

Contribution à la reconstruction mammaire : conception d'une technique de purification graisseuse automatique

Docteur Xavier Nélissen

Thèse de doctorat soumise en vue de l'obtention du grade de Doctorat en Sciences Médicales

Année académique 2025
Université de Liège
Service de Chirurgie plastique, reconstructive
et esthétique (Pr. Nizet J-L)

Remerciements

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette thèse, fruit de près de dix années de recherche et de persévérance.

Ma reconnaissance va tout particulièrement à **Régis Roche**, biologiste cellulaire, qui a accepté de partager avec moi cette aventure passionnante autour du lipofilling, avec enthousiasme et rigueur.

Je tiens également à remercier **François Cabaud**, ingénieur en matériel médical, dont l'ingéniosité et la constance ont permis de relever avec succès les défis technologiques rencontrés tout au long de ce parcours.

Ma gratitude s'adresse aussi à **Séverine Licciardi** et à **Julie Ferrandiz**, pour leur précieux soutien scientifique et administratif, mais aussi pour leur patience et leur dévouement sans faille.

Je remercie avec chaleur le **Professeur Jean-Luc Nizet**, pour son accompagnement indéfectible, son soutien constant et ses conseils avisés dans la rédaction de ce travail.

Ma profonde reconnaissance va également au **Professeur Éric Lifrange**, dont l'enthousiasme, la bienveillance et les conseils judicieux ont très certainement contribué à l'aboutissement de ce projet.

Je souhaite exprimer mes sincères remerciements aux **Professeurs Guy Jérusalem, Pierre Bonnet, Quatresooz et Donneau**, au **Dr Ali Modarressi** et au **Dr Filip Stillaert**, membres de mon jury, pour leur disponibilité, leur écoute attentive et la richesse de leurs échanges.

Je n'oublie pas le **Dr Christophe Nizet**, le **Dr Bahram Dezfoulian** et le **Dr François Martin**, qui m'ont permis de consacrer le temps nécessaire à la rédaction de cette thèse en assurant gardes et prises en charge chirurgicales.

Un merci affectueux à ma sœur, **Cécile Nélissen**, qui a mis en page avec talent et élégance ce travail, lui donnant sa forme finale.

Je tiens également à remercier **Carine Thirion**, dont la relecture attentive a permis d'affiner ce manuscrit, en veillant avec rigueur à la justesse de l'orthographe comme de la syntaxe.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude à mon épouse, **Isabelle Wery**, pour son soutien indéfectible, son indulgence face à mes élans scientifiques et sa présence à mes côtés à chaque étape de cette aventure.

Enfin, j'adresse une pensée particulière à mes enfants, **Lucie, Fanny et Victor**, qui ont su faire preuve d'une patience exemplaire durant ces années de labeur. Leur présence et leur affection ont constitué un moteur essentiel dans l'achèvement de ce projet.

Résumé

Le transfert graisseux autologue (TGA), ou lipofilling, est aujourd'hui une technique majeure en chirurgie reconstructrice et esthétique, en particulier pour la reconstruction mammaire après cancer. Malgré son essor, son utilisation reste limitée par l'imprévisibilité des résultats, liée à la variabilité de la survie cellulaire (30–80%). Les controverses passées concernaient essentiellement la sécurité oncologique et l'impact radiologique. Les résultats de publications récentes dont une méta-analyse sont rassurants sur ces deux aspects.

L'objectif de ce travail est double : d'une part, évaluer les facteurs techniques influençant la viabilité du tissu adipeux ; d'autre part, valider et comparer de nouveaux procédés de purification en vue d'une standardisation du lipofilling. Une étude clinique et une étude expérimentale ont été menées.

La première étude clinique, réalisée chez des patientes ayant bénéficié d'une reconstruction par lambeau DIEP, a montré qu'un protocole associant aspiration douce, lavages répétés et centrifugation modérée permettait d'obtenir une survie volumétrique stable (70,9% à 5 mois postopératoires). Les paramètres critiques identifiés incluent : la réduction de la pression d'aspiration, l'utilisation de canules fines, le lavage des tissus pour éliminer les éléments délétères, et la centrifugation à vitesse modérée.

La seconde étude expérimentale a comparé cinq techniques de purification : décantation, centrifugation Coleman, Macrofill®(centrifugation douce et lavages), Puregraft® (filtration passive) et Adipure® (filtration active automatisée). Les résultats *in-vitro* et *in-vivo* montrent que la décantation est la technique la moins performante, tandis que les méthodes de filtration, en particulier Adipure®, assurent une meilleure viabilité tissulaire et réduisent la proportion d'huile résiduelle, issue de la lyse des adipocytes.

L'efficacité histologique et volumétrique obtenue avec Adipure® confirme son avantage pour une greffe reproductible et de meilleure qualité.

Ce travail met ainsi en évidence l'importance d'une approche rigoureuse et standardisée pour optimiser la sécurité et la fiabilité du TGA. Il a ouvert la voie au développement d'un système entièrement automatisé (ADIMATE®), en circuit fermé, intégrant aspiration douce, lavages successifs et filtration active. Ce dispositif a pour objectif de limiter la variabilité entre opérateurs, d'optimiser la viabilité cellulaire et de renforcer ainsi la sécurité ainsi que la prévisibilité du lipofilling en chirurgie plastique.

Abstract

Autologous fat transfer (AFT), or lipofilling, is today a major technique in reconstructive and aesthetic surgery, particularly for breast reconstruction after cancer. Despite its rapid expansion, its use remains limited by the unpredictability of outcomes, primarily due to the variability of cell survival (30–80%). Previous controversies were mainly related to oncological safety and radiological impact. Recent publications, including a meta-analysis, have provided reassuring evidence on both aspects.

The objective of this work is twofold: first, to evaluate the technical factors influencing adipose tissue viability; and second, to validate and compare new purification methods with a view toward standardizing lipofilling. To this end, both a clinical study and an experimental study were conducted.

The first clinical study, carried out in patients who underwent breast reconstruction with a DIEP flap, demonstrated that a protocol combining gentle aspiration, repeated washings, and moderate centrifugation allowed for stable volumetric survival (70.9% at 5 months postoperatively). Critical parameters identified include the reduction of aspiration pressure, the use of fine cannulas, tissue washing to eliminate harmful components, and centrifugation at moderate speed.

The second experimental study compared five purification techniques: decantation, Coleman centrifugation, Macrofill® (gentle centrifugation with washings), Puregraft® (passive filtration), and Adipure® (automated active filtration). In-vitro and in-vivo results demonstrated that decantation was the least effective method, whereas filtration techniques, particularly Adipure®, provided superior tissue viability and reduced the proportion of residual oil, resulting from adipocyte lysis.

Histological and volumetric efficacy obtained with Adipure® confirmed its advantage for achieving a more reproducible and higher-quality graft.

This work thus highlights the importance of a rigorous and standardized approach to optimize the safety and reliability of AFT. It paved the way for the development of a fully automated closed-system device (ADIMATE®), integrating gentle aspiration, successive washings, and active filtration. The purpose of this device is to minimize inter-operator variability, optimize cell viability, and thereby enhance both the safety and predictability of lipofilling in plastic surgery.

GLOSSAIRE

ACR : American College of Radiology
ADSC : Adipose Derived Stem Cells (cellules souches mésenchymateuses)
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ASPS : American Society of Plastic Surgery
ASPRS : American Society of Plastic and Reconstructive Surgery (devenant à partir 2000 : l'ASPS)
ATP : Adénosine Triphosphate
BAT : Brown Adipose Tissue (tissu adipeux brun)
BCT : Breast Conservative Treatment (traitement conservateur du sein)
BI-RADS : Breast Imaging Reporting And Data System
bFGF : basic Fibroblast Growth Factor
BMP : Bone Morphogenetic Protein
BRITE : Brown-In-white adipocytes (tissu adipeux beige)
CAL : Cell-Assisted Lipotransfer
COX : Cyclo-Oxygénase
DIEP : Deep Inferior Epigastric Perforator
EBP : Enhancer-Binding Protein
EGF : Epidermal Growth Factor
dWAT : depot White Adipose Tissue
FSC : Forward Scatter
fWAT : fibrous White Adipose Tissue
GLUT : Glucose Transporter
HDL : High Density Lipoproteine
HE : Hématoxyline-Eosine
HGF : Hepatocyte Growth Factor
IGF : Insulin Growth Factor
IL-6 : Interleukine – 6
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
KGF : Keratinocyte Growth Factor
MAT : Mammary Adipose Tissue (tissu adipeux mammaire)
NICE : National Institute for health and Clinical Excellence
PDGF : Platelet-Derived Growth Factor
PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
RCF : Relative Centrifugal Force
PRP : Platelet-Rich Plasma
RPM : Rate Per Minute
SGAP : Superior Gluteal Artery Perforator
SOFCPRE : Société Française de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique
SVF : Stromal Vascular Fraction
SD : Standard Deviation
TGA : Transfert de Graisse Autologue
TGF : Tumor Growth Factor
TPM : Tours Par Minute
TUG : Tranverse Upper Gracilis
UCP : Uncoupling Protein
WAT : White Adipose Tissue (tissu adipeux blanc)
sWAT : superficial White Adipose Tissue
SSC : Side Scatter
VEGF : Vascular Endothelium Growth Factor
v WAT : visceral White Adipose Tissue

