seeded in complete culture medium on gelatin-coated, 24-well plates at  $1.5 \times 10^5$  cells per well for a density of 84,746 cells/cm<sup>2</sup>. Cells were cultured at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% carbon dioxide for 24 hours. Adherent cells were either further cultured or fixed in 4% paraformaldehyde (P6148; Sigma-Aldrich) for cell counting and immunofluorescence analysis.

Cell nuclei were stained with 1 µg/ml 4',6-diamidino-2-phenylindole (32670; Sigma-Aldrich) and images were automatically acquired in five positions using an Olympus IX71 Cell R imaging station with a 10× objective (Olympus C&S Ltd.). First, center field was manually focused in the center of each well. Automatic scanning and positioning of next four fields at a distance of 1 mm from center field in positive and negative directions of the *x* and *y* axes was performed with a motorized XY stage. The average number of adherent cells (adipose-derived stem cells) per square centimeter was determined from these five positions by the Cell Counter plugin in ImageJ software.

The percentage of adherent adipose-derived stem cells in the corresponding stromal vascular fraction was then calculated using the initial seeding density as the 100 percent value. Finally, this percentage was used to calculate the absolute

number of adipose-derived stem cells in 1 ml of processed adipose fraction.

### Direct Immunofluorescence

To determine the expression of cell surface molecules by immunofluorescence, formaldehyde-fixed cells were exposed to relevant fluorochrome-labeled antibodies. Cell surface molecules of interest were CD31, CD45, CD90, and CD105; all antibodies were purchased from BD Biosciences (San Jose, Calif.) (catalogue numbers 555444, 555480, 555593, and 611314). Samples were observed using an Olympus IX71 Cell R imaging station.

### Differentiation of Cultured Adipose-Derived Stem Cells

Adipose-derived stem cells were seeded in complete culture medium at a density of  $100 \times 10^3$  cells per well on gelatin-coated glass coverslips placed in a 24-well plate. The cells were exposed to either adipogenic or osteogenic medium and maintained in these differentiation media for 2 weeks. To evaluate resulting phenotypes, the cells were fixed in 4% paraformaldehyde and subsequently stained with histologic stains. For the adipogenic lineage, cells were stained using Oil Red O (O0625; Sigma-Aldrich), and counterstained with Mayer hematoxylin (4302; Merck, Kenilworth, N.J.). For the osteogenic lineage, cells were stained with Alizarin Red (A5533; Sigma-Aldrich). Slides were observed using an Olympus IX71 Cell R imaging station.

### Statistical Analysis

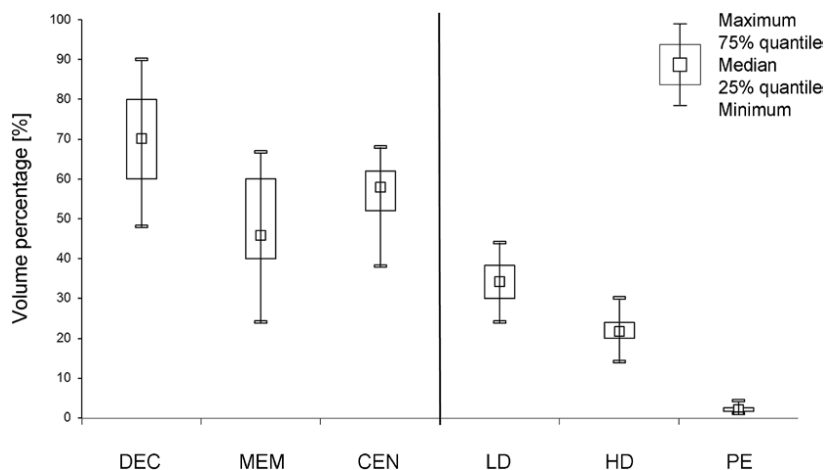
Results were described by median and range. Statistically significant differences between all groups were tested by Friedman analysis of variance. Consequently, Wilcoxon paired tests were used to reveal statistically significant differences between individual fractions. Statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

## RESULTS

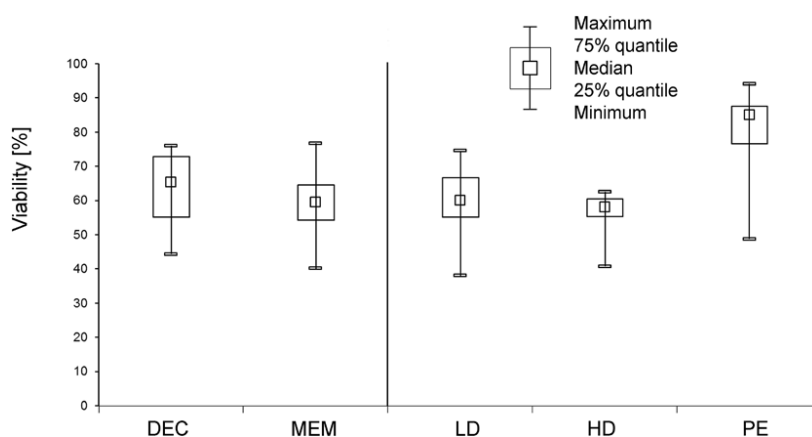
Each procedure produced adipose fractions that represented a certain volume percentage of the primary lipoaspirate. These percentages were significantly different (Fig. 2 and Table 1).

### Viability of Cells in Processed Adipose Tissue

Statistical analysis did not reveal any significant differences in viability of the cells between decanted fat, membrane-processed fat, and



**Fig. 2.** Volume percentages for individual types of fat fractions. *DEC*, decanted fat (70 percent); *MEM*, membrane-processed fat (49 percent); *CEN*, centrifuged fat (58 percent); *LD*, low-density fraction of centrifuged fat (34 percent); *HD*, high-density fraction of centrifuged fat (22 percent); *PE*, pellet of centrifuged fat (2 percent). Wilcoxon paired tests revealed significant difference between all fractions.



**Fig. 3.** Cell viability in each type of fraction. *DEC*, decanted fat (66 percent); *MEM*, membrane-processed fat (60 percent); *LD*, low-density fraction of centrifuged fat (60 percent); *HD*, high-density fraction of centrifuged fat (58 percent); *PE*, pellet of centrifuged fat (85 percent). Only viability of the cells in the pellet was significantly higher than in the other fractions. The viability of cells in decanted fat, membrane-processed fat, high-density fraction of centrifuged fat, and low-density fraction of centrifuged fat was statistically indistinguishable. The viability of the cells only in the pellet of centrifuged fat was significantly higher than in the other fractions.

high- and low-density fractions. The only exception was a significantly higher viability in the pellet (Fig. 3). [See Figure, Supplemental Digital Content 1, which shows cells stained by live/dead assay reagent as visualized by confocal laser scanning microscopy (dead cells stained red by ethidium bromide; live cells stained green by acridine orange). Photographs representative of all fractions are shown. *DEC*, decanted fat; *MEM*, membrane-processed fat; *LD*, low-density fraction

of centrifuged fat; *HD*, high-density fraction of centrifuged fat; *PE*, pellet of centrifuged fat. Scale bar = 200  $\mu$ m, applicable to all panels, <http://links.lww.com/PRS/C60>.]

### Microstructure of Processed Adipose Tissue

Both reference samples (native adipose tissue and unprocessed lipoaspirate) had clearly distinguishable amorphous and fibrillar components of the extracellular matrix, preserved morphology

of adipocytes, and a portion of cellular debris and lipid droplets. Native adipose tissue retained its compact structure of tightly connected adipocytes with almost no oil droplets on the surface. The unprocessed lipoaspirate contained a much higher number of disrupted adipocytes, as indicated by fragments of cell membranes (cellular debris) and lipid droplets.

Decanted fat appeared very similar to unprocessed lipoaspirate, with recognizable amorphous and fibrillar components of the extracellular matrix. The amorphous component of the extracellular matrix was visible as a mucous-like layer covering the cell surface. The presence of oil droplets and cellular debris in decanted fat was reminiscent of lipoaspirate.

In contrast, centrifugation and membrane-based filtration introduced further changes to the primary lipoaspirate. Low-density fraction, high-density fraction, and membrane-processed fat all showed significantly reduced amounts of cellular debris. Low- and high-density fractions were both noteworthy for their complete absence of the amorphous component of extracellular matrix and some reduction of its fibrillar component. Notably, oil droplets were more frequent in the low-density fraction compared with the high-density fraction. Membrane-processed fat was almost completely devoid of amorphous and fibrillar components of the extracellular matrix and oil droplets. Typical findings in the pellet were high fibrillar extracellular matrix content and the presence of erythrocytes. [See Figure, Supplemental Digital Content 2,

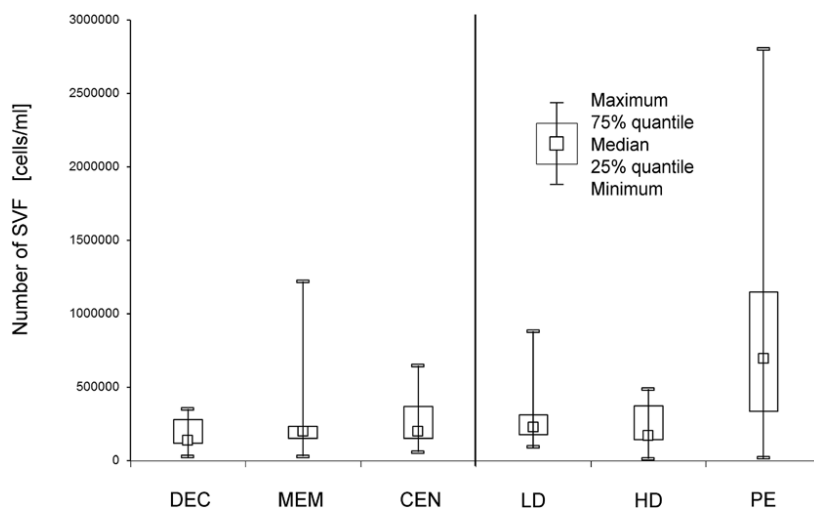
which shows the microstructure of adipose tissue as determined by scanning electron microscopy. *AT*, native adipose tissue sample (dissected sharply with scissors); *LA*, unprocessed lipoaspirate; *DEC*, decanted fat; *MEM*, membrane-processed fat; *LD*, low-density fraction of centrifuged fat; *HD*, high-density fraction of centrifuged fat; *PE*, pellet of centrifuged fat; *DEBRIS*, cell debris (as a result of disrupted membranes); *OIL*, oil droplets; *ADIPO + AC*, well-preserved adipocytes retaining the amorphous component of the extracellular matrix; *ADIPO*, well-preserved adipocytes without the amorphous component of the extracellular matrix; *FC*, fibrillar component of the extracellular matrix; *ERY*, erythrocytes. Scale bar = 1 mm (*center*) and 100  $\mu$ m (*below*), <http://links.lww.com/PRS/C61>.]

### Numbers of Stromal Vascular Fraction Cells

Statistical analysis did not reveal any significant differences among decanted fat, membrane-processed fat, high- and low-density fractions, and centrifuged fat, with the numbers of stromal vascular fraction cells ranging from  $1.4 \times 10^5$  to  $2.3 \times 10^5$  cells/ml (Fig. 4 and Table 2). The only exception was a significantly higher number of cells in the pellet (Fig. 2).

### Adipose-Derived Stem Cells: Numbers, Molecular Phenotype, and Differentiation Capacity

We first expressed the numbers of adipose-derived stem cells as a percentage of the stromal vascular fraction cells from which they were isolated (Fig. 5). Wilcoxon paired test revealed that



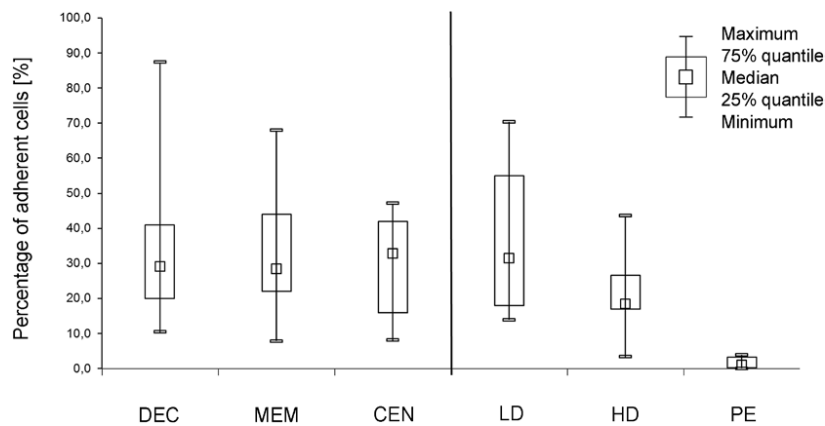
**Fig. 4.** Numbers of stromal vascular fraction (SVF) cells per milliliter of each processed fat fraction. *DEC*, decanted fat ( $137 \times 10^3$  cells/ml); *MEM*, membrane-processed fat ( $198 \times 10^3$  cells/ml); *CEN*, centrifuged fat ( $198 \times 10^3$  cells/ml); *LD*, low-density fraction ( $228 \times 10^3$  cells/ml); *HD*, high-density fraction ( $168 \times 10^3$  cells/ml); *PE*, pellet ( $695 \times 10^3$  cells/ml).

**Table 2. Statistical Evaluation of Significant Differences between Individual Fractions\***

	<i>p</i> Values of Wilcoxon Paired Tests					
	Decanted Fat	Membrane-Processed Fat	Centrifuged Fat	Fractions of Centrifuged Fat		
				Low-Density Fraction	High-Density Fraction	Pellet
Decanted fat	—	0.196	0.116	0.055	0.158	0.005†
Membrane-processed fat	0.196	—	0.753	0.422	0.433	0.013†
Centrifuged fat	0.116	0.753	—	0.064	0.116	0.004†
Fractions of centrifuged fat						
Low-density fraction	0.055	0.422	0.064	—	0.116	0.004†
High-density fraction	0.158	0.433	0.116	0.116	—	0.007†
Pellet	0.005†	0.013†	0.004†	0.004†	0.007†	—

\*Numbers of stromal vascular fraction cells were compared.

†Statistically significant difference (*p* < 0.05).



**Fig. 5.** Percentage of adherent adipose tissue-derived stem cells (ASCs) in stromal vascular fraction (SVF) cells isolated from each processed fat fraction. DEC, decanted fat (29 percent); MEM, membrane-processed fat (28 percent); CEN, centrifuged fat (33 percent); LD, low-density fraction (32 percent); HD, high-density fraction (18 percent); PE, pellet (1 percent).

(1) the percentage of adipose-derived stem cells in the pellet was significantly lower compared with all other types of fractions, and (2) percentages of adipose-derived stem cells in the low-density fraction and in decanted fat were significantly higher than in the high-density fraction (Table 3).

To obtain the concentration of adipose-derived stem cells, we next calculated the numbers of adipose-derived stem cells in 1 ml of each fraction. When the numbers of adipose-derived stem cells were evaluated by the Wilcoxon paired test, the following differences were found: (1) the numbers of adipose-derived stem cells in the pellet were lower compared with all other types of fractions, and (2) numbers of adipose-derived stem cells in the low-density fraction were significantly higher than in centrifuged fat and in the high-density fraction (Fig. 6 and Table 4).

All adherent cells, irrespective of which fraction they originated from, were positive

for CD90 and CD105 and negative for CD31 and CD45 antigens, further confirming their adipose-derived stem cell nature (see Figure, Supplemental Digital Content 3, which shows the expression of CD105, CD90, CD45, and CD31 antigens on adipose-derived stem cells as revealed by immunofluorescence microscopy. Antigen, green; cell nuclei, blue. Scale bar = 100 μm, <http://links.lww.com/PRS/C62>), and produced descendants with adipocyte and osteocyte phenotypes [see Figure, Supplemental Digital Content 4, which shows multilineage capabilities of adipose tissue-derived stem cells: (left) undifferentiated adipose-derived stem cells, (center) adipose-derived stem cells differentiating for 2 weeks toward adipogenic and (right) osteogenic lineages as revealed by histochemical visualization of lipid droplets and calcium phosphate deposits, respectively. The cell nuclei are counterstained with Mayer hematoxylin. Scale bar = 50 μm, <http://links.lww.com/PRS/C63>].

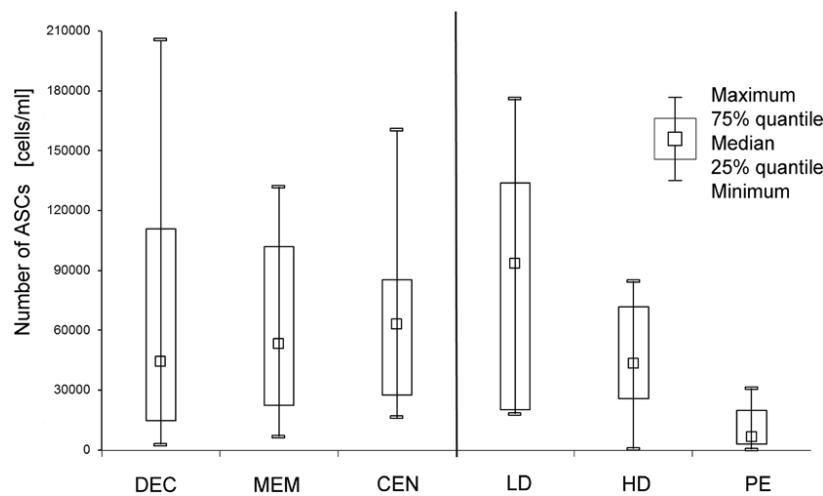


**Table 3. Statistical Evaluation of Significant Differences between Individual Fractions\***

	<i>p</i> Values of Wilcoxon Paired Tests					
	Decanted Fat	Membrane-Processed Fat	Centrifuged Fat	Fractions of Centrifuged Fat		
				Low-Density Fraction	High-Density Fraction	Pellet
Decanted fat	—	0.799	0.192	0.575	0.013†	0.008†
Membrane-processed fat	0.799	—	0.110	0.721	0.059	0.008†
Centrifuged fat	0.192	0.110	—	0.051	0.173	0.008†
Fractions of centrifuged fat						
Low-density fraction	0.575	0.721	0.051	—	0.022†	0.008†
High-density fraction	0.013†	0.059	0.173	0.022†	—	0.008†
Pellet	0.008†	0.008†	0.008†	0.008†	0.008†	—

\*Percentages of adherent adipose tissue-derived stem cells in stromal vascular fraction were compared

†Statistically significant difference (*p* < 0.05).



**Fig. 6.** Numbers of adipose tissue-derived stem cells (ASCs) per milliliter of each processed fat fraction. *DEC*, decanted fat ( $44 \times 10^3$  cells/ml); *MEM*, membrane-processed fat ( $53 \times 10^3$  cells/ml); *CEN*, centrifuged fat ( $63 \times 10^3$  cells/ml); *LD*, low-density fraction ( $93 \times 10^3$  cells/ml); *HD*, high-density fraction ( $43 \times 10^3$  cells/ml); *PE*, pellet ( $7 \times 10^3$  cells/ml).

**Table 4. Numbers of Adipose Tissue–Derived Stem Cells per Milliliter in Each Type of Fraction\***

	<i>p</i> Values of Wilcoxon Paired Tests					
	Decanted Fat	Membrane-Processed Fat	Centrifuged Fat	Fractions of Centrifuged Fat		
				Low-Density Fraction	High-Density Fraction	Pellet
Decanted fat	—	0.721	0.859	0.139	0.139	0.017†
Membrane-processed fat	0.721	—	0.859	0.203	0.093	0.017†
Centrifuged fat	0.859	0.859	—	0.038†	0.086	0.012†
Fractions of centrifuged fat						
Low-density fraction	0.139	0.203	0.038†	—	0.013†	0.012†
High-density fraction	0.139	0.093	0.086	0.013†	—	0.012†
Pellet	0.017†	0.017†	0.012†	0.012†	0.012†	—

\*Differences between the groups were analyzed statistically by post hoc Wilcoxon paired tests.

†Statistically significant difference (*p* < 0.05).

## DISCUSSION

Over the past 20 years, there has been a renaissance in the use of autologous fat grafting for reconstruction of soft-tissue defects.<sup>28</sup> The

technique is appreciated by patients for excellent postoperative results, minimal invasiveness, infrequent surgical complications, short hospitalization, quick recovery, and minimal scarring. For

the surgeon, a large number of technical options exist for fat harvesting, processing, and grafting. The most frequently used techniques for processing adipose tissue in clinical practice are (1) centrifugation with different speeds, diameters, volumes, and tube shapes; (2) filtering through a simple membrane (mesh) or filtering through a membrane combined with washing in more sophisticated devices such as PureGraft; and (3) decantation. The purpose of this study was to compare selected properties of adipose tissue processed by these techniques.

### Proportion of Adipose Traction

Recipient tissues can accept only a limited volume of fat graft. In our study, the median volume of the adipose fraction relative to the initial volume of lipoaspirate was 70 percent for decanted fat, 58 percent for centrifuged fat, and 46 percent for membrane-processed fat.

The different percentages of adipose fractions reflect the ability to expel the aqueous component, which seems to be mostly reduced in membrane-processed fat; therefore, its application can be expected to minimize volume loss in the early postoperative period. This is in agreement with clinical studies objectifying processing techniques in humans.<sup>29–31</sup>

Although we applied commonly used parameters of these processing techniques, the volume of adipose fractions can be controlled by variable settings of each individual method. Kurita et al. demonstrated that, with increased centrifugation force (up to 3000 g), the volumes of the oily and aqueous layers increase and the volume of the adipose fraction decreases.<sup>32</sup> The volume of the adipose fraction decreases with time during decantation and with length of filtering time during membrane-based tissue filtration.

### Viability of Cells in Processed Adipose Tissue

The absorption of fat graft after adipose tissue transfer is considered to be influenced by the percentage of viable cells in the graft.<sup>23–25</sup> However, the previously reported conclusions on the effect of preparation procedure on cell viability are equivocal. Findings span from identifying decantation as producing superior cell viability<sup>33</sup> to the completely opposite conclusion.<sup>34</sup> However, other studies declare no significant differences.<sup>23,35</sup> Diverse results are therefore likely caused by mechanical manipulation during sample processing (such as centrifugation force) and by different methods used for assessing cell viability, such as

glycerol release,<sup>34</sup> MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]<sup>35,36</sup> and XTT [3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide]<sup>36</sup> assays, trypan blue or fluorescent staining,<sup>37,38</sup> glucose transport,<sup>36</sup> and many others. In our study, we used a centrifugation force of 1200 g, which is widely applied, as it corresponds to Coleman's protocol and is considered to cause insignificant damage to lipoaspirate.<sup>7,23,32,39</sup> Still, other authors recommend lower centrifugation forces to maximize the viability of the cells,<sup>33,36,40</sup> but we did not observe any significant differences (Fig. 3). Importantly, we conducted confocal microscopic analysis using a live/dead fluorescent reagent because of its tolerance to variable sample consistency, cell density, and metabolism of a heterogeneous cell population. This method was also validated in comparison with flow-cytometry and hemocytometry in other studies. Our study revealed no significant differences between the viability of adipose tissue fractions. This indicates that none of applied processing techniques is harmful to complex cell populations and does not impair the cell viability of processed adipose tissue before fat grafting.

### Microstructure of Processed Adipose Tissue

Preparation techniques impose physicochemical stress on the processed adipose tissues but, to the best of our knowledge, this has been specifically addressed at the morphologic level in only two studies.<sup>32,41</sup> Rubino et al. demonstrated that the decantation technique was less destructive to adipocytes than centrifugation. Using scanning electron microscopy, they observed membrane wrinkling, opening of the pores with leakage of oily material, and reduction of cellular diameter.<sup>41</sup> Kurita et al., in contrast, demonstrated that adipocyte size is not remarkably altered with increased centrifugal forces. In all samples, including uncentrifuged controls, clusters of adipocytes were partially ruptured. The degree of adipocyte damage varied between donor subjects, but not between samples processed with different centrifugal forces from the same subject,<sup>32</sup> which is generally in accordance with our results.

Moreover, our findings indicate that individual procedures introduce specific changes to the morphology of the processed adipose tissue. Decanted fat was very similar in its morphology to untreated lipoaspirate, with well-preserved extracellular matrix components. Both centrifugation and membrane-based filtration led to the almost complete removal of its amorphous component.

Membrane-based filtration also removed a considerable part of the fibrillar component, which was retained in the fractions produced by centrifugation. The extracellular matrix in adipose tissue consists of a fibrillar component, made primarily of collagen and reticular fibers, and an amorphous component, the mixture of proteoglycans and glycoproteins. These are important constituents of the stem cell niche, controlling cell maintenance and behavior and providing complex regenerative effects because of the activity of extracellular matrix-bound components, such as growth factors and chemokines.<sup>42</sup> The clearing effects of centrifugation and membrane-based filtration produced by hydrodynamic forces also removed oil droplets and cellular debris.

### Properties of Adipose-Derived Stem Cells

Multiple properties of adipose-derived stem cells underlie their regenerative potential: (1) adipose-derived stem cells participate in the coalescence of transferred fat graft with surrounding tissue and are more resistant to ischemia than adipocytes,<sup>43</sup> (2) adipose-derived stem cells have an angiogenic capability by means of angiogenic factor release during ischemic conditions,<sup>21,43</sup> and (3) adipose-derived stem cells in transferred fat tissue influence the degree of graft resorption,<sup>26,27</sup> just to name some.

The analyses involved in our study conform to the criteria for multipotent mesenchymal stromal cells, defined by the International Society for Cellular Therapy, which are as follows: (1) ability to adhere to plastic surface; (2) presence or absence of specific CD markers; and (3) ability to differentiate into multiple cell lineages.<sup>44</sup> When we initiated this study in 2012, the expression of cell surface molecules on adipose-derived stem cells was not yet completely clarified. (See **Table, Supplemental Digital Content 5**, which shows the proposed cell surface molecule expression profiles of human adipose-derived stem cells, <http://links.lww.com/PRS/C64>.) Therefore, we selected four molecules (CD31, CD45, CD90, and CD105) that were most frequently mentioned in the literature.<sup>8,43–49</sup> Importantly, we met the revising criteria statement published in 2014 by the International Fat Applied Technology Society/International Society of Cellular Therapy characterizing markers of adherent stromal/stem cell populations.<sup>50</sup> Therefore, the conclusion that can be drawn from our multifaceted analysis is that the adipose-derived stem cells obtained possessed parameters that define this stem cell type.

