

# Regeneratieve geneeskunde, tissue engineering en lipofilling

F. Stillaert, S. Monstrey

Het menselijk vetweefsel werd in 1551 door de Zwitserse bioloog Conrad Gessner voor de eerste maal beschreven. [1] Geen ander humaan weefsel is ooit zo veelbesproken geweest op zowel emotioneel, cultureel, socio-economisch als medisch vlak. Het menselijk vetweefsel - ook wel het adipous orgaan genoemd - wordt aangetroffen in specifieke anatomische regio's: subcutaan en intraperitoneaal (figuur 1). [2]



*Figuur 1. Het subcutaan vetweefsel maakt deel uit van het adipous orgaan. Het is een makkelijk te bereiken weefselbron via de minimaal invasieve liposuctietechniek.*

F. Stillaert, plastisch chirurg, dienst Plastische en Reconstructieve Heelkunde, Universitair Ziekenhuis Gent

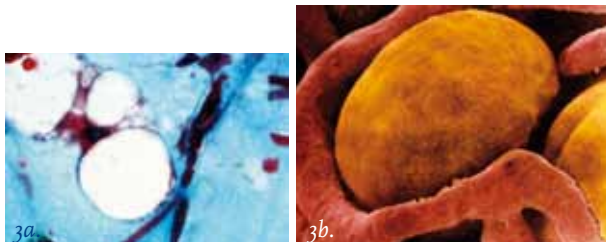
S. Monstrey, plastisch chirurg, dienst Plastische en Reconstructieve Heelkunde, Universitair Ziekenhuis Gent

Vetweefsel is een mesenchymaal weefsel met specifieke fysische eigenschappen en vitale fysiologische functies. Dit bindweefsel beschermt de onderliggende lymfatische, neurovasculaire en musculotendineuze structuren en kenmerkt zich door een zeer dynamische plasticiteit met specifieke endocrinologische functies (figuur 2a,2b). Deze dynamiek vertaalt zich anatomisch in een uitgebreide intrinsieke vasculaire plexus met een duidelijke, kritieke interactie tussen de cellulaire en vasculaire component. Elke adipocyt staat in contact met ten minste één capillair en de vasculaire filtratiecoëfficiënt (bloedstroming per 100 gram vetweefsel per minuut) is opmerkelijk groter in vergelijking met gestreept spierweefsel (figuur 3a,3b). [3-5]. Uit het mesoderm ontstaat het losmazig mesenchymaal bindweefsel waaruit nadien verscheidene bindweefsels differentiëren. Het vetweefsel verschijnt nadat zich initieel een primitieve vasculaire plexus (het 'primitieve vetorgaan') heeft ontwikkeld. [2] De panniculus adiposus bestaat uit twee, duidelijk omschreven fracties: enerzijds de mature adipocyten en anderzijds de stromale vasculaire fractie (SVF). De SVF bevat interstitiële cellen en de microvasculaire plexus. Beide liggen ingebed in een geometrisch gestructureerde extracellulaire matrix (ECM) (figuur 4). [5,6] De interstitiële celpopulatie is een heterogene groep met cellen die zich in verschillende stadia van celdifferentiatie bevinden. Deze populatie omvat onder andere endotheelcellen, myocyten, pericyten, fibroblasten, mastcellen en predipocyten. Predipocyten zijn de precursor- of progenitorcellen van adipocyten. In de SVF bevinden zich de pluri- en multipotente, mesenchymale stamcellen (de 'adipo-



*Figuur 2a. Het subcutane vetweefsel beschermt lymfatische structuren, bloedvaten, zenuwen en musculotendineuze structuren. Het heeft bovendien naast deze typische fysische eigenschappen enkele cruciale endocrinologische functies.*

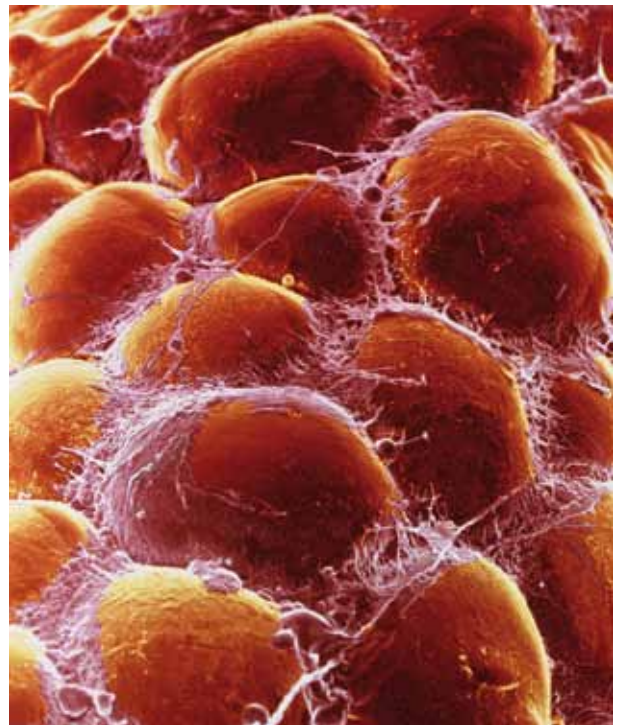
*Figuur 2b. Een deglovement letsel behandeld met huidenten. Het trauma toont de cruciale rol aan van het onderhuidse vetweefsel op zowel esthetisch als fysiologisch vlak. Verlies van de esthetische contouren gaat gepaard met expositie van de musculotendineuze structuren en prominente botstructuren.*