LISTE des FIGURES

- Fig 1.4-1 : Principales adipokines et leurs effets biologiques
- Fig 1.4-2 : Schéma histologique d'un adipocyte blanc
- Fig 1.4-3 : Vue en microscopie électronique du tissu adipeux de dépôt (périombilical)
- Fig 1.4-4 : Image du tissu adipeux fibreux (fWAT) en microscopie électronique
- Fig 1.4-5 : Schéma histologique d'un adipocyte brun
- Fig 1.4-6 : Répartition des différents tissus adipeux
- Fig 1.4-7 : Schéma histologique d'un adipocyte beige
- Fig 1.4-8 : Composition cellulaire de l'unité adipocytaire
- Fig 1.4-9 : Cellules de la SVF obtenues à partir d'une digestion enzymatique du tissu adipeux
- Fig 1.4-10 : Schéma d'une cytométrie de flux
- Fig 1.4-11 : Schéma des Forward Scatter (FSC) et Side Scatter (SSC) dans la cytométrie de flux
- Fig 1.4-12 : Résultat de cytométrie de flux en fonction de la taille (FSC) et de la complexité (SSC)
- Fig 1.4-13 : Théorie de la niche cellulaire : interactions cellulaires
- Fig 1.4-14 : Adipogenèse : détermination et différenciation
- Fig 1.4-15 : Mécanismes d'expansion tissulaire adipeuse
- Fig 1.4-16 : Illustration de la théorie du remplacement du greffon
- Fig 1.4-17 : Les 3 zones de la théorie du remplacement du greffon
- Fig 1.4-18 : Séquence post-opératoire après le TGA
- Fig 1.4-19 : Lignée mégacaryocytaire : formation des plaquettes par fragmentation des mégacaryocytes
- Fig 1.4-20 : Structure histologique d'une plaquette
- Fig 1.4-21 : Illustration schématique du CAL soit par addition de la SVF ou soit par ADCS
- Fig 1.4-22 : Isolement des ADCS par digestion enzymatique puis centrifugation et la SVF mise en culture
- Fig 1.5-1 : Reverse expansion dans une reconstruction hybride du sein
- Fig 1.5-2 : Concept de reconstruction mammaire avec matrice et TGA
- Fig 1.5-3 : Classification de la densité mammaire selon l'American College of Radiology
- Fig 1.5-4 : Exemples de densité mammaire sur mammographie
- Fig 1.5-5 : Relation entre sensibilité de la mammographie et densité mammaire (BIRADS) ainsi que risque relatif du cancer du sein.
- Fig 1.5-6 : Illustration de la diminution de densité mammaire post TGA
- Fig 1.5-7 : Zone de nécrose dans la théorie du remplacement du greffon
- Fig 1.5-8 : Illustration des images mammographiques élémentaires (opacités et microcalcifications)
- Fig 1.5-9 : Calcifications classiques après TGA de type bulles de savon
- Fig 1.5-10 : Microcalcifications 'douteuses' lors d'une mammographie de dépistage
- Fig 1.5-11 : Kyste de cytotéatonecrose après TGA
- Fig 1.5-12 : Aspect échographique d'une cytotéatonecrose avec composante liquide huileuse et solide
- Fig 1.5-13 : TGA déposé sous forme de spaghettis dans tous les plans
- Fig 1.5-15 : Injection de TGA sous forme de masse grasseuse
- Fig 2.1-1 : 'Missed volume' ou volume 'caché' du sein selon Hoeffelin
- Fig 2.2-1 : Image des kits de lipofilling Macrofill®
- Fig 2.2-2 : Seringues à incrément Macrofill® disposé dans la centrifugeuse
- Fig 2.2-3 : Système Vectra® de Canfield
- Fig 2.2-4 : Représentation des résultats par analyse 3D photographique
- Fig 2.3-1 : Évolution de la survie grasseuse sur une période de 4 mois post-opératoire
- Fig 2.4-1 : Schéma de la séparation des phases du TGA
- Fig 2.4-2 : Comparaison des vitesses de décantation
- Fig 2.4-3 : Différence de vitesse de décantation en fonction de la surface du récipient
- Fig 2.4-4 : Centrifugation à 3000 rpm pendant 1 min
- Fig 2.4-5 : Technique de purification selon Coleman
- Fig 2.4-6 : Extraction de liquide en fonction de la vitesse de centrifugation
- Fig 2.4-7 : Pourcentage d'huile en fonction de la vitesse de centrifugation

- Fig 2.4-8 : Vue macroscopique des greffes adipocytaires après 1 mois
- Fig 2.4-9 : Coupes histologiques des greffes adipeuses
- Fig 2.4-10 : Pourcentage de gouttelettes huileuses dans les greffons adipeux
- Fig 2.4-11 : Schéma de la purification par double filtre Puregraft® et lavage
- Fig 2.4-12 : Schéma du système de filtration Révolve®
- Fig 2.4-13 : Mécanisme d'action de la lidocaïne
- Fig 2.4-14 : Mesure de la cytotoxicité (LDH) de la lidocaïne sur les ADSC
- Fig 2.4-15 : Schéma de l'étude de Girard et al.
- Fig 2.4-16 : Survie du greffon avec ou sans utilisation de lidocaïne
- Fig 2.4-17 : Structure histologique des greffes adipeuses avec ou sans lidocaïne
- Fig 2.4-18 : Importance de la taille des trous de la canule de prélèvement
- Fig 2.4-19 : Importance de la taille des trous de la canule de prélèvement et de la taille des lobules adipeux
- Fig 2.4-20 : Système de TGA Adimate® et Adipure®
- Fig 2.4-21 : Schéma d'Adipure®, kit stérile à usage unique
- Fig 2.4-22 : Coupe transversale dans un kit Adipure®, montrant le système de filtre rotatif
- Fig 2.4-23 : Tubulures aspiration et infiltration/réinjection
- Fig 2.4-24 : Système Adimate® et Adipure®
- Fig 3.2-1 : Techniques de purification comparées
- Fig 3.2-2 : Image ADIMATE®
- Fig 3.2-3 : Seringue à incréments (Adip'sculpt®)
- Fig 3.2-4 : Canule de prélèvement
- Fig 3.2-5 : Transfert de la graisse traitée dans des seringues de 1 ml pour l'injection *in-vivo*
- Fig 3.2-6 : Plaque de 24 puits de mise en culture
- Fig 3.2-7 : Protocole de TGA sur souris
- Fig 3.3-1 : Évaluation du tissu adipeux *in-vitro* après purification
- Fig 3.3-2 : Mesure *in-vitro* de la quantité d'huile
- Fig 3.3-3 : Évaluation *in-vivo* de la greffe adipeuse
- Fig 3.3-4 : Évaluation des greffes adipeuses selon le score histologique global
- Fig 3.3-5 : Score huileux spécifique par techniques
- Fig 3.3-6 : Résultats histologiques des greffes adipeuses prélevées après 1 mois

LISTE des TABLEAUX

- Tab 1.3-1 : Différentes applications de médecine régénérative classées par organes ou systèmes
- Tab 1.4-1 : Synthèse des caractéristiques WAT, BAT et BRIT
- Tab 1.4-2 : Marqueurs CD utilisés pour définir les cellules de la SVF
- Tab 2.3-1 : Informations sur les patientes sélectionnés
- Tab 2.4-1 : Comparaison des vitesses de décantation dans le sérum physiologique
- Tab 2.4-2 : Composition de la solution de Klein
- Tab 2.4-3 : 6 protocoles de purification graisseuse dans l'étude de Girard et al.
- Tab 2.4-4 : Synthèse des caractéristiques d'un système automatisé performant

- Tab. 3.2-1 : Répartition volumétrique du prélèvement graisseux des patientes selon les techniques de purification
- Tab 3.2-2 : Répartition des seringues selon les protocoles de purification
- Tab 3.2-3 : Répartition des flancs des souris par patientes
- Tab 3.3-4 : Scores histologiques

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| REMERCIEMENTS | 3 |
| RESUME - ABSTRACT | 4 |
| GLOSSAIRE | 6 |
| LISTES DES FIGURES | 7 |
| LISTE DES TABLEAUX | 8 |
| 1. INTRODUCTION | 15 |
| 1.1. Définition | 17 |
| 1.2. Histoire du transfert autologue graisseux | 17 |
| 1.3. Indications du transfert graisseux autologue | 19 |
| 1.3.1 Indications volumatrices | 19 |
| 1.3.1.1. La chirurgie mammaire | 20 |
| 1.3.1.2. La chirurgie du visage | 20 |
| 1.3.1.3. La chirurgie du corps | 20 |
| 1.3.2 Indications régénératrices | 20 |
| 1.4 Anatomie et histologie du tissu adipeux | 22 |
| 1.4.1. Types de tissus adipeux | 24 |
| 1.4.1.1. Le tissu adipeux blanc (WAT) | 24 |
| 1.4.1.1.1. Le tissu adipeux sous cutané (sWAT) | 25 |
| 1.4.1.1.2. Le tissu adipeux viscéral (vWAT) | 26 |
| 1.4.1.2. Le tissu adipeux brun (BAT) | 27 |
| 1.4.1.3. Le tissu adipeux beige (BRITE) | 28 |
| 1.4.2. L'unité adipocytaire | 29 |
| 1.4.3. Le concept de la niche | 33 |
| 1.4.4. L'adipogenèse | 34 |
| 1.4.5. Les théories de survie graisseuse lors d'un TGA | 36 |
| 1.4.5.1. Théorie du remplacement cellulaire | 36 |
| 1.4.5.2. Théorie de la survie cellulaire | 36 |
| 1.4.5.3. Théorie du remplacement du greffon | 36 |
| 1.4.6. TGA enrichi | 40 |
| 1.4.6.1. Enrichissement du TGA par PRP | 40 |
| 1.4.6.2. TGA enrichi avec la SVF | 42 |
| 1.4.6.3. TGA enrichi avec des ADSC | 43 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 1.5 | Le Transfert de Graisse Autologue, une technique incontournable de la reconstruction mammaire autologue | 44 |
| 1.5.1. | Sécurité oncologique du TGA | 46 |
| 1.5.2. | Modifications radiologiques du TGA | 47 |
| 1.5.2.1. | Densité mammaire | 48 |
| 1.5.2.2. | Kystes huileux | 51 |
| 1.5.2.3. | Calcifications | 51 |
| 1.5.2.4. | Cytostéatonecrose | 53 |
| 1.5.3. | Aspect technique chirurgical du TGA | 54 |
| 1.6 | Objectifs et méthodologie de notre travail | 56 |
| 2. | PREMIERE ETUDE | 57 |
| 2.1. | Introduction | 59 |
| 2.2. | Méthodologie de la première étude | 61 |
| 2.2.1. | Patientes | 61 |
| 2.2.2. | La chirurgie | 61 |
| 2.2.3. | Temps opératoire | 63 |
| 2.2.4. | Acquisition volumétrique 3D | 63 |
| 2.2.5. | Analyses statistiques | 65 |
| 2.3. | Résultats | 65 |
| 2.4. | Discussion | 67 |
| 2.4.1 | Évolution des techniques de purification graisseuse | 68 |
| 2.4.1.1. | La décantation | 68 |
| 2.4.1.2. | La centrifugation | 71 |
| 2.4.1.3. | La filtration | 77 |
| 2.4.2. | Développement d'une nouvelle technique de purification : la filtration rotative | 78 |
| 2.4.2.1. | La loi de Darcy | 79 |
| 2.4.2.2. | La force centrifuge | 79 |
| 2.4.2.3. | Filtration mécanique | 80 |
| 2.4.3 | Importance du lavage dans la purification du lipofilling | 80 |
| 2.4.4 | Importance de la dépression dans le prélèvement graisseux | 88 |
| 2.4.5 | Développement d'une nouvelle technique de purification du TGA : ADIMATE® | 90 |
| 2.4.5.1 | Contexte et développement | 91 |
| 2.4.5.2 | Description du système | 91 |
| 2.4.5.3 | Connexions externes | 93 |
| 2.4.5.4 | Protocole de purification | 94 |
| 2.4.5.5 | Transfert final | 94 |
| 2.5 | Résumé et conclusion de la première étude | 94 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| 3. | DEUXIEME ETUDE | 97 |
| 3.1 | Introduction | 99 |
| 3.2 | Méthodologie de la deuxième étude | 99 |
| 3.2.1 | Patientes | 101 |
| 3.2.2 | Procédures de purification adipeuse | 102 |
| 3.2.3 | Expériences <i>IN VITRO</i> | 103 |
| 3.2.4 | Expériences <i>IN VIVO</i> | 104 |
| 3.2.4.1. | Animaux | 104 |
| 3.2.4.2. | Analyse histologique | 105 |
| 3.2.4.3. | Analyse statistique | 106 |
| 3.3 | Résultats | 107 |
| 3.3.1. | Analyses <i>IN VITRO</i> | 107 |
| 3.3.1.1 | Résorption tissulaire en culture | 107 |
| 3.3.1.2 | Huile en culture | 107 |
| 3.3.2 | Analyses <i>IN VIVO</i> | 108 |
| 3.3.2.1 | Survie tissulaire après 1 mois | 109 |
| 3.3.2.2 | Étude du score histologique à 1 mois | 109 |
| 3.4 | Discussion | 111 |
| 3.5. | Résumé et conclusion de la deuxième étude | 113 |
| | | |
| 4. | DISCUSSION GENERALE | 115 |
| | | |
| 5. | CONCLUSION | 121 |
| | | |
| 6. | BIBLIOGRAPHIE | 125 |
| | | |
| 7. | ANNEXES | 137 |



1.

