



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA

**FACTORES QUE AFECTAN LA VIABILIDAD CELULAR DE ADIPOCITOS EN
TÉCNICA LIPOTRANSFERENCIA FACIAL: ACTUALIZACIÓN. REVISIÓN
NARRATIVA.**

*Factors affecting Cell Survival of white adipocytes in Facial Fat Transfer Lipectomy
Technique. Upgrade. Narrative Review.*

Proyecto de memoria presentado a la Escuela de Odontología
de la Universidad de Talca como parte de los requisitos
exigidos para la obtención del título de Cirujano Dentista.

ESTUDIANTE: VICTORIA PAZ GATICA GONZALEZ

PROFESOR GUÍA: DR. PABLO SALVADOR REYES OLAVE

PROFESOR INFORMANTE: DR. ALEJANDRO HIDALGO RIVAS

TALCA - CHILE

2020

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS DEL PROFESOR GUÍA

Nombre
Pablo Reyes Olave
Google Scholar
https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=qFdrIi0AAAAJ
Correo electrónico
drpabloreyesolave@gmail.com
Nombre
Alejandro Hidalgo Rivas
Google Scholar
https://scholar.google.com/citations?user=7u6sjagAAAAJ&hl=es&oi=ao
Correo electrónico
ahidalgo@utalca.cl

DEDICATORIA

A aquellos que buscan más allá del saber ya establecido y objetivar sus resultados en post del desarrollo de nuevas técnicas, para brindar soluciones a pacientes que anhelan la reconstrucción de sus caras y por qué no, de sus vidas.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre por siempre estar presente en todo momento siendo un pilar fundamental, entregándome su apoyo constante y fuerzas en los momentos difíciles. Por su entrega absoluta hacia sus hijos y ayudarme a resolver problemas con su inteligencia emocional e infinita sabiduría.

Y mi padre por su esfuerzo y apoyo para poder estudiar en la universidad y estar siempre presente a pesar de la distancia.

A mis hermanos por ser mis primeros pacientes.

A mis queridísimos abuelos, que siempre han tenido sólo amor y palabras de aliento en las épocas más complejas.

A la familia Adriazola Mellado Rioseco, por ser parte importante en mi vida, apoyarme siempre y festejar mis logros.

A aquellos verdaderamente llamados amigos, que estuvieron presentes en diversos momentos, incluso en los efectivamente complejos: Alex Riveros, Danitza Ovalle, Gonzalo Pairoa, Mónica Paredes, Bruno Romero y Marcelo González.

Al Dr. Aaron Miranda y la Dra. Macarena Muñoz por crear un grato ambiente de trabajo en clínica y cultivar en mí el amor por los detalles y la atención a los pacientes.

A los docentes de cirugía por aceptarme dentro de este mundo excepcional desde mis inicios en tercer año. Gracias a ellos adquiriré conocimientos fundamentales para mi formación. Se agradece profundamente la calidad docente y humana de este equipo. Todos ellos hicieron que mis años en la universidad fueran gratos a pesar de lo complejos que pudiesen haber resultado. En especial agradecer al Dr. Pablo Reyes por ayudarme a descubrir el amor por la cirugía y guiarme en este desafiante pero apasionante camino, siempre compartir sus conocimientos y ayudarme a convertirme en una mejor profesional con sus enseñanzas. Agradecerle por la confianza y tiempo invertido en mi formación, no solo académica, sino también crecimiento personal. Integrarme a su equipo y convertirme en un miembro más de esta familia. Finalmente convertirse en una persona fundamental en mi vida, ser un amigo más, y saber que puedo contar con su persona para los momentos difíciles.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
1.1. Palabras clave:	1
2. ABSTRACT	2
2.1. Keywords:	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE VIABILIDAD CELULAR	5
4.1. Obtención de la muestra.....	5
4.2. Selección de la zona donante.....	5
4.3. Técnica de obtención de la muestra mediante “Lipoaspiración tumescente”	6
4.4. Evaluación macroscópica.....	7
4.5. Procesamiento microscópico.....	7
5. VIABILIDAD CELULAR.....	8
5.1. Definición.....	8
5.2. Biodisponibilidad.....	8
5.3. Factores que afectan la Viabilidad celular	8
5.3.1. Edad y sitio donante	8
5.3.2. Solución de Klein y Lidocaina.....	9
5.3.3. Aspiración manual v/s mecanizada en sistema cerrado de la muestra	9
5.3.4. Protocolos de procesamiento graso	10
6. DISCUSIÓN.....	11
7. CONCLUSIÓN	13
8. REFERENCIAS	14