*Figuur 3a. Appositie van een adipocyt met een capillair op een histologische sectie (eigen research). Humaan vetweefsel is een uitzonderlijk sterk gevasculariseerd bindweefsel. De verhouding adipocyt/capillair is 1/1.*

*Figuur 3b. Elektronenmicroscopie toont de mooie verhouding aan tussen een adipocyt en het capillaire netwerk.*

se tissue-derived mesenchymal stem cells', ADSCs) die een regeneratieve functie hebben en een therapeutisch alternatief kunnen bieden voor de stamcellen in beenmerg. Geschat wordt dat 10% van de mature adipocyten jaarlijks vervangen wordt waarbij de SVF procentueel afneemt met de leeftijd. [7] De ontdekking van de stamcelpopulatie in volwassen vetweefsel heeft een ware hype veroorzaakt wat onder andere - samen met tissue-engineeringonderzoek - geleid heeft tot het ontstaan van de discipline 'regeneratieve geneeskunde'. Plastische chirurgie is steeds een discipline geweest waarbij weefsels doelgericht gemanipuleerd en geremodelleerd werden. Sedert de eerste niertransplantatie – uitgevoerd door een plastisch chirurg – is men geëvolueerd van de volledige, functionele orgaantransplantatie naar de transplantatie op cellulair niveau. Het voorhanden zijn van een zeer toegan-

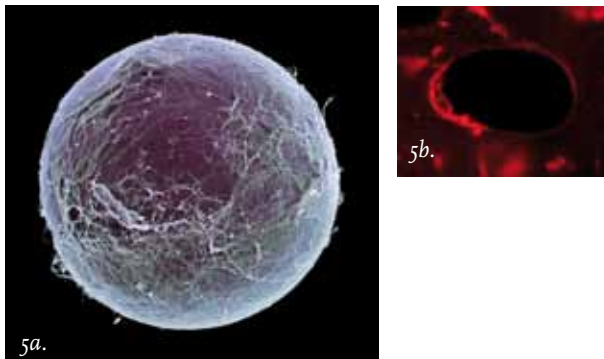


*Figuur 4. Adipocyten ingebed in de extracellulaire matrix (ECM). De ECM bestaat uit structurele glycoproteïnen en wordt ook wel eens de biologische lijm genoemd die cellen samen houdt waardoor intercellulaire interacties mogelijk zijn.*

kelijke stamcelpopulatie in het subcutaan vetweefsel heeft de hoop op het genereren en produceren van 'off-the-shelf'-weefsels alleen maar (voorbarig) aangewakkerd. De subcutane vetloges zijn steeds het 'werkdomein' geweest van de plastische chirurgie en zorgt er nu voor dat deze discipline steeds meer op de voorgrond treedt aangaande stamcelonderzoek, tissue engineering en het verder uitbouwen van het 'bench-to-bedside'-principe. Voordeel is dat de stamcelpopulatie in het onderhuidse vetweefsel bereikbaar is via de minimaal invasieve liposuctietechniek. Tevens kan de procedure makkelijk en zonder al te veel morbiditeit herhaald worden. Eén gram vetweefsel bevat ongeveer  $5 \times 10^3$  stamcellen wat ongeveer 400 maal meer is dan het aantal stamcellen dat teruggevonden wordt in 1 gram beenmerg. [8-15] Predipocyten, beschreven in 1926 door Wasserman, zijn de precursorcellen van de adipocyten (Hausberger, 1954) (figuur 5a, 5b). Deze cellen zijn voorbestemd om adipocyt te worden en ontstaan uit de adipoblasten, die op hun beurt ontstaan zijn uit pluripotente (spoelvormige) stamcellen. In theorie zou men vetweefsel kunnen genereren in vitro om nadien in vivo te transplanteren. Hierbij kan men gebruikmaken van specifieke, biocompatibele en biologisch resorberebare 'scaffolds' met een bepaalde vorm waarop een precursorcelpopulatie geïnoculeerd kan worden. Deze techniek van histioconductie, gebruikmakend van 'scaffolds' werd gekopieerd uit tissue-engineeringonderzoek van kraakbeen en bot.