### Numbers of Adipose-Derived Stem Cells

Allen and colleagues divided the centrifuged fat layer into low- and high-density fractions and demonstrated that (1) the in vitro high-density fraction (bottom one-tenth of the fat layer) contains a higher concentration of progenitor cells than the low-density fraction, and (2) after grafting, the high-density fractions persist in the recipient site in higher volumes than the low-density fraction.<sup>51</sup> Here, we defined the low-density fraction as the upper two-thirds of the centrifuged fat layer, and the high-density fraction consisted of the remainder. In contrast to the above-cited study, more adipose-derived stem cells were contained in the low-density fraction than in the high-density fraction of centrifuged fat.

The pellet obtained by centrifugation contained the highest number of cells (Fig. 4 and Table 2). However, the total volume of the pellet was small (Table 1), and only a small portion of the pellet cells adhered to the dish bottom (Fig. 5 and Table 3). Such findings contrast with the work of Condé-Green et al. demonstrating large numbers of stem cells in the pellet of centrifuged fat.<sup>52</sup> However, their stem cell phenotype was established based on flow-cytometric analysis of CD marker expression (CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD105<sup>+</sup>) and not by adhesive properties as in our and other studies mentioned above. The most important phenomenon found here was the high numbers of adipose-derived stem cells in the low-density fractions, although these are not statistically different from those obtained by decantation and/or membrane-based filtration (see Fig. 6 and Table 4 for reference).

Considered together, different authors have different viewpoints on individual processing techniques. Decantation was highlighted because of gentle manipulation but criticized because of transferring possible proinflammatory contaminants (e.g., oil droplets, debris, ruptured adipocytes),<sup>32,41,46,53–55</sup> which are responsible for lower graft retention and creation of oil lacunae and fibrous tissue after reimplantation.<sup>46,56</sup> We confirmed an abundant presence of these particles by electron microscopic observations.

In contrast, centrifugation and washing/filtration are considered to be superior, because of their clearing effects<sup>57,58</sup>; however, comparison of these techniques is ambiguous.<sup>59</sup> Some authors (e.g., Zhu et al.<sup>34</sup> and Condé-Green et al.<sup>60</sup>) accentuate washing/filtration above centrifugation and decantation, whereas others report them as similar.<sup>61,62</sup> Also, our experimental results revealed that all techniques were generally comparable in cell viability and number of stromal vascular

fraction; however, decantation is time-consuming and does not provide beneficial results in viability or the number of stromal vascular fraction or the number of adipose-derived stem cells. This is consistent with other reports.<sup>57,58</sup> Recent systematic evidence-based reviews were performed on hundreds of publications; however, the authors failed to advocate a single technique as superior.<sup>28,63–65</sup>

Finally, we suggest that future studies could extend our knowledge by including an increased number of patients, viability evaluation based on a combination of metabolic and fluorescent assays with consequent correlation to histopathologic analysis before and after engraftment, and also stem cell characterization by revised criteria. Prospective clinical studies will be beneficial because they may provide information on whether differences between procedures can be mirrored by pronounced differences in fat grafting outcome.

## CONCLUSIONS

Although decantation is a gentle technique that best preserves components of the extracellular matrix, the product of decantation was contaminated with oil droplets and residues of disrupted adipocytes. Centrifugation isolated the highest concentration of adipose-derived stem cells from the upper two-thirds of centrifuged fat (low-density fraction). In contrast, pellets in centrifuged samples contained only a small number of adherent adipose-derived stem cells. Therefore, we do not find enrichment of the fat layer with the pellet to be profitable. Both the low- and high-density fractions were almost completely devoid of oil droplets and debris, and they retained considerable amounts of the fibrillar components of the extracellular matrix. Compared with centrifuged fat, membrane-processed fat contained approximately the same concentration of adipose-derived stem cells, with similar viability. Although filtration also effectively removed oil droplets and cell debris, membrane-processed fat again retained a substantial part of the fibrillar components of the extracellular matrix. Finally, the watery component was minimal in membrane-processed fat. In summary, centrifugation and membrane-based tissue filtration for processing lipoaspirates both appear to be effective and profitable techniques.

**Libor Streit, M.D.**

Department of Plastic and Aesthetic Surgery  
St. Anne's University Hospital  
Berkova 34  
612 00 Brno, Czech Republic  
liborstreit@gmail.com

## ACKNOWLEDGMENTS

*This study was supported by projects COST CZ LD15144 and LQ1605 from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic; projects CZ.1.05/1.1.00/02.0123 and CZ.1.05/1.1.00/02.0068 from the European Regional Development Fund; project CZ.1.07/2.3.00/20.0185 from the European Social Fund; project FP7 Regpot ICRC-ERA-HumanBridge no. 316345; project MUNI/A/1558/2014 from the Faculty of Medicine of Masaryk University; and project GA16-02702S from the Czech Science Foundation. The authors would like to thank the following colleagues who kindly provided lipoaspirate samples harvested from their own patients: Petr Hyza, M.D., Ph.D., Igor Stupka, M.D., Ph.D., Zdenek Dvorak, M.D., Ph.D., Pavel Novak, M.D., and Lucie Kucerova, M.D.*

## REFERENCES

1. Illouz YG. The fat cell "graft": A new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg*. 1986;78:122–123.
2. Bircoll M. Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79:267–271.
3. Bircoll M, Novack BH. Autologous fat transplantation employing liposuction techniques. *Ann Plast Surg*. 1987;18:327–329.
4. Bircoll M. Autologous fat transplantation to the breast. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82:361–362.
5. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg*. 1995;19:421–425.
6. Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg*. 1997;24:347–367.
7. Coleman SR. Structural fat grafting: More than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(Suppl):108S–120S.
8. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119:1409–1422; discussion 1423.
9. Van RL, Bayliss CE, Roncari DA. Cytological and enzymological characterization of adult human adipocyte precursors in culture. *J Clin Invest*. 1976;58:699–704.
10. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7:211–228.
11. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13:4279–4295.
12. Erickson GR, Gimble JM, Franklin DM, Rice HE, Awad H, Guilak F. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290:763–769.
13. Awad HA, Halvorsen YD, Gimble JM, Guilak F. Effects of transforming growth factor beta1 and dexamethasone on the growth and chondrogenic differentiation of adipose-derived stromal cells. *Tissue Eng*. 2003;9:1301–1312.
14. Huang JI, Zuk PA, Jones NE, et al. Chondrogenic potential of multipotential cells from human adipose tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113:585–594.

15. Drago JL, Samimi B, Zhu M, et al. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85:740–747.
16. Cowan CM, Shi YY, Aalami OO, et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol.* 2004;22:560–567.
17. Mizuno H, Zuk PA, Zhu M, Lorenz HP, Benhaim P, Hedrick MH. Myogenic differentiation by human processed lipoaspirate cells. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109:199–209; discussion 210.
18. Planat-Bénard V, Menard C, André M, et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res.* 2004;94:223–229.
19. Ashjian PH, Elbarbary AS, Edmonds B, et al. In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111:1922–1931.
20. Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, Curat CA, Busse R, Bouloumié A. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 2004;110:349–355.
21. Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004;109:1292–1298.
22. Seo MJ, Suh SY, Bae YC, Jung JS. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;328:258–264.
23. 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;113:391–395; discussion 396.
24. Niechajev I, Sevcuk O. Long-term results of fat transplantation: Clinical and histologic studies. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94:496–506.
25. Moore JH Jr, Kolaczynski JW, Morales LM, et al. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: Effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19:335–339.
26. Lu F, Li J, Gao J, et al. Improvement of the survival of human autologous fat transplantation by using VEGF-transfected adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:1437–1446.
27. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, et al. Supplementation of fat grafts with adipose-derived regenerative cells improves long-term graft retention. *Ann Plast Surg.* 2010;64:222–228.
28. Gir P, Brown SA, Oni G, Kashefi N, Mojallal A, Rohrich RJ. Fat grafting: Evidence-based review on autologous fat harvesting, processing, reinjection, and storage. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130:249–258.
29. Gerth DJ, King B, Rabach L, Glasgold RA, Glasgold MJ. Long-term volumetric retention of autologous fat grafting processed with closed-membrane filtration. *Aesthet Surg J.* 2014;34:985–994.
30. Botti G, Pascali M, Botti C, Bodog F, Cervelli V. A clinical trial in facial fat grafting: Filtered and washed versus centrifuged fat. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127:2464–2473.
31. Mestak O, Sukop A, Hsueh YS, et al. Centrifugation versus PureGraft for fatgrafting to the breast after breast-conserving therapy. *World J Surg Oncol.* 2014;12:178.
32. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: Optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:1033–1041; discussion 1042.
33. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, et al. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plast Surg.* 2011;35:341–348.
34. Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, et al. Comparison of three different fat graft preparation methods: Gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:873–880.
35. Smith P, Adams WP Jr, Lipschitz AH, et al. Autologous human fat grafting: Effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:1836–1844.
36. 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;63:482–487.
37. Xiao Y, Yuan T, Yao W, Liao K. 3T3-L1 adipocyte apoptosis induced by thiazolidinediones is peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-dependent and mediated by the caspase-3-dependent apoptotic pathway. *FEBS J.* 2010;277:687–696.
38. Palumbo P, Melchiorre E, La Torre C, et al. Effects of phosphatidylcholine and sodium deoxycholate on human primary adipocytes and fresh human adipose tissue. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23:481–489.
39. 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;122:932–937.
40. Hoareau L, Bencharif K, Girard AC, et al. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: A new method to improve graft efficiency. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66:712–719.
41. Rubino C, Mazzarello V, Faenza M, Montella A, Santanelli F, Farace F. A scanning electron microscope study and statistical analysis of adipocyte morphology in lipofilling: Comparing the effects of harvesting and purification procedures with 2 different techniques. *Ann Plast Surg.* 2015;74:718–721.
42. Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840:2506–2519.
43. Yoshimura K, Suga H, Eto H. Adipose-derived stem/progenitor cells: Roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med.* 2009;4:265–273.
44. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315–317.
45. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol.* 2006;208:64–76.
46. Condé-Green A, de Amorim NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: A comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63:1375–1381.
47. Yang XF, He X, He J, et al. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci.* 2011;18:59.
48. Mitchell JB, McIntosh K, Zvonic S, et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: Temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells* 2006;24:376–385.
49. Baer PC. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: An update on their phenotype in vivo and in vitro. *World J Stem Cells* 2014;6:256–265.
50. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: A joint statement of the International Federation for Adipose

- Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy* 2013;15:641–648.
51. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, et al. Grading lipoaspirate: Is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg*. 2013;131:38–45.
  52. Condé-Green A, Baptista LS, de Amorin NF, et al. Effects of centrifugation on cell composition and viability of aspirated adipose tissue processed for transplantation. *Aesthet Surg J*. 2010;30:249–255.
  53. Kaufman MR, Bradley JP, Dickinson B, et al. 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;119:323–331.
  54. Butterwick KJ, Nootheti PK, Hsu JW, Goldman MP. Autologous fat transfer: An in-depth look at varying concepts and techniques. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2007;15:99–111, viii.
  55. Mineda K, Kuno S, Kato H, et al. Chronic inflammation and progressive calcification as a result of fat necrosis: The worst outcome in fat grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:1064–1072.
  56. Condé-Green A, Wu I, Graham I, et al. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: A pilot study. *Aesthet Surg J*. 2013;33:713–721.
  57. Ibatici A, Caviglioli F, Valeriano V, et al. Comparison of cell number, viability, phenotypic profile, clonogenic, and proliferative potential of adipose-derived stem cell populations between centrifuged and noncentrifuged fat. *Aesthetic Plast Surg*. 2014;38:985–993.
  58. Butterwick KJ. Lipoaugmentation for aging hands: A comparison of the longevity and aesthetic results of centrifuged versus noncentrifuged fat. *Dermatol Surg*. 2002;28:987–991.
  59. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol*. 2006;208:64–76.
  60. Condé-Green A, Wu I, Graham I, et al. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: A pilot study. *Aesthet Surg J*. 2013;33:713–721.
  61. Salinas HM, Broelsch GF, Fernandes JR, et al. Comparative analysis of processing methods in fat grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134:675–683.
  62. Palumbo P, Miconi G, Cinque B, et al. In vitro evaluation of different methods of handling human liposuction aspirate and their effect on adipocytes and adipose derived stem cells. *J Cell Physiol*. 2015;230:1974–1981.
  63. Cleveland EC, Albano NJ, Hazen A. Roll, spin, wash, or filter? Processing of lipoaspirate for autologous fat grafting: An updated, evidence-based review of the literature. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136:706–713.
  64. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The current state of fat grafting: A review of harvesting, processing, and injection techniques. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136:897–912.
  65. Tuin AJ, Domerchie PN, Schepers RH, et al. What is the current optimal fat grafting processing technique? A systematic review. *J Craniomaxillofac Surg*. 2016;44:45–55.

# INTRAOPERATIVE FAT GRAFTING INTO THE PECTORALIS AND LATISSIMUS DORSI MUSCLES – NOVEL MODIFICATION OF AUTOLOGOUS BREAST RECONSTRUCTION WITH EXTENDED LATISSIMUS DORSI FLAP

Streit L.<sup>1</sup>, Dražan L.<sup>1</sup>, Schneiderová M.<sup>2</sup>, Kubek T.<sup>1</sup>, Sin P.<sup>1</sup>, Veselý K.<sup>3</sup>, Coufal O.<sup>4,5</sup>, Veselý J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plastic and Aesthetic Surgery, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Radiology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Pathological Anatomy, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Brno, Czech Republic

<sup>4</sup>Department of Surgical Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

<sup>5</sup>Department of Comprehensive Cancer Care, Medical Faculty, Masaryk University, Brno, Czech Republic

ACTA CHIRURGIAE PLASTICAE, 59, 2, pp. 72-81

## ABSTRACT

**Background:** The latissimus dorsi flap is a reliable and one of the most commonly used methods of both immediate and delayed breast reconstruction. Its disadvantage is the limited volume of transferred tissue. The authors present their experience with the use of extended latissimus dorsi flap associated with immediate fat grafting into the pectoralis and latissimus dorsi muscles for secondary breast reconstruction.

**Methods:** From 2013 to 2016, 14 patients underwent secondary unilateral total breast reconstruction with extended latissimus dorsi flap associated with primary fat grafting into the

pectoralis major and latissimus dorsi muscles. Fat was injected under visual control between muscle fibers. Fat injected into the pectoralis muscle formed an apparent bulging - auto-prosthesis.

**Results:** Mean patient age was 48.2 years (range, 34 to 64 years). Mean injected fat volume was 86.4 ml (range, 50 to 160 ml) and majority of this volume was injected into the pectoralis muscle. All flaps healed uneventfully and no fat grafting-related complications were observed. The most common complication was donor site seroma, which occurred in 57.1%. Results of postoperative ultrasound examination were evaluated. Incidence and the size of oil cysts and fat necroses were significantly lower

in muscular layer in comparison with the subcutaneous layer of the reconstructed breast.

**Conclusions:** Immediate fat transfer into the pectoralis and latissimus dorsi muscle increases the breast volume during the reconstruction with extended latissimus dorsi flap avoiding implant-related complications when abdominal tissue is not available. Pectoralis and latissimus dorsi muscles were shown as reliable and safe recipients for fat grafting.

## KEYWORDS

**Latissimus dorsi, breast reconstruction, autologous, secondary, fat grafting, pectoral muscle**

## INTRODUCTION

The latissimus dorsi flap is a reliable and one of the most commonly used methods of both immediate and delayed breast reconstruction. Latissimus dorsi flap reconstruction was introduced first by Tansini in 1906<sup>1</sup> and

popularized by Olivari and Schneider in the late 1970s<sup>2,3</sup>. Its use is traditionally limited by the volume of transferred tissue and by the desired size of the breast. The volume of the breast is therefore routinely created by silicone prosthesis in one stage as described by Bostwick and colleagues<sup>4,5</sup>. In this concept, the disadvantages associated with the use of

Patient	Age [years]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	RT	AAF	Follow-up [months]	Injected fat volume [ml]			Additional lipomodelling sessions		
						total	PM	LTD	Number of sessions	Injected fat volume [ml]	
										1st session	2nd session
1	44	21.1	yes	no	34	50	30	20	2	228	72
2	50	28.7	no	no	29	50	50	0	1	190	
3	53	23.4	yes	yes	25	50	50	0	1	255	
4	41	20.4	yes	yes	25	60	30	30	2	200	165
5	53	20.6	no	no	25	80	80	0	1	140	
6	43	24.2	yes	yes	22	90	40	50	2	205	130
7	59	21.9	yes	no	22	60	30	30	1	135	
8	63	27.5	no	no	15	80	40	40	2	130	225
9	44	37.6	no	no	11	160	110	50	0		
10	34	24.9	yes	yes	9	120	60	60	1	150	
11	35	23.7	no	yes	8	155	120	35	0		
12	52	20.8	yes	yes	5	40	40	0	1	110	
13	64	26.6	no	yes	4	130	100	30	0		
14	40	23.5	yes	no	3	80	30	55	1	210	
<b>Median</b>	<b>47.0</b>	<b>23.6</b>			<b>18.5</b>	<b>80.0</b>	<b>45.0</b>	<b>30.0</b>	<b>1.0</b>		
<b>Mean</b>	<b>48.2</b>	<b>24.6</b>	<b>8 of 14</b>	<b>7 of 14</b>	<b>16.9</b>	<b>86.4</b>	<b>57.9</b>	<b>28.6</b>	<b>1.0</b>		

**Table 1.** Patients and operative data. RT: adjuvant radiotherapy after mastectomy, AAF: abdominal advancement flap, PM: pectoralis muscle, LTD: latissimus dorsi muscle. No adipose tissue was applied into the latissimus dorsi muscle in the cases when it was too thin (patients No. 2, 3, 5, 12). And also no fat graft was applied into the pectoralis muscle in one patient with the history of implant based breast reconstruction with atrophic pectoralis muscle (patients No. 12)

the latissimus dorsi flap (donor site morbidity) and disadvantages of silicon implant (risks of infection, extrusion, rupture, capsular contracture and a recently suggested association with anaplastic large-cell lymphoma) occur both together.

The need for an implant may be avoided if the latissimus dorsi flap is harvested as extended when the whole muscle is taken. Hokin in 1983 and Marshall in 1984 increased the volume of the latissimus dorsi flap as they included lumbar fascia<sup>6,7</sup>. Germann in 1996<sup>8</sup> and Delay in 1998<sup>9</sup> introduced the technique of latissimus dorsi flap harvesting when the supplementary volume of the flap was increased by the subfascial fat localized in scapular and parascapular region, in addition to the lumbar fat. Delay also defined individual fatty zones adjacent to the latissimus dorsi muscle anatomically and he popularized this reconstructive approach<sup>10</sup>. In addition, Delay improved the options for autologous breast reconstruction by combining extended latissimus dorsi flap with abdominal advancement flap allowing breast reconstruction with one final horizontal scar<sup>11</sup>.

Because of low morbidity, low complication rate, very good results and an excellent acceptance by the patients, autologous fat grafting has recently become recognized as an essential tool in breast reconstructive surgery. Sinna and colleagues demonstrated in consecutive sample of 200 patients that lipomodelling improves outcomes after extended

latissimus dorsi flap reconstructions by augmenting breast volume and by enhancing its shape<sup>12-14</sup>. Finally, Santanelli and colleagues have recently reported their technique of latissimus dorsi flap reconstruction associated with intraoperative fat grafting to the subcutaneous tissue of the latissimus dorsi flap as an alternative for entirely autologous breast reconstruction<sup>15</sup>.

The aim of this study is to present a new concept of autologous breast reconstruction with the extended latissimus dorsi flap associated with simultaneous fat grafting into the pectoralis and latissimus dorsi muscles.

## PATIENTS AND METHODS

Between April 2013 and February 2016, 14 patients underwent secondary unilateral total breast reconstruction with extended latissimus dorsi flap associated with primary fat grafting into the pectoralis major and latissimus dorsi muscles (Table 1). This surgical technique was indicated for patients after mastectomy requiring breast reconstruction desiring small or moderate breast volume, patients who refused scars on the abdomen or patients with the contraindication for abdominal free flap such as: 1) multiple abdominal scars, 2) previously harvested abdominal flap or abdominoplasty, 3) patients with a history of deep venous thrombosis or pulmonary embolism (Table 2).

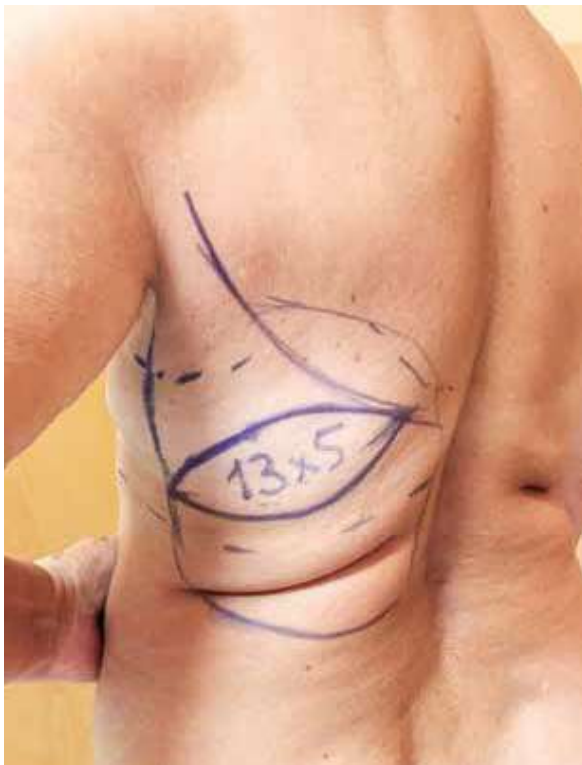


Choice of autologous latissimus reconstruction over abdominal flap in 14 patients	Incidence	Percent [%]
Slim patient with a relatively small excess of abdominal skin	7	50.0
Non-acceptance of abdominal scars	4	28,6
Age > 60 yr	2	14,3
Smoking	2	14,3
History of previous breast reconstruction using abdominal flap	2	14,3
Concerns about the surgery with a potential risk of flap loss	1	7,1
History of deep vein thrombosis or pulmonary embolism, or factor V Leiden mutation	0	0,0

**Table 2.** Choice of autologous latissimus reconstruction over abdominal flap

### Preoperative design

Planning begins in the chest in the front view. The median intermammary line, the inframammary crease and the foreseeable extent of the breast is designed in the post-mastectomy chest using opposite breast as a model. In the case of serious hypertrophy or ptosis of the preserved breast, patients are informed about the need of contralateral symmetrization in the second stage to obtain appropriate results. In cases with sufficient laxity of the skin below the submammary fold, the abdominal advancement flap may be conveniently used to reconstruct the skin of the lower part of the breast – this maneuver allows to reduce the minimum size of latissimus dorsi flap skin paddle and to reduce the length of the scar on the back respectively.



**Fig. 1.** Latissimus dorsi flap planning. The bra strap area is marked first when the patient is wearing her bra. The horizontal or slightly transverse skin paddle is localized in the middle of the bra strap area

The bra strap area is then marked on the patient's back in the upright position. The horizontal or slightly oblique skin paddle is drawn on the middle of the bra strap area (Fig. 1), the pinch technique is used to determinate its maximum width. In the case, when the abdominal advancement flap is planned simultaneously, we minimize the size of the skin paddle (6 x 14 cm approximately). In other cases, the size of the skin paddle is outlined with respect of the extent of the missing skin on the breast.

Donor site for fat harvesting is marked according to the patient's wish and expected volume of fat graft (100–150 ml of processed adipose tissue should be prepared). Lower abdomen and inner thighs are preferred harvesting sites because of easy positioning of the patient in the supine position. We do not recommend fat harvesting from the flanks because of the risk of blood supply deterioration of the elevated skin after latissimus dorsi flap harvesting due to instillation of tumescent solution (with epinephrine) and liposuction in closely surrounding area.

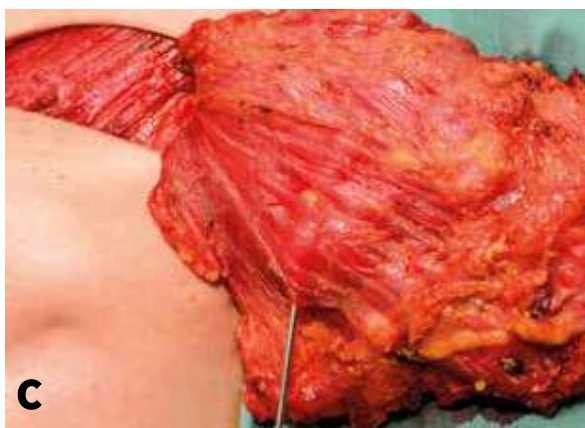
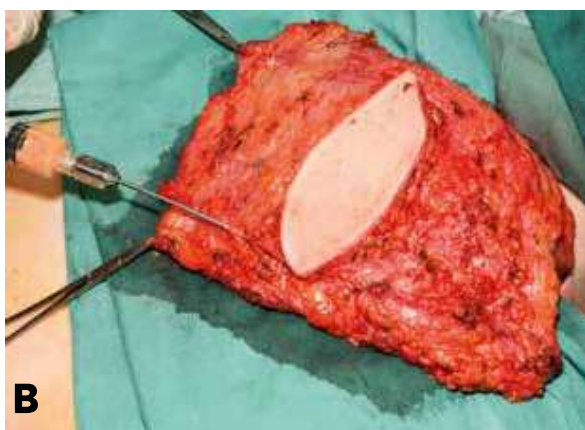
### Surgical technique

Latissimus dorsi flap harvesting was performed simultaneously with subcutaneous undermining of the anterior thorax in lateral decubus position. We used modification of harvesting technique described by Delay<sup>10</sup>. The volume of the latissimus dorsi flap was extended by harvesting: 1) adipose tissue of the paddle below the superficial fascia retained on the entire surface of the muscle, 2) the scapular fat pad, 3) the fat adjacent to the anterior part of the muscle. On the contrary, we did not harvest supra-iliac fat pad.

