

Tratamiento de secuelas tardías de cicatrices en quemaduras utilizando la Fracción del Estroma Vascular (FEV) derivadas del tejido adiposo a partir de lipoaspirados humanos

Treatment of late sequelae of scars in burns using the Fraction of the Vascular Stroma (SVF) derived from the adipose tissue from human lipoaspirates

Balmelli B¹, Mussi D², Canese J², Sandoval J³

RESUMEN

Introducción: El tejido adiposo obtenido mediante liposucción es una fuente idónea para aislar células con potencial terapéutico, las denominadas células de la fracción del estroma vascular (FEV), que incluyen células madre mesenquimales. Estas células se han convertido en una de las principales herramientas de terapia celular autóloga para diversas aplicaciones médicas, y en los últimos años se han ido desarrollando diversas tecnologías para su aislamiento y uso clínico. Por su parte las cicatrices derivadas de quemaduras tienen secuelas funcionales y estéticas para los pacientes que lo sufren por lo que plantean retos terapéuticos en relación a su mejoramiento.

Objetivo: Demostrar los efectos funcionales y estéticos de la aplicación de la fracción vascular del estroma derivadas de tejido adiposo autólogo para el tratamiento de secuelas tardías de quemaduras.

Material y Métodos: Estudio analítico, experimental tipo ensayo no controlado con pacientes que presentaban cicatrices por quemaduras en el Centro Nacional de Quemaduras y Cirugía Reconstructiva (CENQUER) en mayo de 2017. Se realizaron mediciones con escalas y microscopía óptica para la evaluación de las características de la cicatriz antes y a los 6 meses del procedimiento.

Resultados: No hubo complicaciones locales o sistémicas relacionadas al procedimiento y se encontró mejoría con respecto a las escalas de evaluación y a la microscopía óptica. Se vio beneficio notable en la evolución de las lesiones, tanto estética como clínica, en la capacidad funcional así como en la angiogénesis. La remodelación de las cicatrices utilizando fracción derivadas de tejido adiposo del estroma vascular puede plantearse como una alternativa en el manejo conjunto o aislado de las cicatrices por quemaduras con nula morbilidad para el paciente.

Palabras Claves: lipoaspiración, cicatrices por quemaduras, fracción derivada del estroma vascular

ABSTRACT

Introduction: The adipose tissue obtained by liposuction is an ideal source to isolate cells with therapeutic potential, cells of the vascular stromal fraction (FEV), which include mesenchymal stem cells. These cells have become one of the main tools of autologous cell therapy for various medical applications, and in recent years various technologies have been developed for their isolation and clinical use. For its part the scars resulting from burns have functional and aesthetic sequelae for patients who suffer from it, what therapeutic challenges in relation to its improvement.

Objective: To demonstrate the functional and aesthetic effects of the application of the derived stromal vascular fraction of autologous adipose tissue for the treatment of late sequelae of burns.

Material and Methods: Analytical, experimental, non-controlled trial with patients who had scars from burns in the Centro Nacional de Quemaduras y Cirugía Reconstructiva (CENQUER) in may 2017. Measurements were made with scales and optical microscopy for the evaluation of the characteristics of the scar before and after 6 months of the procedure.

Results: There were no local or systemic complications related to the procedure and improvement was found with respect to the evaluation scales and optical microscopy. There was a noticeable benefit in the evolution of lesions, both aesthetic and clinical, in functional capacity as well as in angiogenesis. The remodeling of scars using fraction derived from adipose tissue of the vascular stroma can be considered as an alternative in the joint or isolated management of scars from burns with no morbidity for the patient.