#### VAN VETTRANSPLANTATIE TOT LIPOFILLING

Het menselijk lichaam is voortdurend blootgesteld aan acute of chronisch degeneratieve invloeden, te wijten aan ziekte,

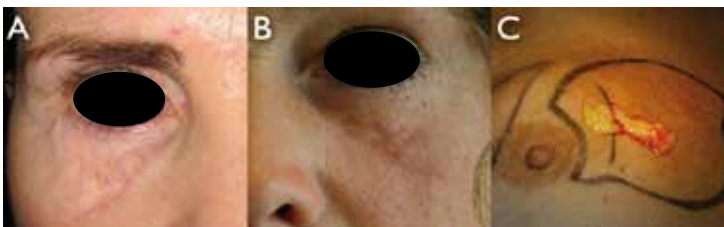


*Figuur 5a. Een mature, volledig gedifferentieerde adipocyt heeft een lipidedruppel die tot 90% van het cytoplasma inneemt en de celnucleus naar de periferie verdringt. Een volwassen vetcel ontstaat uit een spoelvormige precursorcél ('spindle cell') en evolueert naar een meer sferische vorm door het samenvloeien van meerdere kleine lipidedruppels.*

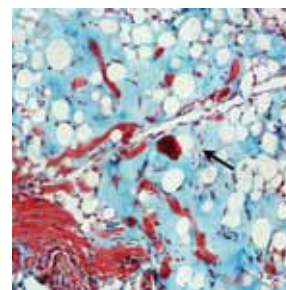
*Figuur 5b. Een histologisch beeld van een volwassen vetcel toont de typische zegelringstructuur: de celkern is verdrongen naar de periferie en het cytoplasma bestaat voor 90% uit een oliedruppel.*

het verouderingsproces of een traumatisch incident. Niet-tegenstaande 1 gram levend weefsel ongeveer 1 biljoen cellen bevat, blijft het regeneratief vermogen van ons lichaam zwak. [6] Bij trauma gaat een specifiek helingsproces geïnduceerd worden waarbij het organisme in zijn geheel gespaard wordt maar het specifieke, betrokken orgaan definitief beschadigd kan worden. Het 'replace-like-with-like'-principe blijft een dogmatisch basisprincipe binnen de plastische chirurgie waarbij een evenwicht of homeostase nagestreefd wordt tussen donor of weefselent en het recipient weefsel of wondbodem (figuur 6). De klinische impetus om de aan de chirurgie gerelateerde morbiditeit te verminderen en chirurgische technieken verder te verfijnen, heeft ertoe geleid dat het adipeus orgaan als donorweefsel sterk naar de voorgrond is getreden. Vettransplantatie werd al toegepast in 1601 bij de slag om Oostende. Hollandse chirurgen

verzamelden het vetweefsel van gesneuvelden. Dit allogeen kadaverweefsel werd gebruikt als wondbedekking en -behandeling. [16] Toen al merkten chirurgen de regeneratieve karakteristieken van vetweefsel dat beschouwd werd als één van de beste remedies om de wondgenezing te bespoedigen. In 1889 beschreef Van Der Meulen de eerste autologe vettransplantatie waarbij een diafragma defect met omentum en subcutaan vetweefsel gereconstrueerd werd. [16] Neuber (1893) gebruikte nadien kleine vetgreffes om een defect in het gelaat te reconstrueren. Hij benadrukte het belang van de grootte van de ent en concludeerde dat "vetenten groter dan een amandelnoot weinig kans op slagen hadden". [17] Nadien volgden diverse publicaties over het gebruik van vetweefsel als vrije ent voor verschillende indicaties. Het resorptiefenomeen, inherent verbonden aan vettransplantatie, werd in 1957 beschreven door Schorcher. Dit biologisch, onvoorspelbaar proces blijft tot vandaag chirurgen parten spelen want het is de voornaamste reden waarom de klinische outcome van een lipofillingprocedure ontgoochelend kan zijn. Schorcher beschreef hoe een volumeverlies optrad van maar liefst 75% na een postoperatieve follow-up van negen maanden. Het resorptiefenomeen heeft te maken met de laattijdige of onvolledige revascularisatie van de ent (figuur 7). Peer (1956) beschreef dit revascularisatieproces en ging dieper in op de neo-angiogenese. [17] Vrij getransplanteerde cellen overleven initieel via plasmatische imbibitie; de vetent 'drinkt' als het ware plasma vanuit de omgeving. Dit vindt plaats gedurende de onmiddellijke postoperatieve periode waarbij de ent zich in een ischemische toestand bevindt en overleeft door voedingsstoffen via imbibitie op te nemen. De diffusiegrens voor plasmatische imbibitie bedraagt 150 µm. Dit is de maximale afstand tussen een cel en een capillair om de cel te laten overleven via imbibitie. [18] De revascularisatie zal uiteindelijk de ent verder voorzien van de nodige voedingsstoffen en het hypoxisch milieu opheffen. De postoperatieve, ischemische periode varieert normaliter tussen de 12 en 48 uur maar kan in geval van grotere volumes uitlopen tot 3 à 5 dagen. [18] Laattijdige revascularisatie leidt tot celnecrosis en -apoptosis met volumeresorptie. De 'cell survi-