Once the flap was raised and the pedicle clearly visible and free, a subtotal section of the muscle was performed distally and just a small muscular bridge was left to protect the vascular pedicle. The thoracodorsal nerve was preserved. The completely raised flap was then passed underneath the skin bridge anteriorly into the dissected subcutaneous pocket on the chest. The donor site was closed primarily.

Then, the patient was turned to the supine position and subcutaneous undermining of the anterior thorax was finalized. The abdominal advancement flap was dissected and a new inframammary fold was created in the patients who were scheduled for it.

Adipose tissue was harvested preferably from the lower abdomen or inner thighs region. Low-volume tumescent liposuction was used (500 ml of normal saline with 1:500 000 of epinephrine). Adipose tissue was aspirated manually into 30-ml Luer-lock syringes using 3.5 mm cannula (model PLA187, Pouret Medical, France) and it was centrifuged at 1200 g for 3 minutes directly in 30ml syringes.



**Fig. 2.** Application of the processed fat (a) into the pectoralis muscle and (b, c) into the latissimus dorsi muscle

Processed fat was injected first into the pectoralis muscle from several points (4–6 points) longitudinally and transversely relative to the orientation of muscle fibers with 10 ml syringes using 2 mm cannulas (model PLA189, Pouret Medical, France). In this way, the fat was applied first into the deep layer, then into the middle layer and finally into the superficial layer of the muscle. Because the cannula and the injected fat are visible between the muscle fibers

(during application into the middle and superficial layers) the fat transfer can be done accurately under visual control till the formation of a small bulging – autoprosthesis. Fat was analogically injected between superficial muscle fibers and also into the adipose layer of the skin paddle of the latissimus dorsi flap (Fig. 2). After fat injection, the latissimus dorsi flap was secured to the breast pocket so that the originally distal part of the flap created volume of the décolleté area. The latissimus dorsi flap was then folded in the bottom part of newly reconstructed breast to form extra bulk. Breast skin was finally draped over the new mound and the latissimus dorsi skin paddle was partially or totally de-epithelialized. Two suction drains were positioned before skin closure.

One or two sessions of lipomodelling were performed secondary at least 3 months after the previous surgery under general anesthesia. Contralateral symmetrizing mastopexy or reduction mammoplasty was performed 3-6 months after breast reconstruction, and finally in the following 3 months, nipple reconstruction using local flaps and areolar reconstruction using tattooing were performed under local anesthesia, if required by the patient.

#### Follow-up

All the patients were examined 1) clinically 2 weeks postoperatively, 2) clinically and by ultrasound shortly before each additional session of lipomodelling (when performed) and finally 3) clinically and by ultrasound at least 3 months postoperatively (after latissimus dorsi breast reconstruction or after final session of lipomodelling). The size and the number of fat necroses were evaluated by ultrasonography by a single experienced radiologist. Photographs were taken during each follow-up visit.

#### RESULTS

Breast reconstruction using the extended latissimus dorsi flap associated with fat grafting was performed in 14 patients. The mean patient age was 48.2 years (range, 34 to 64 years). The mean body mass index was 24.6 kg/m<sup>2</sup> (range, 20.4 to 37.6 kg/m<sup>2</sup>) and 8 of these 14 patients had a history of adjuvant radiotherapy. In 7 patients, abdominal advancement flap was used to reconstruct the lower pole of the breast. Patient and operative data are shown in Table 1. The mean injected fat volume was 86.4 ml (range, 50 to 160 ml) when majority of volume was injected into the pectoralis major muscle. The mean injected fat volume to the pectoralis muscle was 57.9 ml.

Incidence of complications in 14 patients	Incidence	Percent [%]
Partial flap loss	0	0.0
Total flap loss	0	0.0
Partial breast skin flap loss	0	0.0
Partial dorsal skin flap loss	0	0.0
Wound infection	0	0.0
Hematoma	2	14.3
Seroma	8	57.1

**Table 3.** Complications

Patient	Thickness of the layers of the reconstructed breast (maximum values)				Number and size of fat necrosis or oil liponecrotic pseudocysts	
	Overall thickness	Muscular layer (PM+LTD)	Subcutaneous layer	% of muscular layer	Muscular layer	Subcutaneous layer
2	24	19	12	79.2	S	M
3	47	32	14	68.1	-	SS
4	34	20	17	58.8	-	S
5	50	27	23	54.0	S	SSS
6	31	22	14	71.0	-	S
8	44	39	16	88.6	-	SSS
9	38	19	15	50.0	-	-
11	43	25	18	58.1	-	SS
12	25	15	12	60.0	-	-
13	44	34	10	77.3	-	-
<b>Median</b>				<b>64.0</b>		
<b>Mean</b>				<b>66.5</b>		

**Table 4.** Evaluation of the postoperative breast ultrasound examination. The size of fat necrosis or oil liponecrotic pseudocysts is expressed by different letters: S – small (up to 10 mm in diameter), M – medium (10 to 20 mm in diameter) and L – large (more than 20 mm in diameter). The number of these fat necroses or oil liponecrotic pseudocysts is expressed by the number of these letters: one letter = single, two letters = sporadic (2–10), three letters = frequent (more than 10) and finally hyphen = none



**Fig. 3.** Typical postoperative ultrasound image. Muscular layer (ML) after fat grafting is shown as a homogeneous structure with significant lipomatous changes without oil cysts or fat necroses. The pectoralis (PM) and the latissimus dorsi (LTD) muscles can be distinguished according to the orientation of muscle fibers. There are single medium size oil cysts (OC) in the subcutaneous layer (SL)

Suction drains were removed at around 6<sup>th</sup> postoperative day (range, 5<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup>) when the fluid drainage from individual drain was less than 20 ml per 24 hours and when the patients were discharged from the hospital. The most common complication was seroma in the donor site (57.1%) and the most serious complication was dorsal hematoma with the need of early surgical revision. No fat grafting related

complications were observed in either the recipient or the donor site (Table 3).

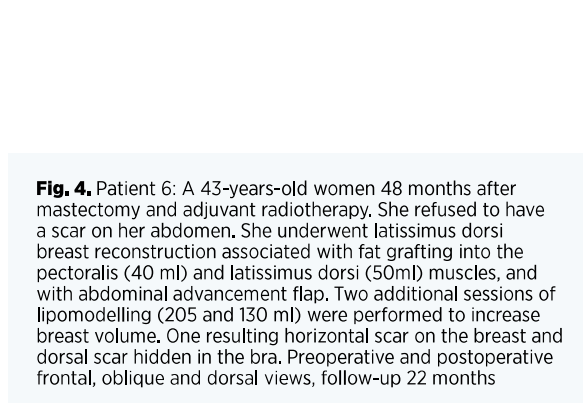
Eleven patients required an additional session of lipomodelling to enhance final breast volume and to improve breast shape while two sessions were needed in 4 patients to obtain desired results. Then, 3 patients required symmetrizing surgery because of contralateral breast ptosis (2 patients) or relative hypertrophy (1 patient). Vertical scar mastopexy or wise pattern reduction mammoplasty was performed in these cases 3–6 months after breast reconstruction.

Postoperative ultrasound images were acquired for 10 patients. Specifically, number and size of oil cysts (oil liponecrotic pseudocysts) and fat necroses were evaluated separately for muscular layer (composed of pectoralis and latissimus dorsi muscles) and for subcutaneous layer of the reconstructed breast. We also evaluated maximal thickness of these layers and also overall maximal thickness of the reconstructed breast (Fig. 3, Table 4). Incidence and the size of oil cysts and fat necroses were significantly lower in muscular layer as compared with the subcutaneous layer. The muscular layer after fat grafting appeared as a homogeneous structure with significant lipomatous changes in comparison with normal skeletal muscle. The thickness of the muscular layer was expanded in additional stages of fat grafting. The resulting breast volume was made up mostly of the muscular layer augmented by fat grafting.

Preoperative and postoperative photographs are shown (Figs 4, 5). Satisfactory results were obtained and the scars in the donor area were well hidden under the bra strap and no contour defects were observed.

## DISCUSSION

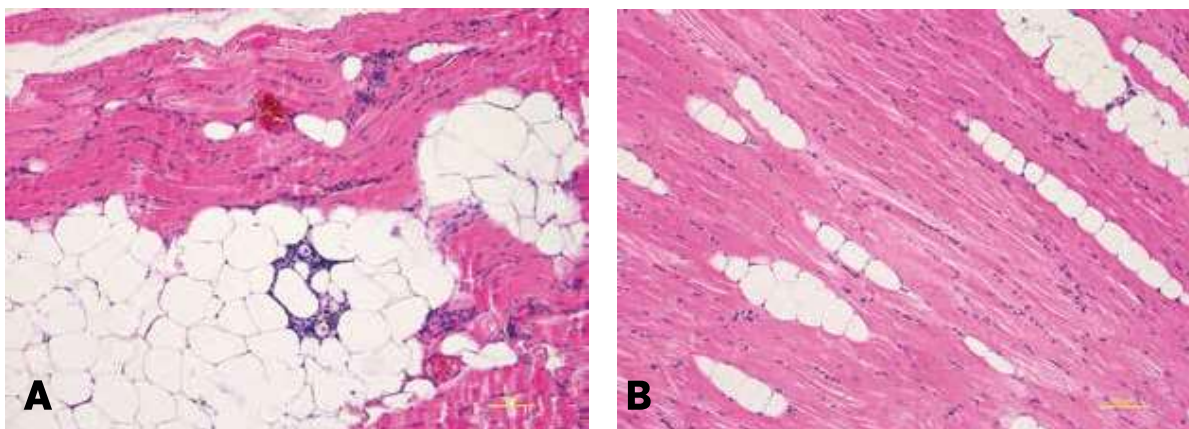
The breast reconstruction after mastectomy represents an integral component of the complex oncological care of



**Fig. 4.** Patient 6: A 43-years-old women 48 months after mastectomy and adjuvant radiotherapy. She refused to have a scar on her abdomen. She underwent latissimus dorsi breast reconstruction associated with fat grafting into the pectoralis (40 ml) and latissimus dorsi (50ml) muscles, and with abdominal advancement flap. Two additional sessions of lipomodelling (205 and 130 ml) were performed to increase breast volume. One resulting horizontal scar on the breast and dorsal scar hidden in the bra. Preoperative and postoperative frontal, oblique and dorsal views, follow-up 22 months



**Fig. 5.** Patient 3: A 53-years-old women 18 mounts after mastectomy and adjuvant radiotherapy. She was not considered a good candidate for a DIEP flap breast reconstruction because she was very thin and a strong smoker. She underwent latissimus dorsi breast reconstruction associated with fat grafting into the pectoralis muscle (50 ml), and with abdominal advancement flap (allowing to reduce the size of the skin paddle and thus the length of the scars on her back). One additional session of lipomodelling (255 ml) was performed to increase breast volume. Preoperative and postoperative frontal and oblique views, follow-up 25 months



**Fig. 6.** Histological examination of the muscles: (a) the pectoralis muscle after fat grafting with lipomatous changes, (b) the serratus anterior muscle - the control sample from the same patient (without fat grafting). Haematoxylin eosin staining. Scale bar 100  $\mu$ m.

breast cancer patients restoring physical and psychological integrity and improving women's quality of life<sup>16</sup>. Choice of reconstructive technique is a multifactorial decision based on several factors including patients' age, body type, comorbidities, history of adjuvant radiotherapy and the size of contralateral breast. This decision is considerably influenced by the surgeons' preference and experience. Implant based breast reconstruction is generally associated with lower invasiveness in the sense of donor site morbidity. In spite of that, autologous techniques are often preferred for the disadvantages of using silicone implants (risks of infection, extrusion, rupture, capsular contracture and a recently suggested association with anaplastic large-cell lymphoma<sup>17</sup>). The abdominal free flaps and the latissimus dorsi flap are two most common autologous techniques today. The abdominal free flaps are often considered to be the gold standards for autologous breast reconstruction. In our department, we perform approximately 130 abdominal free flap breast reconstructions per year representing approximately 80% of autologous reconstructions<sup>18-20</sup>.

We believe that current approaches to breast reconstruction based on the latissimus dorsi flap represent valuable alternatives for the patients who are not good candidates for abdominal based flaps, or even primary option for the patients who refuse to have a scar on the abdomen, or do not wish to undergo more demanding microsurgical procedures with the risk of flap loss. We also suggest the latissimus dorsi flap as a preferable alternative to the abdominal free flaps in patients with small skin excess in the lower abdomen when the resulting scar is usually pushed upwards above the edge of the underwear. In our department, latissimus dorsi breast flap represents approximately 10% of all performed autologous breast reconstructions.

Lindgren and the colleagues compared DIEP and latissimus dorsi flaps breast reconstruction with regards to the satisfaction with the aesthetic outcomes between the patients and plastic surgeons. The patients were more satisfied with latissimus dorsi flap reconstruction, which was related probably to the donor-site scar. Surgeons favored DIEP flap reconstruction with regards to the size and shape of the breast<sup>21</sup>.

Santanelli and colleagues have recently reported their technique of latissimus dorsi flap volume expansion with

intraoperative fat grafting to the subcutaneous tissue of the skin paddle of the latissimus dorsi flap as an alternative for entirely autologous breast reconstruction. In their study, the mean size of the harvested skin paddle was 19.7 x 11.0 cm and the mean injected fat volume was 101 ml<sup>15</sup>.

We believe that too extensive harvest of skin paddle may result in more obvious disfigurement in the donor site area. Therefore, we have made an effort to minimize this disfigurement and the size of the scar on the back; the size of the skin paddle was up to 6 x 14 cm in the majority of the patients. Instead, we supplemented latissimus dorsi flap volume by adipose tissue from the areas where reduction of volume was beneficial. Furthermore, we injected fat into the pectoralis muscle. During our initial experiences, quantities of transferred adipose tissue were small, but we have gradually increased these quantities to 60 ml injected into the latissimus dorsi and to 120 ml injected into pectoralis muscles (see Table 1). We demonstrated that the capacity of pectoralis muscle to accept volume of the fat graft is about 2 times higher. We believe that this capacity is related to the initial thickness of the muscle layer while the pectoralis muscle is noticeably thicker than the latissimus muscle.

Ultrasound did not reveal higher incidence of fat necrosis in the muscular layer associated with the increasing volumes of the fat graft. Furthermore, number of fat necroses (cystoids) was significantly lower in muscular layer comparing with subcutaneous layer (Figure 3, see Table 4). These findings indicate that skeletal muscle is suitable and well-vascularized recipient tissue. Since the pectoralis muscle is exposed during breast reconstruction, fat graft can be applied under visual control, which enables application of fat more evenly in layers and thus to transfer higher volumes of adipose tissue. Analogically, fat graft is injected under visual control during immediate breast reconstruction by fat grafting<sup>22-24</sup>, or without visual control during the secondary reconstructions<sup>24,25</sup>.

Skeletal muscle seems to be eligible recipient tissue for adipose tissue grafting because it contains natural adipocytes<sup>26</sup>. We had the opportunity to observe the pectoralis muscle in the 49-years-old patient 6 months after application of fat when we narrowed the breast base secondary after secondary breast reconstruction with lipomodelling (patient had

skin excesses laterally because she had suffered from breast hypertrophy before mastectomy). After obtaining informed consents, we took small skeletal muscle samples (approximately 1 x 1 x 2 cm) from the pectoralis muscle after fat grafting and from the serratus anterior muscle (without fat grafting). Macroscopically, we observed lipomatous changes of the pectoralis muscle. Subsequently, the samples of the muscle were processed with the standard formalin – paraffin technique. 4 µm thick sections were cut with microtome, routinely stained with haematoxylin and eosin, and evaluated under the light microscope. In both samples, muscular component was well preserved. But we observed significantly higher number of adipocytes (respectively areas of adipose tissue) between muscle fibers in the sample taken from the pectoralis muscle after fat grafting. In the muscle sample of serratus anterior muscle from the same patient, we detected only a small number of adipocytes (Fig. 6).

Adipocytes are found in the skeletal muscle naturally and fat content within muscles increases with age and atrophy and finally in paresis<sup>27</sup>. Therefore, it is possible to understand the fat transfer into the muscle as an enlargement of its “adipose component” rather than as an application of tissue that in general does not belong to the skeletal muscle.

Capacity of the donor site to accept the fat graft is closely related to the initial volume of well-vascularized donor tissues. We believe that the degree of volume absorption is low when the transferred fat is covered by well-vascularized tissue like skeletal muscle. Based on our experiences we estimate the absorption about 30% in this case.

We can imagine a further increase in the quantity of the transferred fat up to the maximum of 140–160 ml into the pectoralis muscle and 60–70 ml into the latissimus dorsi muscle in normal-weight or slightly overweight patients. But we assume that the risk of complications associated with poor engraftment of the fat could increase beyond an acceptable level when transferred quantities were even higher. According to our experience, the best results are obtained in patients with BMI 20–26. Very thin patients usually have thinner recipient muscles. Furthermore, these very thin patients may not have enough adipose tissue in the donor sites.

The lack of a control group is the weakness of our study. Further prospective controlled clinical trials are needed to confirm our findings.

## CONCLUSIONS

Our new modification of breast reconstruction with extended latissimus dorsi flap with immediate fat grafting into the pectoralis and latissimus dorsi muscles is a safe and reliable method for entirely autologous secondary breast reconstruction. Pectoralis and latissimus dorsi muscles were shown to be reliable and safe recipients for grafted fat. Fat grafting into the pectoralis and latissimus dorsi muscles during extended latissimus dorsi flap reconstruction allows reconstructing additional breast volume. We believe that our new concept may potentially reduce the number of required additional lipomodelling sessions, which often follow latissimus dorsi breast reconstruction.

**Funding:** By 1) Ministry of Health, Czech Republic - Conceptual Development of Research Organization (Masaryk Memorial Cancer Institute – IN: 00209805) and by 2) the

Ministry of Education, Youth and Sports, Czech Republic – National Program of Sustainability I – LO1413.

**Conflicts of interest:** None declared.

**Ethical approval:** Not required.

## REFERENCES

1. Tansini I. Sopra il mio nuovo processo di amputazione della mammella. *Gazz Med Ital.* 1906;57:141.
2. Olivari N. The latissimus flap. *Br J Plast Surg.* 1976 Apr;29(2):126-8.
3. Schneider WJ, Hill HL Jr, Brown RG. Latissimus dorsi myocutaneous flap for breast reconstruction. *Br J Plast Surg.* 1977 Oct;30(4):277-81.
4. Bostwick J, Vasconez LO, Jurkiewicz MJ. Breast reconstruction after a radical mastectomy. *Plast Reconstr Surg.* 1978 May;61(5):682-93.
5. Bostwick J, Nahai F, Wallace JG, Vasconez LO. Sixty latissimus dorsi flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1979 Jan;63(1):31-41.
6. Hokin JA. Mastectomy reconstruction without a prosthetic implant. *Plast Reconstr Surg.* 1983 Dec;72(6):810-18.
7. Marshall DR, Anstee EJ, Stapleton MJ. Soft tissue reconstruction of the breast using an extended composite latissimus dorsi myocutaneous flap. *Br J Plast Surg.* Jul 1984;37(3):361-368.
8. Germann G, Steinau HU. Breast reconstruction with the extended latissimus dorsi flap. *Plast Reconstr Surg.* 1996 Mar;97(3):519-26.
9. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Comparin JP. Breast reconstruction with the autologous latissimus dorsi flap. Preliminary report of 60 consecutive reconstructions. *Ann Chir Plast Esthet.* 1997 Apr;42(2):118-30.
10. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Rivoire M. Autologous latissimus breast reconstruction: a 3-year clinical experience with 100 patients. *Plast Reconstr Surg.* 1998 Oct;102(5):1461-78.
11. Delay E, Jorquera F, Pasi P, Gratadour AC. Autologous latissimus breast reconstruction in association with the abdominal advancement flap: a new refinement in breast reconstruction. *Ann Plast Surg.* 1999 Jan;42(1):67-75.
12. Sinna R, Delay E, Garson S, Delaporte T, Toussoun G. Breast fat grafting (lipomodelling) after extended latissimus dorsi flap breast reconstruction: A preliminary report of 200 consecutive cases. *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg.* 2010;63(11):1769-1777.
13. Delay E, Garson S, Toussoun G, Sinna R. Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years. *Aesthet Surg J.* 2009 Sep-Oct;29(5):360-76.
14. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. Lipomodelling: an important advance in breast surgery. *Acta Chir Plast.* 2013;55(2):34-43.
15. Santanelli di Pompeo F, Laporta R, Sorotos M, Pagnoni M, Falesiedi F, Longo B. Latissimus dorsi flap for total autologous immediate breast reconstruction without implants. *Plast Reconstr Surg.* 2014 Dec;134(6):871e-9e.
16. Dražan L, Veselý J, Hýža P, Kubek T, Foretová L, Coufal O. Surgical prevention of breast carcinoma in patients with hereditary risk. *Klin Onkol.* 2012;25 Suppl:S78-83.
17. Kim B, Predmore ZS, Mattke S, van Busum K, Gidengil CA. Breast Implant-associated Anaplastic Large Cell Lymphoma: Updated Results from a Structured Expert Consultation Process. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2015 Feb 6;3(1):e296.
18. Veselý J, Stupka I, Dražan L, Holusa P, Licata P, Corradini B. DIEP flap breast reconstruction--new experience. *Acta Chir Plast.* 2001;43(1):3-6.
19. Dražan L, Veselý J, Hyza P, Castagnetti F, Stupka I, Justan I, Novak P, Monni N. Bilateral breast reconstruction with DIEP flaps: 4 years' experience. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008 Nov;61(11):1309-15.
20. Hyza P, Streit L, Veselý J, Stafova D, Sin P. New technique of immediate nipple reconstruction during immediate autologous DIEP or MS-TRAM breast reconstruction. *Ann Plast Surg.* 2015 Jun;74(6):645-51.

21. Lindegren A, Halle M, Docherty Skogh AC, Edsander-Nord A. Postmastectomy breast reconstruction in the irradiated breast: a comparative study of DIEP and latissimus dorsi flap outcome. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Jul;130(1):10-8.
22. Al-Kalla T, Komorowska-Timek E. Breast total male breast reconstruction with fat grafting. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2014 Dec 5;2(11):e257.
23. Khouri RK, Rigotti G, Khouri RK Jr, Cardoso E, Marchi A, Rotemberg SC, Baker TJ, Biggs TM. Tissue-engineered breast reconstruction with Brava-assisted fat grafting: a 7-year, 488-patient, multicenter experience. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Mar;135(3):643-58.
24. Ho Quoc C, Piat JM, Carrabin N, Meruta A, Faure C, Delay E. Breast reconstruction with fat grafting and BRAVA<sup>®</sup> pre-expansion: Efficacy evaluation in 45 cases. *Ann Chir Plast Esthet*. 2016 Jun;61(3):183-9.
25. Mestak O, Mestak J, Bohac M, Edriss A, Sukop A. Breast Reconstruction after a Bilateral Mastectomy Using the BRAVA Expansion System and Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2013 Dec 6;1(8):e71.
26. Guo Z, Mishra P, Macura S. Sampling the intramyocellular triglycerides from skeletal muscle. *J Lipid Res*. 2001 Jul;42(7):1041-8.
27. English C, Thoirs K, Coates A, Ryan A, Bernhardt J. Changes in fat mass in stroke survivors: a systematic review. *Int J Stroke*. 2012 Aug;7(6):491-8.

**Corresponding author:**

**Libor Streit, M.D., Ph.D.**

**Department of Plastic and Aesthetic Surgery,  
St. Anne's University Hospital Brno  
and Faculty of Medicine, Masaryk University  
Berkova 34, 612 00 Brno  
Czech Republic  
E-mail: liborstreit@gmail.com**



# LIPOMODELLING – ADVANCED TECHNIQUE FOR THE CORRECTION OF CONGENITAL HYPOPLASTIC BREAST MALFORMATIONS AND DEFORMITIES

<sup>1,2</sup>Streit L., <sup>1</sup>Dražan L., <sup>1</sup>Novák P., <sup>3</sup>Schneiderová M., <sup>1</sup>Dvořák Z., <sup>2</sup>Teplá K., <sup>1</sup>Veselý J.+++

<sup>1</sup>Department of Plastic and Aesthetic Surgery, St. Anne's University Hospital Brno, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Plastic and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Radiology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

ACTA CHIRURGIAE PLASTICAE, 58, 2, 00-00.

## SUMMARY

A variety of surgical techniques has been used to correct hypoplastic breast malformations and deformities, including tissue expanders, breast implants, custom chest wall implants, mammary gland remodelling, as well as locoregional or free flap. Case series of successful breast reconstruction using lipomodelling technique in one patient with severe Poland's syndrome and two patients with tuberous breasts are reported together with literature review.

No surgical complications were observed and ultrasound examination did not reveal any pathology in breast tissue other than oil pseudocysts postoperatively. In both malformations, submammary fold was moved downwards. Moreover, the lower part of the breast and areolar herniation was corrected in tuberous breast, and in Poland's syndrome, the areolar complex was significantly shifted downwards and laterally. In comparison with other reconstructive techniques, lipomodelling allows for the breast correction to begin in early

adolescence. Further growth of the unaffected breast may be effectively corrected by subsequent lipomodelling session. This technique appears to change the overall approach to the management of hypoplastic breast and chest wall malformations.

## KEYWORDS

**Congenital, malformation, breast, Poland's syndrome, tuberous, constricted, fat grafting, lipomodelling**

## INTRODUCTION

Congenital hypoplastic breast anomalies usually manifest during puberty and may have a negative impact on personal and social life of the young women. These patients can suffer from feelings of inferiority, peer rejection, low self-esteem and psychosocial dysfunctions. They may avoid to participate in school and sport activities which results as a negative impact on their psychosocial development <sup>1</sup>.