Keywords: liposuction, scars, burns, derived stromal vascular fraction

¹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro Nacional de Quemaduras y Cirugías Reconstructivas. Asunción, Paraguay

²Sociedad Paraguaya de Cirugía Plástica Reconstructiva y Estética. Asunción, Paraguay

³Universidad Nacional de Asunción, Hospital de Clínicas, Unidad de Cirugía Plástica. San Lorenzo, Paraguay

Autor correspondiente sandovalperez@hotmail.com

Recibido el 21 de marzo de 2018, aprobado para publicación el 27 de mayo de 2018



INTRODUCCIÓN

Las fibrosis derivadas de cicatrices por quemaduras siguen siendo un reto en la medicina plástica reconstructiva no sólo por el aspecto estético sino también por las contracturas finales que pueden afectar la función de algún miembro. Los estudios histológicos de injertos de grasa han documentado cambios en la textura y apariencia con signos de regeneración que se caracterizan por la neovascularización, aumento del contenido de colágeno, y la hiperplasia cutánea⁽¹⁻³⁾. Esto se traduce en una mejor flexibilidad, color y textura con una mejoría en futuras contracciones.

Sin embargo, el espacio subcutáneo en una lesión por quemadura constituye un ambiente hostil para un injerto de grasa, y a menudo compromete el resultado clínico. Por lo tanto, una estrategia óptima sería introducir en el espacio subcutáneo los elementos capaces de inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos mientras se asegura la restauración del volumen y regeneración de tejidos.

Las células madre mesenquimáticas (CMM) constituyen una población de células presentes en todos los tejidos, incluyendo la grasa, organizada en el espacio perivascular⁽⁴⁻⁷⁾. Como parte de sus actividades tróficas⁽⁸⁾, que producen factores angiogénicos tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV) y el factor de crecimiento de hepatocitos (FCH), postulados en la supervivencia de los injertos^(9,10). Hoy en día existe una variada tecnología que permite el procesamiento de la grasa con el fin de obtener la fracción del estroma vascular (FEV), que constituye el componente celular, donde se incluyen las CMM y otros tipos de células. Estas técnicas tienen, como un factor común, una digestión enzimática de tejido adiposo usando una u otra forma de la colagenasa, seguida por centrifugación.

La FEV obtenida de esta manera constituye un elemento vascular autólogo de grasa del propio paciente y, como consecuencia, podrían ser readministradas de nuevo al paciente siguiendo una lógica similar a una autotransfusión de sangre u otros hemoderivados (por ejemplo, plasma rico en plaquetas)⁽¹¹⁾.

El efecto deseado de la adición de FEV a un injerto de grasa convencional es potenciar su supervivencia por medio de la inducción de nuevos vasos sanguíneos; como ejemplo de experiencia similar puede mencionarse el tratamiento de la lipodistrofia facial y de mama, la reconstrucción de glúteos y la terapia de úlceras crónicas⁽¹²⁻¹⁴⁾, ya sea administrado como un

injerto de grasa con FEV o como una solución de FEV *per sé*, el objetivo es alterar la biología del tejido receptor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio analítico, experimental tipo ensayo no controlado o estudio de intervención. La población consistió en 4 pacientes de sexo femenino con cicatrices por quemaduras que consultaron al Centro Nacional de Quemaduras y Cirugía Reconstructiva (CENQUER) en mayo de 2017. Las muestras de tejido adiposo humano fueron obtenidas de liposucciones con zonas donantes en abdomen, flanco y cara interna de los muslos, principalmente. Se obtuvo el consentimiento informado para la utilización de las muestras con propósito de investigación. La recogida del tejido adiposo se realizó mediante aspiración utilizando el dispositivo de jeringas de succión y cánulas de punta roma tipo mercedes de 4 y 3 mm de diámetro, previa infiltración de la zona donante mediante solución salina fisiológica y adrenalina.

Para el aislamiento de la FEV utilizamos un dispositivo médico cerrado (GID SVF-1) que permite la recogida directa del lipoaspirado desde la cánula de liposucción, así como el procesamiento del mismo de forma rápida y sencilla (*The GID Group Inc, Colorado, EE.UU.*). El procedimiento empleado fue el siguiente:

- Tres lavados consecutivos del tejido adiposo utilizando solución Ringer Lactato suplementada con antibióticos y heparina.
- Digestión enzimática durante 40 minutos a 37 °C en agitación utilizando el reactivo GIDzyme-2 (*The GID Group Inc, Colorado, EE.UU.*).
- Inactivación de la enzima mediante albúmina humana al 2,5% y centrifugación a 800 G durante 10 minutos para obtener el *pellet* celular (tejido comprimido) que contiene la FEV.
- Este *pellet* se resuspendió en 20 ml de Ringer Lactato mediante una aguja espinal de 14 G (*Abbocath*) y la suspensión celular obtenida se analizó y se inyectó en las cicatrices por quemaduras.