*Figuur 6. Herhaalde injecties met commerciële fillers van de infraorbitale en malaire regio heeft geleid tot verlittekening en weefselatrofie (A). Lipofilling van deze zones kan eveneens zorgen voor ontgoochelende resultaten wegens resorptie en fibrosering van de vetgreffes. Dit kan leiden tot afkapseling en onregelmatigheden zichtbaar onder de huid (B). Wanneer een lipofilling niet leidt tot het tot stand brengen van een "equilibrium" tussen de greffe en de recipient zone is geen homeostase mogelijk met uiteindelijk resorptie, cystvorming en verlittekening (C). (Bron: Tijdschrift voor Geneeskunde, Stillaert et al., 2014)*



*Figuur 7. Dit histologisch beeld toont een spiergreffe (rode structuren) die gerevasculariseerd wordt door een nieuwgevormd bloedvat. Dit nieuw genereren van een bloedvat uit een bestaand bloedvat wordt angiogenese genoemd. Op het nieuwgevormde bloedvat is eveneens 'sprouting' te zien van een kleiner bloedvat (pijl). Sprouting ligt aan de oorsprong van angiogenese en zorgt ervoor dat een driedimensionale, nutritionele, vasculaire plexus gevormd wordt.*



val theory' beschrijft hoe een deel van de getransplanteerde cellen overleeft en het uiteindelijke volume gaat bepalen. De 'host replacement theory' anderzijds stelt dat een deel van de cel populatie in de ent vervangen wordt door cellen die migreren vanuit de recipiëntzone. Een combinatie van beide theorieën speelt vermoedelijk een rol in de postoperatieve fase van vettransplantaties. [17,19] Het fenomeen van plasmatische imbibitie is een topic voor verder onderzoek. Verrijking van de receptorregio met autoloog plasma kan een rol spelen in een betere overleving van de lipoaspiraatreffes. Ons onderzoek toonde een overleving aan van lipoaspiraatsalen in autoloog plasma gedurende een week in analogie met klassieke cultuurmedia.

De moeilijk in te schatten, onvoorspelbare graad van resorptie deed de interesse in vrije vettransplantatie sterk verminderen tot in de jaren zeventig de liposuctietechniek geïntroduceerd werd door de gynaecoloog dr. Fischer. Hierbij maakte men gebruik van aspiratiecanules om vetweefsel selectief te verwijderen. De techniek werd in de kliniek geïntroduceerd door Illouz en Fournier in 1978. Op die manier kon in feite een driedimensionaal, vast orgaan via een liquefactieprocedure gepreleveerd worden. Sydney Coleman introduceerde uiteindelijk de lipofillingtechniek zoals we die vandaag kennen. [20] Het lipoaspiraatsal werd gebruikt als filler en kon op gerichte manier geïnjecteerd worden voor de behandeling van wekeweefseldefecten (figuur 8 a,b,c). Deze injectie gebeurt laminair, in meerdere lagen op verschillende niveaus in het onderhuidse weefsel waarbij telkens een klein volume geïnjecteerd wordt. Het weefseldefect wordt hersteld met meerdere, 'geëtagerde' injecties. De rationale is het geïnjecteerde lipoaspiraatsal een maximale kans op overleving te bieden gezien kleinere volumes makkelijker overleven via het diffusie proces. Na liposuctie wordt het verkregen lipoaspiraatsal gecentrifugeerd gedurende drie minuten aan 3000 tpm (1200 G). Centrifugeren zorgt voor een duidelijke scheiding van het lipoaspiraatsal met celdebris, liposuctievloeistof, oliecomponenten, bloed en plasma (figuur 7b). Er bestaan verschillende ideeën en meningen omtrent de vraag of centrifugeren nodig is. Het blijft echter een efficiënte methode om de oliesubstantie te verwijderen gezien deze bij injectie aanleiding kan geven tot het ontstaan van cystes.

#### DE KLINIEK

Het beogen van wefelsaugmentatie is één van de primaire indicaties om een procedure uit te voeren. Technische vooruitgang en een betere kennis van wat er zich op microscopisch niveau afspeelt gedurende de periode na de transplantatie heeft er toe geleid dat steeds grotere volumedeficiënties gereconstrueerd kunnen worden. De lipofillingtechniek is in een fase gekomen waar het enerzijds bestaande klassieke chirurgische procedures geleidelijk aan begint te vervangen en anderzijds zich als een nieuwe techniek gaat manifesteren voor zowel chirurgische als niet-chirurgische indicaties. De resorptiegraad van getransplanteerd vetweefsel zal in grote mate afhangen van de levensstijl van de patiënt en van de kwaliteit van de recipiëntzone. Patiënten met atrofische, verlittekende of bestraalde receptorzones zullen baat hebben bij verscheidene lipofillingprocedures om het beoogde resul-



Figuur 8a. Dankzij de liposuctie- en lipofillingtechniek kan een vast, driedimensioneel orgaan geliquifeerd worden en vervolgens geïnjecteerd ter behandeling van wekeweefseldefecten.



taat te bereiken. Lipofilling kan eveneens gebruikt worden als een bijkomende chirurgische strategie. Een voorbeeld is de klassieke borstaugmentatie waar de combinatie van een implantaat met lipofilling van specifieke zones zoals het décolleté of de bovenpolen zorgt voor een natuurlijker ogend resultaat (figuur 9, 10). Bovendien kan een retropectorale (achter de borstspier) plaatsing van een implantaat vermeden worden dankzij een bijkomende lipofillingprocedure bij uitgesproken hypotrofie van beide borsten of bij een borst-reconstructie (figuur 11). Lipofilling vergroot de subdermale loges waardoor de prothesen minder zicht- en voelbaar worden. De morbiditeit van een retropectorale dissectie wordt hierbij vermeden.