1. RESUMEN

Dentro del campo de la cirugía estética y reconstructiva la técnica de Lipotransferencia es ampliamente utilizada, es un método seguro y duradero para recontornear la cara con tejido autólogo. El tejido adiposo se presenta como un material ideal para el aumento y la regeneración de tejidos blandos ya que en adultos corresponde a una quinta parte del volumen total corporal.

La Lipotransferencia consiste en injertar tejido graso autólogo procesado, desde un sitio donante a la zona receptora. Esto mediante cánulas de aspiración, bajo la acción de solución tumescente o solución de Klein. Para procesar la muestra se utilizan diferentes técnicas: lavado, decantación y centrifugación.

El uso y combinación de estas técnicas de procesamiento varía según profesional, actualmente, hay una deficiencia en la literatura al respecto. No existen estudios que indiquen la viabilidad celular de estos protocolos por lo que los resultados clínicos son los que avalan el éxito de la técnica de lipotransferencia facial.

La alta biodisponibilidad del tejido adiposo hace que los injertos adiposos sean una excelente opción para los pacientes. Tanto el sitio donante asociado a la edad del paciente, uso de solución de Klein con lidocaina y protocolo de procesamiento de la muestra, son factores que afectan la viabilidad celular. Por ende, son diversos los factores que afectan la viabilidad de los adipocitos, esto influye en el éxito o fracaso del injerto. Controlar estos factores presentan la posibilidad de creación de un protocolo con viabilidad celular mucho más alta que los actuales.

1.1. Palabras clave:

Viabilidad celular, Adipocitos, Lipotransferencia, Grasa, Relleno Graso Autólogo.

2. ABSTRACT

Within the field of aesthetic and reconstructive surgery, the lipotransfer technique is widely used, it is a safe and durable method to recontour the face with autologous tissue. Adipose tissue is an ideal material for the augmentation and regeneration of soft tissues since in adults it corresponds to a fifth of the total body volume.

Lipotransference consists of grafting processed autologous fat tissue from a donor site to the recipient site. This through aspiration cannulas, under the action of a tumescent solution or Klein's solution. Different techniques are used to process the sample: washing, decanting and centrifugation.

The use and combination of these processing techniques varies according to professional, currently, there is a deficiency in the literature in this regard. There are no studies that indicate the cell viability of these protocols, so the clinical results are the ones that guarantee the success of the facial lipotransference technique.

The high bioavailability of adipose tissue makes adipose grafts an excellent option for patients. Both the donor site associated with the age of the patient, the use of Klein's solution with lidocaine, and the sample processing protocol are factors that affect cell viability. Therefore, there are several factors that affect the viability of adipocytes, this influences the success or failure of the graft. Controlling these factors presents the possibility of creating a protocol with much higher cell viability than the current ones.

2.1. Keywords:

Cell Survival, Adipocytes White, Lipectomy, Fat, Autologous Fat Grafting.