INTRODUCTION

1.1. Définition

Le lipofilling, également appelé transfert graisseux autologue (TGA) ou lipomodélage, est une technique chirurgicale consistant à prélever un tissu adipeux chez un patient par lipoaspiration, à le purifier, puis à le réinjecter chez ce même patient dans une autre région anatomique. Cette technique permet de restaurer ou d'augmenter des volumes corporels (seins, face, fesses,...) Le TGA est utilisé autant pour la chirurgie de reconstruction qu'en chirurgie esthétique.

Il s'agit d'une véritable greffe de tissu autologue étant donné qu'une partie du tissu greffé (dépendant de la technique de préparation) sera relocalisé de manière définitive.

1.2. Histoire du transfert autologue graisseux

Le TGA a été initialement décrit par Gustave Neuber en 1893 pour traiter les séquelles d'une ostéomyélite (1). Deux ans plus tard, en 1895, Vincent Czerny transfère un lipome fessier dans un sein avec un an de recul (2). En 1912, Hollander publie des photographies d'injection de graisse pour corriger un défaut facial congénital et traiter des adhérences de cicatrices mammaires (3). En 1919, Erich Lexer effectue une reconstruction orbitaire avec graisse, lambeaux locaux et greffes de cartilage. Il publie un livre sur la greffe adipeuse en 1919, dans lequel il décrit l'utilisation de transfert graisseux pour le traitement d'anomalies crâniofaciales (4). Ce sont les prémises de la médecine régénérative.

En 1920, Sir Harold Gillies décrit également l'utilisation de greffes adipeuses pour traiter des cicatrices faciales (5). Dès 1980, les techniques de lipoaspiration mises au point par Gerard Illouz (6) et Pierre Fournier (7) rendent possible le prélèvement de graisse et permettent la réinjection celle-ci sous forme semi-liquide. Le problème majeur qui se pose alors est l'imprévisibilité des résultats dû à la résorption inconstante, souvent importante, de la greffe adipeuse.

En 1987 Bircoll présente le premier cas de TGA sur une jeune fille de 20 ans ayant un défaut de la cuisse à la suite d'une morsure de chien. Elle bénéficiera d'un TGA pour combler ce défaut et, en même temps, un TGA des deux seins (8). Bircoll décrit une technique de réinjection graisseuse utilisant des seringues de 3 cc, en réalisant des "spaghettis graisseux" de moins de 1 cm de diamètre. Il considère qu'un volume de plus de 130 cc de TGA induit une résorption importante. La technique de Bircoll fut critiquée pour ses nombreux passages à travers la glande mammaire, ce qui constituera plus tard une des clefs de la survie graisseuse.

A partir de 1984, le Dr Sidney R. Coleman (16,17) s'intéresse aux travaux de Bircoll et de Ellenbogen (9) sur le TGA, particulièrement au niveau de la face. En 1987, la société Américaine de Chirurgie Plastique et Reconstructive (ASPRS) déconseille l'utilisation de TGA dans la chirurgie mammaire en raison des calcifications et des kystes huileux engendrés par ces injections graisseuses. « *The committee is unanimous in deploring the use of autologous fat injection in breast augmentation [underlined in position paper]. Much of the injected fat will not survive, and the known physiological response to necrosis of this tissue is scarring and calcification. As a result, detection of early breast carcinoma through xerography and mammography will become difficult and the presence of disease may go undiscovered.* » (10)

Ce soudain blocage par l'ASPRS d'injecter de la graisse dans les seins n'est, de manière surprenante, fondée sur aucune étude. En 1987, une étude rétrospective sur les modifications mammographiques après réduction mammaire décrit la détection de calcifications dans 50% des cas plus de deux ans après la chirurgie (11). Malgré ces calcifications post réductions mammaires, il n'a jamais été envisagé de ne plus réaliser ces interventions parce qu'elles pourraient interférer avec la surveillance mammographique. Les auteurs mentionnent, en effet, que la différenciation entre bénin et malin peut être réalisée dans la plupart des cas. D'une manière générale, toute chirurgie mammaire (réduction, lifting ou augmentation mammaire) induit nécessairement des modifications mammographiques. De ce fait, de nombreux articles ont été publiés sur la surveillance radiologique mammaire et la spécificité de détection radiologique entre calcifications induites par une chirurgie et calcifications cancéreuses. Les radiologues peuvent, avec une très haute spécificité, faire la différence entre des calcifications bénignes dans les suites de nécrose graisseuse post-injection de graisse de celles de néoplasies. (12–15).

La prise de position sur la "dangerosité" du TGA par la société américaine de chirurgie plastique (American Society of Plastic and Reconstructive Surgery (ASPRS) qui devendra en 2000, l'American Society of Plastic Surgery (ASPS)) en 1987 a induit un état de veille à partir de ce moment sur l'utilisation du TGA aux États-Unis.

Dans les autres pays hors USA, le TGA a continué de prendre de plus en plus de place dans l'armementarium du chirurgien plasticien. C'est ainsi que la France, l'Italie ou encore l'Asie rapportent de grosses séries cliniques de TGA dans le sein avec une sécurité oncologique qui s'affirme de plus en plus.

En 1992, Coleman introduit l'usage de la centrifugation afin de séparer les différentes phases du lipoaspirat et d'en isoler la fraction solide, composée de tissu adipeux à structure lobulaire, en vue de sa réinjection. (16,17) dans la chirurgie de la face. Cette procédure de centrifugation (3 min à 3000 tours par minute) permet de séparer le tissu adipeux de l'huile (résultat de la lyse des adipocytes, entraînant le relargage de leur contenu en acides gras) et des cellules sanguines purifiant ainsi le tissu injecté.

A partir des années 2000, et souvent en se basant sur la technique de concentration développée par Coleman, le TGA dans les seins commence à être utilisé par un petit nombre de pionniers, dont notamment Emmanuel Delay en France (18). Cette nouvelle technique amènera une autre question majeure concernant l'innocuité du TGA sur l'induction de cancer ou de récurrence dans la glande mammaire. Ainsi en 2007, la Société Française de Chirurgie Plastique adressait une recommandation aux chirurgiens plasticiens français en leur demandant de reporter les TGA mammaires, tant en chirurgie esthétique que reconstructrice, en attendant plus de résultats d'études scientifiques.

En 2008, la société américaine de chirurgie plastique (ASPS) désigna une équipe de 8 chirurgiens plasticiens renommés pour constituer une task force sur le TGA. Cette équipe fut chargée de préciser les indications et juger de la sécurité et de l'efficacité du TGA (19). Cette task force confirma que, même si le TGA peut entraîner l'apparition de microcalcifications visibles en mammographie en raison de phénomènes de nécrose graisseuse, l'échographie et l'IRM permettent de distinguer de manière fiable les lésions bénignes post-TGA des anomalies associées à une néoplasie.

Il faudra attendre 2009 pour que l'ASPS revoie sa position sur le TGA. Suite au travail de la task force sur le TGA, l'ASPS valide l'utilisation de cette technique dans les augmentations mammaires et dans les corrections des défauts congénitaux ou autres, mais reste prudente dans les cas de patientes à haut risque de cancer du sein. En 2012, l'ASPS confirme que le TGA est une procédure efficace et sûre et qu'elle n'augmente pas le risque de récurrence d'un cancer du sein, dans le cadre d'une reconstruction mammaire après mastectomie totale.

En 2011, Lohsiriwat *et al.* (20) décrivent sur des études expérimentales que les adipocytes, pré-adipocytes et sécrétions des cellules progénitrices peuvent stimuler l'angiogenèse et la croissance cellulaire, et par conséquent potentiellement induire une récurrence de néoplasie en stimulant des cellules néoplasiques dormantes dans le lit tumoral d'une tumorectomie.

Mais en 2012, la Société Française de Chirurgie Plastique, Reconstructive et Esthétique (SOFCPRE) reconnaît l'efficacité et la sécurité de la technique du TGA, tant dans les indications de mastectomies totales que dans les séquelles de tumorectomies ainsi que dans les augmentations mammaires pour malformations congénitales (seins tubéreux, asymétrie, Poland) ou opérations à visée esthétique sans pathologie cancéreuse (21). L'étude multicentrique de Petit JY en 2011 regroupant une série de 646 TGA sur 513 patientes ayant des antécédents oncologiques mammaires (370 mastectomies et 143 tumorectomies), ne démontre pas de récurrence ou de complications particulières après 57,6 mois de suivi (22). Il faudra cependant attendre 2015 pour que l'ANSM Française (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) lève les doutes oncologiques sur le TGA, d'après les recommandations du groupe de travail mandaté et conduit en partie par le pionnier de la technique, Emmanuel Delay (21).

A partir de 2012, l'ASPS, la SOFCPRE et le NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence, UK) unanimes, indiquent que lorsque la lecture des images de mammographie, IRM ou scanner est réalisée par des radiologues expérimentés en imagerie du sein, les kystes de cytotéatonecroses et les microcalcifications bénignes engendrés par le TGA sont distinguables des lésions suspectes de malignité (23,24).

Actuellement, les études n'ont pas mis en évidence de majoration du risque oncologique lié au TGA, ce qui autorise la large diffusion de cette technique, tant chez les patientes oncologiques que sans antécédents oncologiques mammaires. (25).

1.3. Indications de transfert graisseux autologue

Le TGA est une technique en pleine expansion utilisée dans de nombreuses indications.

On distingue les indications volumatrices (restauration du volume), des indications régénératrices (chirurgie régénérative).

1.3.1. Indications volumatrices

Les indications d'augmentation de volume, peuvent être classifiées en fonction des localisations que ce soit dans des indications de reconstruction ou d'esthétique.

1.3.1.1. La chirurgie mammaire

Les indications en chirurgie de reconstruction mammaire recouvrent le temps secondaire d'une reconstruction du sein par lambeau (grand dorsal, DIEP, SGAP, TUG, ...), une reconstruction de sein composite (prothèse et TGA), le comblement d'un défaut de tumorectomie, ou encore des plasties de malformations congénitales (seins tubéreux, syndrome de Poland, asymétrie mammaire).

Les indications en chirurgie esthétique concernent, quant à elles, les augmentations composites (prothèses prépectoraux et TGA), pexies composites (pexies et TGA) ou augmentations totalement autologues.