La selección de la muestra requirió los siguientes criterios de inclusión: pacientes de cualquier edad con cicatrices postquemadura de 3° grado con antigüedad de la lesión superior o igual a 2 años. Los criterios de exclusión fueron: pacientes embarazadas o en periodo

de lactancia, antecedente de ingesta de retinoides orales de menos de 6 meses, infecciones activas o lesiones sospechosas de malignidad y pacientes que se encontraran recibiendo otro tratamiento para la remodelación de la cicatriz.

En la primera consulta se procedió a la evaluación general del paciente, registro de historia clínica y obtención del consentimiento informado. Fueron tomadas fotografías de las pacientes con cámara digital en el preoperatorio y a los 6 meses.

Para la obtención de los datos pre y postoperatorios utilizamos la Escala de Vancouver para cicatrices (*Vancouver Scar Assesment /VSS*)⁽⁵⁾, que categoriza las diferentes características valorables en una cicatriz tales como pigmentación, vascularización, flexibilidad y altura/grosor. Estos parámetros se expresaron sobre un total de 13 puntos. La evaluación de la pigmentación y la vascularización se realizó por observación, la flexibilidad mediante digito presión del área examinada y la altura/grosor con una regla milimétrica, en la primera visita del paciente y trascurridos 6 meses del tratamiento.

Para la percepción del paciente con respecto a sus cicatrices utilizamos la Escala del Observador y Paciente para Evaluación de Cicatrices (*Patient and Observer Scar Assesment Scale/POSAS*), que permite evaluar sobre una medida numérica y de manera subjetiva los síntomas relativos a dolor, picor, color, rigidez, espesor y alivio³. Dicha escala se obtuvo tras el interrogatorio al paciente con una puntuación mínima de 1 (mejor posible) al 10 (peor posible), completándose simultáneamente la ficha escrita de cada paciente para cada parámetro.

También se tomaron muestras de tejido cicatricial antes de iniciar el tratamiento y tras 6 meses desde la inyección y fueron evaluados a la microscopía óptica.

RESULTADOS

La muestra estudiada involucró 4 cicatrices en una población de 4 pacientes. Todas fueron de sexo femenino, la edad media (media +/- desviación estándar (DP)) fue de 30,5 +/- 7,2 años, con un rango de 22 a 37 años. El índice de masa corporal (IMC) medio fue de 20 +/- 2. El promedio de antigüedad de las cicatrices fue de 22 años. Ninguna paciente presentaba infección, enfermedad o alteración endocrina concomitante. En 2 pacientes la ubicación anatómica de las cicatrices correspondió al rostro, una en la pierna y una en el brazo.

Todas mostraron mejoría en lo que respecta a las características de las cicatrices según la escala VSS del 36% y según POSAS del 20%. **Tabla 1 y 2**

Tabla 1. Característica de las cicatrices según la Escala de Vancouver.

	ESCALA VANCOUVER	
	Pre-tratamiento	Post-tratamiento
Paciente 1	7	4
Paciente 2	5	3
Paciente 3	4	3
Paciente 4	6	4
Total	22	14

Tabla 2. Característica de las cicatrices según la Escala de Posas.