De toenemende expertise en postoperatieve langetermijnbevindingen hebben aangetoond dat een lipofillingprocedure eveneens impact heeft op de weefselkwaliteit. [21-24] In-vitro-onderzoek laat zien dat de stamcelpopulatie in het



*Figuur 9. Status na borstvergroting met retropectoraal geplaatste prothesen. Craniale migratie van beide prothesen en kapselvorming ter hoogte van beide borsten met verlies van een mooie contour (links). Beide prothesen werden verwijderd met capsulectomie, herpositioneren van de pectoralisspier en mastopexie. Tijdens dezelfde operatie werd een lipofillingprocedure uitgevoerd ter hoogte van beide borsten, onderpool, mediale regio's en décolleté om het volume te reconstrueren. Resultaat negen maand postoperatief met mooi volume- en contourherstel (rechts).*



*Figuur 10. Preoperatieve situatie van een patiënte die zich aanbiedt voor een borstaugmentatie. Klinisch heeft een thoraxdeformatie de voorkeur. Gezien de uitgesproken mammaire hypoplasie is normaliter een retropectorale plaatsing van borstprothesen geïndiceerd. Gezien de thoraxdeformiteit kan dit leiden tot een ontgoochelend postoperatief resultaat. Er werd geselecteerd om prothesen in een prepectorale positie te plaatsen (295 cc) met bijkomende lipofillingprocedure van de huidenveloppe om de zichtbaarheid en aanvoelen van de prothesen te maskeren. Dit resulteert in een zeer natuurlijk voorkomen van beide 'gereconstrueerde' borsten met stabiel resultaat achttien maand postoperatief (rechts).*

*(Bron: Tijdschrift voor Geneeskunde, Stillaert et al., 2014)*

vetweefsel (ADSC) niet alleen de fibroblastproliferatie stimuleert via een rechtstreekse cel-celinteractie maar ook via een paracrine interactie. De stamcellen zouden verantwoordelijk zijn voor de secretie van collageen, fibronectine en groeifactoren. De adipocytokines stimuleren de productie van specifieke componenten van de ECM. Zo zou adiponectine de collageentype I- en hyaluronzuurproductie door fibroblasten stimuleren. Leptine zou verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van hyaluronzuur door deze cellen. Deze beide glycoproteïnen zijn verantwoordelijk voor een verbe-



*Figuur 11. Status na subcutane mastectomie rechts en retropectorale weefselexpander. Uiteindelijk werd de expander na beëindigen van adjuvante radiotherapie verwijderd en werd een prepectorale prothese geplaatst met bijkomende lipofilling van de huidenveloppe. De combinatie prothese en lipofilling zorgt voor het verzachten van de borstcontouren.*

tering van de elasticiteit en flexibiliteit van de huid. [21-24] Daarnaast stimuleren de stamcellen of predipocyten de epidermale regeneratie en keratinocytenproliferatie. Apoptosis van keratinocyten wordt op zijn beurt geïnhibeerd [21-24] (figuur 12). Patiënten met brandwonden zouden baat kunnen hebben bij lipofillingbehandelingen om hypertrofievorming tegen te gaan of effectief te behandelen. De passage van de injectiecanule zorgt tevens voor een interne adhesiolysis van het littekenweefsel waarbij lipoaspiraats tijdens eenzelfde procedure wordt geïnjecteerd om de subdermale lagen opnieuw te reconstrueren. Hierdoor neemt de weefselmobiliteit toe met verminderde morbiditeit voor de patiënt.

## TISSUE ENGINEERING

De enorme vooruitgang van de geneeskunde op het gebied van kennis en techniek in de twintigste eeuw zorgde voor een sterk verminderde aan chirurgie gerelateerde morbiditeit voor de patiënt en een betere levenskwaliteit. Het trachten onder controle te krijgen van destructieve of mutilerende pathologie wordt gedreven door het 'replace-like-with-like'-principe. Weefsels kunnen momenteel uit een bepaalde regio binnen het menselijk lichaam verwijderd worden en getransplanteerd naar een zone die gereconstrueerd dient te worden. In de jaren zestig ontstond de weefselbiologie en dit resulteerde uiteindelijk in het opstarten van organotypische culturen waarbij meerdere celtypen samen in cultuur werden gebracht. [25] Op die manier kon hun interactie bestudeerd worden. De term 'tissue engineering' ontstond in de jaren tachtig en werd omschreven als het toepassen en samenbrengen van de principes en methodiek afgeleid uit de fysische wetenschappen en humane wetenschappen met als doel de structurele en functionele eigenschappen in kaart te brengen van normale en pathologische weefsels en de ontwikkeling te promoten van biologische substraten om weefselfuncties te herstellen, te onderhouden of te verbeteren. [25] In de praktijk worden reconstructief chirurgen dikwijls geconfronteerd met een tekort aan kwalitatief goed donorweefsel om bepaalde reconstructies of weefselaugmentaties te kunnen uitvoeren. Een 'off-the-shelf' weefselproduct of orgaansubstraat zou idealiter de oplossing kunnen bieden