3. INTRODUCCIÓN

En el campo de la cirugía estética y reconstructiva la técnica de Lipotransferencia es ampliamente utilizada. Las posibles aplicaciones en cirugías estéticas y reconstructivas como herramienta son amplias. La lipoescultura es un avance importante en la cirugía plástica: un método seguro y duradero para volver a contornear la cara con tejido autólogo. (1) El tejido adiposo se presenta como un material ideal para el aumento y la regeneración de tejidos blandos gracias a su biocompatibilidad, falta de inmunogenicidad y disponibilidad. (2-4) El tejido adiposo en varones se encuentra de 9 - 18 % y de 14 - 28 % en mujeres del volumen total corporal.(3)

Los adipocitos están presentes en la piel, en capas entre la dermis y el panículo muscular, llamados tejido adiposo blanco dérmico. (5) Se debe considerar que, existen diversos tipos de tejido adiposo, entre estos el más abundante es la grasa blanca o unilocular (3), que es la evaluada.

Para llevar a cabo la técnica de Lipotransferencia, consistente en injertar tejido graso autólogo procesado, desde un sitio donante a la zona receptora(1), se trabaja con técnica de anestesia tumescente o solución de Klein, la que es infiltrada en el tejido celular subcutáneo con el fin de separar el panículo adiposo de los planos cutáneos.(1)

Con el fin de obtener esta muestra de adipocitos se utiliza la técnica de Lipoaspiración que, consiste en extraer tejido graso de un sitio donante mediante cánulas de aspiración (6, 7)

Por otra parte, los protocolos de procesamiento graso se basan en tres técnicas principalmente: lavado, decantación y centrifugación. (7)

La viabilidad de la muestra procesada podría depender de la edad del paciente, sitio donante, tipo de extracción y procesamiento de la muestra. Incluso se ha señalado que, casi cada paso del injerto de tejido adiposo autólogo tiene el potencial de influir en los resultados del injerto.(6)

Actualmente los protocolos de procesamiento varían según autor e incluso según profesional que lo utiliza. Hay una deficiencia en la literatura al respecto, ya que no existen estudios que avalen estos protocolos de manera científica, especificando la viabilidad celular lograda según técnica, por lo que los resultados clínicos son los que avalan estos procedimientos. La

presente revisión tiene por objetivo definir los factores por los cuales se ve afectada la viabilidad celular de adipocitos de una muestra obtenida mediante lipoaspiración. Esto predeciría los resultados esperados y éxito a largo plazo de dichos protocolos.

4. OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE VIABILIDAD CELULAR

4.1. Obtención de la muestra

Para estudiar la viabilidad celular del adipocito primero se requiere obtener una muestra desde un sitio donante. Esto se ejecuta a través de la técnica de Lipoaspiración, procedimiento que puede realizarse con anestesia local o general, gracias a la infiltración de anestesia tumescente en la zona donante. (8)

Debe seleccionarse la zona de obtención de dicha muestra según diversos criterios, para luego realizar análisis macroscópicos y microscópicos de dicha muestra.

4.2. Selección de la zona donante

La selección de la zona donante depende de diversos factores. La evaluación de éstos, definirán cuál será la zona de obtención de la muestra finalmente.

Factores que influyen en la selección de la zona donante:

- Biodisponibilidad de tejido adiposo del paciente: ya que una persona atlética tendrá menor porcentaje de tejido adiposo total en comparación con una sedentaria. (3)
- Tipo de procedimiento a realizar: puesto que la cantidad de centímetros cúbicos de tejido adiposo a obtener varía según el tamaño de la zona que requiere el relleno. (1)
- Sitio anatómico: se describe que la viabilidad celular es estadísticamente equivalente en la zona abdominal, muslos, flancos y rodillas, en el mismo paciente, sin embargo, puede variar entre individuos. (9)
- Facilidad de acceso del sitio donante: ya que varía el nivel de irrigación, por ejemplo, la zona abdominal posee menor irrigación que la zona interna de brazo y muslo. (10)
- Técnica de procesamiento graso: existen diversas técnicas que varían el sitio donante debido principalmente a la cantidad de tejido adiposo disponible en dicha zona. (2, 6)
- Experiencia del clínico: en relación con la técnica y zona de preferencia de este. (1)

- Factores ambientales: que afecten la diferenciación celular o varíen entre pacientes como: tabaquismo, estado nutricional y uso de drogas. (9)

4.3. Técnica de obtención de la muestra mediante “Lipoaspiración tumescente”

Una vez definida la zona de obtención de la muestra se procede a extraerla mediante la técnica de “Lipoaspiración Tumescente”, procedimiento que permite obtener la muestra sin necesidad de anestesia general.