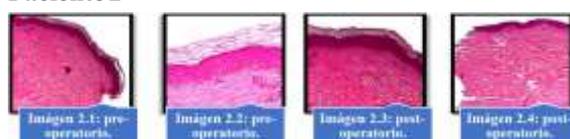
	ESCALA POSAS	
	Pre-tratamiento	Post-tratamiento
Paciente 1	43	38
Paciente 2	49	40
Paciente 3	36	28
Paciente 4	40	30
Total	168	136

Se observó aumento de angiogénesis en las muestras analizadas a la microscopía óptica a los 6 meses en comparación a las muestras del preoperatorio. **Imagen 1 al 4.**

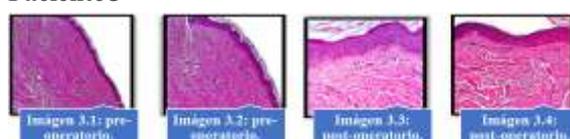
Paciente 1



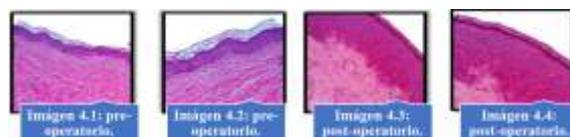
Paciente 2



Paciente 3



Paciente 4



Ningún paciente presentó complicaciones con respecto al procedimiento de lipoaspiración.

Imagen 5 al 8.

Paciente 1



Imagen 5.1: pre-operatorio.



Imagen 5.2: post-operatorio.

Paciente 2



Imagen 6.1: pre-operatorio.



Imagen 6.2: post-operatorio.

Paciente 3



Imagen 7.1: pre-operatorio.



Imagen 7.2: post-operatorio.

Paciente 4



Imagen 8.1: pre-operatorio.



Imagen 8.2: post-operatorio.

DISCUSIÓN

El uso de injertos de grasa para la reconstrucción subcutánea ha sido parte de la cirugía plástica hace más de 100 años. El advenimiento de la lipoaspiración

en la década de 1980 facilitó la acumulación de grasa, dando impulso a los esfuerzos renovados para inyectar el tejido recogido⁽¹⁵⁾.

Al inicio de un procedimiento, la grasa del injerto debe adquirir su nutrición por difusión, hasta que los vasos del tejido circundante puedan infiltrarse con nuevas ramificaciones. En grandes injertos, el tejido vascular resulta insuficiente lo que provoca necrosis de la parte central del tejido y se manifiesta durante los primeros 6 meses como atrofia con pérdida de los adipocitos, fibrosis y producción de quistes⁽¹⁶⁾.

Para minimizar estas pérdidas de volumen, Coleman desarrolló técnicas menos traumáticas para la cosecha, el proceso, y la inyección con resultados que demostraron ser fiables y duraderos^(17,18). Muchos informes documentan ahora la utilidad de los injertos de grasa para restablecer el volumen subcutáneo en la cara⁽¹⁹⁻²²⁾, en las mamas⁽²³⁻²⁴⁾, en defectos subcutáneos congénitos⁽²⁵⁾, y en las úlceras cutáneas⁽²⁶⁾. La clave para entenderlos mecanismos involucrados en este fenómeno terapéutico radica en la existencia de CMM dentro del tejido adiposo siendo los primeros en utilizar esta técnica Zuk y colab.⁽²⁷⁻³⁰⁾ en la Universidad de Pittsburgh.

La grasa se considera un tejido conectivo estructural, compuesto por acumulaciones de adipocitos intercalados en un marco de estroma. Este componente estromal incluye una red reticular de fibras vasculares (típicamente vasos de pequeño calibre) y sus células asociadas. Por lo tanto, después de procesar la grasa con la digestión de enzimas (ej: colagenasa), el componente celular del estroma puede ser liberado. Esta fracción vascular del estroma contiene células diferenciadas, tales como monocitos/macrófagos, leucocitos, fibroblastos, pericitos y adipocitos inmaduros, así como células indiferenciadas, tales como células progenitoras endoteliales y CMM⁽³¹⁾. Estas células no diferenciadas dentro de la FEV constituyen el componente biológicamente activo de un injerto de grasa, ya que son capaces de inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos mientras se ejerce otros efectos tróficos⁽⁸⁾. Un número creciente de literatura documenta los efectos terapéuticos de estas células después de reconocer sitios lesionados caracterizados por la inflamación activa^(6,32-34).