1.3.1.2. La chirurgie du visage

Les indications en chirurgie faciale peuvent être de type reconstruction oncologique, congénitale (hémi atrophie de Romberg,...) ou post-traumatique. Le TGA permet la restauration volumétrique de certaines zones faciales.

Le domaine des indications esthétiques faciales est très vaste et concerne, notamment, les liftings cervico-faciaux (de moins en moins invasifs) avec restauration des volumes zygomatiques, temporaux et le comblement des sillons nasogéniens, rides d'amertume, lèvres ainsi que le rajeunissement orbitopalpébral.

1.3.1.3. La chirurgie du corps

Les indications de reconstruction sont principalement post-traumatiques ou post-oncologiques. Tout défaut localisé sur une partie du corps peut être partiellement ou totalement comblé par du TGA.

Les indications esthétiques concernent surtout l'augmentation fessière par TGA, très populaire en Amérique du Sud. Il existe également des indications, plus spécifiques de rajeunissement de la face dorsale des mains par comblement des espaces intermétacarpiens avec du TGA.

1.3.2. Indications régénératrices

Une avancée majeure dans le domaine de la médecine régénérative a été réalisée par Zuk *et al.* en 2001(26), avec l'identification de cellules souches au sein du tissu adipeux humain. À l'aide d'une digestion enzymatique par collagénase, les auteurs ont isolé la fraction vasculaire stromale (SVF) (stromal vascular fraction) du tissu adipeux (voir 1.4.2). Ce procédé a été suivi d'une centrifugation, permettant de séparer les adipocytes matures, flottants, des cellules stromales plus denses, regroupant notamment des cellules souches mésenchymateuses, des cellules endothéliales, des péricytes, et d'autres populations cellulaires. Cette découverte a ouvert la voie à l'étude approfondie des ADSCs (adipose-derived stromal/stem cells) et à leur potentiel d'application en chirurgie reconstructive et en ingénierie tissulaire.

Ce potentiel cellulaire confère au TGA des propriétés thérapeutiques significatives. En chirurgie régénérative, le TGA est de plus en plus reconnu, non seulement pour son effet

volumateur, mais aussi pour ses capacités à améliorer la trophicité cutanée, restaurer l'élasticité et favoriser la souplesse des tissus.

Rigotti *et al.* (27) ont comparé l'analyse ultra structurale des lésions mammaires post-radiques, avant et à différents intervalles après un TGA. Ils ont mis ainsi en évidence un processus de régénération tissulaire progressif : après transplantation grasseuse, la vascularisation apparaissait normalisée et les débris cellulaires étaient éliminés graduellement. L'observation la plus marquante concernait l'apparition, au fil du temps, d'un grand nombre de cellules à différents stades de différenciation adipocytaire, suggérant la formation de nouveaux adipocytes.

Avant l'injection, les adipocytes contenus dans le TGA étaient quasi intégralement altérés par le processus de centrifugation, et aucun adipocyte mature ni préadipocyte n'était visible dans les tissus receveurs irradiés.

Deux hypothèses ont été proposées pour interpréter ces observations :

1. les préadipocytes différenciés proviendraient d'ADSCs (adipose-derived stem cells) présents dans le greffon et déjà en cours de différenciation dans la lignée adipocytaire.
2. ces cellules seraient issues de populations endogènes préexistantes dans le tissu receveur, activées par le TGA.

La survie documentée de cellules souches mésenchymateuses, malgré la liposuction et la centrifugation, plaide en faveur de la première hypothèse. Toutefois, la seconde hypothèse, selon laquelle le greffon agirait comme un tissu ectopique stimulant la régénération par activation des ressources endogènes via des signaux paracrines, demeure également plausible. La chirurgie régénérative constitue un domaine relativement récent de la chirurgie, qui repose sur l'ingénierie de cellules, tissus ou organes humains afin de restaurer, remplacer ou rétablir leurs fonctions physiologiques normales (voir tabl.1.3-1). Les avancées récentes dans ce domaine ouvrent des perspectives significatives en matière de régénération tissulaire et/ou de transplantation, grâce à l'utilisation combinée de biomatériaux et de technologies cellulaires. Celles-ci incluent notamment les cellules souches, les matrices tridimensionnelles (3D scaffolds), ainsi que la libération locale de facteurs de croissance ou de molécules pharmacologiquement actives. L'objectif est de développer de nouvelles approches en ingénierie tissulaire, permettant la réparation de défauts tissulaires ou la régénération d'organes présentant des structures complexes tridimensionnelles (28).

| Système / Organe | Applications thérapeutiques |
|---------------------------|---|
| Système ostéo-articulaire | Arthrose du genou Chondromalacie de la rotule Nécrose avasculaire de la tête fémorale Régénération osseuse Maladie discale dégénérative Fusion intersomatique lombaire postérieure Pathologies orthopédiques Traitement moignon amputation |

| | |
|--|--|
| Peau et tissus mous | Cicatrices d'acné atrophiques Rajeunissement cutané Cicatrices rétractiles Sauvetage de lambeau fasciocutané ischémique Radiodermite |
| Système vasculaire | Maladie vasculaire périphérique Cardiopathie ischémique Ulcères diabétiques Ulcères veineux ou mixtes (ulcus cruris) |
| Système immunitaire / maladies systémiques | Sclérodémie systémique Maladie de Crohn (fistules périanales) Syndrome d'Asherman (synéchie utérine) Lymphœdème |
| Système nerveux / neurologie | Maladie de Parkinson Troubles neurodégénératifs Névrome douloureux |
| Système uro-génital | Dysfonction érectile Incontinence urinaire |
| Cuir chevelu | Alopécie |
| ORL / voies respiratoires | Cordes vocales cicatricielles Rhinoplastie secondaire Reconstruction nasale après exérèse de carcinome basocellulaire |
| Système digestif | Fistules anales |

Tabl 1.3-1 : Différentes applications de médecine régénérative classées par organes ou système (29)

1.4. Anatomie et histologie du tissu adipeux

Le tissu adipeux est constitué d'adipocytes, cellules différenciées permettant le stockage de lipides (principalement des triglycérides). Ces adipocytes constituent l'élément cellulaire principal du tissu adipeux.

Au-delà de leur fonction de réserve énergétique, les adipocytes participent à l'homéostasie métabolique, la régulation endocrine, et la modulation des réponses immuno-inflammatoires.

Sur le plan fonctionnel, les adipocytes remplissent principalement plusieurs fonctions :

> Stockage et métabolisme lipidiques

Les adipocytes accumulent des triglycérides en période d'excès calorique et les mobilisent sous forme d'acides gras libres lors d'un déficit énergétique via la lipolyse. Cette capacité à réguler la balance énergétique est essentielle pour le maintien de l'homéostasie métabolique.

> Fonction endocrine

Le tissu adipeux agit comme un organe endocrinien à part entière en sécrétant une large gamme de médiateurs bioactifs, collectivement appelés **adipokines** (leptine, adiponectine, résistine, cytokines pro et anti-inflammatoires, etc.). C'est en 1994, que JM Friedman a découvert que les adipocytes sécrétaient de la leptine, peptide jouant un rôle essentiel dans la régulation thalamique du poids. (30,31) Ces molécules produites par l'adipocyte modulent divers processus physiologiques tels que la prise alimentaire, la sensibilité à l'insuline, la régulation de l'inflammation et le métabolisme lipidique et glucidique (fig 1.4-1).

| Cytokines | | Effets biologiques |
|------------|------------------|--|
| Adipokines | Leptine | Signal de satiété et dépense énergétique |
| | Adiponectine | Augmente la sensibilité à l'insuline et anti-inflammatoire |
| | Résistine | Diminue la sensibilité à l'insuline |
| | Visfatine | Activité semblable à l'insuline |
| | VEGF | Stimule la prolifération vasculaire et l'angiogenèse |
| | Angiotensinogène | Régule la pression artérielle |

Fig 1.4-1 : principales adipokines et leurs effets biologiques (32)

> Participation aux réponses immunitaires et inflammatoires

Les adipocytes interagissent avec les cellules immunitaires présentes dans le tissu adipeux (macrophages, lymphocytes, etc.) et participent à la régulation de l'inflammation locale et systémique, notamment dans le contexte de l'obésité et des pathologies métaboliques associées.

> Fonction mécanique

Le tissu graisseux est composé de trames conjonctives permettant d'absorber des chocs ou pressions importantes au niveau du corps notamment au niveau des régions fessières et des talons.

> Thermogenèse

La thermogenèse au niveau du tissu adipeux désigne la production de chaleur par les adipocytes, en particulier ceux du tissu adipeux brun (BAT) et du tissu adipeux beige (BRITE) (voir 1.4.1). Ce processus repose sur l'oxydation des substrats énergétiques (acides gras et glucose) sans couplage à la synthèse d'ATP, grâce à l'action de la protéine découplante UCP1 (uncoupling protein 1) située dans la membrane interne des mitochondries.

Cette thermogenèse non-frissonnante (non-shivering thermogenesis) permet la dissipation d'énergie sous forme de chaleur et joue un rôle essentiel dans l'homéothermie, notamment chez les nouveaux-nés et les mammifères exposés au froid. Chez l'adulte

humain, la réactivation de cette fonction thermogénique peut être induite par l'exposition au froid ou à certaines stimulations hormonales (catécholamines via les récepteurs β -adrénergiques) (33).

1.4.1. Types de tissus adipeux

Il existe trois types de tissus adipeux : le blanc (WAT), le brun (BAT) et le beige (BRITE).

1.4.1.1. Le tissu adipeux blanc (WAT)

Le tissu adipeux blanc (WAT) est le principal type de tissu adipeux dans le corps humain. Il représente 10 à 20% du poids d'un adulte, voir 15 à 30% chez le sujet féminin. Il représente 80 % de la graisse corporelle totale.

Sa fonction va bien au-delà du simple stockage d'énergie en jouant des rôles métaboliques, endocriniens et structuraux (protection mécanique des organes) (34).

Les fonctions du WAT sont régulées par des signaux endocriniens et le système nerveux sympathique. Le métabolisme énergétique dans les adipocytes est contrôlé par des hormones telles que l'insuline, catécholamines et glucocorticoïdes.

Le WAT stocke l'énergie sous forme de triglycérides venant de l'alimentation et peut, via la lipolyse, libérer des acides gras dans la circulation sanguine pour produire, via la céto-genèse, des corps cétoniques servant de 'carburant alternatif au glucose' notamment au niveau cérébral et musculaire (35).

Le WAT participe également à la réponse immunitaire, à la régulation anti-inflammatoire, à la coagulation sanguine, ainsi qu'aux fonctions thyroïdiennes et reproductives. Ces processus sont principalement coordonnés par la synthèse et la libération d'adipokines (tels que l'adiponectine et la leptine, voir fig. 1.4-1), qui exercent leurs effets localement et à distance par des mécanismes autocrines, paracrines et endocrines (36).

Le WAT est constitué de 90% d'adipocytes blancs, de 5% d'eau, 3% de protéines et 2% de cellules constituant la fraction vasculaire stromale (voir 1.4.2.).