Esta técnica comienza por el marcaje de la zona donante, asepsia y antisepsia, armado de campos estériles, para trabajar con anestesia local.(8) Se realiza la infiltración del anestésico local en forma de pápula en el sitio de entrada de la cánula de aspiración, considerando un tiempo de latencia para proceder a infiltrar Solución de Klein.(8)

Se trabaja con solución de Klein modificada(1) cuyo componente principal es el Ringer lactato, adicionando también Lidocaína clorhidrato al 2%, Epinefrina 1:1000 1mg/1ml, Bicarbonato al 8,4% y Ácido Tranexámico 100mg/ml. Las concentraciones de estos varían según tratante.(1)

La infiltración de la solución de Klein puede realizarse de manera directa o utilizarse una bomba de infiltración manual o mecanizada.(11) Esta solución se inyecta a nivel subcutáneo, generando una separación entre los planos cutáneos, esperando un tiempo de latencia de al menos 15 minutos desde el inicio de la inyección.(8, 12) Se evalúa la efectividad del anestésico al comprobar la isquemia de la zona y baja en la temperatura de la piel tratada.(8)

Para la obtención de la muestra propiamente tal, se ingresa una cánula de Lipoaspiración indicada para el tipo de injerto a recolecta conectada a una jeringa por la incisión. Tanto la cánula como la jeringa pueden ser de diferentes medidas o diseño según el requerimiento.(10)

Posteriormente las incisiones son suturadas con nylon o con sutura adhesiva estéril (8), siendo recomendable aplicar vendaje compresivo en zona tratada para lograr una correcta adhesión de la piel al tejido muscular subyacente.(7, 8)

De la cantidad de tejido adiposo obtenido debe considerarse una pérdida aproximada del 40% dependiendo de la técnica empleada. Por lo que debe lipoaspirarse mayor contenido de lo que se desea utilizar en el relleno posterior.(8)

4.4. Evaluación macroscópica

Una vez obtenida la muestra de tejido adiposo en jeringas, se debe realizar una evaluación macroscópica. Esta evaluación es relevante puesto que el color de la muestra tendría directa relación con el contenido de serohemático, ya que los eritrocitos activarían precursores inflamatorios generando lisis celular. (1, 6, 13)

El color de la muestra varía de amarillo a rojo, correspondiente con la cantidad de serohemático en la muestra. Por lo que, entre más amarillo, la muestra es más “pura” y por el contrario más cercana a rojo, quiere decir que tiene mayor contenido de eritrocitos. (14)

Incluso variados autores indican guiarse sólo por esta evaluación macroscópica y no utilizar la microscópica.(1) Esta evaluación no aporta más información por si sola, pero si al extrapolarse con la evaluación microscópica.(1, 8)

4.5. Procesamiento microscópico.

Se trata de la evaluación de la viabilidad celular propiamente tal. Esta consiste en medir la cantidad de células totales, células viables, células muertas, porcentaje de viabilidad y tamaño promedio celular. (10)

Una técnica de medición de viabilidad celular es agregar a la muestra PBS (Phosphate Buffer Saline) para lavar las células y eliminar glóbulos rojos restantes. Luego se realiza disgregación celular con tripsina. Se procede a detener la reacción con medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) adicionado con 10% FBS (Fetal Bovine Serum). Parte esencial del proceso. Luego se homogeniza en agitador Vortex y se reposa la muestra. Se tiñen las células con Azul de Tripan y se realiza el conteo celular para obtener el valor en porcentaje que indica la proporción entre células vivas y muertas. (8)

5. VIABILIDAD CELULAR

5.1. Definición

Este concepto se define como, la capacidad de la célula de realizar ciertas funciones como metabolismo, crecimiento y reproducción en un medio (15).