*Figuur 12. Chronische wond bij vasculair belaste patiënt, met diabetes type I (links). Lipofilling met injectie van 8 cc lipoaspiraart in de subdermale regio resulteerde in een verbetering van de huidkwaliteit drie maanden postoperatief (rechts).*

*(Bron: Tijdschrift voor Geneeskunde, Stillaert et al., 2014)*

om aan deze nood te voldoen. De ontdekking van een stamcelpopulatie in de panniculus adiposus heeft de interesse in 'off-the-shelf'-weefsels alleen maar aangewakkerd. Er zijn twee strategieën om organogenese te induceren via tissue-engineering-technieken: 1. de histioconductie en de 2. histio-inductie. [25-28] Hystioconductie maakt gebruik van rigide, biologisch afbreekbare 'scaffolds' waarop cellen geïnoculeerd of gezaaid kunnen worden. De combinatie van een 'scaffold' met geïnoculeerde cellen wordt een biohybride genoemd en kan ingeplant worden in de gastheer. Op die manier verwacht men dat deze constructie – met specifieke vorm en geometrie - verder zal differentiëren in een specifiek organoïd waarbij deze de vorm van de 'scaffold' aanneemt. Denken we bijvoorbeeld aan de implantatie van precursorcellen van chondrocyten of kraakbeencellen op een rigide 'scaffold'



*Figuur 13. Tubereuze borstpathologie rechts, behandeld met initieel het plaatsen van een expander om de huidenveloppe te expanderen met nadien vier sessies lipofilling. De expander werd uiteindelijk verwijderd en een herstel van de borstcontour werd bekomen met autoloog weefsel dmv de primaire lipofilling sessies. Resultaat postoperatief, achttien maanden na de laatste lipofillingssessie. De chirurgische strategie is eigenlijk gebaseerd op tissue-engineeringprincipes: 1. het creëren van ruimte, 2. kapselvorming rond de expander genereert een vasculaire plexus, 3. autoloog plasma werd gebruikt als matrix en 4. het lipoaspiraart werd als celbron gebruikt om de borst op te bouwen.*

*(Bron: Tijdschrift voor Geneeskunde, Stillaert et al., 2014)*

om bijvoorbeeld een oorschelp te reconstrueren. Een alternatieve strategie in tissue engineering is de histio-inductie. Een bepaalde matrix wordt geïnjecteerd ter hoogte van de receptorzone en zal de aanwezige cellen stimuleren zich verder te prolifereren en te differentiëren. De grote uitdaging in het 'fabriceren' of 'tissue engineeren' van vetweefsel is de noodzaak aan vascularisatie. Zoals hierboven vermeld werd, is vetweefsel sterk gevasculariseerd. Om vetweefsel te genereren moet hier dus rekening mee gehouden worden en kunnen histioconductieve technieken niet gebruikt worden. Deze technieken gebruiken rigide 'scaffolds' maar worden vooral gebruikt voor het genereren van weefsels die minder afhankelijk zijn van het revascularisatieproces. Om vetweefsel te genereren moeten het adipogenesis- en het angiogenesiproces samen plaatsvinden gezien de nieuw gevormde adipocyten gevasculariseerd moeten worden. Hystio-inductie is hierbij een ideale strategie maar de ontwikkeling van een histio-inductieve matrix vergt een grote inspanning. Dit verklaart meteen waarom de extracellulaire matrix (ECM) zo'n belangrijke rol speelt bij het overleven en goed functioneren van cellen. De natuurlijke ECM is de vector en coördinator van cellulaire processen, coördineert de cel-matrixinteracties en is een opslagplaats voor moleculen, hormonen en andere bioactieve substraten. Adipose tissue-engineeringonderzoek heeft ons voorlopig geleerd dat: 1. ruimte gecreëerd moet worden om te voorkomen dat getransplanteerde cellen of de organogenese gecompromitteerd worden door externe druk, 2. vascularisatie essentieel is om een functioneel organoïd te verkrijgen, (3) de matrix cruciaal is om cellen een driedimensionele, geometrische structuur te bezorgen die verdere proliferatie en differentiatie ondersteunt en voedt, 4. potente precursorcellen in aanzienlijke hoeveelheden beschikbaar moeten zijn om de celstructuur op te bouwen (figuur 13,14). Liposuctie kan op die manier een grote hoe-