Estos efectos están relacionados con inmunomoduladores y mecanismos tróficos, ejercidos a través de la secreción parácrina de factores de crecimiento y citocinas por las CMM, esta multi-señalización resultante promueve el establecimiento de un entorno de regeneración mediante la limitación

de tejido cicatrización/fibrosis-inflamatoria mediada mientras se induce angiogénesis y la supervivencia/multiplicación de las células locales^(8,35-37).

Durante la curación de heridas cutáneas, se han descrito mecanismos especiales que dan cuenta de los efectos generadores de CMM⁽³⁸⁾. Ellos incluyen: modulación del fenotipo y la función de las células T y los macrófagos, la neutralización de especies reactivas de oxígeno a nivel local, la secreción de factores anti-fibróticos que modulan la producción de fibroblastos asociados de curación de heridas, mejora la función de los fibroblastos dérmicos al tiempo que reducen su conversión a miofibroblastos, la promoción de la angiogénesis y estabilidad vascular y el potencial de diferenciación directamente en las células residentes de la piel tales como queratinocitos y fibroblastos dérmicos.

Curiosamente, varios mecanismos propuestos de CMM que están activos durante situaciones agudas parecen estar también presentes en escenarios crónicos tales como secuelas de quemadura o en la cicatrización hipertrófica. Está bien establecido que las CMM expresan y secretan factores angiogénicos tales como FCEV, FCH y FCF (factor de crecimiento de fibroblastos), que mejoran la proliferación, migración y diferenciación de progenitores de células endoteliales^(39,40). Además de este efecto inductivo, factores CMM secretados también promueven la estabilidad vascular y vasoprotección⁽⁴¹⁻⁴³⁾. Se ha planteado la hipótesis de que este angiogénico se ve facilitado por su origen perivascular, que se adapta durante el período de regeneración luego de la reorientación a sitios lesionados⁽⁶⁾, y cuando el proceso de remodelación vascular se lleva a cabo^(44,45).

Por otra parte, es bien sabido que en la cicatrización hipertrófica (es decir: fibrosis) presenta características anormales de la estructura de la matriz extracelular y de la función, incluyendo aumento de la degradación de la matriz y la formación de colágeno por lo que se ve directamente afectada la disponibilidad de fibroblastos locales a proliferar, migrar y secretar la matriz extracelular. Varios mecanismos y cascadas de señalización tienen implicaciones en este equilibrio de tejidos. Curiosamente, y como se esperaba, las CMM participan en todos estos mecanismos a través de sus actividades paracinas. Por ejemplo, suprimen proliferación pro-fibroblastos y reducen la fibrosis de la piel a través de la secreción y la actividad de

FCF^(46,47). En adición, las CMM afectan la migración de fibroblastos dérmicos en una manera dependiente de la dosis⁽⁴⁸⁾.

Por otra parte, se ha demostrado que las CMM pueden prevenir la cicatrización hipertrófica a través de la secreción de TSG-6 (TNF un-estimulado gen / proteína 6) que implica apoptosis a través de la activación de caspasa-3⁽⁴⁹⁾. Este mecanismo sugiere que el efecto regulador de las MSC sobre la inflamación y el proceso de cicatrización subsiguiente implica su presencia temporal en los sitios donde se secretan TSG-6 inducida por las señales de apoptosis. Por último, se ha demostrado que los fibroblastos en la cicatrización hipertrófica tienen una actividad reducida de la metaloproteinasa de matriz 1 (MMP-1)^(50,51), resultando una remodelación deteriorada. Loz-Ito y colab. demostraron que las CMM de varias fuentes, incluyendo la grasa son capaces de activar exógenamente proMMP-2 y proMMP-13 en su forma degradativa⁽⁵²⁾. Estas MMPs se dirigen a diversos componentes de la matriz extracelular incluyendo diferentes colágenos, la minina, fibronectina y elastina, por lo tanto promueven un estado de remodelación⁽⁵³⁾.