5.2. Biodisponibilidad

El tejido adiposo es uno de los materiales autógenos ideales para el aumento y la regeneración de tejidos blandos, tanto para la reconstrucción como para la estética. Esto debido a su alta biodisponibilidad.(2, 4) Los valores considerados normales en humanos varían entre el 9 y el 18 % de tejido graso en varones y entre el 14 y el 28 % en mujeres del volumen total corporal. (16)

5.3. Factores que afectan la viabilidad celular

La viabilidad celular de la muestra procesada podría depender de la edad del paciente, sitio donante, tipo de extracción y procesamiento de la muestra, entre otros factores. Incluso se expresa que, casi cada paso del injerto de tejido adiposo autólogo tiene el potencial de influir en los resultados del injerto.(6)

5.3.1. Edad y sitio donante

Se ha demostrado que la edad afecta la viabilidad de los adipocitos de manera diferente en las regiones anatómicas, y esto debe tenerse en cuenta al elegir sitios de obtención de la muestra para injerto de tejido adiposo. (10) El sitio donante del paciente no se ha demostrado que tenga un impacto significativo en el tejido adiposo final por si solo. (6) No habría una diferencia estadísticamente significativa en la viabilidad de adipocitos de sitios donantes de tejido adiposo abdominal, muslo, flanco y cara interna de rodilla. (12)

5.3.2. Solución de Klein y lidocaina

Para realizar la Lipoaspiración se trabaja con, técnica de anestesia tumescente o solución de Klein, que será infiltrada en el subcutáneo con el fin de lograr la separación de los planos y poder acceder al tejido graso de forma segura para el paciente, (1) ya que, disminuye considerablemente las complicaciones intra y post operatorias, junto con reducir la complejidad del procedimiento. (1) La solución de Klein ha sido modificada a través de los años según el profesional que la utilice, una variante es, cambiar la solución salina al 0,9% por Ringer Lactato, pues posee pH similar al plasma en comparación con la solución salina con pH más ácido lo que podría afectar en la viabilidad celular. (7) Se ha evidenciado que el uso de solución tumescente que contiene lidocaína, afecta el tejido adiposo recolectada si no se elimina lo suficiente, ya que es citotóxica (6, 7, 13) A mayor concentración de lidocaina menor viabilidad celular del adipocito. (13, 14) Existe consenso en que la concentración de lidocaina no debe superar el 1,6mg/mL, y que la exposición de este fármaco no debe superar las 2 horas. (13, 14) Una práctica común es la eliminación del contenido de la primera muestra obtenida de cada incisión, ya que esta contendría principalmente solución de Klein, por lo que la viabilidad celular de los adipocitos sería baja. (8, 13, 17)

5.3.3. Aspiración manual o mecanizada en sistema cerrado de la muestra

La obtención de la muestra mediante aspiración manual o mecanizada diferiría en la viabilidad celular.(11) El uso de alta presión en la aspiración mecanizada reduce desde un tercio a incluso la mitad de las células viables, la presión negativa ejercida debe estar por debajo de los 200mmHg. (14) La obtención de tejido adiposo mediante diversas cánulas de aspiración generaría diferente trauma en los adipocitos afectando su viabilidad celular.(6) El uso de jeringas de mayor diámetro interno genera lisis celular de hasta incluso la mitad de la muestra. (14, 17) La inyección del relleno graso en jeringas de bajo diámetro (0,9mm) aumentaría la viabilidad celular del adipocito. (17) Se tiene consenso

en que la exposición al ambiente reduce a la mitad la viabilidad celular en un tiempo de 15 a 30 minutos. (14, 17)