Les adipocytes blancs sont composés par des lipides (60 à 85%), pour la majorité des triglycérides, mais également des acides gras libres, diglycérides, cholestérol et phospholipides.

Histologiquement, les adipocytes blancs sont grands, sphériques, compactés et entourés par du tissu conjonctif. Leur taille varie de 80 à 130 μm . Ils contiennent une seule gouttelette lipidique (fig 1.4-2).

Leur noyau est plat et refoulé en périphérie. Le nombre de mitochondries et leur équipement enzymatique varie entre les différentes localisations, contribuant à la physiologie hétérogène du tissu adipeux (37,38).

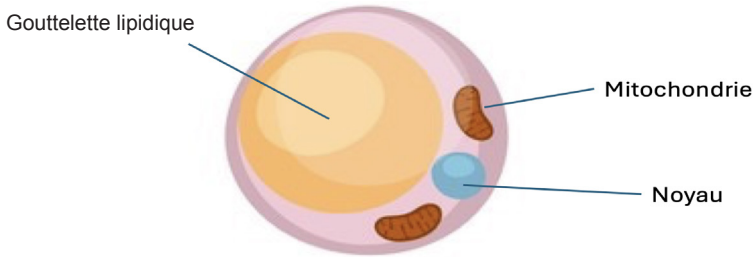


Fig 1.4-2 : schéma histologique d'un adipocyte blanc

Selon la localisation, le WAT se divise en deux types principaux :

1.4.1.1.1. Le tissu adipeux sous-cutané (sWAT), situé dans l'hypoderme, partout sur le corps. Il est localisé entre le derme profond et le fascia profond. Le sWAT apparaît structurellement homogène, mais présente des différences qualitatives et quantitatives de ses composants permettant d'établir une classification (39).

a. Tissu adipeux de dépôt (dWAT)

Ce tissu est placé principalement au niveau abdominal, en péri-ombilical. Il est qualifié de graisse en raison de sa faible composante collagénique. Il est caractérisé par de grands adipocytes entre 90 et 100 μm . Les adipocytes sont situés à l'intérieur d'un réseau de collagène lâche. La microcirculation est formée par de très fins capillaires avec peu de cellules souches mésenchymateuses (40).

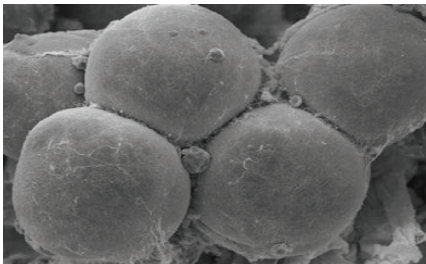


Fig 1.4-3 : vue en microscopie électronique du tissu adipeux de dépôt (périombilical) (41)

b. Tissu adipeux structural (stWAT)

C'est un tissu adipeux polymorphe, qui joue différents rôles en fonction des structures avoisinantes. Le stroma dans lequel les adipocytes se situent est bien vascularisé avec un bon nombre de cellules souches mésenchymateuses.

Le diamètre des adipocytes est plus petit que le dWAT (80 μm) (40).

La localisation du stWAT comprend :

- Régions trochantériennes
- Les faces internes de genoux

- Les cuisses (faces internes et externes)
- Les bras
- La région pectoro-mammaire
- Les hanches

c. Tissu fibroadipeux (fWAT)

C'est un type de tissu adipeux comportant une grande composante fibreuse qui lui confère des fonctions mécaniques. Il se trouve généralement dans des zones de sollicitation mécanique. La taille des adipocytes est plus petite avec un réseau fibreux épais.

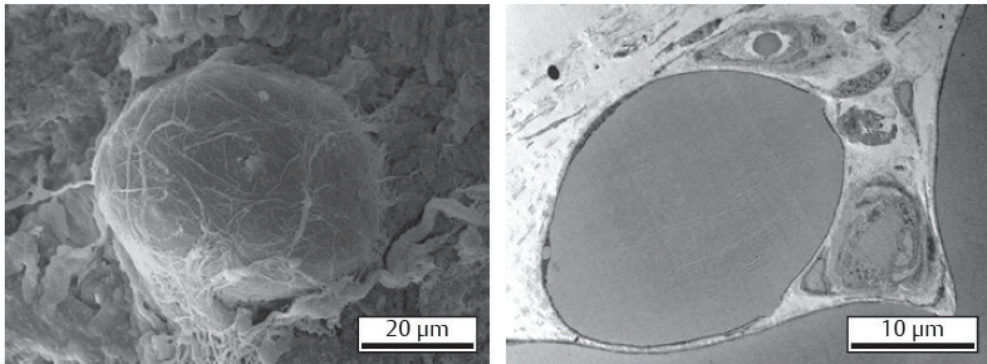


Fig 1.4-4 : image du tissu adipeux fibreux (fWAT) en microscopie électronique (41)

Ce sous-type de fWAT est localisé dans les zones de forte stimulation mécanique comme le talon. Dans ce tissu lobulaire, de nombreux septa de tissu conjonctif entourent les adipocytes qui sont de grand diamètre (90 à 100 µm). Ce tissu connecte le derme profond aux structures osseuses, évitant le savonnage et joue un rôle d'amortisseur.

1.4.1.1.2. Le tissu adipeux viscéral (vWAT) entourant les organes intra-abdominaux et intrathoraciques. Ce type de tissu est souvent associé à des troubles métaboliques de type diabète de type 2 ou associé à des maladies cardiovasculaires.

L'accumulation de tissu adipeux viscéral (vWAT) est étroitement liée à des problèmes métaboliques comme la résistance à l'insuline, une hyperinsulinémie, une élévation des triglycérides sanguins, la réduction du taux de cholestérol HDL et l'hypertension artérielle.

Les adipocytes du vWAT ont une activité lipogénique et lipolytique élevée et secrètent des cytokines pro-inflammatoires (42).

Ce tissu se répartit en trois régions du corps :

- Graisse épiploïque
- Graisse mésentérique et rétropéritonéale
- Graisse intrathoracique (péricardique)

1.4.1.2. Le tissu adipeux brun (BAT)

Le tissu adipeux brun (BAT) est particulièrement abondant chez les nourrissons et sert de producteur de chaleur par thermogénèse non-frissonnante c'est à dire la genèse de chaleur sans contraction musculaire (sans frisson)(43). Il est cependant moins abondant que le WAT (20% de la graisse corporelle totale).

Le BAT est multiloculaire, c'est-à-dire qu'il est composé de plusieurs petites gouttelettes lipidiques (fig 1.4-5), ce qui permet une surface accrue pour l'oxydation des graisses et la production de chaleur. Ce tissu contient un grand nombre de mitochondries et exprime une protéine spécifique appelée UCP1 (uncoupling protein 1). Cette protéine, absente dans le tissu adipeux blanc, est localisée dans la membrane interne des mitochondries et agit comme une sorte de « court-circuit ». En effet, au lieu d'utiliser le gradient de protons pour la production d'ATP, l'UCP1 fournit un canal de fuite qui permet aux protons de retourner directement de l'espace intermembranaire vers la matrice.

Ce « court-circuit » dissipe l'énergie du gradient de protons sous forme de chaleur plutôt que de la convertir en ATP. La chaîne respiratoire continue de fonctionner à haut régime pour maintenir le gradient, entraînant une consommation rapide des substrats (lipides et glucides) et une production de chaleur massive.

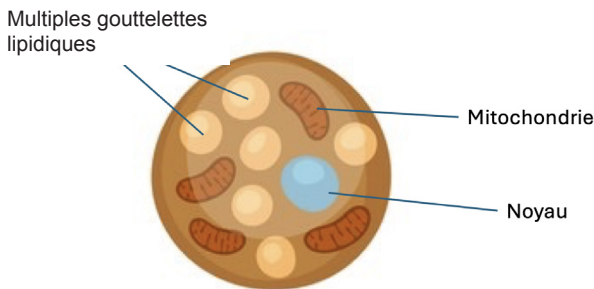


Fig 1.4-5 : schéma histologique d'un adipocyte brun

Plus vascularisé que le WAT, le BAT permet l'oxydation rapide des lipides et possède une innervation sympathique libérant de la noradrénaline en réponse notamment au froid pour activer la thermogénèse (44,45).

Le tissu adipeux brun est stimulé par les hormones thyroïdiennes, les températures froides, ainsi que par les thiazolidinediones (antidiabétiques oraux).

Une activité accrue du tissu adipeux brun est inversement corrélée à l'indice de masse corporelle, à la masse de tissu adipeux et à la résistance à l'insuline (35).

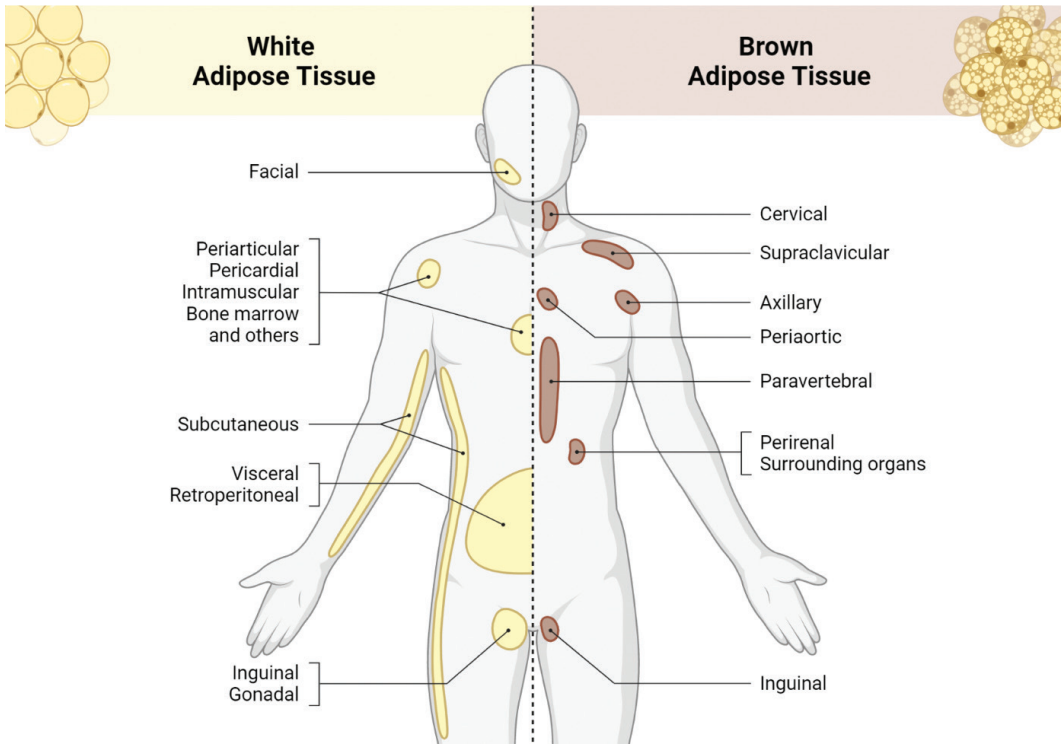


Fig 1.4-6 : répartition des différents tissus adipeux (ref : www.myendoconsult.com/learn/adipose-tissue-physiology)

1.4.1.3. Le tissu adipeux beige (BRITE)

Le tissu adipeux beige (BRITE, contraction de brown et white) est une forme intermédiaire de tissu adipeux entre le WAT et BAT (fig 1.4-7). Il se développe à partir du WAT sous certaines conditions (par ex : exposition au froid). Ce phénomène est appelé 'browning' ou brunissement du WAT et est stimulé par la libération de la noradrénaline suite à l'exposition du froid, mais aussi lors de l'exercice physique ou par certains facteurs hormonaux comme les hormones thyroïdiennes. Ces adipocytes beiges expriment la protéine UCP1 typique des adipocytes bruns mais à un moindre niveau. Ils consomment du glucose pour produire de la chaleur. Ces adipocytes peuvent ainsi réguler le taux de lipides circulants ainsi que la glycémie (46).