Puede concluirse que la intervención realizada beneficia de manera notable la evolución de las lesiones, con resultados favorables según la correlación de las dos escalas de evaluación utilizadas tanto en el aspecto estético como clínica, en la capacidad funcional así como en la angiogénesis a la microscopía óptica. La remodelación de las cicatrices utilizando fracción derivadas de tejido adiposo del estroma vascular puede plantearse como una alternativa útil en el manejo conjunto o aislado de las cicatrices por quemaduras con nula morbilidad para el paciente.

DECLARACIÓN DE INTERESES Y FINANCIACIÓN

Dispositivos y enzimas para este estudio fueron donados por el Grupo HUMANUS-REGENERATIVE MEDICINE en el marco de la Jornada de Medicina Regenerativa y Cirugía Plástica realizado en la Facultad de Ciencias Médicas en mayo de 2017. Los costos de los estudios y la logística estuvieron a cargo del Centro Nacional de Quemaduras y Cirugías Reconstructivas (CENQUER) y los estudios de microscopía a cargo de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pretheeban, T., Lemos, D.R., Paylor, B., Regan-Heng, Z., and Rossi, F.M.: Role of stem/progenitor cells in reparative disorders. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2012; 5(1): 20-32.
2. Gimble, J.M., A.J. Katz, and B.A. Bunnell.: Adipose derived stem cells for regenerative medicine. *Circ. Res.* 2007; 100 (9): 1249-1260.
3. Xu-Fang Yang, Xu He, Jian He, Li-Hong Zhang, Xue-Jin Su, Zhi-Yong Dong, et al.: High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *J. Biomed. Sci.* 2011; 18: 59-67.
4. Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., Katz, A.J., et al.: Multiline age cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001. 7 (2): 211-228.
5. Rodriguez, J.P., Murphy, M.P., Hong, S., Madrigal, M., March, K.L., Minev, B., et al.: Autologous stromal vascular fraction therapy for rheumatoid arthritis: rationale and clinical safety. *Int. Arch. Med.* 2012; 5: 5-14.
6. Young Jun Koh, Bong Ihn Koh, Honsoul Kim, Hyung Joon Joo, Ho Kyoung Jin, Jongwook Jeon, et al.: Stromal vascular fraction from adipose tissue forms profound vascular network through the dynamic reassembly of blood endothelial cells. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2011; 31(5): 1141-1150.
7. Astori, G., Vignati, F., Bardelli, S., Tubio, M., Gola, M., Albertini, V., et al.: "In vitro" and multicolor phenotypic characterization of cell subpopulations identified in fresh human adipose tissue stromal vascular fraction and in the derived mesenchymal stem cells. *J. Transl. Med.* 2007; 555-65.
8. Bunnell, B.A., Estes B.T., Guilak, F., and Gimble, J.M.: Differentiation of adipose stem cells. *Methods Mol. Biol.* 2008; 456: 155-171.
9. Kachgal, S. and Putnam, A.J.: Mesenchymal stem cells from adipose and bone marrow promote angiogenesis via distinct cytokine and protease expression mechanisms. *Angiogenesis.* 2011; 14(1): 47-59.
10. Puissant, B., Barreau, C., Bourin, P., Clavel, C., Corre, J., Bousquet, C., et al.: Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br. J. Haematol.* 2005; 129(1): 118-129.
11. Gonzalez-Rey, E., González, M.A., Rico, L., Buscher, D., and Delgado, M.: Human adult stem cells derive from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut.* 2009; 58 (7): 929-939.
12. J. Salgado, A., L. Rei, R., Sousa, N., and Gimble, J.: Adipose tissue derived stem cells secrete soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr. Stem Cell. Res. Ther.* 2010; 5 (2): 103-110.
13. Casteilla, L., Plant-Bernard, V., Laharrague, P., and Cousin, B.: Adipose-derived stromal cells: They identity and uses in clinical trials, an update. *World J. Stem Cells.* 2011; 3(4): 25-33.
14. Tholpady, S.S., Lull, R., Ogle, R.C., Rubin, J.P., Futrell, J.W., and Katz, A.J.: Adipose tissue: stem cells and beyond. *Clin Plast Surg.* 2006; 33 (1): 55-62.
15. Coleman S.R.: Structural fat grafting. *Aesthet Surg J.* 1998; 18: 386-388.
16. Coleman S.R.: Facial augmentation with structural fat grafting. *Clin Plast Surg.* 2006; 33: 567-577.
17. Clauser, L.C., Sarti E., Dallera V., and Galiè M.: Integrated reconstructive strategies for treating the anophthalmic orbit. *J Cranio maxillofac Surg* 2004; 32: 279-290.
18. Clauser, L.C., Tieghi R., and Consorti G.: Parry-Romberg Síndrome: volumetric regeneration by structural fat grafting technique. *J Craniomaxillofac Surg.* 2010; 38: 605-609.
19. Clauser, L.C., Tieghi R., Galiè M., and Carinci F.: Structural fat grafting: facial volumetric restoration in complex reconstructive surgery. *J Craniofac Surg.* 2011; 22: 1695-1701.
20. Tanna N., Wan, D.C., Kawamoto, H.K., and Bradley, J.P. : Craniofacial microsomnia soft-tissue reconstruction comparison: inframammary extended circumflex scapular flap versus serial fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2011; 127: 802-811.
21. Babovic, S.: Complete breast reconstruction with autologous fat graft—a case report. *J Plast Reconstr Aesthet Sur.* 2010; 63: e561-3.