5.3.4. Protocolos de procesamiento graso

Los protocolos de procesamiento graso se basan en tres técnicas principalmente: lavado, decantación y centrifugación. El lavado y decantación son técnicas que suelen utilizarse en conjunto. (7) La primera consiste en, la adición de Ringer Lactato a la muestra, homogenizarla por 10 segundos y ubicar en una gradilla de sedimentación el tubo con la muestra por un periodo de tiempo determinado (decantación). (1) En cuanto a la centrifugación de la muestra, Coleman recomienda utilizar 3000 rpm por 3 minutos. (8) Sin embargo, otros autores describen que más allá de 100g conduciría a destrucción celular, por lo que se prefiere usar 50g por 2 minutos máximo. (9) Los hallazgos histológicos recientes no evidencian claramente que exista destrucción celular con más de 100g; 1200g es lo recomendado como fuerza óptima. (4) Por otro lado, los elementos no viables del aspirado de tejido adiposo como el aceite, la sangre, el suero y la solución tumescente deben eliminarse por centrifugación. (1) No existe un protocolo universal de procesamiento graso. (7) No existe evidencia que indique la superioridad absoluta de una técnica sobre otra. (2) Sin embargo, se observa una mayor viabilidad celular al utilizar técnica de decantación seguida de lavado de la muestra. (14)

6. DISCUSIÓN.

Los estudios evaluados en la presente revisión narrativa nos indican que es fundamental conocer los factores que pueden afectar la viabilidad celular del adipocito para lograr controlar estos factores, y así asegurar que no se reabsorba el injerto de tejido adiposo utilizado en la lipotransferencia facial.

Tanto el sitio donante asociado a la edad del paciente, uso de solución de Klein, uso de lidocaina, técnica manual, exposición al medio y protocolo de procesamiento de la muestra son factores que afectan la viabilidad celular.

El sitio donante por sí solo no afectaría la viabilidad celular, pero si asociado a la edad del paciente, prefiriéndose la zona abdominal independiente de la edad. (6, 10, 12) Con respecto a la Solución de Klein, cambiar la solución salina al 0,9% por Ringer Lactato disminuiría la lisis celular pues posee pH similar al plasma en comparación con la solución salina con pH más ácido (7). Así también, el uso de lidocaina al ser citotóxica afecta negativamente a los adipocitos si no se elimina lo suficiente de la muestra. (6, 7)

En relación con la obtención de la muestra, la aspiración manual o mecanizada no mostró diferencias estadísticamente significativas. (11) Sin embargo, se demostró que el uso de alta presión dentro de una jeringa reduce desde un tercio a incluso la mitad de las células viables, debiendo encontrarse la presión negativa ejercida por debajo de los 200mmHg. (13) debido a esto, jeringas de 10mL (180 mmHg) o menor calibre estarían indicadas.(7)

El uso de jeringas de mayor diámetro interno genera lisis celular de hasta incluso la mitad de la muestra. (13,15) La obtención mediante variadas cánulas de aspiración generaría diferente trauma en los adipocitos afectando su viabilidad celular, considerando que a mayor diámetro de la cánula menor trauma. (6) La inyección del relleno graso en jeringas de bajo diámetro (0,9mm) aumentaría la viabilidad celular del adipocito. (15)

La alta biodisponibilidad y biocompatibilidad del tejido adiposo hace que los injertos adiposos sean una excelente opción para los pacientes, ya que se trata de un tejido autólogo de libre disposición para la mayoría de los pacientes.(3)

La presente revisión narrativa demuestra que efectivamente existen factores que pueden afectar la viabilidad celular de los adipocitos en la técnica de lipotransferencia, influyendo

así en el injerto de tejido adiposo que se utilizará como relleno facial, disminuyendo su tiempo de duración considerablemente. Por lo que estos factores deben controlarse al momento de utilizar la técnica de lipotransferencia facial para obtener resultados óptimos.

7. CONCLUSIÓN

Diversos factores pueden afectar la viabilidad celular de los adipocitos, lo que puede influir en el éxito o fracaso del injerto graso.