Poland's syndrome is a chest wall deformity characterized by complete or partial absence of the pectoral major muscle, often associated with ipsilateral upper limb malformation. Alfred Poland described this condition in 1841 <sup>2</sup>. The incidence is globally estimated to 1 in 30.000 newborns. Males are more frequently affected with severe forms than females, but less expressed form are more commonly observed in female patients <sup>3</sup>. Upper limb malformation may be highly variable, although the most common are soft syndactyly and hypoplasia of the middle phalanges of

the hand. Fourcas demonstrated that hand malformation was present in only 12% in Poland's syndrome, and thus he proposed classification of Poland's syndrome based on the degree of pectoral muscle hypoplasia, costal malformation and breast hypoplasia <sup>3</sup> :

Grade 1: Minor malformation with pectoral muscle hypoplasia and with breast hypoplasia in female patients which is expressed as discrete breast asymmetry

Grade 2: Moderate malformation with significant aplasia of the pectoral major muscle, significant breast hypoplasia or aplasia causing considerable breast asymmetry in female, and potentially with moderate costal malformation

Grade 3: Severe malformation with complete pectoral muscle aplasia associated aplasia of other muscle, breast aplasia in female patients, thoracic deformity with major costal malformation or sternal deformity. A major asymmetry of the thorax is evident.

Mestak estimated that Poland's syndrome represented 14% of hypoplastic breast anomalies <sup>4</sup>.

Session	Breast volume before surgery [ml]	Volume of transferred fat [ml]	Breast volume after surgery [ml]	Breast volume resorption
I	Chest wall depression (missing pectoral muscle)	187	Chest wall depression corrected	impossible to determine exactly
II	0	200	200	impossible to determine exactly
III	200			
	210			
	350			
	29%			
IV	350	245	500	39%
V	500	240	850	None (contrarily, there was even breast volume increase due to total weight gain)
<b>Total</b>		<b>1082</b>	<b>850</b>	<b>21%</b>

**Table 1.** Breast volume measurement by dipping the breast in a container filled with water. The overall fat resorption was 21%

Tuberous breast is a breast shape deformity which was described under various names such as tuberous breast<sup>5</sup>, tubular breast<sup>6</sup>, herniated areolar complex<sup>7</sup> or narrow-based breast<sup>8</sup>. Deformity is caused by insufficient development of the breast base when the preserved mammary gland is enveloped by fibrous connective tissue called a constricting ring. Residual central part of the gland is expanding during puberty and thus typical tubular herniation of areolar complex may occur. We use Grolleau's classification that defines individual types depending on which quadrants of the breast are undeveloped<sup>9</sup>:

Type I: Only the lower medial quadrant is deficient - lateral part of the breast appears oversized in comparison.

Type II: Both lower quadrants are deficient and subareolar cutaneous segment is short.

Type III: All four quadrants are deficient and breast base is constricted both horizontally and vertically. In typical forms, breast is shaped like a tubercle.

Correction of hypoplastic breast malformations is still challenging. And variety of surgical approaches has been described. The aim of this paper is to demonstrate benefits of lipomodelling technique based on our case series and literature review.

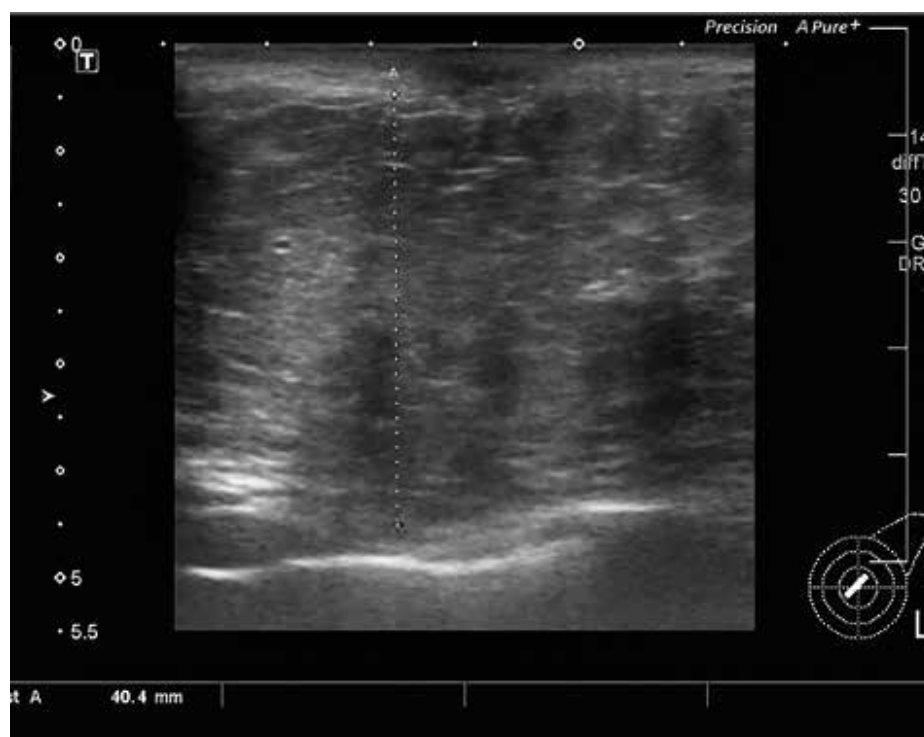
## PATIENTS AND METHODS

From January 2013 to January 2016, three patients with hypoplastic congenital breast anomalies were operated exclusively by lipomodelling in our department.

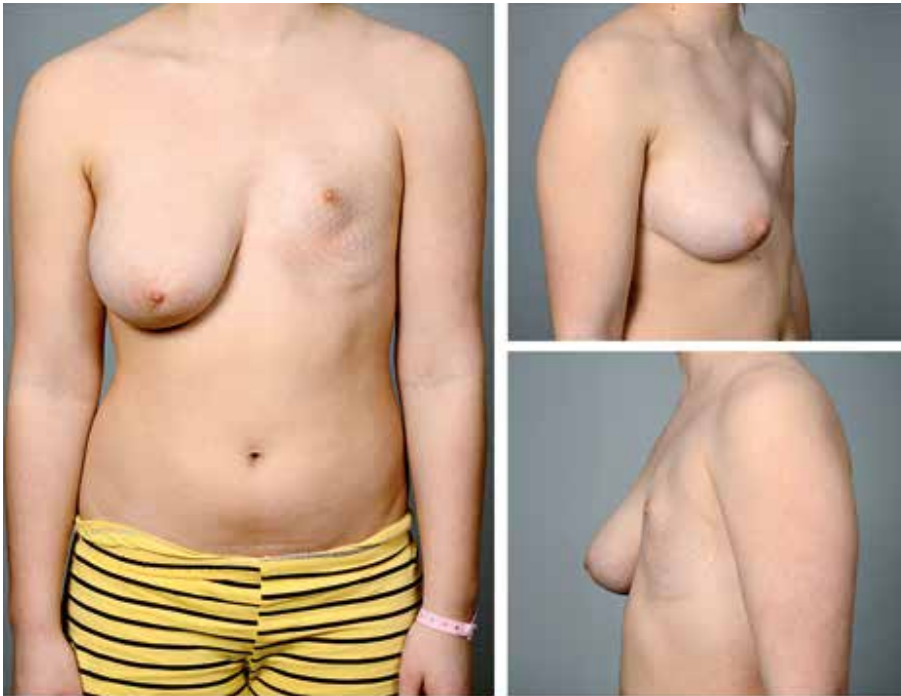
### Preoperative care

Patients and their parents were informed of the advantages and

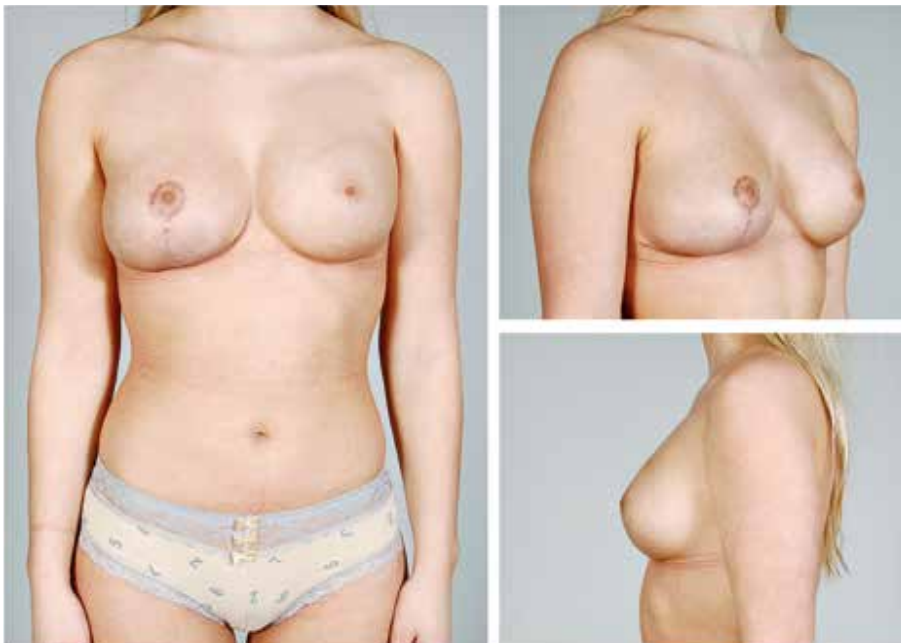
drawbacks of lipomodelling procedures, its complications, and potential risks. They also consented for postoperative ultrasonography examination. On the contrary, ultrasound was an integral part of the preoperative examination prior to the second or other following session of lipomodelling procedures. A precondition for the next session of lipomodelling was benign finding on ultrasound examination after a previous session of lipomodelling (BI-RADS 1 or 2) with no significant fat necrosis. The main inclusion criteria were sufficient adipose tissue deposits and stable



**Fig. 1.** Six months follow-up echography after the final lipomodelling session in the patient with Poland's syndrome showed a benign finding of homogenous tissue. Maximum thickness of the soft tissue (measured from the ribs) was 40.4 mm



**Fig. 2.** A 14 years old female patient with Poland's syndrome grade II on the left with complete aplasia of the pectoral major muscle and significant breast hypoplasia.



**Fig. 3.** The patient with Poland's syndrome - 13 months follow-up (after the last session of lipomodelling) and 2 weeks after secondary mammoplasty

weight preoperatively. Contraindication for the surgery was positive family history of breast cancer, ovarian cancer in first degree relative or patients with a confirmed mutation in BRCA 1,2 gene. Preoperative photographs were taken.

ements that allows to release subcutaneous fibrous septa percutaneously and thus enables to move the submammary fold downwards, sculpture the lower part of the breast, correct areolar herniation in tuberous breast and finally to shift areolar complex downwards in Poland's syndrome.

### Surgical technique

All the procedures were performed under general anaesthesia by a single surgeon (main author) and the result was achieved in the following sessions. Respecting patient's wishes and adipose tissue distribution, donor area included the hips, lower abdomen, trochanter area, inner thighs, inner knees, and also the lumbar region. Low-volume tumescent liposuction was applied (500-750 ml of normal saline with 1:500 000 of epinephrine) according to the protocol of adipose tissue harvesting for lipofilling<sup>10</sup>. We used manual liposuction applying negative pressure by gradually withdrawing the plunger of a 30-ml Luer-lock syringe. We used harvesting cannulas of 3.5 mm in diameter and 17 cm in length (model PLA187, Pouret Medical, France). Lipoaspirate was processed by centrifugation at 1200g for 3 minutes at room temperature directly in 30-ml syringes. Upper oil layer and bottom aqueous layer were removed and complete adipose layer was used for fat transfer.

Processed fat is applied to the thoracic recipient area through several incisions that were made with the sharp bevel of a 17-gauge trocar. 2-3 of them are usually placed in the submammary fold and 2 in areola. Purified fat is transferred directly to the breast region using 10ml syringes with special 2mm transfer cannulas (PLA188, PLA189, Pouret Medical, France). Fat is injected in small quantities while pulling the cannula out in many directions. Transfer is done from deep to a superficial layer. Each microtunnel must be designed to be surrounded by a well-vascularized tissue to avoid creating areas of fatty pools, which could result in fat necrosis. It is essential to overcorrect volume of injected fat, if it is allowed by recipient tissues. Absorption of around 30-40% of the transferred volume can be expected. On the contrary, when the recipient tissues are saturated, further fat injections can cause development of fat necrosis. It is better to schedule an additional session rather than disregard saturation of the tissues.

Multiple fasciotomies with 17-gauge needle are the advanced modeling el-

### Follow-up

All the patients were examined 1) clinically 2 weeks postoperatively after each session of lipomodelling, 2) clinically and by ultrasound shortly before next session of lipomodelling, and finally 3) clinically and by ultrasound at least 6 months after final session of lipomodelling. Photographs were taken during each follow-up visit. We evaluated a number of lipomodelling sessions, volumes of transferred fat and degree of fat resorption. The size, and the number of fat necrosis were evaluated on sonography by a single radiologist.

### RESULTS

From January 2013 to January 2016, three patients with hypoplastic congenital breast anomalies were operated exclusively by lipomodelling in our department (1 patient with Poland's syndrome, 2 patients with tuberous breast). Average of 2 sessions of lipomodelling were needed for achieving desired size of the breast in a correction of tuberous breast deformity and 5 sessions for the breast reconstruction in Poland's syndrome. The minimum time interval between individual surgeries was 3 months. Mean follow-up was 15 months (6–26 months). We achieved breast with a natural appearance and consistency with a bra cup size B–D. We observed no surgical complications; there was not any palpable masses in the breast after lipomodelling.

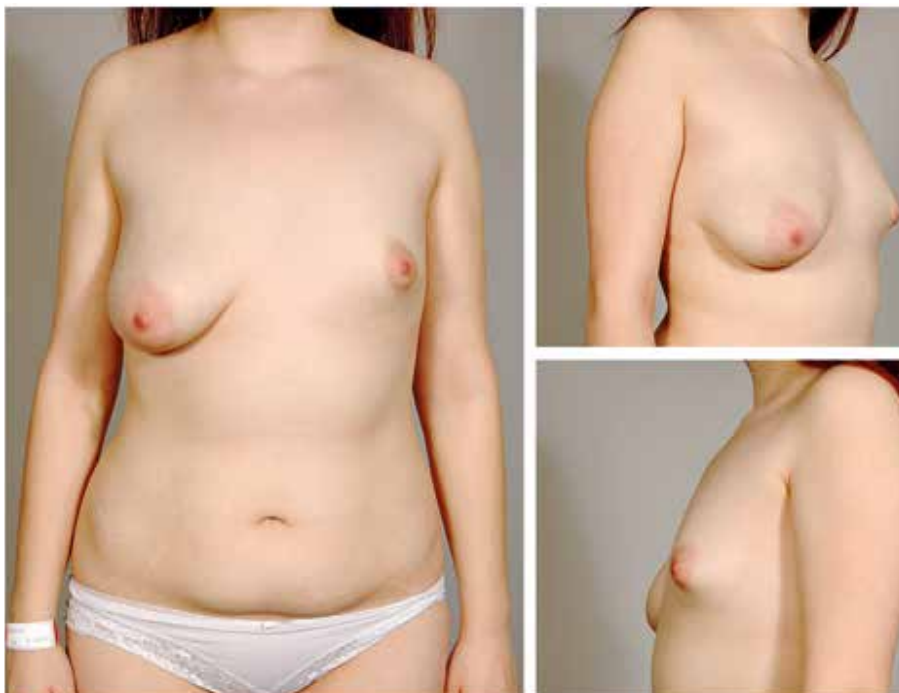
Before the second and every subsequent session, preoperative ultrasonography examinations have showed homogeneous tissue of the operated breast with several small zones of cystoids (oil liponecrotic pseudocysts) or fat necrosis up to 12 mm in diameter, which did not correlate with the clinical examination. The thickness of soft tissue of the breast was gradually increasing between individual sessions. Postoperative echography at least 6 months after the final session of lipomodelling showed the same benign findings of homogenous tissue with several isolated zones of liponecrosis BI-RADS 1–2 as it is described above (Fig. 1).

### CASE SERIES

#### Case 1: 14-year-old patient with Poland's syndrome

A 14-year-old female patient with Poland's syndrome grade II on the left side with complete aplasia of the pec-

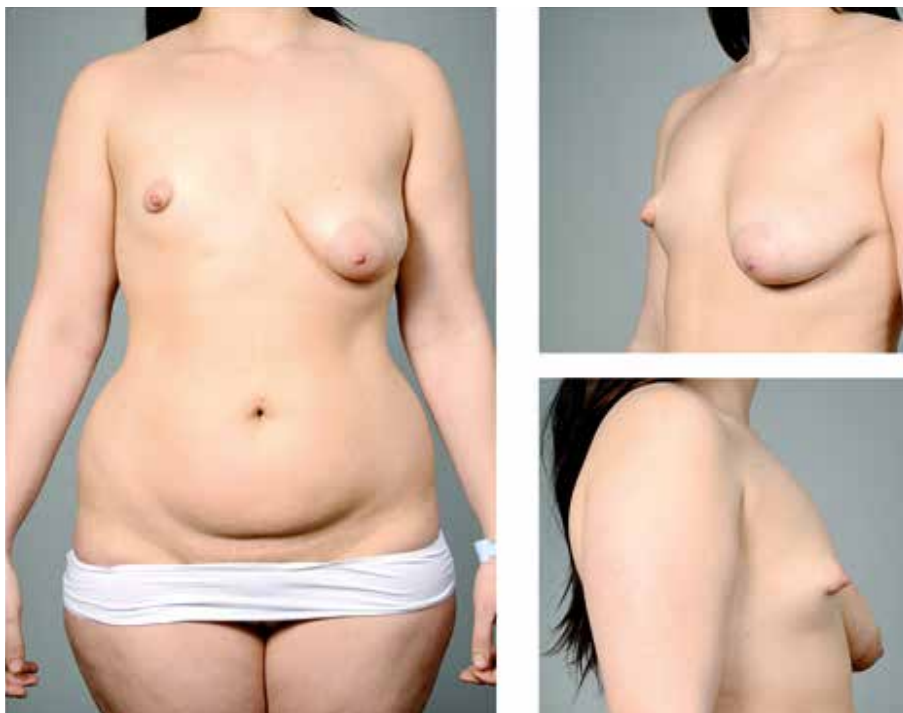
toral major muscle and significant breast hypoplasia was treated at our department. Degree of breast asymmetry was enhanced by breast hypertrophy on the right side (Fig. 2). Breast reconstruction was performed with lipomodelling technique only. The aim of the first session



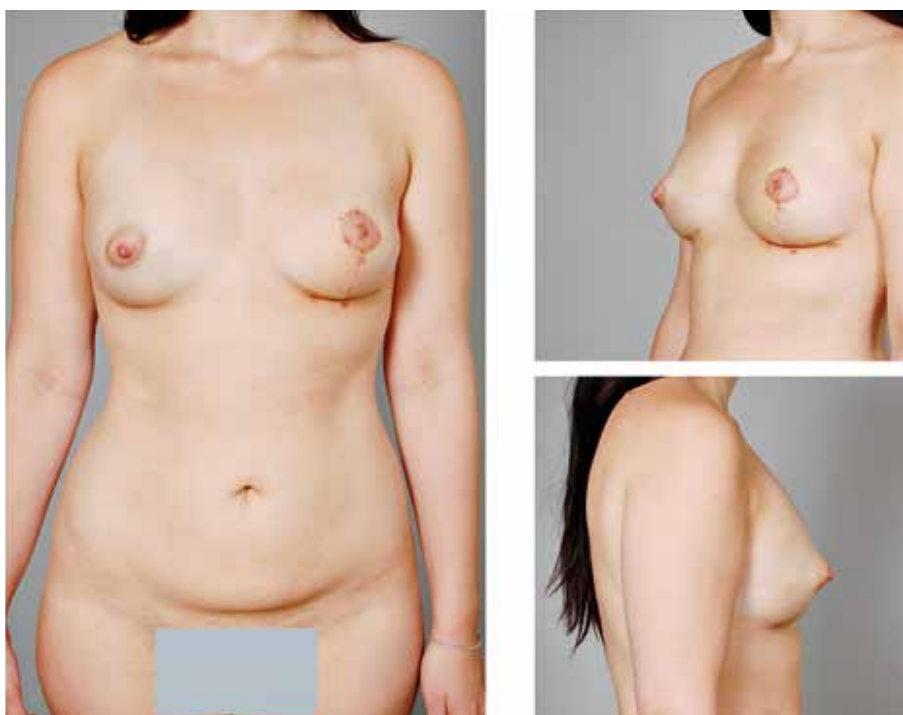
**Fig. 4.** A 17-year-old patient with tuberous breast malformation on the left and with a ptotic right breast



**Fig. 5.** The patient with tuberous breast malformation on the left after 2 sessions of lipomodelling and contralateral vertical mastopexy with augmentation by fat grafting in décolleté area – 6 months follow-up



**Fig. 6.** A 19-year-old patient with bilateral tuberous breast deformity



**Fig. 7.** The patient with bilateral tuberous breast deformity after 2 sessions of lipomodelling and contralateral vertical mastopexy - 3 months follow-up

was to correct chest wall depression caused by the pectoral muscle aplasia. The breast was reconstructed in a total of 5 lipomodelling sessions. The average volume of transferred

fat at one session was 216 ml. Last lipomodelling session was performed in the age of 15 years together with central pedicle mammoplasty of the right breast with reduction of 200g. We evaluated reconstructed breast volume after a second lipomodelling session - the patient was asked to measure breast volume by dipping the breast in a container filled with water. Overall fat resorption was 21% (Table 1). The submammary fold and areolar complex were shifted downwards successfully using fasciotomies. Moderate asymmetry 1 year after the surgery (given by a further growth of the right breast) was corrected by secondary mammoplasty of the right breast (Fig. 3).

**Case 2: 17-year-old patient with unilateral tuberous breast**

A 17-year-old patient with tuberous breast malformation Type II on the left side and with a ptotic right breast (grade 2) underwent surgery at our department (Fig. 4). Correction of tuberous breast deformity was performed in two lipomodelling sessions (240 and 220 ml of fat) at 3-month interval. Superior pedicle vertical mastopexy with augmentation by fat grafting (70 ml) in décolleté area was performed on the right ptotic breast together with the second lipomodelling session. Overall fat resorption as estimated by the patients was about 30%. Satisfactory breast shape and degree of breast symmetry with minimum scars was achieved and the patients were very satisfied with the result (Fig. 5).

**Case 3: 19-year-old patient with bilateral tuberous breast deformity**

A 19-year-old patient with severe breast asymmetry caused by bilateral tuberous breast deformity underwent surgical correction in our department. There was Type III tuberous breast malformation on the right and Type II deformity with the hypertrophy of the residual mammary gland on the left (Fig. 6). Correction of tuberous breast on the right was performed in two lipomodelling sessions (440 and 230 ml of fat) at 3-month interval. On the left, tuberous breast deformity was corrected by superior pedicle vertical mastopexy. Satisfactory breast shape and degree of breast symmetry was achieved 3 months postoperatively (Fig. 7). The patient got pregnant soon after. She was not able to breastfeed but there was hypertrophy of the left breast six months after

childbirth. Patient presents finally with moderate asymmetry 26 months postoperatively caused by a persistent hypertrophy of the left breast (Fig. 8). Patient is satisfied with the result and she does not wish any other correction in this moment.

## DISCUSSION

Coleman codified and made the technique of autologous fat injection popular<sup>11,12</sup>, which is now widely employed in plastic and aesthetic surgery. Delay popularized the technique in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast and considerably expanded the indications for lipomodelling technique<sup>13-16</sup>. The technique is now well established and the complication rate is very low<sup>10,17-19</sup>.

A variety of surgical techniques has been used to correct chest wall and breast deformity in Poland's syndrome, including tissue expanders, breast implants, custom chest wall implants as well as locoregional or free flap, which may be combined if necessary. Complete breast reconstruction by lipomodelling in Poland's syndrome was first performed in 12-year-old patient with severe chest wall deformity by Delay in 2001. 5 sessions of lipomodelling were required to obtain satisfactory result<sup>20,21</sup>. Due to very good results obtained, Delay proposed this reconstructive option to other 10 patients with Poland's syndrome until 2011<sup>22</sup>. The average age of the patients was 16 years (12-24 years), number of lipomodelling sessions was 2.9 (1-5) with average 255 ml of injected fat. No surgical complication was observed. Until 2013, total breast reconstruction using lipomodelling technique was performed in 23 patients by the same surgeon<sup>10</sup>. Pinsolle and colleagues presented case series of 7 patients in which fat grafting was used more as a complementary technique to other reconstructive techniques<sup>23</sup>. Derder and colleagues documented 2 cases of total breast reconstruction using lipomodelling technique in 17- and 19-year-old patients with satisfactory results<sup>1</sup>.

A range of surgical techniques has been used to correct breast shape and volume in tuberous breast, including a combination of skin plasty and mammary gland remodeling, as well as prostheses and locoregional flaps. Among them, lipomodelling has been shown as advanced minimally invasive technique popularized by Delay and Coleman<sup>10,12,14,17</sup>. Delay demonstrated in series of 31 patients that lipomodelling is reliable and safe technique of tuberous breast correction with excellent long lasting natural results. A single session was required in 45% of the patients with mean transfer volume of 158 ml (50-253 ml), the second session was needed in 55% of the patients with mean transfer volume of 226 ml (100-316 ml). No complications were observed postoperatively and 6 months later ultrasound examination did not reveal any anomalies other than oil cysts<sup>16</sup>. Satisfactory results of tuberous breast correction were documented also by Derder (series of 3 patients)<sup>1</sup> and by Klit (in series of 8 patients)<sup>24</sup>.