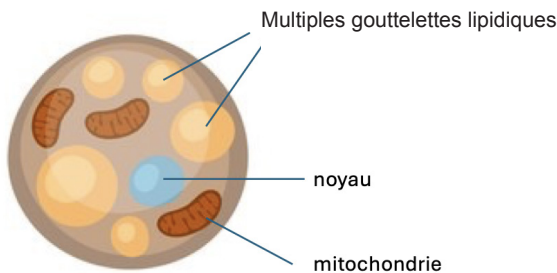


Fig 1.4-7 : schéma histologique d'un adipocyte beige

Le tableau 1.4-1 résume les différentes caractéristiques des tissus adipeux (WAT, BAT et BRITE).

| Caractéristiques | WAT (Blanc) | BAT (Brun) | Brite (Beige) |
|--------------------------------|---|---|---|
| Fonction principale | Stockage d'énergie | Production de chaleur (thermogenèse) | Production de chaleur (thermogenèse) |
| Adipocytes | Uniloculaires (1 grande gouttelette lipidique) | Multiloculaires (plusieurs petites gouttelettes lipidiques) | Multiloculaires |
| Mitochondries | Peu nombreuses | Très nombreuses (riche en cytochromes) | Modérément nombreuses |
| Couleur | Blanc ou jaune pâle | Brun (dû à la densité en mitochondries) | Beige (entre blanc et brun) |
| Protéine UCP1 | Absente | Présente (dans les mitochondries) | Présente (mais moins active que dans le BAT) |
| Origine | Développement postnatal | Présent dès le développement embryonnaire | Transformé à partir du WAT (brunissement) |
| Stimuli d'activation | Stockage et mobilisation de lipides | Exposition au froid | Exposition au froid, exercice, certains aliments |
| Localisation | Sous-cutanée (abdomen, hanches, cuisses) et viscérale | Cou, région interscapulaire, autour des reins | Principalement dans les dépôts de WAT sous-cutané |
| Vascularisation | Faible | Très abondante | Modérément abondante |
| Innervation | Peu innervé | Richement innervé (système sympathique) | Modérément innervé |
| Activité métabolique | Faible | Très élevée (oxydation rapide des lipides) | Élevée lors de l'activation |
| Capacité thermogénique | Absente | Très élevée | Modérée |
| Réversibilité | Non | Non | Réversible (retour à l'état de WAT possible) |
| Rôle dans la santé métabolique | Peut favoriser l'obésité et les maladies métaboliques | Protège contre l'obésité et améliore le métabolisme | Protège contre l'obésité (dépend des conditions) |

Tab 1.4-1 : synthèse des caractéristiques WAT, BAT et BRITE

1.4.2. L'unité adipocytaire

L'unité adipocytaire, encore appelée unité fonctionnelle du tissu adipeux, correspond à l'ensemble des composants cellulaires et extracellulaires remplissant les fonctions métaboliques et structurales du tissu adipeux.

L'adipocyte mature est au centre de cette unité. Autour de celui-ci, dans le stroma vasculaire, plusieurs types cellulaires se regroupent :

- des **fibroblastes** qui produisent la matrice extracellulaire
- des **pré-adipocytes**, précurseurs des adipocytes matures
- des **macrophages** et **lymphocytes**, impliqués dans la réponse immunitaire et l'inflammation
- des **cellules endothéliales** formant les capillaires

- des **cellules souches mésenchymateuses (ADSC ou ASC)**, précurseurs des pré-adipocytes, fibroblastes et autres cellules stromales.

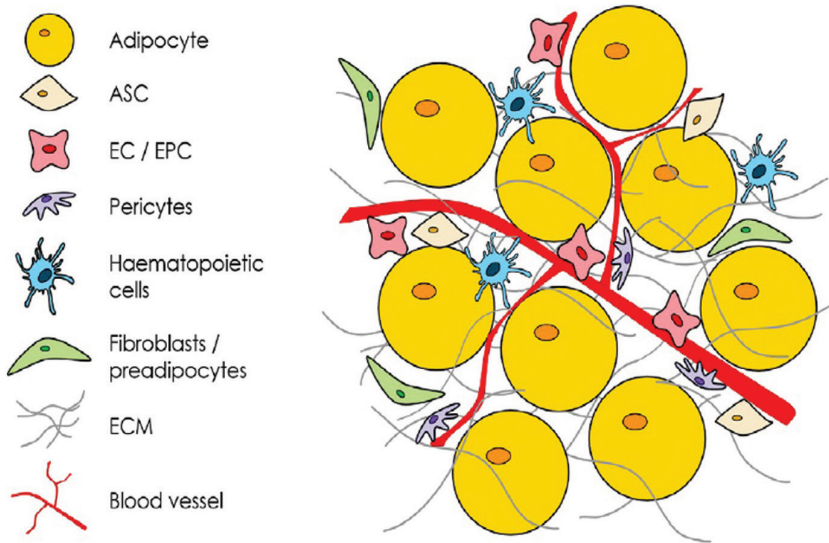


Fig 1.4-8 : composition cellulaire de l'unité adipocytaire. ASC = Adipose Stem Cells (ADSC). Trozier et al. (47)

Les cellules souches mésenchymateuses (adipose derived stem cells, ADSC), décrites par Zuk (48), ont été isolées après digestion enzymatique par collagénase de la matrice du tissu adipeux, permettant la libération de la Fraction Vasculaire Stromale (SVF).

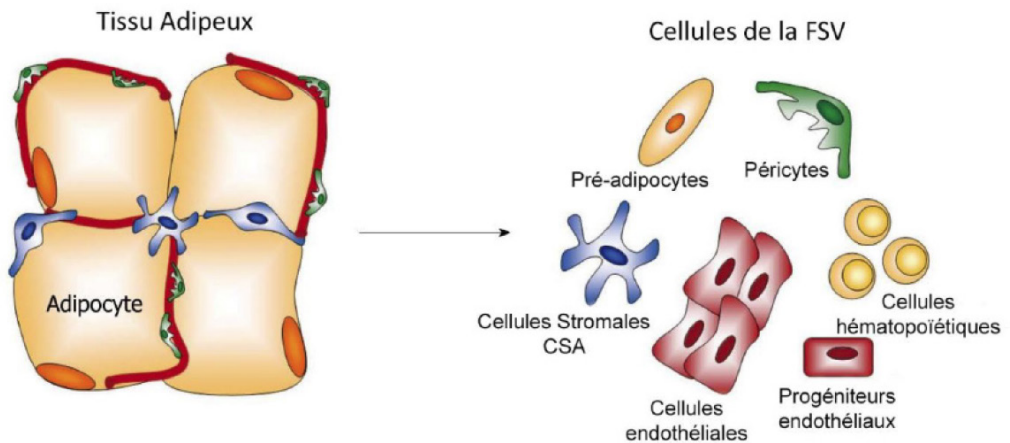


Fig 1.4-9 : Cellules de la SVF obtenues à partir d'une digestion enzymatique du tissu adipeux (47)

On peut extraire 200.000 à 500 000 de cellules dans la SVF à partir d'un millilitre de lipoaspirat, dont 20.000 à 50.000 d'ADSC (48).

La catégorisation des cellules présentes dans la SVF est réalisée par cytométrie de flux.

La cytométrie de flux (fig 1.4-10 et 1.4-12) est une technique analytique de biophysique cellulaire permettant l'analyse multiparamétrique, rapide et à haute résolution, de particules ou de cellules en suspension dans un fluide.

Grâce à un système de focalisation hydrodynamique, les cellules sont alignées et traversent une zone de détection illuminée par un ou plusieurs faisceaux lasers. Chaque cellule interagit avec la lumière, générant des signaux optiques détectés individuellement.

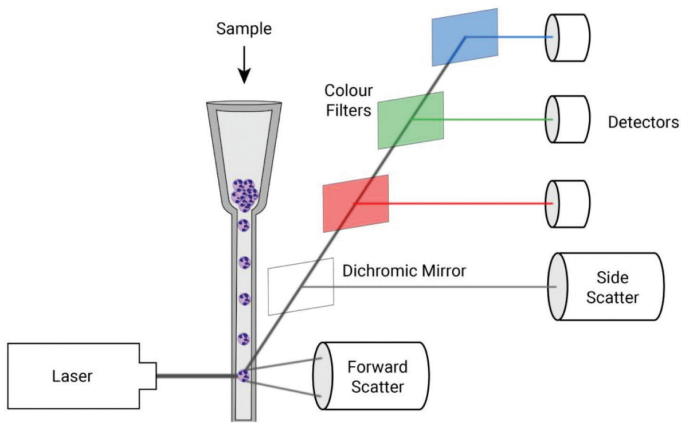


Fig 1.4-10 : schéma d'une cytométrie de flux (ref. : www.learnhaem.com)

Deux types de diffusion de la lumière sont mesurés :

- **Le Forward Scatter (FSC)** correspond à la diffusion de la lumière dans l'axe du faisceau incident. Il est proportionnel à la **taille relative** de la cellule ou de la particule.
- **Le Side Scatter (SSC)** est la lumière diffusée à un angle de 90°, principalement influencée par la **granularité interne** ou la **complexité structurale** (noyau, organites, granules cytoplasmiques).