22. Illouz, Y.G., and Sterodimas, A.: Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience. *Aesthetic Plast Surg* 2009; 33: 706-715.
23. Giugliano, C., Benitez, S., Wisnia, P., Sorolla, J.P., Acosta, S., and Andrades, P.: Liposuction and lipoinjection treatment for congenital and acquired lipodystrophies in children. *Plas Reconstr Surg* 2009; 124: 134-143.
24. Klinger, M., Caviglioli, F., Vinci, V., Salval, A., and Villani, F.: Treatment of chronic posttraumatic ulcers using autologous fatgraft. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126: 154e-155e.
25. Coleman, S.R.: Hand rejuvenation with structural fat grafting. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 1731-1744; discussion 1745-1747.
26. Patel, N.: Fat injection in severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction. *Aesthetic Plast Surg* 2008; 32: 470-472.
27. Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., Katz, A.J., et al: Multiline age cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7: 211-228.
28. Zuk, P.A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D.A., Huang, J.I., Mizuno, H., et al : Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.
29. Amos, P.J., Shang, H., Bailey, A.M., Taylor, A., Katz, A.J. and Peirce, S.M.: IFATS collection: The role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells* 2008; 26: 2682-2690.
30. Chen, L., Tredget, E.E., Liu, C., and Wu, Y.: Analysis of allogenicity of mesenchymal stem cells in engraftment and wound healing in mice. *PLoS One* 2009; 4: e7119.
31. López Ponte, A., Marais, E., Gally, N., Langonné, A., Delorme, B., Héroult, O., et al: The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* 2007; 25: 1737-1745.
32. Mikako Sasaki, Riichiro Abe, Yasuyuki Fujita, Satomi Ando, Daisuke Inokuma, and Hiroshi Shimizu: Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol* 2008; 180: 2581-2587.
33. Bourin, P., Bunnell, B.A., Casteilla, L., Dominici, M., Katz, A.J., March, K.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.
34. Gimble, J.M., Katz, A.J., and Bunnell, B.A.: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007; 100: 1249-1260.
35. Gir, P., Oni, G., Brown, S.A., Mojallal, A., and Rohrich, R.J.: Human adipose stem cells: current clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129: 1277-1290.
36. Jackson, W.M., Nesti, L.J., and Tuan, R.S.: Mesenchymal stem cell therapy for attenuation of scar formation during wound healing. *Stem Cell Res Ther* 2012; 3: 20.
37. Gruber, R., Kandler, B., Holzmann, P., Vögele-Kadletz, M., Losert, U., Fischer, M.B., and Watzek, G.: Bone marrow stromal cells can provide a local environment that favors migration and formation of tubular structures of endothelial cells. *Tissue Eng* 2005; 11: 896-903.
38. Kaigler, D., Krebsbach, P.H., Polverini, P.J., and Mooney, D.J.: Role of vascular endothelial growth factor in bone marrow stromal cell modulation of endothelial cells. *Tissue Eng* 2003; 9: 95-103.
39. Johji Kato, Toshihiro Tsuruda, Toshihiro Kita, Kazuo Kitamura, and Tanenao Eto: Adrenomedullin: a protective factor for blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2480-2487.
40. Lozito, T.P., Taboas, J.M., Kuo, C.K., and Tuan, R.S.: Mesenchyma stem cell modification of endothelial matrix regulates their vascular differentiation. *J Cell Biochem* 2009; 107: 706-713.
41. Renault, M-A, Roncalli, J., Tongers, J., Misener, S., Thorne, T., Jujo, K., et al.: The Hedgehog transcription factor Gli3 modulates angiogenesis. *Circ Res* 2009; 105: 818-826.