**Fig. 6.** A 19-year-old patient with bilateral tuberous breast deformity

We believe that fundamental principle of lipomodelling technique, which prevents the formation of fat necrosis, is to respect the capacity of recipient tissue for fat graft. Fat graft must be surrounded by vascularized tissue. Therefore, we consider the initial volume of recipient soft tissues to be essential criteria determining the capacity of recipient tissues. In hypoplastic breast anomalies, we proposed to transfer lower volumes during initial lipomodelling session, especially in correction of Poland's syndrome deformities with hypoplasia or aplasia of the pectoral muscle. Nevertheless, the mean transfer volumes in our case series was 216 ml (187-245 ml) for the correction of Poland's syndrome and 283 ml (220-440 ml) for the correction of tuberous breast, which were much higher in comparison with Delay's studies<sup>16,22</sup>. No surgical complication was observed postoperatively and ultrasound examination 6 months later did not reveal any abnormalities other than oil cysts in our case series.

The key to achieve the desirable results is to use advanced modeling elements, the most important of which are multiple fasciotomies<sup>25</sup> that is well documented in our case series. In both malformations, the submammary fold was moved at least 2-3 cm downwards (see Figures 2-8). Moreover, the lower part of the breast was sculptured and the areolar herniation was significantly improved in the patients with tuberous breast (see Figures 4-8) and on the other hand in Poland's syndrome, the areolar complex was moved 3-4 cm downwards and laterally successfully (see Figures 2 and 3).

Main advantages of lipomodelling technique are accentuated in young patients with hypoplastic breast malformation: 1) minimal invasiveness with aesthetic benefit in donor site, 2) minimal extent of the scars on the breast, 3) short recovery time, 4) implant free procedure with no associated risk of infection, extrusion, rupture, capsular contracture

and recently suggested association with anaplastic large-cell lymphoma, and no needs of implant exchanging in the future.

We believe that lipomodelling allows for the breast correction to begin in early adolescence because further growth and development of the unaffected breast may be effectively corrected by subsequent session of lipomodelling – autologous and minimally invasive procedure. Furthermore, these young patients can considerably appreciate even partial improvement of their asymmetry after the first session(s) of lipomodelling. More difficult is the timing of possible mastopexy or breast reduction of the contralateral breast if it is required. If accepted by the patient, we recommend performing this surgery from the age of 18 years, when the breast volume is more stable. On the other hand, secondary mammoplasty is not associated with additional anesthesia, if the primary mammoplasty is performed in one session with the final session of lipomodelling.

## CONCLUSION

Lipomodelling is advanced and minimally invasive technique for the correction of congenital hypoplastic breast malformation without need of a silicone implant. In our case series, we confirmed safety of this therapeutic approach. No surgical complications were observed and ultrasound examination within 6 months postoperative did not reveal any abnormalities other than oil cysts in our case series. Submammary fold was moved downwards, the lower part of the breast and areolar herniation were corrected in tuberous breast and finally areolar complex was effectively shifted downwards and laterally in Poland's syndrome. Lipomodelling allows breast correction to begin in early adolescence because further growth of the unaffected breast may be effectively corrected by subsequent session of lipomodelling. This technique appears to change the overall approach to the management of hypoplastic breast and chest wall malformations.

**Declaration of interest:** The authors report no conflict of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

## REFERENCES

1. Derder M, Whitaker IS, Boudana D, et al. The use of lipofilling to treat congenital hypoplastic breast anomalies: preliminary experiences. *Ann Plast Surg.* 2014;73(4):371-7.
2. Poland A. Deficiency of the pectoral muscle. *Guy's Hosp Rep.* 1841;6:191-3.
3. Foucras L, Grolleau JL, Chavoïn JP. [Poland's syndrome and hand's malformations: about a clinic series of 37 patients]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2005;50(2):138-45.
4. Měšťák J, Zadorožná M, Cakrtová M. Breast reconstruction in women with Poland's syndrome. *Acta Chir Plast.* 1991;33(3):137-44.
5. Rees TD, Aston SJ. The tuberous breast. *Clin Plast Surg.* 1976;3(2):339-47.
6. Williams G, Hoffman S. Mammoplasty for tubular breasts. *Aesthetic Plast Surg.* 1981;5(1):51-6.
7. Bass CB. Herniated areolar complex. *Ann Plast Surg.* 1978;1(4):402-6.
8. Puckett CL, Concannon MJ. Augmenting the narrow-based breast: the unfurling technique to prevent the double-bubble deformity. *Aesthetic Plast Surg.* 1990;14(1):15-19.
9. Grolleau JL, Lanfrey E, Lavigne B, Chavoïn JP, Costagliola M. Breast base anomalies: treatment strategy for tuberous breasts, minor deformities, and asymmetry. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104(7):2040-8.
10. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. Lipomodelling: An important advance in breast surgery. *Acta Chir Plast.* 2013;55(2):34-43.
11. Coleman SR. Long-Term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plastic Surgery.* 1995;19(5):421-5.
12. Coleman SR, Saboeiro AP. Fat grafting to the breast revisited: Safety and efficacy. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2007;119(3):775-85.
13. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Comparin JP. Breast reconstruction with the autologous latissimus dorsi flap. Preliminary report of 60 consecutive reconstructions. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthétique.* 1997;42(2):118-30.
14. Delay E. Breast deformities. In: R CS, ed. *Fat Injection: from Filling to Regeneration.* Saint Louis: Quality Medical Publishing (QMP); 2009:545-86.
15. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodelling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plast Surg.* 2010;34(2):218-25.
16. Delay E, Sinna R, Ho Quoc C. Tuberous breast correction by fat grafting. *Aesthet Surg J.* 2013;33(4):522-8.
17. Delay E, Garson S, Toussoun G, Sinna R. Fat Injection to the Breast: Technique, Results, and Indications Based on 880 Procedures Over 10 Years. *Aesthetic Surgery Journal.* 2009;29(5):360-76.
18. Agha RA, Fowler AJ, Herlin C, Goodacre TE, Orgill DP. Use of autologous fat grafting for breast reconstruction: a systematic review with meta-analysis of oncological outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2015;68(2):143-61.
19. 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.
20. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodelling of Poland's syndrome: A new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plastic Surgery.* 2010;34(2):218-25.
21. Coudurier J, Ho Quoc C, Ismail M, Dlimi C, Tourasse C, Delay E. [Long-term outcome of lipomodelling in Poland's syndrome: about our first case with an eleven-years' follow-up]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2015;60(1):65-9.
22. La Marca S, Delay E, Toussoun G, Ho Quoc C, Sinna R. [Treatment of Poland syndrome thorax deformity with the lipomodelling technique: about ten cases]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2013;58(1):60-8.
23. Pinsolle V, Chichery A, Grolleau JL, Chavoïn JP. Autologous fat injection in Poland's syndrome. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008;61(7):784-91.
24. Klit A, Siemssen PA, Gramkow CS. Treatment of congenital unilateral hypoplastic breast anomalies using autologous fat grafting: A study of 11 consecutive patients. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2015;68(8):1106-11.
25. Ho Quoc C, Sinna R, Gourari A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Percutaneous fasciotomies and fat grafting: indications for breast surgery. *Aesthet Surg J.* 2013;33(7):995-1001.

Corresponding Author:

**Libor Streit, M.D.**

Department of Plastic and Aesthetic Surgery  
St. Anne's University Hospital  
Berkova 34, 612 00 Brno, Czech Republic  
E-mail: liborstreit@gmail.com



# LIPOMODELLING: AN IMPORTANT ADVANCE IN BREAST SURGERY

Delay E.<sup>1,3</sup>, Streit L.<sup>2</sup>, Toussoun G.<sup>1</sup>, La Marca S.<sup>1</sup>, Ho Quoc C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Lyon; Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Léon Bérard Center, Lyon, France

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Masaryk University; Department of Plastic and Aesthetic Surgery, St. Anne's University Hospital, Brno, Czech Republic, and

<sup>3</sup>50, Rue de la République, 69002 Lyon, France

*ACTA CHIRURGIAE PLASTICAE*, 55, 2, 2013, pp. 34-43

## ABSTRACT

Based on long-term experiences, the authors consider lipomodelling to be a major advance in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast. The technique is now well established and the complication rate is very low. The risk of focal fat necrosis is around 3%. Oncological follow-up (now 14 years for the first patients) shows no increased risk of local recurrence or development of a new cancer. 30-40% of the injected fat is absorbed. Volume of the breast becomes stable in 3 to 4 months and remains definitive if the patient maintains constant weight.

Because of very good results obtained and excellent acceptance of the procedure by the patients, this technique has completely modified our indications. In breast recon-

struction, lipomodelling with autologous latissimus dorsi flap enables obtaining an entirely autologous breast in the majority of the patients. Analogically, lipomodelling can improve results of implant reconstructions, especially if the expander or the implant is planned to be exchanged. Lipomodelling is an effective tool for correction deformities especially in the décolleté after breast reconstruction with abdominal flap (DIEP, SIEA and TRAM).

Lipomodelling is also progressively used in the correction of breast and chest wall deformities. In Poland syndrome, this technique appears to be a major advance that will probably revolutionize the treatment of severe cases. This is mainly due to its ability to achieve previously unachievable quality of reconstruction with minimal scarring. The application of lipomod-

elling in the treatment of pectus excavatum deformities is promising. Lipomodelling represents an advanced therapeutic alternative for tuberous breasts without the need to use an implant, as well as for breast asymmetry due to unilateral hypoplasia. Lipomodelling is an ideal option for cosmetic breast augmentation in patients who wish to achieve moderate, natural enlargement of breasts and who have considerable fat deposits.

## KEYWORDS

**breast; lipomodelling; lipofilling; fat; harvesting; preparation; transfer; reconstruction; radiotherapy; malformation; augmentation; tuberous breasts; Poland syndrome; pectus excavatum**

## INTRODUCTION

Transferring fat from an area where it is present in excess to the breast in order to improve its shape and volume is not a new idea. Illouz, the author of liposuction (1), used fat from adipose deposits to increase the volume of the breast in 1983. Similarly, Bircoll described his technique of breast augmentation by fat injection in 1987 (2, 3, 4). Many surgeons were sceptical with regards to this technique, since the principles enabling fat transfer with little likelihood of focal fat necrosis were not established (5, 6). In addition, breast imaging was less advanced than it is today, and any swelling in the breast raised a potential diagnostic difficulty. The fact that injections of fat to a native breast could produce microcalcifications and result in development of cysts was the reason why the American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons (ASPRS) was refused the use of autologous fat injection in breast augmentation in 1987. These statements were made without any references or sci-

entific studies and were based on the opinion of the ASPRS committee members. Due to this prohibition, research and experimental studies in this field were stopped. Ironically, a retrospective study of mammographic changes after breast reduction that reported calcifications in 50% of cases at 2 years was published in the same journal at the same time (7, 8). In spite of that there was no discussion regarding the possibility to abandon breast reductions due to the risk of interference with breast cancer detection.

Interest in fat injection reawakened in the early nineties following the work of Coleman (9, 10), who confirmed that fatty tissue could be transferred satisfactorily if a strict protocol for fat preparation and injection was respected. Based on this work, we started our own research in 1998, aiming to evaluate fat transfer in the chest wall and breast. Our research enabled to develop this technique further and we called it lipomodelling (11). We were able to evaluate its efficacy and tolerance and to show that it is free of adverse clinical or radiological effects. We developed the technique of autologous breast reconstruction by latissimus dorsi flap





**Fig. 1a.** Fat harvesting and preparation, Harvesting with the harvesting cannula fitted directly onto the 10 ml Luer Lock® syringe; preoperative view



**Fig. 1c.** Centrifugation of the syringes in batches of 6



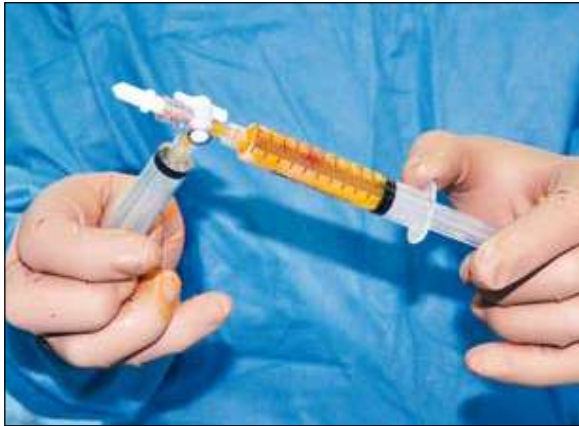
**Fig. 1b.** The syringe is sealed with a screw top



**Fig. 1d.** Centrifugation separates fat into 3 layers. Only the middle layer of purified fat will be retained

and lipomodelling without the need of an implant (12, 13, 14, 15). The protocol was initially proposed for volunteer patients who agreed to undergo strict follow up. According to our findings that this technique was extremely effective and free of any adverse effects, we extended the indications. In the same time we performed mammography, ultrasound and MRI studies (16). Then we progressively extended the

indications of lipomodelling to breast reconstruction in various contexts, to breast deformities, and then also to cosmetic breast surgery. Gino Rigotti, Italy, in 2002 started to use fat transfer in the breast, especially for the consequences of previous radiotherapy. His work is now well known worldwide, especially due to his article in the Plastic and Reconstructive Surgery 2007 in which he confirmed the effectiveness of fat



**Fig. 1d.** Transfer from one syringe to another, using a 3-way tap to obtain 10 ml syringes containing pure fat



**Fig. 2b.** Demonstration of the principle of fat transfer: fat is injected while the cannula is gently withdrawn, leaving a fine cylinder of fat resembling spaghetti; postoperative oblique view



**Fig. 2a.** Fat transfer. Disposable cannula designed for fat injection in lipomodelling and incisions in the breast with 17-gauge trocar; preoperative oblique view



**Fig. 2c.** Principles of fasciotomies using 17-gauge trocar

transfer on the consequences of radiotherapy, and he emphasized the effectiveness of fat because of the contribution of stem cells (adipose tissue-derived stromal cells [ADSCs]) (17). Roger Khouri had the idea to combine the fat transfer with the use of the external vacuum expansion system Brava® that he invented in the late nineties (18). Many studies have now confirmed the efficacy of fat transfer to the breasts and for other various applications. An international scientific society called ISPRES (International Society of Plastic Regenerative Surgery), in which we are the founding member, has been established to explore the many possible applications of fat transfer. Its first meeting took place in Rome in March 2012. Fat transfer is currently accepted as a part of the armamentarium in breast reconstruction, for the consequences of conservative management, deformities of the breast and breast hypotrophy, and it is considered to be highly effective by the scientific community (19, 20).

The main aim of this paper is to present the advanced breast lipomodelling technique that we developed thanks to the long-term experiences and to review its success rate,

complications, radiological and oncological aspects and indications.

## SURGICAL TECHNIQUE

### Patient preparation and anaesthesia

Patients obtain information about the operative technique and potential risks and complications and receive an information leaflet. It is important that the patient's weight was stable at the time of the procedure, as the injected fat retains the memory from the area of its origin (if the patient loses weight after lipomodelling, she will lose some of the benefits of the procedure).

The various adipose areas of the body are examined to determine the distribution of the fat deposits. In general, abdominal fat is used first because harvesting from this area does not require any change in the patient's position during the procedure and its removal is appreciated by the patients. The secondary sites include abdomen sides, trochanteric region and the inside of the thighs and knees.

The harvesting areas as well as the areas of the breast that require correction are marked.

Prophylactic antibiotics are usually given preoperatively. No specific antibiotics are prescribed in case of lipomodelling. Lipomodelling is performed under general anaesthesia in the majority of patients. Local anaesthesia can only be used for minor revisions to correct any residual defect.

### Fat harvest and fat preparation

Harvesting sites are infiltrated (500ml saline with 1mg of epinephrine). Incisions are made with a scalpel with No. 15 blade. For abdominal harvesting, 4 incisions are made around the navel and a lateral incision on each side if lateral abdominal and supra-iliac fat is to be harvested. For harvesting of fat from the thighs, an incision is made in each subgluteal fold, and often on the inside of the knees as well.

Special cannula with a blunt tip is used for the fat harvest (PLA 187, Pouret Medical, Clichy, France). Harvesting is done manually using a syringe. The 10 ml Luer Lock syringe is fitted directly on to the harvesting cannula. Suction is moderate (Fig. 1a) to minimize damage to the adipocytes. Excessive mechanical suction could have a harmful effect on adipocyte survival. Enough fat must be harvested to compensate for loss during centrifugation and for absorption after fat injection.

The assistant prepares the syringes for centrifugation during the simultaneous fat harvesting procedure. They are sealed with a screw top (Fig. 1b) and then centrifuged in batches of six (Fig. 1c) for 20 seconds at 3200 rpm.

Centrifugation separates the harvested fat into three layers (Fig. 1d):

- the top layer of oily fluid containing chylomicrons and triglycerides resulting from cell lysis,
- the lower layer of blood residues and serum, as well as the infiltration fluid,
- the middle layer of purified fat. This is the useful layer, which will be injected. The other two layers are discarded, the lower layer simply by removing the top, the upper layer by pouring off the oil which covers the middle layer.

The team must be well organized so that the fat can be prepared efficiently and rapidly. Using a three-way stopcock, the purified fat can be pooled in 10 ml syringes, by transfer from one syringe to another (Fig. 1e).

We use infiltration with diluted Ropivacaine at the end of the harvest to control pain in these sites during the first 24 hours. At the end of the procedure, a compressive Elastoplast dressing is applied for five days.

### Fat transfer

At the recipient site on the breast, if previous scars are already present, we try to make an incision along the same lines. Several incisions are made in order to create a honeycomb of multiple microtunnels for fat transfer. Two of them are usually placed in the submammary fold, two in areola and one is often in the décolleté area. The incisions are usually made with the sharp bevel of a 17-gauge trocar. This makes an adequate incision while limiting scar consequences, which will be shaped as a hole and virtually invisible (Fig. 2a).

Purified fat is transferred directly to the breast region using 10ml syringes with special 2mm transfer cannulas (PLA188, PLA189, Pouret Medical, Clichy, France). Fat is injected in small quantities, in the form of fine cylinders

resembling spaghetti (Fig. 2b). Microtunnels must be created in many directions. Transfer is done from deep to superficial plane. Good spatial visualization is necessary to form a sort of three-dimensional honeycomb, to avoid creating areas of fatty pools, which could result in fat necrosis. On the contrary, each microtunnel must be designed to be surrounded by well-vascularized tissue. It is necessary to know how to overcorrect the quantity of fat injected, if it is allowed by recipient tissues, as absorption of about 30–40% of the transferred volume can be expected.

When the recipient tissues are saturated and cannot absorb additional fat, it is useless to continue, because of the risk to induce areas of fat necrosis. It is better to plan an additional session rather than disregard saturation of the tissues. Incisions are sutured using very fine suture material.

Technique of multiple fasciotomies performed with 17-gauge trocar is one of the advancement of lipomodelling technique. Fasciotomies may release scars, enable moving the submammary fold downwards and sculpture the lower part of the breast if required (tuberous breast) (Fig. 2c).

### Postoperative care

Pain in the harvesting areas resembles pain after liposuction and it is greater than in recipient breast areas. Patients complain of pain for 48 hours, which can be treated with ordinary analgesics. Infiltration of harvesting areas by diluted Ropivacaine helps to control pain during the first 24 hours. Class 1 analgesics are prescribed for about two weeks.

**In the harvesting areas**, compressive Elastoplast dressing is left for five days. An abdominal supporting belt may be advisable for six weeks but it is not prescribed systematically. Bruising is very marked and persists for about three weeks. Postoperative oedema subsides totally or almost totally in three months. To accelerate absorption of oedema, we ask patients to massage their harvesting sites with a circular motion.

**In the breast**, bruising resolves in about two weeks. Oedema resulting from the procedure resolves in about one month. During the first three post-operative months, 30–40% of the transferred volume is gradually lost, but the patient may have the impression that she has lost about 50% because of the oedema, as she sees the result the day after the procedure when the breast is most swollen.

### LONG-TERM FOLLOW-UP

Based on the first author's personal experience of 1440 interventions from 1998 to May 2012, and with a 14-year follow-up of the first patients, reliable indications on long-term follow-up can be given.

### Clinical follow-up

All patients were clinically followed up and reviewed after 15 days, 3 months and 1 year. Photographs were taken at each visit. A detailed follow-up protocol was used, the goal of which was to assess the quality of the result from the patient's and the surgeon's viewpoint, patient satisfaction and any adverse effects or complications.

The results were considered very good or good in the majority of the cases. Very few results were considered moderately good and none as poor. The percentage of good or very good results depends on the sub-population studied

in relation to the indications. For example, out of 200 breast reconstructions with extended latissimus dorsi flap and lipomodelling, there were 20% of patients satisfied or 80% of patients very satisfied with the results and 4,5% were rated by the clinical team as satisfactory and 95,5% as very satisfactory (no poor results were reported) (15). In case of the lipomodelling correction of the consequences of conservative management there were 50% very good, 40% good and 10% moderate results (21).

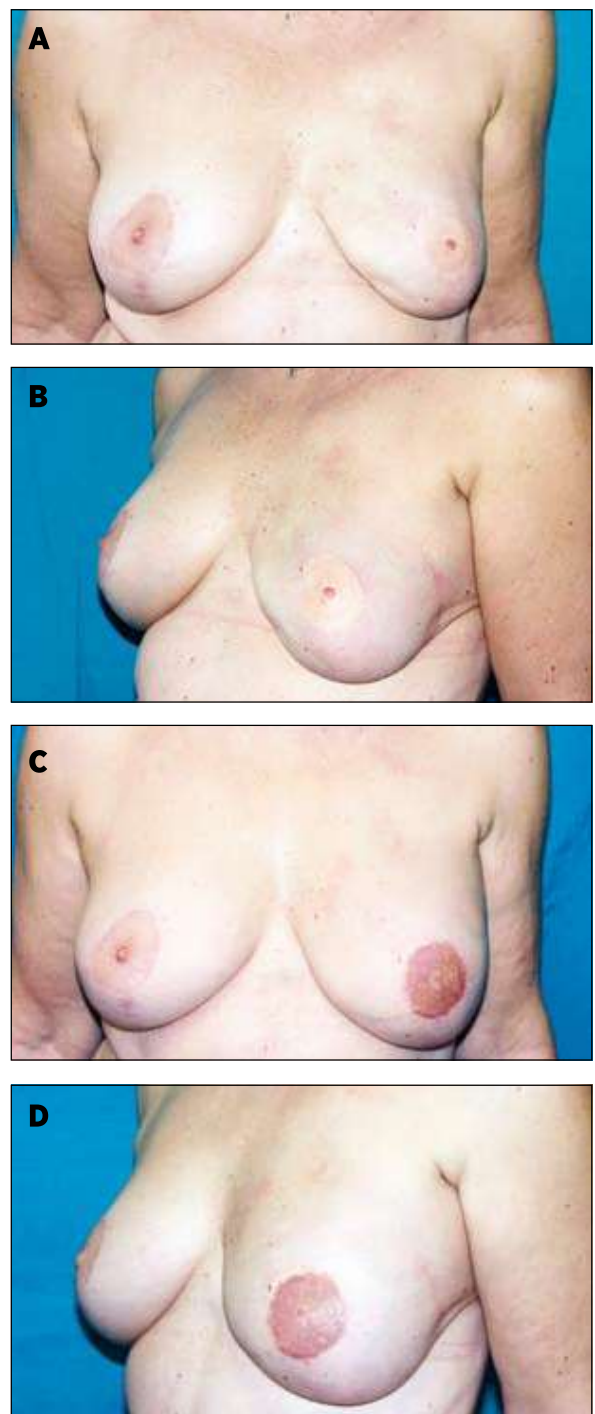
### Radiological follow-up

We carried out three radiological studies (mammography, ultrasound, MRI): imaging of breasts reconstructed by autologous latissimus dorsi flap and lipomodelling (16), imaging of conservatively managed breasts after lipomodelling (22), and imaging of breasts augmented by lipomodelling (asymmetry, tuberous breasts, Poland syndrome) (23). Our findings have shown that if lipomodelling was carried out in accordance with modern principles of fat transfer, it had no effect on breast imaging. The prerequisite to achieve these results is a collaboration of an experienced surgeon with a specialized radiologist.

Imaging in the majority of reconstructed breasts was normal, with some images of oily cysts and fat necrosis. All of the images demonstrated benign lesions that could be easily distinguished from suspicious lesions. Abnormal images were essentially oily cysts, occurring in 15% of cases. The most complex situation concerned lipomodelling for the consequences of conservative management, since this population develops fat necrosis already in about 20% of patients following conservative management, and lipomodelling doubles this rate by generating mainly oily cysts and sometimes more complex lesions of fat necrosis. Due to the spontaneous local recurrence rate of 1.5% per year, follow up must be careful. We believe that this indication should be restricted to multidisciplinary teams working with radiologists. Radiological follow-up of breast augmented with fat grafting is not problematic - microcalcifications were observed in 16% of mammograms; macrocalcification in 9%; well focused images of cystic lesions in 25%. There was no significant difference between breast density before and after fat injection demonstrated in our previous retrospective study (23). Others papers showed no statistically significant differences between the number of these lesions in the breast after fat transfer and in the breast after a reduction mammoplasty, which is a widely accepted procedure (8).

### Oncological long-term follow-up

14 years of oncological follow-up have not revealed an increased risk of local recurrence after mastectomy or after conservative management. Oncological outcome of 646 lipofilling procedures in 513 patients was evaluated in a recent multicenter study (24). 370 mastectomy and 143 breast conservative surgery patients were included (405 of them (78.9%) had a diagnosis of invasive carcinoma and 108 (21.1%) of carcinoma in situ). The overall oncological event rate was 5.6% (3.6% per year). Locoregional event rate was 2.4% (1.5% per year). A prospective clinical registry including high volume multicentre data with a long follow-up is warranted to demonstrate the oncological safety. Until then, lipofilling should be performed in experienced hands and a careful oncologic follow up protocol is advised.