La obtención de un alto valor de adipocitos viables procesados según la creación de un protocolo específico, mejora considerablemente las probabilidades de obtener resultados favorables y éxito a largo plazo de dicho protocolo.

Conocer la viabilidad celular permite confirmar empíricamente que el injerto que se infiltra no se reabsorberá por completo en un corto plazo.

8. REFERENCIAS

1. Coleman S. Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(3S):108S-20S. doi: 10.1097/01.prs.0000234610.81672.e7.
2. Xue E, Narvaez L, Chu C, Hanson S. Fat Processing Techniques. *Semin Plast Surg*. 2020;34(1):11-6. doi: 10.1055/s-0039-3402052.
3. Gesta S, Tseng Y, Kahn C. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. *Cell*. 2007;131(2):242-56. doi: 10.1016/j.cell.2007.10.004.
4. Son D, Choi T, Yeo H, Kim J, Han K. The effect of centrifugation condition on mature adipocytes and adipose stem cell viability. *Ann Plast Surg*. 2014;72(5):589-93. doi: 10.1097/sap.0b013e318268a85d.
5. Hausman D, DiGirolamo M, Bartness T, Hausman G, Martin R. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev*. 2001;2(4):239-54. doi: 10.1046/j.1467-789x.2001.00042.x.
6. Zielins E, Brett E, Longaker M, Wan D. Autologous Fat Grafting: The Science Behind the Surgery. *Aesthet Surg J*. 2016;36(4):488-96. doi: 10.1093/asj/sjw004.
7. Strong A, Cederna P, Rubin J, Coleman S, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(4):897-912. doi: 10.1097/prs.0000000000001590.
8. Coleman S, Mazzola R, Pu L. Lipoinyección desde el Relleno hasta la Regeneración. 2ª, editor: Editorial Amolca 2019. 1062 p.
9. Rohrich R, Sorokin E, Brown S. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113(1):391-5; discussion 6-7. doi: 10.1097/01.prs.00000097293.56504.00.

10. Geissler P, Davis K, Roostaeian J, Unger J, Huang J, Rohrich R. Improving fat transfer viability: the role of aging, body mass index, and harvest site. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134(2):227-32. doi: 10.1097/prs.0000000000000398.
11. Keck M, Kober J, Riedl O, Kitzinger H, Wolf S, Stulnig T, 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*. 2014;67(1):e1-8. doi: 10.1016/j.bjps.2013.08.019.
12. Padoin A, Braga-Silva J, Martins P, Rezende K, Rezende A, Grechi B, et al. Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(2):614-8. doi: 10.1097/PRS.0b013e31817d5476.
13. Girard A, Atlan M, Bencharif K, Gunasekaran M, Delarue P, Hulard O, et al. New insights into lidocaine and adrenaline effects on human adipose stem cells. *Aesthetic Plast Surg*. 2013;37(1):144-52. doi: 10.1007/s00266-012-9988-9.
14. Cucchiani R, Corrales L. The Effects of Fat Harvesting and Preparation, Air Exposure, Obesity, and Stem Cell Enrichment on Adipocyte Viability Prior to Graft Transplantation. *Aesthet Surg J*. 2016;36(10):1164-73. doi: 10.1093/asj/sjw106.
15. Adan A, Kiraz Y, Baran Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016;17(14):1213-21. doi: 10.2174/1389201017666160808160513.
16. Sanchez-Gurmaches J, Hung C, Guertin D. Emerging Complexities in Adipocyte Origins and Identity. *Trends Cell Biol*. 2016;26(5):313-26. doi: 10.1016/j.tcb.2016.01.004.
17. Khouri R, Jr., Khouri R, Lujan-Hernandez J, Khouri K, Lancerotto L, Orgill D. Diffusion and perfusion: the keys to fat grafting. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2014;2(9):e220. doi: 10.1097/gox.0000000000000183.