*Figuur 14. Een deglovement letsel van de knie bedekt met een huident. Om de subcutane weefsellaag te herstellen werd een lipofillingprocedure uitgevoerd. Tissue-engineeringresearch heeft aangetoond dat de extracellulaire matrix een cruciale rol speelt in de adipogenesis. Om de resorptiegraad te minimaliseren werd daarom een hyaluronzuurgel toegevoegd aan het lipoaspiraart om een betere stabiliteit te verkrijgen met goed klinisch resultaat. Tijdens revisie voor huidlaxiteit werden de geïnjecteerde vetloges goed waargenomen.*



veelheid cellen isoleren die gebruikt kunnen worden voor tissue-engineeringdoeleinden. Wat we op dit moment bereikt hebben met het adipose tissue-engineeringonderzoek is het in kaart brengen wat de resorptie van vettransplantaties kan voorkomen of ten minste reduceren. De omgeving of ECM speelt hierin duidelijk een cruciale rol.

## CONCLUSIE

De voordelen van het subcutaan vetweefsel als 'regeneratief weefsel' zijn: 1. autoloog, 2. gemakkelijk te bereiken, 3. beschikbaar in aanzienlijke hoeveelheden en 4. minimale morbiditeit/invasief karakter voor de patiënt. Dankzij de synergie tussen het tissue-engineeringonderzoek en de huidige klinische toepassingen met toenemende expertise op het vlak van de lipofilling heeft de plastische chirurgie een weg ingeslagen waarbij het een voortrekkersrol kan spelen op het gebied van de regeneratieve geneeskunde met veelbelovende toekomstige klinische toepassingen wat een grote impact kan hebben op de chirurgiegerelateerde morbiditeit voor de patiënt.

## LITERATUUR

- Cannon B, Nedergaard J. *Developmental biology: Neither fat nor flesh*. *Nature* 2008;454:947-8. (21 August 2008. / Gessner, K. *Conradi Gesneri medici Tigurine Historiae Animalium Lib. I de Quadripedibus uiuiparis* 842 (1551).
- Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997;4:211-32. Review.
- Crandall DL, DiGirolamo M. Hemodynamic and metabolic correlates in adipose tissue: pathophysiologic considerations. *FASEB J* 1990;4:141-147.
- DiGirolamo M, Skinner NS Jr, Hamley HG, Sachs RG. Relationship of adipose tissue blood flow to fat cell size and number. *Am J Physiol* 1971;220:932-7.
- Alexander JK, Dennis EW, Smith WG, Amad KH, Duncan WC, Austin RC. Blood volume, cardiac output, and distribution of systemic blood flow in extreme obesity. *Cardiovasc Res Ctr Bull* 1962;1:39-44.
- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260:920-6. Review. Langer and Vacanti 1993.
- Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008;453:783-7.
- Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*. 2000;21:2529-43.
- Yang YS, Song HD, Li RY, Zhou LB, Zhu ZD, Hu RM, et al. The gene expression profiling of human visceral adipose tissue and its secretory functions. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:839-46.
- Demartinis FD, Francendese A. Very small fat cell populations: mammalian occurrence and effect of age. *J Lipid Res* 1982;23:1107-20.
- Atanassova PK. Formation of the basal lamina in human embryonal adipose cells – immunohistochemical and ultrastructural evidence. *Folia Medica* 2003;45:31-5.
- Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007;100:1249-60. Review.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002;13:4279-95.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001;7:211-28.
- History of regenerative medicine: looking backwards to move forwards. Kemp. *Regenerative Med* 2006;1:653-69. (*Regenerative medicine (1st Edition)* Yannas IV (Ed.). Springer, NY, USA (2005).
- Silverman KJ, Lund DP, Zetter BR, Lainey LL, Shahood JA, Freiman DG, et al. Biochem Biophys Res Commun. Angiogenic activity of adipose tissue 1988;153:347-52.
- Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 1989;83:368-81.
- Langer S, Sinitsina I, Biberthaler P, Krombach F, Messmer K. Revascularization of transplanted adipose tissue: a study in the dorsal skinfold chamber of hamsters. *Ann Plast Surg* 2002;48:53-9.
- Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg* 2012;129:1081-92.
- Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg* 2006;118(3 Suppl):108S-120S.
- Kim WS, Park BS, Kim HK, Park JS, Kim KJ, Choi JS, et al. Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J Dermatol Sci* 2008;49:133-42.
- Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci* 2007;48:15-24.
- Rigotti G, Marchi A, Galiè M, Baroni G, Benati D, Krampira 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;119:1409-22; discussion 1423-4.
- Sultan SM, Stern CS, Allen RJ Jr, Thanik VD, Chang CC, Nguyen PD, et al. Human fat grafting alleviates radiation skin damage in a murine model. *Plast Reconstr Surg* 2011;128:363-72.
- Badyrak SF. Regenerative medicine and developmental biology: the role of the extracellular matrix. *Anat Rec B New Anat* 2005;287:36-41. Review.
- Doornaert MA, Blondeel PN, Stillaert FB. Inclusion of basic adipose tissue engineering research in a lipofilling procedure. *Plast Reconstr Surg* 2011;127:80e-82e
- Stillaert FB, Di Bartolo C, Hunt JA, Rhodes NP, Tognana E, Monstrey S, Blondeel PN. Human clinical experience with adipose precursor cells seeded on hyaluronic acid-based spongy scaffolds. *Biomaterials* 2008;29:3953-9.
- Stillaert F, Findlay M, Palmer J, Idrizi R, Cheang S, Messina A, et al. Host rather than graft origin of Matrigel-induced adipose tissue in the murine tissue-engineering chamber. *Tissue Eng* 2007;13:2291-300.