**Fig. 3.** Patient aged 55 years. Poor result after skin-sparing mastectomy and one-stage immediate autologous latissimus dorsi breast reconstruction on the left. Results 3 months after 470 ml one-stage lipomodelling, still a bit over-corrected  
a) preoperative view  
b) preoperative oblique view  
c) postoperative view  
d) postoperative oblique view

There are no studies to show a higher risk of breast cancer developing after lipomodelling of otherwise healthy breast (breast augmentation, tuberous breasts, Poland syndrome) (25).

## EVALUATION OF THE SUCCESS RATE

The success rate is fairly easy to evaluate by clinical examination, the patient's opinion, and comparison of the photographs taken at each consultation with previous photographs. 30–40% of the volume gained by fat transfer is gradually lost after the first lipomodelling session. Volume is stable after 3 to 4 months and remains stable if the patient maintains constant weight. If the fat harvested is very oily (a very high percentage of oil after centrifugation), absorption may be higher (40–50%) and may continue over a longer period (up to 5 to 6 months). If there is a second fat transfer, absorption is lower (20–30%) (26).

If the patient loses weight, the volume of transferred fat decreases and the resulting smaller breast size may lead to asymmetry. It is therefore important for the patient to understand that she must maintain a stable weight. On the other hand, if she gains weight, breast volume increases in correspondence with the fat from the adipose deposit. When a second session is required to obtain sufficient fullness, absorption seems to be lower, between 20 and 30%.

Very long-term evaluation (5 or 6 years) confirms that volume remains stable. If breast asymmetry returns after weight loss (for example after discontinuation of anti-hormonal treatment as adjuvant therapy of breast cancer), a complementary lipomodelling session can easily be performed. This technique thus offers a flexibility and precision for long-term revision that is much appreciated by the patients (19).

## COMPLICATIONS

Irregularities at the donor site may be due to uneven harvesting of the fat deposit, therefore harvesting is sometimes supplemented with liposuction in order to improve the result and to achieve greater patient satisfaction. The majority of patients are satisfied by the loss of excess fat, and this secondary advantage probably contributes to the very high satisfaction rate with this technique.

Local infection occurred in only one of the 1440 lipomodelling procedures. This was seen as redness around the navel and was treated without difficulty by antibiotics and local application of ice, with no long-term consequences.

**In the breast**, the scars must be well placed, in the submammary fold or in its axillary prolongation, or in the areolar region where scars are always less visible. The sternal area should be avoided due to an increased risk of hypertrophic scarring, presenting as small red hypertrophic punctate scars. The incisions are usually virtually invisible.

10 infections occurred among the 1440 lipomodelling procedures of the breast and chest wall. They presented as redness of the breast. Removal of sutures, topical treatment, antibiotics and the application of ice completely resolved the problem with no impact on the final result.

We had one case of intra-operative pneumothorax (1 case in 1440 procedures). A pleural drain was inserted and oxygen saturation returned to normal with total recovery and no later consequences. To avoid this complication, projection of the areolar region should be improved via two

incisions in the submammary fold rather than via the areolar region itself.

We experienced no case of fat embolism. There could be a risk if fat was injected in a large vessel. Extreme caution is recommended in the subclavian area. In particular, in case of the breast and chest wall deformities in Poland syndrome the subclavian vessels may be located lower than normally.

Local clinical fat necrosis is observed in 3% of cases if lipomodelling is performed by an experienced surgeon. The risk may be higher during the surgeon's early experiences. In these cases, the recipient areas were probably oversaturated by large amount of fat. When the recipient tissue is saturated with fat, the surgeon should not continue with application of fat, since there is a risk of fat necrosis development. Such areas have typical features: mild tenderness and they are stable over time or gradually decreasing. Any increase in the size of the hard swelling, even in a reconstructed breast, should be subject to microbiopsy performed by a radiologist in order to rule out a malignant change (19).

## INDICATIONS

Lipomodelling of the breast and chest wall is a technique, which currently has numerous indications. After breast reconstruction, it can be used whenever a localized defect requires correction or additional volume. The décolleté area is ideal for fat injection. Lipomodelling improves the volume, shape, projection, feel and silhouette of the breast. After flap reconstructions, fat transfer can add considerable volume and it preserves the entirely autologous nature of the reconstruction. In breast and chest wall deformities, fat injection enables to achieve very natural reconstructions, without an implant or a flap, that cannot be obtained with conventional techniques. In aesthetic surgery of the breast, fat transfer eliminates the need for an implant (augmentation, mastopexy with a slight lack of fullness of the upper pole of the breast) or can correct certain defects of implant augmentations.

### Lipomodelling after autologous latissimus dorsi breast reconstruction

Autologous reconstruction avoids the complications of implants and the flap can be adjusted to form a breast resembling the opposite breast that will be stable over time and will be integrated better into the patient's body image. The autologous latissimus dorsi flap (11, 12, 13, 14, 16) has gradually replaced the abdominal flap reconstruction over the last ten years in our department, as the postoperative course is simpler and it makes better use of local thoracic tissue, avoiding a patch effect on the breast. Lipomodelling of a breast reconstructed by autologous latissimus dorsi flap offers numerous advantages: the reconstruction is still entirely autologous, cost is relatively low, the technique is reproducible and the procedures can be repeated if the result is not adequate, the breast has a natural appearance and feel and it is symmetric to the opposite breast, and finally there is the secondary advantage of removing patient's displeasing fat by suction. Combination of abdominal advancement flap with latissimus dorsi reconstruction may reduce the number of horizontal scars (to only one) in secondary cases before lipomodelling (27). An immediate nipple reconstruction may be performed in one session together with immediate breast reconstructions before lipomodelling (14).

The autologous latissimus dorsi flap is the most suitable tissue to receive fat transfer as it is very well vascularized and very large quantities of fat can be injected. Mean volumes of 200 ml and up to 450 ml per breast and per session in a single session have recently been injected with very good results. The autologous latissimus dorsi flap can now be considered to be an auxiliary method that prepares the breast recipient site for future lipomodelling. We can proceed with lipomodelling quite early (after 3 months), before muscle atrophy is maximal, in order to take the advantage of the volume effect, which allows the area to accept sufficient fat.

This technique is well accepted by the patients, who can see its efficacy and clearly understand its concept. The morphological results are objectively considered as very good (Fig. 3) and the patients are very satisfied with this procedure, which improves the reconstructed breast and reduces unaesthetic fat deposits. From our experience, the autologous latissimus dorsi flap in combination with lipomodelling now makes implant-free reconstruction possible in the vast majority of cases (15, 22, 23). Only few patients with no adipose deposits suitable for harvesting cannot benefit from this technique.

### **Lipomodelling of the implant-reconstructed breast**

The fat may be transferred to the décolleté area (upper medial part of the breast), where lipomodelling is mainly intrapectoral. When lipomodelling is performed during replacement of an implant, fat is injected between the skin and the capsule. Laterally, fat is injected between the skin and the capsule and this can only be done when the implant is exchanged. The best results are obtained when lipomodelling is combined with implant replacement. Smaller quantities are injected, from 50 to 150 ml. As the tissue is less well vascularized than the autologous latissimus dorsi, it must be slightly less saturated with fat to ensure satisfactory survival of the transplant.

The results in our series revealed no complication inherent to this technique, bearing in mind that if lipomodelling approaches close to the implant, we advise that it should be systematically exchanged to avoid the risk of leaving an implant that could have been damaged by the transfer cannula (11, 20, 28). We found that the technique was well accepted by the patients and that both patients and the surgeons were highly satisfied. It does in fact provide results that could not be obtained by the use of an implant alone. Lipomodelling seems to reduce the risk of capsular contracture, but as yet we have no statistical evidence.

### **Lipomodelling of the TRAM and DIEP flap reconstructed breast**

Although numerous authors consider the TRAM flap as the technique, which gives the best results in breast reconstruction, defects may also develop after its use. These include asymmetry of volume, lack of projection or a defect of the décolleté related to atrophy of the upper part of the pectoralis major muscle following the joint effect of axillary dissection and radiotherapy of the chest wall.

We used lipomodelling to breasts reconstructed with a TRAM flap in our own or in other patients. During secondary revision, we now perform intrapectoral lipomodelling and lipomodelling of the flap, insisting on the areas which lack fullness. In some cases, lipomodelling aiming to in-

crease the overall volume of the flaps was carried out without any particular difficulty. We should keep in mind that a little less fat should be injected than with an autologous latissimus dorsi flap, as the former is not so well vascularized and the risk of fat necrosis may be higher.

In my own experience, I have not observed any complication inherent to this technique and our objectives were attained: improvement of the overall shape of the breast and improvement of the upper décolleté area (19).

### **Breast reconstruction by repeated lipomodelling**

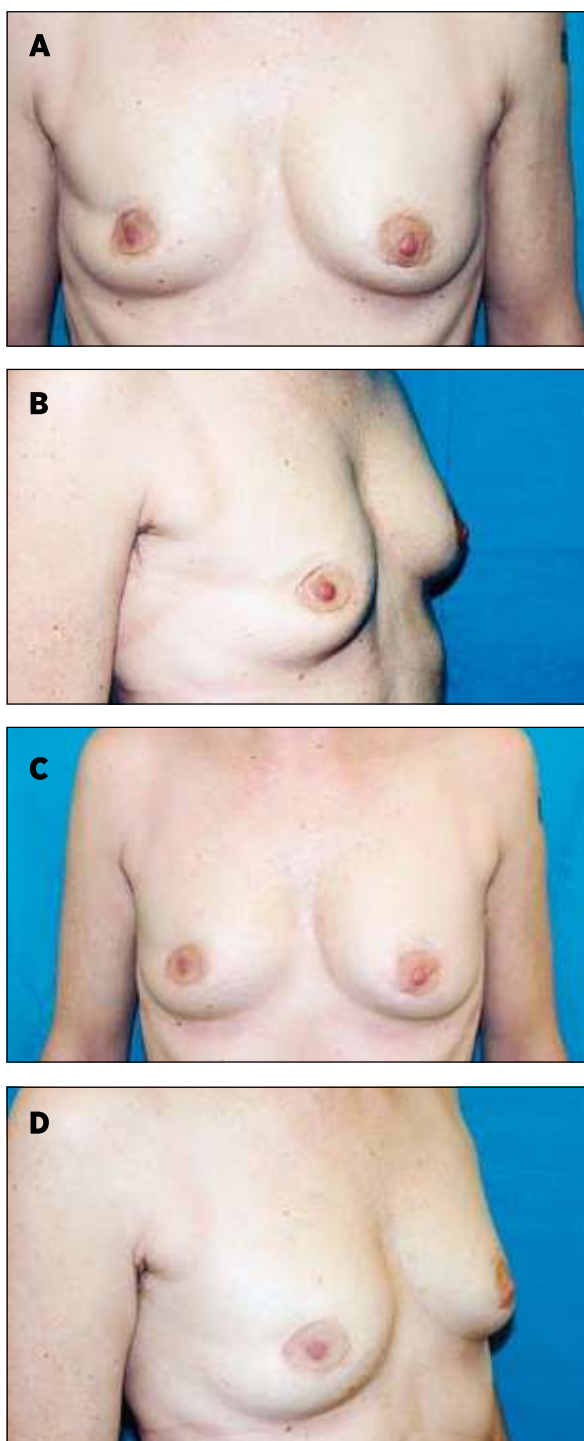
We developed a protocol for breast reconstruction by the use of lipomodelling alone. At the present time, it is exclusively used in patients with a small opposite breast and with suitable fat deposits (typically a patient with a slim upper body and a fatter lower body). The technique consists of reconstructing the breast in several stages, using only fat injection. In the indications defined above, three to four lipomodelling sessions are required to reconstruct a breast to match the volume of the opposite breast. During the last three years, we have expanded our therapeutic protocol with the use of vacuum external breast pre-expansion with the BRAVA® system. In our initial experiences, the use of external breast pre-expansion seems to be very effective and facilitates lipomodelling by formation of tissue oedema. This therapeutic protocol is being evaluated and will no doubt be reserved for particular reconstructions in patients with small breasts or for repair of failed reconstructions (29).

### **Other applications in breast reconstruction**

When the skin is very thin or damaged by radiotherapy and there is a risk of skin necrosis during breast reconstruction, it is possible to carry out preparatory lipomodelling a few months beforehand, injecting 80 to 120 ml of fat in the thin damaged thoracic tissue. This improves skin trophic condition and avoids necrosis, a complication always difficult to manage even in autologous breast reconstructions.

### **Lipomodelling for the correction of the consequences of conservative treatment**

When lipomodelling is proposed to correct the consequences of conservative treatment (after lumpectomy and radiotherapy) it is subject to a very strict protocol. In this indication, there is in fact a high risk of a coincident new cancer or local recurrence of the primary cancer (24). The protocol must be very strict to limit the risk of coincident cancer, which could potentially lead to medicolegal consequences if the patient has not been satisfactorily informed (30). The protocol includes a detailed imaging investigation (22) with mammography, ultrasound and MRI performed by a radiologist specializing in breast imaging. Lipomodelling is generally performed based on an agreement of the specialized radiologist and oncologist who follows the patient. Similarly, one year after lipomodelling, further imaging is done with mammography and ultrasound. If any suspicious image is present, the radiologist performs a microbiopsy. There was a study (22) published which included 42 patients with the consequences of conservative management who underwent lipomodelling and were included in a detailed radiological protocol. The study concluded that lipomodelling was a considerable advance in the therapeutic choice for management of moderate consequences of conservative



**Fig. 4.** Patient aged 45 years. Correction of the consequences of breast conservative management with one lipomodelling session (140ml). Result in 12 months postoperatively  
 a) preoperative view  
 b) preoperative oblique view  
 c) postoperative view  
 d) postoperative oblique view

management. It restores the breast curves and suppleness that no other surgical technique had previously achieved (Fig. 4). This is however the most challenging indication and we recommend that a multidisciplinary team managed these patients (19, 31).

#### **Poland syndrome and lipomodelling**

Correction of the breast and chest wall deformities in Poland syndrome is still a challenge for the plastic surgeon. Lipomodelling appears to be very useful in this condition (Fig. 5) and enables to achieve breast reconstruction of excellent quality after simple, repeated procedures (6, 30) with very limited scar sequelae. We treated 25 patients using this technique, 23 by lipomodelling alone and two by lipomodelling to supplement a flap. In this series, an average of three sessions was required to obtain the desired result, with a mean of 244 ml injected during each session. The results are very interesting and a breast that is almost identical to the opposite breast can be reconstructed. This technique appears to revolutionize the management of breast and chest wall deformities in Poland syndrome (11, 20, 32, 33).

#### **Pectus excavatum and lipomodelling**

Pectus excavatum is a complex deformity with hollowing of the anterior sternocostal wall. It usually has little or no functional impact and in most cases the problem is essentially morphologic and aesthetic, with considerable deformity if the condition is very marked or lateral. Fat transfer techniques, used alone, provide satisfactory correction for mild to moderate forms (11, 19, 20, 33), or in association with a custom-made rigid implant (based on a 3D CT scan) in major forms. Analogically, lipomodelling is an effective treatment of the chest wall deformities after pulmectomy, chest wall injuries or burns.

#### **Tuberous breasts**

Tuberous breast is a deformity of the base of the breast, with onset at puberty when breast development begins. Various surgical approaches have been described and a wide range of techniques exists to obtain the best possible result. Among them, lipomodelling (11, 19, 20, 33) can correct the lack of volume and improve the base and the shape of the breast. The best indications include unilateral hypoplastic tuberous breast and lack of fullness of the upper pole of the breast. Two fat transfer sessions are usually required. However, implants are still the treatment of choice for tuberous breasts with bilateral hypoplasia. Coleman (25) also demonstrated very pleasing aesthetic results in tuberous breasts treated by fat injection.

#### **Breast aesthetic surgery**

Lipomodelling in aesthetic surgery is developing fast. Our studies have shown that if lipomodelling is carried out according to the technique we have described in this chapter, it does not generate radiological images which cause problems in differential diagnosis with breast cancer or in radiological follow-up for radiologists who are specialized in breast imaging (22, 23). The principal radiological risk is that breast cancer may occur coincidentally with lipomodelling. In order to reduce this risk, imaging (mammography and ultrasound) is carried out before lipomodelling by a specialized radiologist in order to ascertain the absence of a suspicious lesion. If there is any doubt, lipomodelling is deferred or con-



**Fig. 5.** Patient aged 15 years with Poland syndrome. Lipomodelling of the thorax and of the breast with 280ml of fat. Results in 3 months postoperatively  
 a) preoperative view  
 b) preoperative oblique view  
 c) postoperative view  
 d) postoperative oblique view

traindicated. The radiologist must provide approval before lipomodelling and share responsibility for it. The patient gives a written consent to attend for the same investigations by the same radiologist one year after the procedure. If the radiologist finds a suspicious lesion on imaging in one year, microbiopsy is systematically performed in order to establish a definitive diagnosis. In this indication, the information given to the patient is particularly comprehensive and she must carefully read the information leaflet provided during the preoperative consultations.

Aesthetic lipomodelling is a treatment option for correction of the imperfections of mammaplasty and the imperfections and complications of implants, for aesthetic breast augmentation and enhancement of fullness of the décolleté. The indications of lipoaugmentation differ from those of implant augmentations. Lipoaugmentation is suitable for patients who want moderate increase of breast volume, or who want to restore fullness they had before weight loss or pregnancy. The ideal patient is a young woman with a slim upper body and moderately small breasts and with sufficient regional adiposity of the lower body to allow one or even two lipomodelling sessions. In this indication, it is of great importance to gain visible improvement at the harvesting site. It is essential to make sure that the patient has effectively achieved a stable weight (if she loses weight, she will also lose much of the benefit of the procedure).

Asymmetry is a difficult problem when one breast has satisfactory fullness and perfect shape and the other is hypoplastic. Conventionally, an augmentation implant is inserted in the underdeveloped breast. While the initial result is usually good, asymmetry of shape and volume often reappears several years later. In this indication, lipomodelling yields a breast very similar to the normal breast, which will change naturally over time, in particular as regards ptosis. Depending on the degree of asymmetry and hypoplasia, one to three fat transfer sessions will be needed for an optimal result (two sessions are generally sufficient).

## CONCLUSION

Lipomodelling is a major development in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast, and we consider it to be one of the major advances of the last 20 years. The technique is now well defined and the complication rate is very low. Clinical long-term follow-up shows that the morphological result regarding volume is stable 3 to 4 months after the procedure with the condition that the patient's weight remains constant. Because of the low complication rate, very good results obtained, excellent acceptance of the technique by the patients, lipomodelling has completely modified our indications in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast.

## REFERENCES

1. Illouz, YG. *La Sculpture Chirurgicale par Lipoplastie*. Paris: Arnette, 1988, 407.
2. Bircoll, M. Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plast. Reconstr. Surg.*, 79, 1987, p. 267-271.
3. Bircoll, M., Novack, BH. Autologous fat transplantation employing liposuction techniques. *Ann. Plast. Surg.*, 18, 1987, p. 327-329.
4. Bircoll, M. Autologous fat transplantation to the breast. *Plast. Reconstr. Surg.*, 82, 1988, p. 361-362.



5. Hartrampf, CR, Jr., Bennett GK. Autologous fat from liposuction for breast augmentation (letter to the editor). *Plast. Reconstr. Surg.*, 80, 1987, p. 646.
6. Ettelson, CD. Fat autografting (letter to the editor). *Plast. Reconstr. Surg.*, 80, 1987, p. 646.
7. Brown, FE., Sargent, SK., Cohen, SR., Morain, WD. Mammographic changes following reduction mammoplasty. *Plast. Reconstr. Surg.*, 80, 1987, p. 691-698.
8. Rubin, JP., Coon, D., Zuley, M. Mammographic changes after fat transfer to the breast compared with changes after breast reduction: a blinded study. *Plast. Reconstr. Surg.*, 129, 2012, p. 1029-1038.
9. Coleman, SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesth. Plast. Surg.*, 19, 1995, p. 421-425.
10. Coleman, SR. Facial recontouring with liposuction. *Clin. Plast. Surg.*, 24, 1997, p. 347-367.
11. Delay, E. *Lipomodelling of the reconstructed breast*. In Spear, SE. (Eds) *Surgery of the Breast: Principles and Art. 3<sup>rd</sup> ed.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2010, p. 912-29.
12. Delay, E., Gounot, N., Bouillot, A., Zlatoff, P., Comparin, JP. Breast reconstruction with the autologous latissimus dorsi flap. Preliminary report of 60 consecutive reconstructions. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 42, 1997, p. 118-130.
13. Delay, E., Gounot, N., Bouillot, A., Zlatoff, P., Rivoire, M. Autologous latissimus breast reconstruction. A 3-year clinical experience with 100 patients. *Plast. Reconstr. Surg.*, 102, 1998, p. 1461-1478.
14. Delay, E. *Breast reconstruction with an autologous latissimus flap with and without immediate nipple reconstruction*. In Spear, SE. *Surgery of the Breast: Principles and Art. 2<sup>nd</sup> ed.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006, p. 631-655.
15. Sinna, R., Delay, E., Garson, S. Breast fat grafting (Lipomodelling) after extended latissimus dorsi flap breast reconstruction: preliminary report of 200 consecutive cases. *J. Plast. Reconstr. Aest. Surg.*, 63, 2010, p. 1769-1777.
16. Pierrefeu-Lagrange, AC., Delay, E., Guerin, N., Chekaroua, K., Delaporte, T. Radiological evaluation of breasts reconstructed with lipomodelling. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 51, 2006, p. 18-28. French.
17. Rigotti, G., Marchi, A., Galì, M. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast. Reconstr. Surg.*, 119, 2007, p. 1409-22; discussion p. 1423-1424.
18. Khouri, RK., Eisenmann-Klein, M., Cardoso, E. Brava and autologous fat transfer is a safe and effective breast augmentation alternative: results of a 6-year, 81-patient, prospective multicenter study. *Plast. Reconstr. Surg.*, 129, 2012, p. 1173-11787.
19. Delay, E., Garson, S., Toussoun, G. Fat injection to the breast: technique, results and indications based on 880 procedures over 10 years. *Aesth. Surg. Journal*, 29, 2009, p. 360-376.
20. Delay, E. *Fat injections to the breast: the lipomodelling technique*. In Hall-Findlay, E.J., Evans, GRD. (Eds) *Aesthetic and Reconstructive Surgery of the Breast*. New York: Saunders Elsevier, 2010, p. 171-192.
21. Delay, E., Gosset, J., Toussoun, G., Delaporte, T., Delbaere, M. Efficacy of lipomodelling for the management of sequelae of breast cancer conservative treatment. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 53, 2008, p. 153-168. French.
22. Gosset, J., Guerin, N., Toussoun, G., Delaporte, T., Delay, E. Radiological evaluation after lipomodelling for correction of breast conservative treatment sequelae. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 53, 2008, p. 178-189. French.
23. Veber, M., Tourasse, C., Toussoun, G., Moutran, M., Mojallal, A., Delay, E. Radiological findings after breast augmentation by autologous fat transfer. *Plast. Reconstr. Surg.*, 127, 2011, p. 1289-1299.
24. Petit, JY., Lohsiriwat, V., Clough, KB., Sarfati, I., Ihrari, T., Rietjens, M., Veronesi, P., Rossetto, F., Scevola, A., Delay, E. The oncological outcome and immediate surgical complication of lipofilling in breast cancer patients: a multicenter study, Milan-Paris-Lyon experiences of 646 lipofilling procedures. *Plast. Reconstr. Surg.*, 128, 2011, p. 341-346.
25. Coleman, SR., Saboeiro, AP. Fat grafting to the breast revisited: safety and efficacy. *Plast. Reconstr. Surg.*, 119, 2007, p. 775-785.
26. Sinna, R., Garson, S., Delay, E. Three-dimensional imaging. *Ann. Plast. Surg.*, 55, 2005, p. 696-697.
27. Delay, E., Jorquera, F., Pasi, P. Autologous latissimus breast reconstruction in association with the abdominal advancement flap: a new refinement in breast reconstruction. *Ann. Plast. Surg.*, 42, 1999, 42, p. 67-75.
28. Delay, E., Delpierre, J., Sinna, R., Chekaroua, K. How to improve breast implant reconstructions? *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 50, 2005, p. 582-594. French.
29. Delaporte, T., Delay, E., Toussoun, G. Breast volume reconstruction by lipomodelling technique: about 15 consecutive cases. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 54, 2009, p. 303-16. French.
30. Gosset, J., Flageul, G., Toussoun, G., Guerin, N., Tourasse, C., Delay, E. Lipomodelling for correction of breast conservative treatment sequelae. Medicolegal aspects. Expert opinion on five problematic clinical cases. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, 53, 2008, p. 190-198. French.
31. Delay, E. *Correction of partial breast deformities with the lipomodelling technique*. In Kuerer, H. (Eds) *Kuerer's Breast Surgical Oncology*. New York: McGraw-Hill, 2010, p. 815-825.
32. Delay, E., Sinna, R., Chekaroua, K. Lipomodelling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesth. Plast. Surg.*, 34, 2010, p. 218-225.
33. Delay, E. *Breast deformities*. In Coleman, SR., Mazzola, RF. (Eds) *Fat Injection: from Filling to Regeneration*. Saint Louis: Quality Medical Publishing (QMP), 2009, p. 545-586.

**Address for correspondence:**

**Dr. Libor Streit**

**Department of Plastic and Aesthetic Surgery  
Berkova 34  
612 00, Brno  
Czech Republic  
E-mail: [streit@fnusa.cz](mailto:streit@fnusa.cz)**

# AUTOLOGOUS FAT TRANSFER, BREAST LIPOMODELLING AND FAT TRANSFER TO THE FACE: CURRENT GOLD STANDARDS AND EMERGING NEW DATA

ACTA CHIRURGIAE PLASTICAE, 59, 2, 2017, pp. 97-108

<sup>1,2</sup>Streit L., M.D., <sup>3</sup>Lhotsky R., <sup>4</sup>Mestak O.