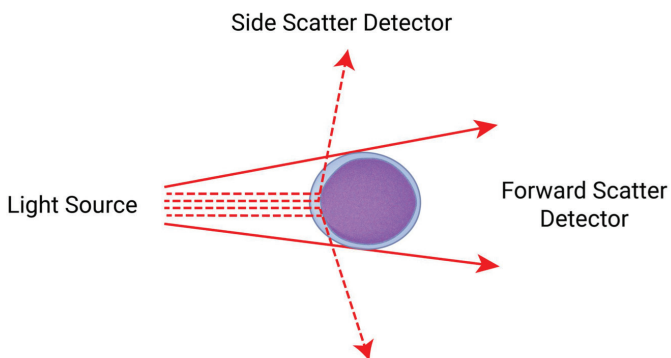


Fig 1.4-11 : schéma des Forward Scatter (FSC) et Side Scatter (SSC) dans la cytométrie de flux (www.learnhaem.com)

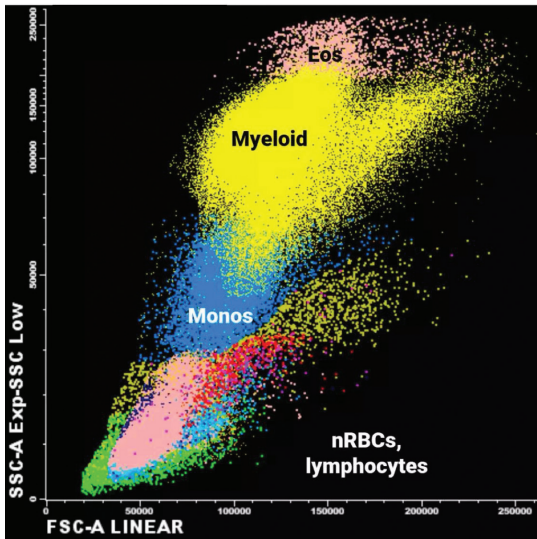


Fig 1.4-12 : résultat de cytométrie de flux en fonction de la taille (FSC) et de la complexité (SSC) (www.learnhaem.com)

En complément, des fluorochromes, liés à des anticorps ou sondes spécifiques, permettent la détection de paramètres biochimiques, notamment l'expression de protéines de surface ou intracellulaires (49).

Les trois paramètres pour identifier les cellules dans un échantillon par cytométrie de flux sont :

1. **La taille** : forward scatter
2. **La complexité (réfraction interne)** : side scatter
3. **L'immunomarquage** (CD34, CD13, CD90, ...)

Les ADSC représentent 3-5% de la SVF, soit entre 15 000 et 25 000 cellules souches par millilitre de lipoaspirat (50).

Les ADSC ne possèdent pas un marqueur spécifique mais bien une série de marqueurs qui vont évoluer en fonction de leur progression dans leur différenciation.

L'un des marqueurs de progéniteurs le plus couramment utilisé pour identifier les cellules souches stromales est CD34, qui représente environ 20 % de la population totale de la fraction vasculaire stromale (SVF). Une proportion élevée (70 à 80 %) des marqueurs de cellules souches progénitrices (incluant CD73 et CD13) est retrouvée au sein de la population CD45⁻CD31⁻CD34⁺ (51). Boquest *et al.* ont observé que les cellules exprimant CD45⁻CD34⁺CD105⁺ présentaient une capacité élevée de prolifération en culture, ainsi qu'un potentiel de différenciation en lignées chondrogénique, adipogénique et ostéogénique (52).

Ainsi, CD34 devrait être utilisé en combinaison avec d'autres marqueurs de cellules souches afin de caractériser de manière adéquate les progéniteurs stromaux présents dans la SVF.

| Antigène (CD) | Signification biologique |
|---------------------------------------|--|
| CD105 (Endoglin) | Marqueur de cellules souches ou progénitrices |
| CD117 (c-kit) | Marqueur de cellules souches ou progénitrices |
| CD13 | Marqueur de cellules souches ou progénitrices |
| CD146 (MCAM) | Marqueur des populations péricytaires |
| CD235a (Glycophorin A) | Cellules érythroïdes (globules rouges) |
| CD31 (PECAM-1) | Cellules endothéliales et leurs progéniteurs |
| CD34 | Cellules souches hématopoïétiques, cellules stromales souches, et cellules endothéliales |
| CD45 (antigène commun des leucocytes) | Cellules d'origine hématopoïétique (sauf les globules rouges) |
| CD73 (L-VAP 2) | Marqueur de cellules souches ou progénitrices |
| CD90 (Thy-1) | Marqueur de cellules souches ou progénitrices |

Tableau 1.4-2 : Marqueurs CD utilisés pour définir les cellules de la SVF (41)

Le rendement en cellules souches est plus élevé à partir du tissu adipeux que de la moelle osseuse, que ce soit pour le tissu adipeux aspiré ou excisé. Un gramme de tissu adipeux aspiré permet d'isoler environ 2 à 5 x 10⁴ cellules souches adipocytaires (ADSC), contre seulement 10-100 cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse pour un gramme d'aspirat médullaire (53).

1.4.3. Le concept de la niche

Une niche est définie comme un espace restreint et spécifique, à la fois physique et fonctionnel qui permet à une "entité" (cellule, espèce ou organisation) de répondre à ses besoins fondamentaux, d'interagir avec son environnement et d'exprimer pleinement ses caractéristiques propres. La niche constitue un cadre favorable, mais contraint, dans lequel une entité peut s'épanouir durablement grâce à une adéquation entre ses propriétés et les conditions de l'environnement.

Ce concept peut être transposé en biologie cellulaire avec la niche cellulaire.

La niche cellulaire désigne l'ensemble des composantes structurales, cellulaires et moléculaires qui constituent le microenvironnement immédiat d'une cellule, en particulier d'une cellule souche. Cette entité fonctionnelle régule de manière spatio-temporelle les comportements cellulaires fondamentaux tels que la quiescence (état réversible d'une cellule qui reste métaboliquement active mais sans division cellulaire), l'auto-renouvellement, la différenciation, l'apoptose (mécanisme de mort cellulaire programmée) ou la migration.

Elle est composée d'éléments physiques (matrice extracellulaire, gradients de rigidité), biologiques (cellules de soutien, cellules immunitaires, cellules endothéliales), et chimiques (cytokines, facteurs de croissance, signaux paracrines ou endocrines).

La niche cellulaire agit comme un interface dynamique entre la cellule et son environnement tissulaire, intégrant les signaux endogènes et exogènes pour maintenir l'homéostasie et permettre une adaptation aux variations physiopathologiques.

Ce concept, dérivé de la niche écologique (Hutchinson, 1957), a été introduit en biologie cellulaire par Schofield (1978)(54) pour expliquer la régulation du devenir des cellules souches hématopoïétiques, et s'est depuis imposé comme un cadre analytique central en médecine régénérative, en biologie du développement et en oncologie.

Le concept de la niche est basé sur les interactions intercellulaires soit, à distance via la circulation sanguine soit via, le système lymphatique ou nerveux. Les interactions paracrines désignent une communication intercellulaire locale, avec d'autres cellules situées dans un environnement restreint. Il existe également des interactions directes entre la cellule et la matrice ou entre deux cellules (fig 1.4-13).

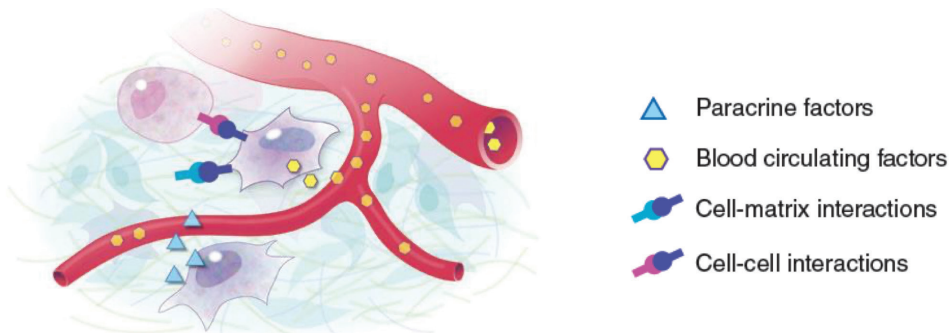


Fig 1.4-13 : Théorie de la niche cellulaire : interactions cellulaires (40)

Le principe du TGA est basé sur ce concept de transfert de niche cellulaire, permettant le transfert d'adipocytes avec leur environnement (matrice extracellulaire), vaisseaux sanguins et les cellules de la SVF.

Les ADSC sont donc essentielles à la survie de ce transfert graisseux.

Autrement formulé, un adipocyte seul, hors de sa niche cellulaire, ne peut pas survivre.

1.4.4. L'adipogenèse

L'adipogenèse est le processus biologique par lequel des ADSC ou des précurseurs (notamment les pré-adipocytes) se différencient en adipocytes matures.

Les adipocytes proviennent des cellules souches mésenchymateuses multipotentes qui peuvent aussi se différencier en myoblastes, ostéoblastes et chondroblastes. (55)

L'adipogenèse est divisée en deux stades :

1. La détermination :

Cette phase définit le destin cellulaire, c'est-à-dire la filière dans laquelle la cellule souche s'engage. Les cellules souches mésenchymateuses s'engagent dans la lignée adipocytaire et deviennent des pré-adipocytes. Cette étape est influencée par des facteurs de croissance comme le TGF- β , BMPs (Bone Morphogenetic Protein), ou encore insuline (56–58).

2. La différenciation :

Les pré-adipocytes en fin de phase de détermination subissent un programme transcriptionnel complexe activé par des facteurs clés, notamment :

- **PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)** – maître régulateur de l'adipogenèse (59–61).
- **C/EBP α (CCAAT/enhancer-binding protein alpha)** – agit en synergie avec PPAR γ (62).

Ces facteurs induisent l'expression des gènes caractéristiques des adipocytes : transporteurs de glucose (GLUT4), enzymes de lipogenèse (AP2), etc.(63)

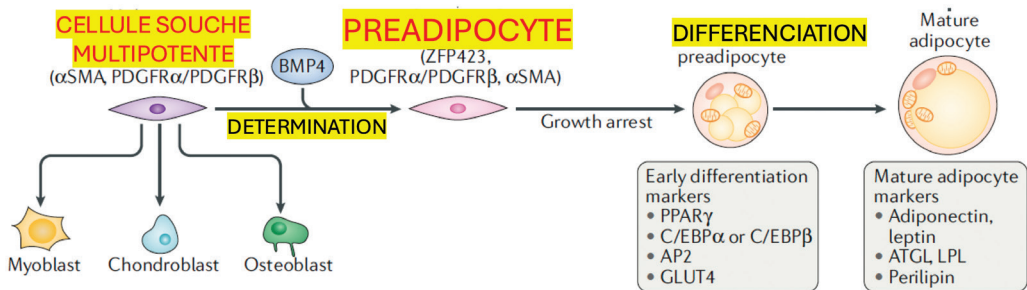


Fig 1.4.-14 : Adipogenèse : Détermination et Différenciation (55)

Le tissu adipeux peut augmenter de taille lors d'une prise de poids de deux manières :

1. L'hypertrophie :

L'hypertrophie consiste en une augmentation de la taille des adipocytes existants.

Les adipocytes différenciés c'est à dire "matures" ont un potentiel important d'hypertrophie en augmentant leur diamètre pouvant atteindre plusieurs centaines de micromètres (55,64).

2. L'hyperplasie :

L'hyperplasie est définie par une formation de nouveaux adipocytes à partir de la différenciation des préadipocytes. Le nombre d'adipocytes est déterminé chez chaque individu tôt dans la vie et reste souvent stable (65).

Chez la souris, une nourriture hypercalorique peut activer la différenciation des préadipocytes et donc l'hyperplasie adipocytaire (66,67).

La balance entre l'expansion par hypertrophie des adipocytes matures et l'hyperplasie via l'adipogenèse a un impact important sur la santé métabolique (fig 1.4-15).