**SAMENVATTING**

Vetweefsel is een emotioneel weefsel. Het beroert niet alleen mensen en patiënten met zijn socio-economische impact maar ook het artsenkorps omwille van zijn ongezien klinisch potentieel. Het gebruik van autoloog vetweefsel met als doel weefseldefecten te herstellen heeft een boeiende geschiedenis gebaseerd op het 'replace-like-with-like'-principe. Het is een geschiedenis van 'trial and error' omdat de voordelen van vetweefsel zeer aantrekkelijk zijn en het steeds gehaald hebben op de problematiek van de onvoorspelbare resorptie. Deze laatste is intrinsiek verbonden aan de techniek van vrijeweefseltransplantatie.

Lipofilling of vrijeweefseltransplantatie heeft een zeer aantrekkelijk minimaal invasief karakter waarbij zowel een kwantitatief als een kwalitatief weefselherstel kan ontstaan. Het kwalitatief voordeel wordt toegeschreven aan de aanwezigheid van een celpopulatie met multipotentieel

karakter. De ontdekking van deze celpopulatie met stamcel-eigenschappen - ook wel de 'Adipose Derived Stem Cells' (ADSCs) genoemd - heeft ertoe geleid dat dit mesenchymaal weefsel een dankbare bron van progenitorcellen is geworden voor tissue-engineeringtoepassingen.

**TREFWOORDEN**

lipofilling, adipocyt, minimaal invasief, autoloog

**CORRESPONDENTIEADRES**

Filip Stillaert

Universitair Ziekenhuis Gent

Dienst Plastische en Reconstructieve Heelkunde

De Pintelaan 185

9000 Gent

E-mail: filip.stillaert@ugent.be

# Autologous adipose derived fat grafting in breast reconstruction: search for a golden ratio

*A.R.T. Brand, T. Bello, M. Carminati, E. Robotti*

De toepassing van autologe vettransplantaties is in Bergamo uitgegroeid tot een standaard aanvulling op het reconstructieve traject na totale mastectomie. Het biedt de plastisch chirurg de mogelijkheid een goede bedekking van de prothese en een verbetering en verfijning van de vorm van de borst te realiseren.

Hoewel men veronderstelt dat de overlevingskans van het transplantaat door lichte overvulling wordt vergroot, bestaat daarvoor geen bewijs dat chirurgen een betrouwbaar handvat biedt om te bepalen hoeveel vet er exact geïnjecteerd moet worden voor een optimale graft take.

Forse overvulling leidt tot een hoog risico op complicaties (bijvoorbeeld oliecysten of vetnecrose), terwijl ondervulling onvoldoende resultaat oplevert (veel resorptie).

Ons onderzoek beoogt een gouden ratio te vinden tussen het volume van de acceptorplaats en de hoeveelheid vet die geïnjecteerd moet worden voor optimale take. Het is opgezet als singlecenter dubbelblind gerandomiseerd gecontroleerd onderzoek.

Gedurende 6 maanden werden 34 vrouwen (60 borsten) tussen de 20 en 65 geselecteerd die, na borstamputatie, een tissue-expander voor weefselexpansie kregen en waarbij een

definitieve prothese geplaatst werd. Op iedere borst werden twee gebieden van 3x4 cm gemarkeerd. De volumes van de vooraf bepaalde gebieden (meestal in het dunnere supra-areolaire gebied) werden berekend door de gemiddelde dikte van de subcutane laag op 9 punten met ultrageluid te meten. De patiënten werden willekeurig verdeeld en gestratificeerd in drie verhoudingsgroepen, 1:2, 1:3 en 1:4. De transplantaten werden geogst via een gemodificeerde colemanteknik en, na het plaatsen van de definitieve prothese, geïnjecteerd in de subcutane laag op de donorplaats met een 25-gauge naald. De follow-up bedraagt 1, 3, 6 en 12 maanden.

Onze hypothese is dat het volume van de subcutane laag een klinisch relevant handvat kan bieden voor het eenvoudig berekenen van de optimale hoeveelheid te injecteren vet. Gebruik van ultrageluid houdt de kosten laag en zorgt voor een brede toepasbaarheid. Wij hopen spoedig onze follow-up af te ronden en de resultaten te publiceren.

**CORRESPONDENTIEADRES:**

Drs. Aarent R.T. Brand

Arts assistent heelkunde

Ospedale Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Lombardia, Italië

E-mailadres: aa.brand@gmail.com