<sup>1</sup>Department of Plastic and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Centre for Plastic Surgery and Hand Surgery, University Hospital Ostrava, Ostrava, Czech Republic

<sup>3</sup>Hand and Plastic Surgery Institute, Vysoké nad Jizerou, Czech Republic

<sup>4</sup>Department of Plastic Surgery, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

## SUMMARY

Autologous fat transfer techniques have experienced tremendous boom in the recent years. Plastic surgeons use these techniques to enhance both the features of the face and of the body. Over the years, controversies concerning fat harvesting, fat processing

and fat injection came up. The authors of this review article describe their own experience with fat harvesting, processing and injection and show some of their own results. In addition, they discuss contemporary data from literature regarding the use and complications of fat grafting to the most common areas treated with fat grafting: breast and face.

## KEYWORDS

**Fat, microfat, nanofat, grafting, breast, lipomodelling, augmentation, reconstruction, facial, rejuvenation**

## INTRODUCTION

Autologous fat transfer is a surgical technique that is used to transfer adipose tissue in an injectable form from the donor area to the areas where adipose tissue is needed for tissue augmentation or for its regenerative properties. The method is often referred to as lipofilling, fat grafting, lipotransfer or autologous fat transplantation. In plastic and reconstructive breast surgery is the lipomodelling term probably the most accurate, because it reflects significant shaping potential of the technique on the breast. Whatever the method is called, however, the basic principles remain the same. Fat transfer may be used separately as a major surgical technique, or it may be an integral part of combined surgical procedures.

Fat transfer can be categorized according to the volume of transferred tissues to high- and low-volume fat grafting. **High-volume fat grafting** is performed primarily in order to supplement missing volume or to increase the size of the treated area. Typical examples of high volume fat grafting include breast lipomodelling in both reconstructive and aesthetic indications or correction of congenital chest deformities such as pectus excavatum<sup>1-7</sup>.

In case of **low-volume fat grafting**, there is also the regenerative potential of fat utilized apart from its volume

replenishment and contouring effects, especially in certain indications. Low-volume fat grafting is used in the treatment of radiation-damaged skin<sup>8</sup>, in the treatment of scleroderma<sup>9</sup> or for the correction of the scars after burns<sup>10,11</sup>. It was also recognized as an optimal surgical strategy in the correction of the progressive hemifacial atrophy<sup>12</sup>. Finally, low-volume fat grafting is commonly used in aesthetic surgery for rejuvenation of the face<sup>13-17</sup>, neck or hands<sup>15</sup>. The regenerative effect is expressed as an improvement in skin elasticity, texture and colour and as improvement in tissue vascularity.

Fat transfer consists of three consecutive steps: 1) fat harvesting, 2) fat processing, and 3) fat graft injection. All these steps may differ significantly depending on what is the main goal of the surgery and whether it is a high or low-volume fat grafting. Also the preference of the surgeon plays a role.

## FAT HARVESTING

Adipose tissue is harvested by liposuction from subcutaneous fat deposits in the areas where fat is in excess. During fat harvesting, the main goal of harvested areas infiltration is not tissue tumescence but only tissue saturation with epinephrine. Therefore, lower volumes of the solution are used compared with tumescent liposuction



**Fig. 1.** Harvesting cannulas and syringes. From the right to the left: 1) 60 ml “Toomey” syringe – part of PureGraft™ set, 2) 30 ml luer-lock syringe – used in our department for breast lipomodelling, 3) 10 ml luer-lock syringe – used in our department for harvesting for facial fat grafting or for application during breast lipomodelling, 4) harvesting cannula with a diameter of 3.5 mm and length 17cm with 6 openings on the apex (PLA187 model, Poret Medical, France) – used for breast lipomodelling, 5) Tulip harvesting cannula for microfat grafting, Sorensen type – reusable, and 6) single use harvesting cannula from “St’rim” set from the Thiebaud company used for microfat grafting

for cosmetic reasons. The amount of aqueous components in lipoaspirate is also rather a disadvantage because these aqueous components are to be eliminated during fat processing. Furthermore, when higher volume of infiltration solution is used, harvesting time is extended because of higher number of manipulations, which may also correspond with a higher consumption of material, e.g. sampling syringes.

It is also recommended to use infiltration solution without local anaesthetics since they have been shown to have toxic effects on adipocytes and preadipocytes<sup>18,19</sup>. For all these reasons, if the whole surgery is scheduled under general anaesthesia, we use low-volume infiltration with normal saline and higher concentration of epinephrine (2:1,000,000) and we recommend infiltration of harvesting areas by local anaesthetics when harvesting is finished.

Liposuction is performed most commonly manually using “luer-lock” syringes to connect the cannula or “Toomey” syringes with conical tip type of cannula. Vacuum is created by continuous movements of the syringe plunger or by using a holder for the plunger. Another option is usage of lipoaspirate collectors where output is connected to the aspirator and input to the cannula. The collectors are used more often, particularly when high volume fat grafting is carried out more frequently in the department. The advantage of using the collector is the fact that the vacuum can be defined more precisely. However, there is no study showing that higher values of negative pressure would significantly affect the viability of harvested adipose tissue<sup>20-22</sup>.

Harvesting technique significantly affects the quality of fat graft. Cannulas differ in the number, size and spatial arrangement of openings in the tip and also in diameter and length. Cannulas for low-volume fat grafting are thinner and they usually have multiple openings with a diameter below 1 mm (Figure 1). Tonnard et al. have demonstrated significant differences in adipose tissue viability depending on the size of the openings in the tip and on the number of passages through the “luer-lock” syringes. Adipose tissue viability was significantly higher after fat harvesting using 3mm cannulas with three openings of 2x7mm in the tip then after using 3mm cannulas with multiple circular sharp holes



**Fig. 2.** Fat processing by centrifugation in 30-ml syringes for high-volume fat grafting



of 1-mm diameter in the tip (microfat grafting technique). Furthermore, their study has shown that adipose tissue viability is further decreased by repeated passages between the syringes via “luer lock” connector (nanofat grafting technique). On the contrary, usage of a cannula with small openings in the tip or repeated passages through “luer lock” connector had no negative impact on the concentration and characteristics of stem cells in harvested adipose tissue that are associated with regenerative effect after fat grafting<sup>23</sup>.

Liposuction system, which allows infiltration of harvesting area with tumescent solution by water jet and simultaneous harvest of adipose tissue has been recently developed (“water jet assisted liposuction”). An essential part of this system is a two-way cannula with an opening for the water jet in the tip with openings for lipoaspirate suction on its sides.

## FAT PROCESSING

Harvested adipose tissue (lipoaspirate) is a mixture of adipose tissue fragments, lipid droplets, cellular debris, infiltration solution and blood. The quality and ratio of the individual lipoaspirate components is defined by harvesting technique. The aim of lipoaspirate processing is to obtain a purified cell mixture, which has a minimal extent of volume absorption and/or maximal regenerative effect.

For the surgeon, a large number of technical options exist for fat processing. The most commonly used techniques for lipoaspirate processing in clinical practice include 1) decantation; 2) centrifugation with different speeds, diameters, volumes, and tube shapes; and 3) filtering through a simple membrane (mesh) or filtering through a membrane combined with washing in more sophisticated devices such as PureGraft™.

**Decantation** is the oldest method that is still used by some surgeons because it is simple and cheap, although time consuming. Lipoaspirate processing is based on decantation also in recent lipoaspirate collectors that seem to be more effective as they are directly connected to the aspirator and to the harvesting cannula.

**Centrifugation** is the most commonly used technique for processing of lipoaspirate. It was popularized by Coleman, who described in detail the processing techniques using 3-minute centrifugation with a relative centrifugal force of 1286 g. Lipoaspirate is divided by centrifugation into four clearly distinguished layers: 1) the upper oily layer, 2) the middle adipose layer, representing most of the adipose tissue, and 3) the lower aqueous layer, consisting mainly of tumescent solution, and 4) the pellet at the bottom of each tube (Figure 2). Centrifugation is carried out usually directly in the harvesting syringes with luer lock connector. The effect of centrifugation on the biological properties of adipose tissue has been described in many studies<sup>13,24-29</sup>. In our department, we centrifuge lipoaspirate at a relative centrifugal force of 1,200 g directly in the harvesting 10-ml syringes for low-volume fat grafting and in 30-ml syringes for high-volume fat grafting. We believe that usage of 30ml syringes reduces significantly the number of manipulations and thus operating time.

The third basic principle of lipoaspirate processing is **filtration through a membrane**. Perhaps the simplest option is filtration and washing with saline solution through a filter membrane positioned on top of the surgical bowl<sup>30</sup>. The disadvantages are obvious, the tissue is prepared



**Fig. 3.** Fat processing by washing and filtration through a membrane using PureGraft™ devices

on open air and the number of manipulations is relatively high. Nevertheless, due to its simplicity and cost it is still used, especially for low-volume fat grafting procedures. More sophisticated devices that are based on the filtration principle are also available. These devices can be designed like canisters connected directly to the aspirator and harvesting cannulas. The outlet portion for the liquid components of lipoaspirate can be constructed as a single outlet at the base of the container, or it can be connected also with the aspirator. Another membrane-based tissue filtration system is PureGraft™, which is designed for manual sampling liposuction syringes with “Toomey” tip. The device consists of a plastic bag, which is divided inside by double filtration membrane into the inlet and outlet parts. Valves for the lipoaspirate installation orifice together with input for Ringer solution into the inlet part; outlet part is connected to the waste plastic bag (Figure 3). Advantages of these more sophisticated devices may be lower number of manual manipulations during fat preparation and the design as a closed system. On the other hand, their disadvantage is that it can eliminate undefined substances, such as cytokines and/or growth factors, that may augment the regenerative effect of lipoaspirate application<sup>31</sup>.

Streit et al. recently comprehensively compared these preparation techniques in vitro. Morphology of each prepara-



**Fig. 4.** Application cannulas. On the left, 2mm cannulas with a length of 20 and 13 cm (PLA188 and 189 models, Pourret Medical, France). In the centre, 1.5mm cannulas with a blunt tip (Coleman™ Style 1, Mentor, USA) and “V” shaped tip to release scars (“V” Dissector Cannulae, Mentor, USA). These cannulas and similar styles are suitable for lipomodelling of the breast. On the right is an example of cannulas for fat grafting to the face, diameter 0,9 and 0,7 ml (Tulip, USA)

ration was assessed by electron microscopy and overall cell viability by live/dead assay. Number of adipose derived stem cells (ASC) was determined and their stem cell character was assessed by the presence of cell surface molecules and by their capacity to differentiate into adipogenic and osteogenic lineages. They have demonstrated that 1) decantation is a very gentle technique that best preserves components of the extracellular matrix, but the product of decantation is to some extent contaminated with oil droplets and residues of disrupted adipocyte membranes; 2) centrifugation isolated the highest concentration of ASC from the upper two-thirds of the adipose layer of centrifuged fat (low-density fraction). Centrifuged fat was almost completely devoid of contaminating oil droplets and debris, and it retained considerable amounts of the fibrillar components of the extracellular matrix; and 3) centrifuged fat compared with membrane-processed fat contained about the same concentration of ASC with similar viability. Although filtration also effectively removed oil droplets and cell debris, membrane-processed fat again retained a substantial part of the fibrillar components of the extracellular matrix. Finally, the watery component was minimal in membrane-processed fat<sup>29</sup>. Because the differences were not dramatic, authors concluded that centrifugation and membrane-based tissue filtration are equivalent techniques and superior to decantation in clinical practice.

In the selection of processing technique for clinical practice, another criteria such as practicability for the individual surgical settings (close vs. open system, number of manipulations, price, required time, etc.) remain crucial for the surgeon<sup>31</sup>.

**Cell assisted lipotransfer** is used to increase engraftment and decrease liponecrosis in the recipient tissue. This technique is based on enrichment of fat graft with stem cells or stromal

vascular fraction cells<sup>32</sup>. Core factor affecting absorption is cell apoptosis due to inflammatory condition after transplantation and the lack of angiogenesis. Stem cells may improve fat survival in three ways - they release growth factors and help the surrounding tissue to resist hypoxia and ischemia; they differentiate into adipocytes and regenerate the adipose tissue and they promote vasculogenesis. However, there is absolutely no statistical evidence that proves this assumption<sup>33-36</sup>.

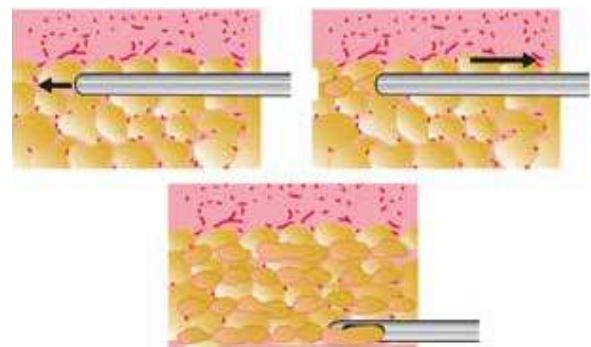
## FAT TRANSFER

Purified adipose tissue is usually injected with syringes (10-ml syringes for high-volume fat grafting, 1-ml syringes for low-volume fat grafting) and special application cannulas (Figure 4). The cannula is introduced through multiple entry points created by a needle or scalpel in order to achieve a honeycomb structure of multiple microtunnels. Fat is injected in small quantities in the form of fine cylinders resembling spaghetti. Each microtunnel must be surrounded by well vascularized tissue (Figure 5). Transfer is done from a deep to a superficial plane. Good spatial visualization is necessary to form a sort of three-dimensional honeycomb, to avoid creating areas of fatty pools, which would lead to fat necrosis<sup>4</sup>.

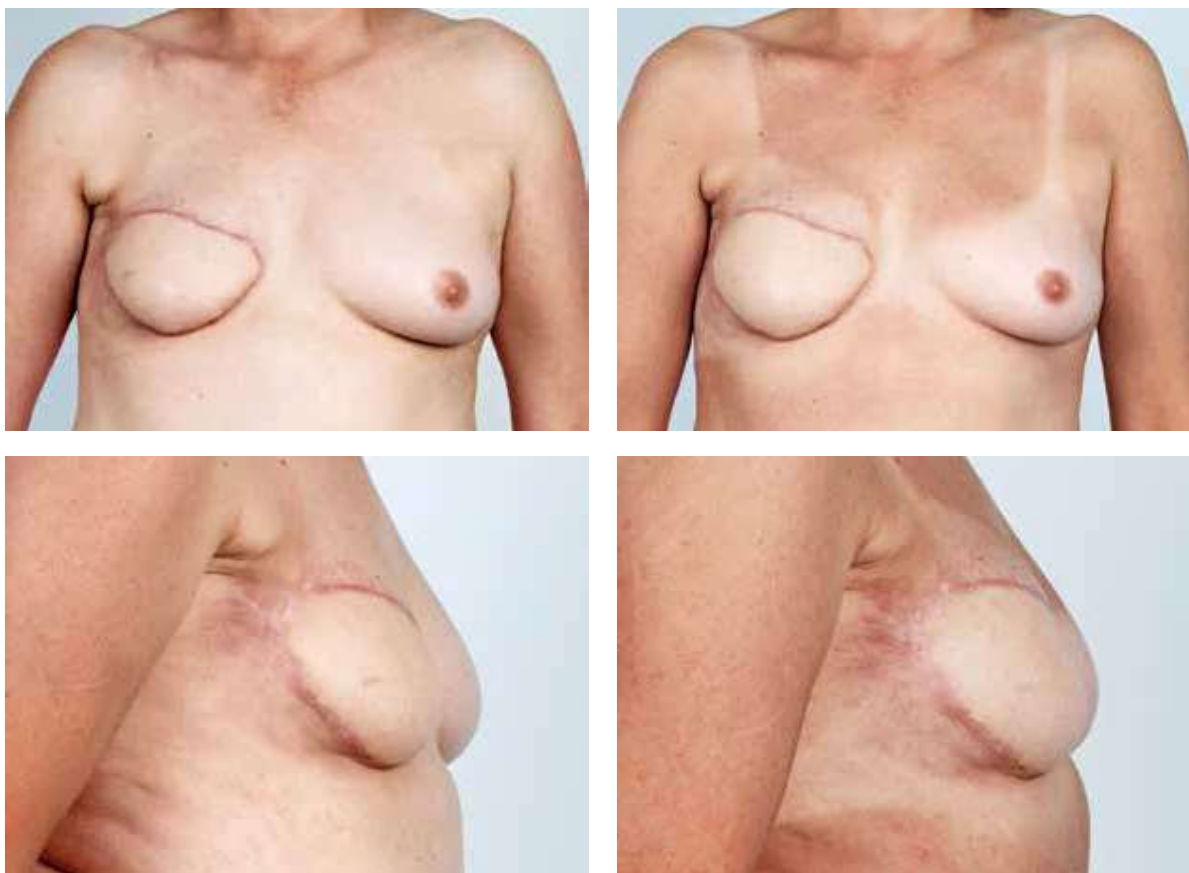
During high-volume fat grafting, it is necessary to know how to overcorrect the quantity of fat, if allowed by the recipient tissues, as absorption of about 30-40% volume may be expected. When the recipient tissues are saturated and cannot accept more fat, it is not advisable to continue, because of the risk to create areas of fat necrosis. It is better to plan an additional session than disregard saturation of the tissues. Incisions are sutured using very fine suture material.

**Technique of multiple percutaneous fasciotomies** performed with 17-gauge trocar or needle is one of the advancements of the lipomodelling technique. This technique is also called three dimensional ligamentous band release or “Rigottomy”. It is powerful technique for scar releasing, it allows us to move down the submammary fold and to sculpture bottom part of the breast if required (in tuberous breast)<sup>4,37</sup>.

**External breast tissue expander (BRAVA®)** was introduced as a nonsurgical alternative to breast augmentation. The system consists of two domes with soft silicone edge and it is worn as a bra. Attached pump creates negative pressure within domes and consequently acts as an expander<sup>38,39</sup>. Action of negative pressure leads to 1) the enlargement of breast tissue and its vascularity, and to expansion of skin, which is advantageous especially in breast reconstruction.



**Fig. 5.** Principle of fat transfer into multiple layers of recipient subcutaneous tissue



**Fig. 6.** A 51-year-old patient with the history of secondary breast reconstruction using abdominal flap before and 5 months after one lipomodelling session with 180 ml of fat

This results in enlarged tissue bed for fat injection. The larger is the preoperative expansion, the more volume we are able to inject. We recommend wearing BRAVA 3 weeks/12 hours per day before fat grafting. It is advisable to over-expand the breast in order to gain sufficient skin envelope for fat application. With this system we can perform mega volume fat grafting, which means we can safely achieve volumes of around 300 ml per breast. While wearing BRAVA postoperatively we decrease pressure of surrounding tissue on the graft, which does not act as an internal expander anymore and we achieve better graft nutrition. The patients wear BRAVA for 12 hours per day postoperatively, for at least 4 weeks. Patient compliance is essential since it is necessary to wear the system pre- and postoperatively for a relatively long time.

## BREAST LIPOMODELLING

### Breast reconstruction by autologous fat transfer

In breast reconstruction, fat transfer may be used separately as a major surgical technique, or it may be an integral part of combined surgical procedures.

### Breast reconstruction by repeated lipomodelling

Capacity of the donor site to accept fat graft is closely related to the initial volume of well-vascularized donor tissues. In secondary breast reconstruction, it is essential to

reconstruct or expand missing skin, which is crucial in selection of reconstructive technique, especially in an irradiated patient. Furthermore, volume absorption after fat grafting is very high when applied into the irradiated chest wall. Thus, we recommend this reconstructive technique just for non-irradiated patients, despite the availability of BRAVA enlargement system. On the contrary, breast reconstruction by repeated lipomodelling is very promising in primary reconstruction after prophylactic mastectomy, or in hypoplastic breast malformations (e.g. Poland's syndrome). Very important aspect of the consultation is to make the patient understand about the maximal possible breast size (cup size approximately B+) and about the need of higher number of lipomodelling sessions (usually 3-5)<sup>4</sup>.

### Lipomodelling for the correction of sequelae of conservative treatment

Breast reconstruction after breast conserving therapy is problematic. Two factors must be considered. The first is the uneven breast shape resulting from partial mastectomy. The second is the preexisting irradiation of the breast<sup>40</sup>. Therefore, breast reconstruction using fat grafting is an attractive tool for treatment of this deformity with possible local filling of the defect as well as regenerative properties of the graft<sup>41</sup>.

We perform this procedure under general anesthesia. The injection is performed very slowly with a fan-shaped

technique during the withdrawal of the cannula. We attempted (as much as possible) to prevent accumulation of the fatgraft and overfilling of the tissue to prevent ischemia, necrosis, colliquation and calcification, which is more likely in irradiated tissue.

Fat grafting to breast after breast cancer has been questioned regarding higher risk of cancer recurrence. This possible risk would be higher in patients after breast conserving treatment. However, this assumption has not been confirmed in clinical studies yet<sup>42</sup>.

#### **Lipomodelling as the complement of autologous breast reconstructions**

The abdominal free flaps and the latissimus dorsi flap are the two most common autologous breast reconstruction techniques today.

The abdominal free flaps are often considered to be the gold standard for autologous breast reconstruction. Defects may however also develop after their use, in particular asymmetry of volume, lack of projection, defect in the décolleté or possibly partial flap loss. In these cases, we carry out intrapectoral lipomodelling and lipomodelling of the flap (Figure 6).

The autologous latissimus dorsi flap is an ideal tissue to receive fat transfer as it is very well-vascularized and very large quantities of fat can be injected into it. Volume of 200-450 ml per breast and per session may be injected with very good results<sup>1,4,43</sup>. The autologous latissimus dorsi flap can now be considered as an auxiliary method that prepares the breast recipient site for future lipomodelling. We recommend performing lipomodelling quite early (after 3-4 months), before muscle atrophy is maximal, in order to take the advantage of the volume effect, which allows the area to accept sufficient amount of fat.

#### **Breast augmentation by autologous fat transfer**

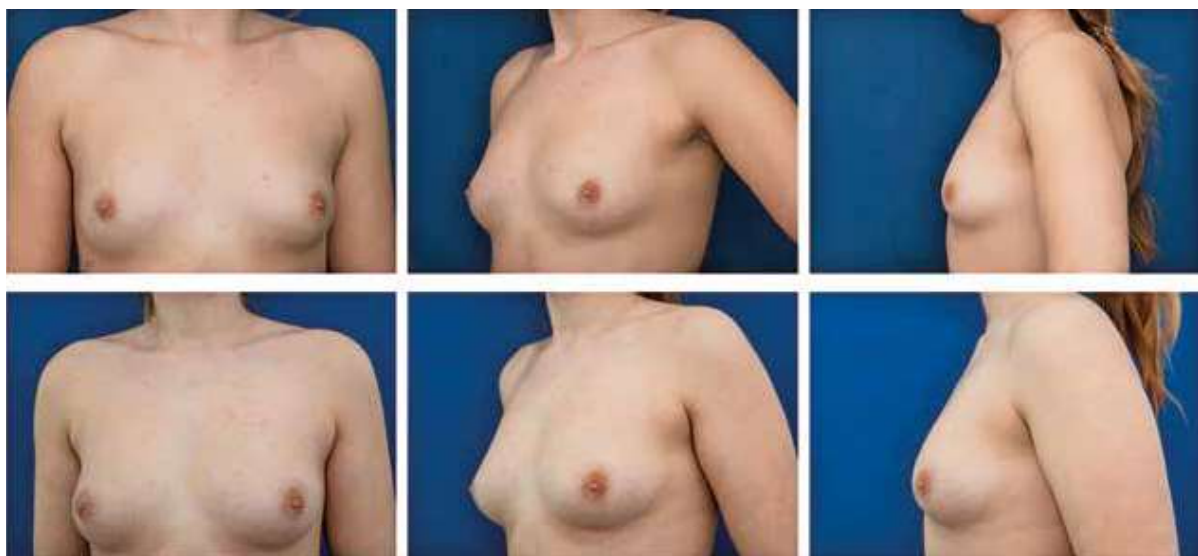
There has been a boom in the demand for autologous fat breast augmentation in recent years. As our experience

with this procedure extends, indications and limitations for this procedure clarify. Today, we know that autologous tissue transfer to the breast cannot replace breast augmentation using silicone implants<sup>44</sup>. Indications for fat grafting are different then for breast augmentation with silicone implants. Also, contrary to fat grafting to the face, we are talking about high-volume, or sometimes "mega-volume fat grafting", since we inject volumes of around 250-300 ml. This method is suitable for patients, who require rather smaller enlargement of the breast (at about one cup size), with sufficient breast skin envelope and sufficient adiposity in the lower part of the body. Breast augmentation by fat transfer is performed in sessions if more significant breast enlargement is requested by the patient.

First modern attempts for fat grafting to the breast in 1980' launched a wave of negative attitude on the account of fear of calcifications, which could impair breast cancer detection. Subsequently, this method was banned for several upcoming years without any scientific data.

Radiologic follow-up of breasts treated with fat grafting is not complicated and should not prevent plastic surgeons from offering this procedure<sup>45,46</sup>. Far more common are calcifications after different kinds of breast operations - for example reduction mammoplasty<sup>47</sup>. Calcification after fat grafting, in case of the use of correct technique, are localized in different areas and reveal different radiological image then those in breast cancer. The best approach is to perform radiological examination ahead of the procedure to find out existing lesions. We advise performing follow-up examination one year after the procedure.

In addition, concerns about the oncologic safety remain a controversial topic among plastic surgeons and other physicians. In vitro studies have repeatedly shown an increased activation of breast cancer cells by adipose derived stem cells; however, clinical research, although limited, continually fails to show an increase in breast cancer recurrence after breast fat grafting not only in cosmetic breast augmentation patients but also in breast cancer patients<sup>48-52</sup>.



**Fig. 7.** Patient before and 6 months after one session of autologous fat breast augmentation



**Fig. 8.** A 17-year-old patient with hypoplastic left breast and ptotic right breast before and after 2 sessions of lipomodelling on the left and contralateral vertical mastopexy with augmentation by fat grafting in décolleté area - 6 months follow-up

We usually perform this procedure under general anesthesia and we use methods described above for graft harvesting and processing. We infiltrate the breast from multiple entry points circularly around the breast base. We can infiltrate subcutaneous space, subglandular space and also the pectoral muscle. In order to ensure sufficient blood flow to the entire graft, we should be careful not to overfill the breast tissue. The maximal volume of graft is approximately 200–250 ml for B size breast, 300–350 ml for C size breast etc. We risk graft ischemia, absorption, necrosis and calcification with too large graft volumes. Based on authors' experience, it is essential to overfill the size of the smaller breast in comparison with the contralateral side in cases of breast asymmetry because of the expected asymmetrical fat absorption. Relative volume resorption remains the same (30–40%), but the final volume absorption is different when asymmetrical volumes of processed fat is applied.