42. Au, P., Tam, J., Fukumura, D., and Jain, R.K.: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells facilitate engineering of long-lasting functional vasculature. *Blood* 2008; 111: 4551-4558.
43. Bianco, P., Robey, P.G., and Simmons, P.J.: Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 313-319.
44. Karsdal, M.A., Nielsen, M.J., Sand, J.M., Henriksen, K., Genovese, F., Bay-Jensen, A.C., et al.: Extracellular matrix remodeling: the common denominator in connective tissue diseases. Possibilities for evaluation and current understanding of the matrix as more than a passive architecture, but a key player in tissue failure. *Assay Drug Dev Technol* 2013; 11:70-92.
45. Yan Wu, Yan Peng, Dongyun Gao, Changjiang Feng, Xiaohuan Yuan, Houzhong Li, et al.: Mesenchymal stem cells suppress fibroblast proliferation and reduce skin fibrosis through aTGF- β 3-dependent activation. *Int J Low Extrem Wounds* 2015; 14: 50-62.
46. Rodriguez-Menocal, L., Salgado, M., Ford, D., and Van Badiavas, E.: Stimulation of skin and wound fibroblast migration by mesenchymal stem cells derived from normal donors and chronic wound patients. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1:221-229.
47. Shiyu Liu, Lan Jiang, Haijian Li, Haigang Shi, Hailang Luo, Yongjie Zhang, et al.: Mesenchymal stem cells prevent hypertrophic scar formation via inflammatory regulation when undergoing apoptosis. *J Investig Dermatol* 2014; 134: 2648-2657.
48. Tredget, E.E., Levi, B., and Donelan, M.B.: Biology and principles of scar management and burn reconstruction. *Surg Clin North Am* 2014; 94: 793-815.
49. Ghahary, A., Shen, Y.J., Nedelec, B., Wang, R., Scott, P.G., and Tredget, E.E.: Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts than in normal fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1. *J Investig Dermatol* 1996;106: 476-481.
50. Lozito, T.P., Jackson, W.M., Nesti, L.J., and Tuan, R.S.: Human mesenchymal stem cells generate a distinct pericellular zone of MMP activities via binding of MMPs and secretion of high levels of TIMPs. *Matrix Biol* 2014; 34: 132-143.
51. Lu, P., Takai, K., Weaver, V.M., and Werb, Z.: Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3: pii: a005058.
52. Rehman, J., Traktuev, D., Li, J., Merfeld-Clauss, S., Temm-Grove, C.J., Bovenkerk, J.E., et al.: Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipos. *Circulation*. 2004;109:1292-1298.
53. Ersek, R.A.: Transplantation of purified autologous fat: a 3- year follow-up is disappointing. *Plast Reconstr Surg* 1991; 87: 219-227; discussion 228.