Preoperatively we educate the patient about the graft volume we plan to inject to the breast and about the possibility of 30–40% absorption. We do not use any compressive garment postoperatively, since it could impair blood supply to the graft. The patient should postoperatively keep stable weight, in order to prevent lowering of the volume of the augmented breast (Figure 7, 8).

#### **Simultaneous Breast Implant Exchange with Fat (SIEF)**

Simultaneous Breast Implant Exchange with Fat is suitable for patients asking for breast implant removal while maintaining the volume<sup>53,54</sup>. The procedure can be performed in two ways - fat is injected before or after implant removal. We inject fat into all possible planes, into subcutaneous and subpectoral after breast reconstruction and also into subglandular space after breast augmentation. We take care not to inject into the capsular space. In the case of implant removal before injection, we use finger guidance in this space to prevent penetration of capsule by the cannula. We also recommend using blunt cannula for injection.

#### **Composite breast augmentation**

As mentioned above, breast enlargement by fat grafting is limited and silicone implant augmentation continues to be a gold standard. However, we can use benefits of both techniques to achieve the best results - the volume created

by the silicone implant, covered by the fat graft. With this technique, we cover the visible edges of the implants in thinner women. Fat can be injected before or after insertion of the implant. We prefer injection with implant already in place to achieve better overview of the final result. For this reason, we need to use blunt cannulas, which decrease the risk of implant penetration. Motiva (Establishment Labs) recently created a cannula with special tip intended to use for composite procedures. Fat is injected especially to the décolleté region and according to specific needs to any other regions of the breast.

### **AUTOLOGOUS FAT TRANSFER TO THE FACE**

Autologous fat transfer to the face has become a common technique to treat volume and contour abnormalities in aesthetic and reconstructive facial plastic surgery<sup>55</sup>. It has also been widely used for the management of facial aging signs<sup>16,56</sup>.

#### **Signs of aging with regards to fat grafting**

Aging process affects all facial structures. The process includes changes in the skin and its appendages, subcutaneous tissues, and bony skeleton.

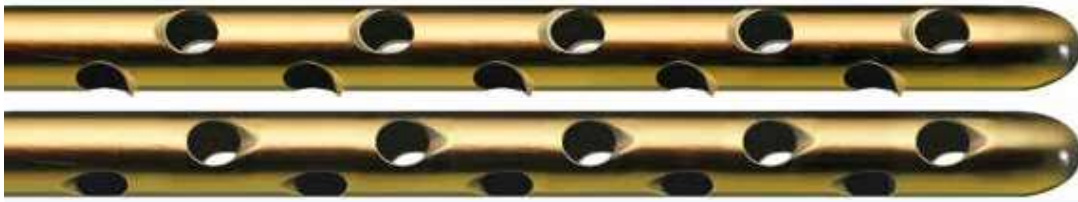
Skin and appendages are influenced by intrinsic (normal aging) and extrinsic (photoaging, smoking) factors and these are manifested by the **changes of skin texture** (wrinkling, atrophy and increased fragility, changes of colour, etc.).

Subcutaneous tissue includes fat compartments and the SMAS system with interconnections to skin that are essential for transfer of facial expression triggered by the facial muscles to the skin surface. Aging process in subcutaneous tissue is associated with atrophy of volume (*deflation*), migration of fat compartments and increased soft tissue laxity with ptosis causing **changes of contour**.

The changes in subcutaneous tissues are further enhanced by absorption of bony skeleton in the upper face and midface such as the orbital margins, prejowl mandible, pyriform aperture and nasal spine causing reduction of support for soft tissues.

Fat grafting may be used to address all of these changes in a certain extent, i.e. it can supplement volume and add support to tissues, replace missing bony structures and correct skin texture changes.





**Fig. 9.** Examples of harvesters for facial fat grafting (Tonnard, Sorensen style)



**Fig. 10.** Examples of injectors for facial fat grafting. These may be curved or straight as per surgeon's preference

#### Technique for facial fat grafting

The technique of facial fat grafting differs from standard techniques used elsewhere in the body. It is necessary to use finer instruments to harvest smaller fat particles to

be injected to the face. This prevents creation of bulges and irregularities that could develop after the standard fat grafting technique. Fat grafting to the face is referred to as *microfat grafting* or also low-volume fat grafting due to this difference.

Examples of such fine instruments include e.g. various Tulip cannulas with a small diameter for harvesting and various small diameter injectors for application of fat. (Figure 9, 10).

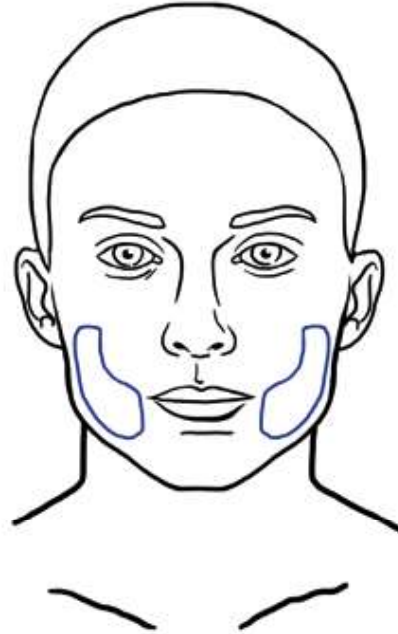
There are various application methods of microfat grafting and they include application of fat to the deep to act as a deep filler, superficially underneath the skin and intradermally into the dermis of the skin to treat fine and deep wrinkles and also a special form of fat for regenerative purposes. These various types provide different effects on target tissue.

#### Deep microfat grafting

Fat injected as a deep filler is used to supplement missing volume and for facial contouring. There are various areas in the face that lose volume with age and need filling (Figure 11). These include the temples, eyebrows and upper eyelids, infraorbital area, tear trough, malar area, nasolabial folds, lips, and the area of the Marionette lines.



**Fig. 11.** Areas that usually need deep filling with fat during facial fat grafting



**Fig. 12.** Example of area that may benefit from superficial microfat grafting

Filling effect of fat is also utilized in reconstructive procedures, such as augmentation rhinoplasty<sup>57</sup> to augment the dorsum of the nose or for correction of mandibular or maxillary hypoplasia that have traditionally been treated with orthognathic surgery<sup>49,57-60</sup>.

### Superficial fat grafting

Fat is injected to the superficial layer just underneath the skin. This technique addresses the aging induced atrophy that is characterized by disappearance of a continuous layer of fat underneath the skin. There are areas with more pronounced deflation to be treated with deep filling, but superficial fat grafting is beneficial in areas where fine wrinkling occurs that cannot be filled intradermally and there is no deep space to fill (Figure 12). This technique is more exactly referred to as *superficial microfat grafting*<sup>61</sup>. Superficially injected fat has also regenerative potential on the skin. Study performed by Charles-de-Sá et al. demonstrated that treatment with fat and stromal vascular or expanded mesenchymal stem cells modified the pattern of the dermis, representing a skin rejuvenation effect. Effects of treatment are visible in the epidermis also, even though the injection takes place in the subcutaneous region<sup>17</sup>.

Various modifications exist, such as superficial enhanced fluid fat injection (SEFFI) where fat is combined with platelet rich plasma for enhancement of its effect<sup>62,63</sup>.

### Intradermal fat grafting

This technique was described by Zeltzer et. al. and popularized by Tonnard and Verpaele as SNIF (Sharp Needle Intradermal Fat grafting). Simple microfat is injected with a needle into the skin, into deep rhytides (Figure 13). This has an effect of a natural filler and smoothes wrinkles very effectively<sup>30</sup>.



**Fig. 13.** Areas for intradermal fat grafting usually involve the forehead, glabellar rhytides, nasolabial fold and perioral rhytides. SNIF technique can also be used for improvement of lip and philtrum contour

### Nanofat and regenerative potential of fat

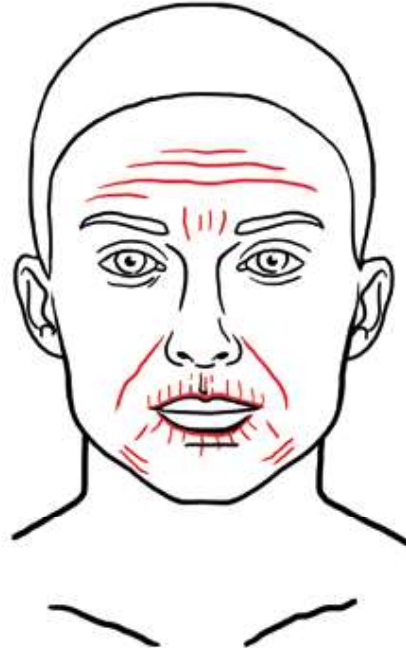
The therapeutic benefit of autologous fat is partly ascribed to the presence of precursors of adipose derived stem cells (ASCs), which are progenitor cells that reside in the stromal vascular fraction (SVF) of adipose tissue. ASCs are able to differentiate into various cell lineages and seem to be suitable for repair of damaged tissue in organs and aged skin<sup>64</sup>. In cosmetic facial surgery, ASCs are reported to be beneficial for skin rejuvenation<sup>65</sup>. Special fat processing techniques, which destroy mature adipose cells are able to prepare an injectable product, which contains a high concentration of ASCs and no viable mature adipose cells<sup>64</sup>. The final injectable product is injected directly into the skin with a fine needle. Tonnard et. al. described the nanofat grafting technique, which is indicated for general skin rejuvenation, treatment of dark circles under the eyes, post-acne scarring, striae, etc.<sup>66</sup>. Typical areas for nanofat grafting are show in Figure 14.

### Survival of fat in the face

Survival of fat in the face varies and is influenced mainly by the mobility of the target area. Mobile areas such as glabella or lips are associated with lower retention of fat compared with less mobile areas, such as malar and lateral cheek<sup>55</sup>. Stabilization of the graft may be considered after 4 months from the surgery.

### Complications of facial fat grafting

Complications following fat grafting to the face are rare. The most common complications include irregularities in the donor area after fat harvesting, and asymmetry, irregularities, bulges, under-filling and overfilling in the target area. Rare complication is fat embolism to the ophthalmic artery and cerebral arteries with subsequent blindness and



**Fig. 14.** Red dotted areas represent examples of areas typically treated with nanofat for regenerative purposes



**Fig. 15.** A case of a 45-year-old female patient with profound deflation of the face seeking rejuvenation. Originally she requested filler injection but was offered facial fat grafting. The figure shows pre- and postoperative photographs. There was a total of 24 ml of microfat injected and included deep filling of malar, tear trough area and nasolabial folds, superficial fat grafting to the cheeks. Note mainly the change of contour of the malar area on the 45° view

cerebrovascular accident that have been reported after fat injection mainly to the glabellar area<sup>67,68</sup>.

#### Postoperative course and management

The postoperative course after facial fat grafting is associated with very low morbidity. There are signs and symptoms from the donor area, which is the most disturbing for the patient and it is similar to smaller liposuction. In the application area, there is usually swelling and bruising that subsides quickly after surgery, usually within 1–2 weeks. Pain is not a common symptom after facial fat grafting. In the postoperative management we usually do not use any special garments for the donor area, as the harvested volume is very low. It is advisable to provide antibiotic cover to the patient perioperatively.

#### Combination of facial fat grafting with other facial rejuvenation techniques

It is convenient to combine facial fat grafting with other facial plastic surgery techniques such as face-lifting, upper and lower blepharoplasty, chemical or laser resurfacing, etc. The effects multiply and the final cosmetic result of the combined surgery is potentiated<sup>69,70</sup>.

#### Complex facial fat grafting

Complex facial fat grafting is a combination of several or all of the fat grafting techniques to treat various problems that are present in the face in the same time. These may be performed in one session. There is usually enough fat to be harvested to perform complex treatment, i.e. deep filling, superficial microfat grafting, intradermal fat grafting and possibly take the advantage of regenerative capacity of fat on facial skin (Figure 15). This is a great difference compared with artificial fillers based on hyaluronic acid, which are usually very costly, the quantity is limited mainly by price and it lacks any regenerative potential. The usual quantity of fat that is needed for complex fat grafting is 20–30 ml of processed fat or more.

#### CONCLUSION

Autologous fat transfer techniques have experienced tremendous boom in the recent years. High-volume fat grafting is performed primarily in order to supplement missing volume, low-volume fat grafting has also a regenerative potential apart from its volume replenishment and contouring effects, especially in certain indications.

Lipomodelling is a major development in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast, and we consider it as one of the major advances of the last 20 years. The technique is now well codified and the complication rate is very low. Because of the very good results obtained and the excellent acceptance of the technique by the patients, lipomodelling has considerably modified our indications in plastic, reconstructive and aesthetic surgery of the breast.

Facial fat grafting is an effective and rather mini-invasive procedure that is able to provide very interesting effects in the treatment of overall facial aging signs. It has a filling as well as regenerative potential and may be combined with other facial procedures to achieve enhanced results. It may be performed under local anaesthesia with mild sedation and the postoperative course is very smooth.

#### REFERENCES

1. Delay E, Garson S, Toussoun G, Sinna R. Fat Injection to the Breast: Technique, Results, and Indications Based on 880 Procedures Over 10 Years. *Aesthet. Surg. J.* 2009;29(5):360-376.
2. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodelling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plast Surg.* Apr 2010;34(2):218-225.
3. Ho Quoc C, Delaporte T, Meruta A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Breast asymmetry and pectus excavatum improvement with fat grafting. *Aesthet Surg J.* Aug 2013;33(6):822-829.
4. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. Lipomodelling: An important advance in breast surgery. *Acta Chirurgiae Plasticae.* 2013;55(2):34-43.
5. Delay E, Sinna R, Ho Quoc C. Tuberosus breast correction by fat grafting. *Aesthet Surg J.* May 2013;33(4):522-528.
6. Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, Biggs TM. Megavolume autologous fat transfer: Part I. Theory and principles. *Plast. Reconstr. Surg.* 2014;133(3):550-557.
7. Khouri RK, Rigotti G, Cardoso E, Biggs TM. Megavolume autologous fat transfer: Part II. Practice and techniques. *Plast. Reconstr. Surg.* 2014;133(6):1369-1377.
8. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tis-

- sue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast. Reconstr. Surg.* 2007;119(5):1409-1422.
9. Roh MR, Jung JY, Chung KY. Autologous fat transplantation for depressed linear scleroderma-induced facial atrophic scars. *Dermatol Surg.* Dec 2008;34(12):1659-1665.
  10. Pallua N, Baroncini A, Alharbi Z, Stromps JP. Improvement of facial scar appearance and microcirculation by autologous lipofilling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* Aug 2014;67(8):1033-1037.
  11. Brongo S, Nicoletti GF, La Padula S, Mele CM, D'Andrea F. Use of lipofilling for the treatment of severe burn outcomes. *Plast Reconstr Surg.* Aug 2012;130(2):374e-376e.
  12. Hunstad JP, Shifrin DA, Kortesis BG. Successful treatment of Parry-Romberg syndrome with autologous fat grafting: 14-year follow-up and review. *Ann Plast Surg.* Oct 2011;67(4):423-425.
  13. Coleman SR. Structural fat grafting: More than a permanent filler. *Plastic and Reconstructive Surgery.* Sep 1 2006;118(3):1085-1205.
  14. Coleman SR. Facial recontouring with liposuction. *Clin. Plast. Surg.* 1997;24(2):347-367.
  15. SR C, RF M. *Fat Injection: from Filling to Regeneration*. St. Louis: Quality Medical Publishing; 2009.
  16. Marten TJ, Elyassnia D. Fat Grafting in Facial Rejuvenation. *Clin Plast Surg.* Apr 2015;42(2):219-252.
  17. Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* Apr 2015;135(4):999-1009.
  18. 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 1995;19(4):335-339.
  19. Keck M, Zeyda M, Gollinger K, et al. Local anesthetics have a major impact on viability of preadipocytes and their differentiation into adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* Nov 2010;126(5):1500-1505.
  20. Keck M, Kober J, Riedl O, et al. Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* Jan 2014;67(1):e1-8.
  21. 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.* May 2013;131(5):1125-1136.
  22. Leong DT, Huttmacher DW, Chew FT, Lim TC. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci.* Mar 2005;37(3):169-176.
  23. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat grafting: Basic research and clinical applications. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2013;132(4):1017-1026.
  24. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: Optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plastic and Reconstructive Surgery.* Mar 2008;121(3):1033-1041.
  25. Allen RJ, Jr., Canizares O, Jr., Scharf C, et al. Grading Lipoaspirate: Is There an Optimal Density for Fat Grafting? *Plastic and Reconstructive Surgery.* Jan 2013;131(1):38-45.
  26. Conde-Green A, Baptista LS, Gontijo de Amorim NF, et al. Effects of Centrifugation on Cell Composition and Viability of Aspirated Adipose Tissue Processed for Transplantation. *Aesthetic Surgery Journal.* Mar 2010;30(2):249-255.
  27. Conde-Green A, Gontijo 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. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery.* Aug 2010;63(8):1375-1381.
  28. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: A quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plastic and Reconstructive Surgery.* Jan 2004;113(1):391-395.
  29. Streit L. A Comprehensive In Vitro Comparison of Preparation Techniques for Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2017; Accepted for the publication.
  30. Zeltzer AA, Tonnard PL, Verpaele AM. Sharp-needle intradermal fat grafting (SNIF). *Aesthet Surg J.* Jul 2012;32(5):554-561.
  31. Mestak O, Sukop A, Hsueh YS, et al. Centrifugation versus PureGraft for fatgrafting to the breast after breast-conserving therapy. *World Journal of Surgical Oncology.* 2014;12(1).
  32. 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. *Aesth. Plast. Surg.* Sep 01 2007;32(1):48-55.
  33. Zhou Y, Wang J, Li H, et al. Efficacy and Safety of Cell-Assisted Lipotransfer. *Plast. Reconstr. Surg.* Jan 2016;137(1):44e-57e.
  34. Wang L, Luo X, Lu Y, Fan Z-H, Hu X. Is the Resorption of Grafted Fat Reduced in Cell-Assisted Lipotransfer for Breast Augmentation? *Ann Plast Surg.* Aug 2015;75(2):128-134.
  35. Jung HK, Kim CH, Song SY. Prospective 1-Year Follow-Up Study of Breast Augmentation by Cell-Assisted Lipotransfer. *Aesthet Surg J.* Feb 2016;36(2):179-190.
  36. Peltoniemi HH, Salmi A, Miettinen S, et al. Stem cell enrichment does not warrant a higher graft survival in lipofilling of the breast: A prospective comparative study. *Br J Plast Surg.* Nov 01 2013;66(11):1494-1503.
  37. Ho Quoc C, Sinna R, Gourari A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Percutaneous fasciotomies and fat grafting: indications for breast surgery. *Aesthet Surg J.* Sep 2013;33(7):995-1001.
  38. Khouri RK, Eisenmann-Klein M, Cardoso E, et al. Brava and Autologous Fat Transfer Is a Safe and Effective Breast Augmentation Alternative. *Plast. Reconstr. Surg.* May 2012;129(5):1173-1187.
  39. Khouri RK, Eisenmann-Klein M, Cardoso 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. *Plast. Reconstr. Surg.* 2012;129(5):1173-1187.
  40. Momoh AO, Ahmed R, Kelley BP, et al. A systematic review of complications of implant-based breast reconstruction with preconstruction and postreconstruction radiotherapy. *Ann Surg Oncol.* Jan 2014;21(1):118-124.
  41. Mestak O, Sukop A, Hsueh YS, et al. Centrifugation versus PureGraft for fatgrafting to the breast after breast-conserving therapy. *World J Surg Oncol.* Jun 05 2014;12:178.
  42. Mestak O, Hromadkova V, Fajfrova M, Molitor M, Mestak J. Evaluation of Oncological Safety of Fat Grafting After Breast-Conserving Therapy: A Prospective Study. *Ann Surg Oncol.* Mar 2016;23(3):776-781.
  43. Delay E, Gounot N, Bouillot A, Zlatoff P, Rivoire M. Autologous latissimus breast reconstruction: A 3-year clinical experience with 100 patients. *Plast. Reconstr. Surg.* 1998;102(5):1461-1478.
  44. Del Vecchio DA. Breast augmentation by fat transfer. *ASPS The Meeting.* Los Angeles 2016.
  45. Veber M, Tourasse C, Toussoun G, Moutran M, Mojallal A, Delay E. Radiographic findings after breast augmentation by autologous fat transfer. *Plast. Reconstr. Surg.* 2011;127(3):1289-1299.
  46. Groen J-W, Negenborn VL, Twisk JWR, Ket JCF, Mullender MG, Smit JM. Autologous Fat Grafting in Cosmetic Breast Augmentation: A Systematic Review on Radiological Safety, Complications, Volume Retention, and Patient/Surgeon Satisfaction. *Aesthet Surg J.* Oct 2016;36(9):993-1007.
  47. Rubin JP, Coon D, Zuley M, et al. Mammographic changes after fat transfer to the breast compared with changes after breast reduction: A blinded study. *Plast. Reconstr. Surg.* 2012;129(5):1029-1038.
  48. Charvet HJ, Orbay H, Wong MS, Sahar DE. The Oncologic Safety of Breast Fat Grafting and Contradictions Between Basic Science and Clinical Studies. *Ann Plast Surg.* Oct 2015;75(4):471-479.
  49. Wang Q, Guo X, Wang J. Autogenous Fat Grafting for Chin

- Augmentation: A Preliminary Clinical Study of Cosmetic Outcome. *J Craniofac Surg.* Oct 2015;26(7):e625-627.
50. Krumboeck A, Giovanoli P, Plock JA. Fat grafting and stem cell enhanced fat grafting to the breast under oncological aspects--recommendations for patient selection. *Breast.* Oct 2013;22(5):579-584.
  51. Voglimacci M, Garrido I, Mojallal A, et al. Autologous fat grafting for cosmetic breast augmentation: a systematic review. *Aesthet Surg J.* May 2015;35(4):378-393.
  52. Petit JY, Botteri E, Lohsiriwat V, et al. Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients. *Ann Oncol.* Mar 2012;23(3):582-588.
  53. Del Vecchio DA. "SIEF"—Simultaneous Implant Exchange with Fat. *Plast. Reconstr. Surg.* Dec 2012;130(6):1187-1196.
  54. Ohashi M, Yamakawa M, Chiba A, Nagano H, Nakai H. Our Experience with 131 Cases of Simultaneous Breast Implant Exchange with Fat (SIEF). *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open.* Apr 2016;4(4):e691-698.
  55. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg.* Oct 2015;136(4):897-912.
  56. Coleman SR, Katznel EB. Fat Grafting for Facial Filling and Regeneration. *Clin Plast Surg.* Jul 2015;42(3):289-300, vii.
  57. Kao WP, Lin YN, Lin TY, et al. Microautologous Fat Transplantation for Primary Augmentation Rhinoplasty: Long-Term Monitoring of 198 Asian Patients. *Aesthet Surg J.* Jun 2016;36(6):648-656.
  58. Lindenblatt N, van Hulle A, Verpaele AM, Tonnard PL. The Role of Microfat Grafting in Facial Contouring. *Aesthet Surg J.* Sep 2015;35(7):763-771.
  59. Agrawal KS, Bachhav M, Naik CS, Tanwar H, Sankhe SS. Autologous Fat Transfer for Esthetic Contouring of Face in Posttraumatic Nonfunctional Maxillofacial Deformities. *Craniofacial Trauma Reconstr.* Jun 2016;9(2):113-120.
  60. Guerrerosantos J, Haidar F, Paillet JC. Aesthetic facial contour augmentation with microlipofilling. *Aesthet Surg J.* Jul-Aug 2003;23(4):239-247.
  61. Tonnard P. Personal communication. 2016.
  62. Bernardini FP, Gennai A, Izzo L, et al. Superficial Enhanced Fluid Fat Injection (SEFFI) to Correct Volume Defects and Skin Aging of the Face and Periocular Region. *Aesthet Surg J.* Jul 2015;35(5):504-515.
  63. Gennai A, Zambelli A, Repaci E, et al. Skin Rejuvenation and Volume Enhancement with the Micro Superficial Enhanced Fluid Fat Injection (M-SEFFI) for Skin Aging of the Periocular and Perioral Regions. *Aesthet Surg J.* May 30 2016.
  64. van Dongen JA, Stevens HP, Parvizi M, van der Lei B, Harmsen MC. The fractionation of adipose tissue procedure to obtain stromal vascular fractions for regenerative purposes. *Wound Repair Regen.* Sep 26 2016.
  65. Charles-de-Sa L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* Apr 2015;135(4):999-1009.
  66. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* Oct 2013;132(4):1017-1026.
  67. Kang JH, Park KH, Park JS. Acute mental change and hemiplegia after autologous fat injection. *J Cosmet Laser Ther.* Nov 2016;18(7):413-416.
  68. Teimourian B. Blindness following fat injections. *Plast Reconstr Surg.* Aug 1988;82(2):361.
  69. Willemsen JC, Mulder KM, Stevens HP. Lipofilling with minimal access cranial suspension lifting for enhanced rejuvenation. *Aesthet Surg J.* Sep 2011;31(7):759-769.
  70. Tonnard PL, Verpaele AM, Zeltzer AA. Augmentation blepharoplasty: a review of 500 consecutive patients. *Aesthet Surg J.* Mar 2013;33(3):341-352.

**Corresponding author:**

**Libor Streit, M.D., Ph.D.**

**Department of Plastic and Aesthetic Surgery  
St. Anne's University Hospital  
Berkova 34  
612 00 Brno, Czech Republic  
E-mail: liborstreit@gmail.cz**