Quand les adipocytes augmentent de taille, ils provoquent une tension mécanique sur les cellules périphériques, induisant une augmentation de la matrice extracellulaire. Cette augmentation de taille induit une hypoxie tissulaire engendrant elle-même une inflammation du tissu adipeux (68,69). Cette hypoxie provoque une fibrose tissulaire avec, dans certains cas, des nécroses d'adipocytes avec infiltration par des cellules

immunitaires induisant des tissus inflammatoires. Ces facteurs combinés (inflammation et nécrose) peuvent être responsables d'une fonction tissulaire adipeuse diminuée, avec comme conséquence des taux sanguins élevés de nutriments (glucose et lipides), ceux-ci engendrant des problèmes métaboliques avec dépôts lipidiques au niveau musculaire et hépatique (55).

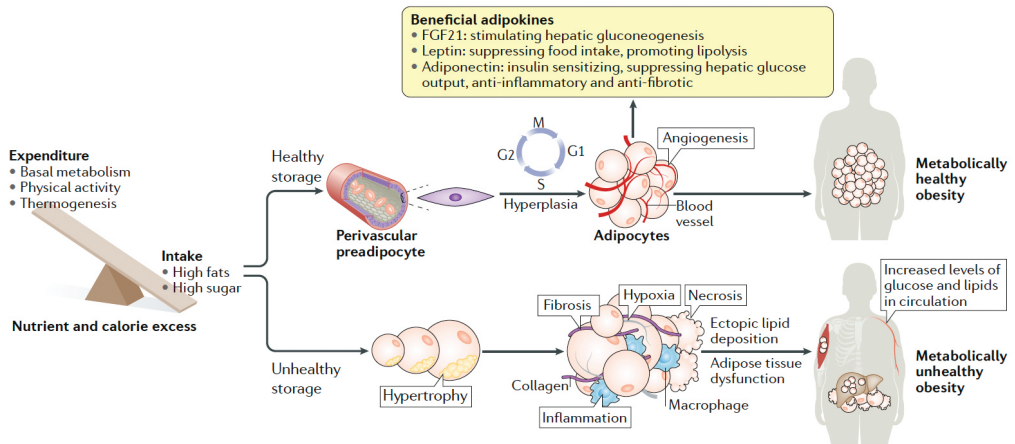


Fig 1.4 -15 : Mécanismes d'expansion tissulaire adipeuse. Ghaben et al. (55)

1.4.5. Les théories de survie grasseuse lors d'un TGA

Trois théories ont été décrites pour tenter de comprendre le principe de survie grasseuse lors d'un TGA.

1.4.5.1. Théorie de remplacement cellulaire

Cette théorie a été décrite par Neuhof en 1923 (70). Selon cette théorie, les adipocytes greffés subissent une nécrose après transplantation et sont partiellement remplacés par une infiltration de cellules du site receveur, qui peuvent se différencier en adipocytes, ou par du tissu fibreux.

1.4.5.2. Théorie de la survie cellulaire

C'est Peer (71) qui a décrit, en 1950, une théorie contradictoire de Neuhof, la théorie de la survie cellulaire. Dans cette hypothèse, les adipocytes transplantés survivent au niveau du site receveur. Leur survie dépend de la diffusion passive d'oxygène à travers les tissus receveurs.

Cette théorie ne peut pas, comme celle du remplacement cellulaire, expliquer complètement le processus de survie grasseuse.

1.4.5.3. Théorie du remplacement du greffon

En 2012, Eto et al. (72) ont remis en cause la *théorie de survie cellulaire* en mettant en évidence la sensibilité marquée des adipocytes aux conditions ischémiques,

contrairement aux cellules souches adipocytaires (ADSC) et aux cellules progénitrices, qui présentent une meilleure tolérance à l'hypoxie, survivent et participent secondairement aux processus de réparation du tissu adipeux (47). Sur la base de ces observations, les auteurs ont formulé la *théorie du remplacement du greffon (graft replacement theory)*, selon laquelle le tissu adipeux greffé peut être schématiquement subdivisé en trois zones concentriques (fig 1.4-16 et 1.4-17) :

1. une **zone de survie** périphérique, où les adipocytes et les ADSCs demeurent viables.

Cette zone est la plus superficielle, elle est en contact direct avec les tissus receveurs et a une épaisseur de moins de 300 μm (càd 0,3 mm). Les adipocytes survivent grâce à la diffusion plasmatique d'oxygène et autres nutriments.

2. une **zone de régénération** intermédiaire, caractérisée par la mort des adipocytes mais la survie des ADSCs, qui sont alors activées pour régénérer les adipocytes détruits.

L'épaisseur de cette zone est variable (600 à 1200 μm) et dépend des conditions microenvironnementales du tissu receveur notamment de sa vascularisation. Dans cette zone, les adipocytes dégèrent en moins de 24h, vu leur sensibilité à l'ischémie. Par contre les ADSCs survivent vu leur résistance supérieure à l'ischémie et peuvent ensuite se différencier en nouveaux adipocytes.

3. une **zone nécrotique** centrale, où l'ensemble des cellules, y compris les ADSCs, ne survivent pas.

Dans cette zone centrale, toutes les cellules dégèrent sans régénération possible, produisant un espace mort qui sera résorbé et rempli par de la fibrose, expliquant les complications de type cyto-stéatonecrose dans le TGA.

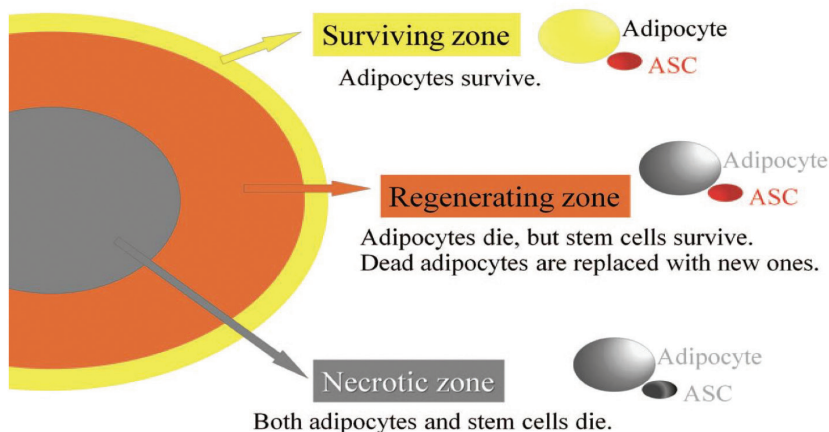


Fig 1.4-16 : Illustration de la théorie du remplacement du greffon par Eto.(73)

Cette modélisation remet en question l'idée selon laquelle la persistance volumétrique du greffon reposerait uniquement sur la survie des adipocytes transplantés, en soulignant le rôle essentiel des cellules stromales dans la néoformation tissulaire.

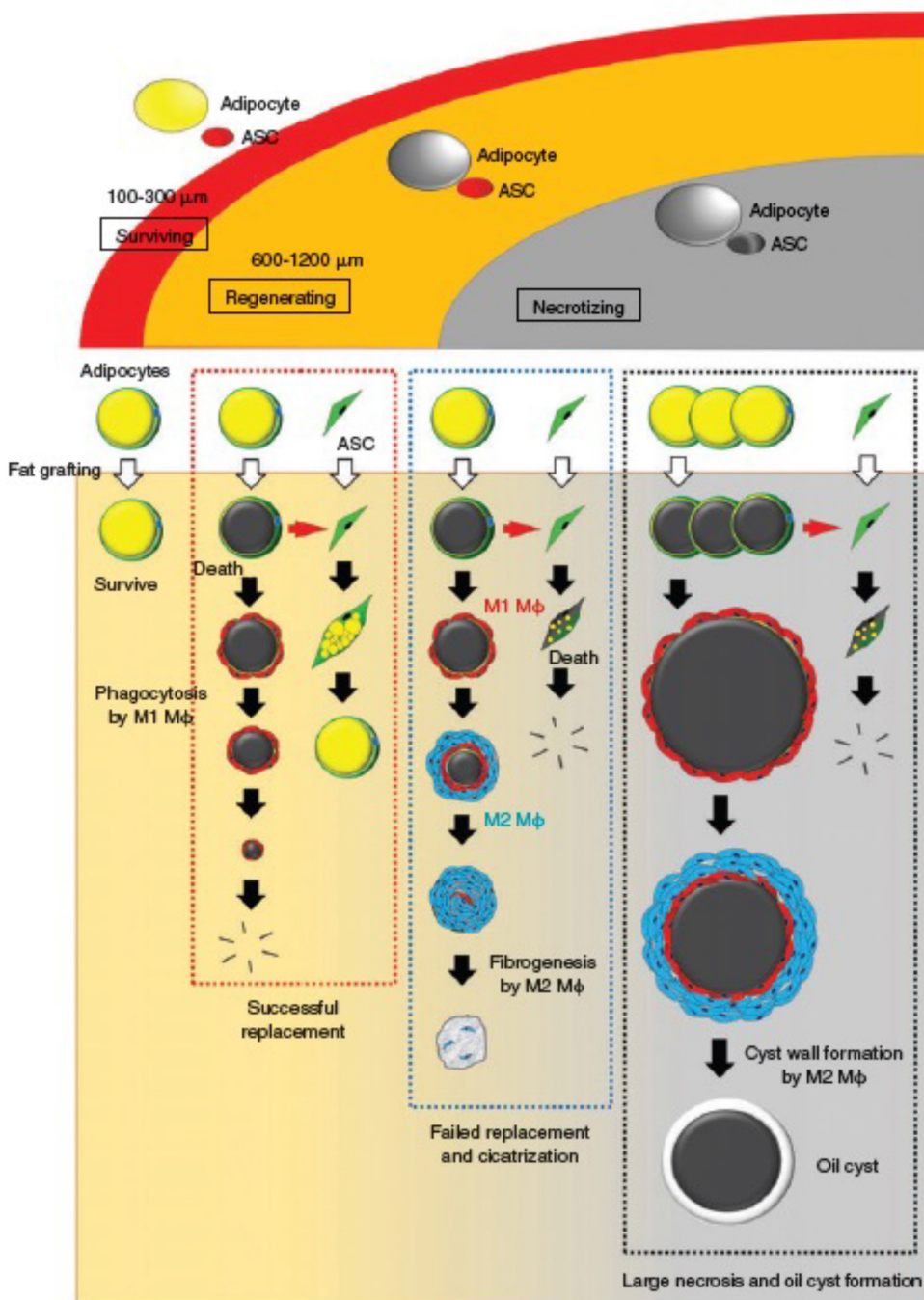


Fig 1.4-17 : Les 3 zones de la théorie du remplacement du greffon par Eto et al. (73)

Dans la zone nécrotique, soit l'adipocyte sera remplacé par un tissu fibreux de cicatrisation soit les adipocytes vont fusionner et dégénérer en kyste huileux.

Cette période de 'régénération tissulaire' va durer trois mois, suivie d'une stabilisation de 9 mois.

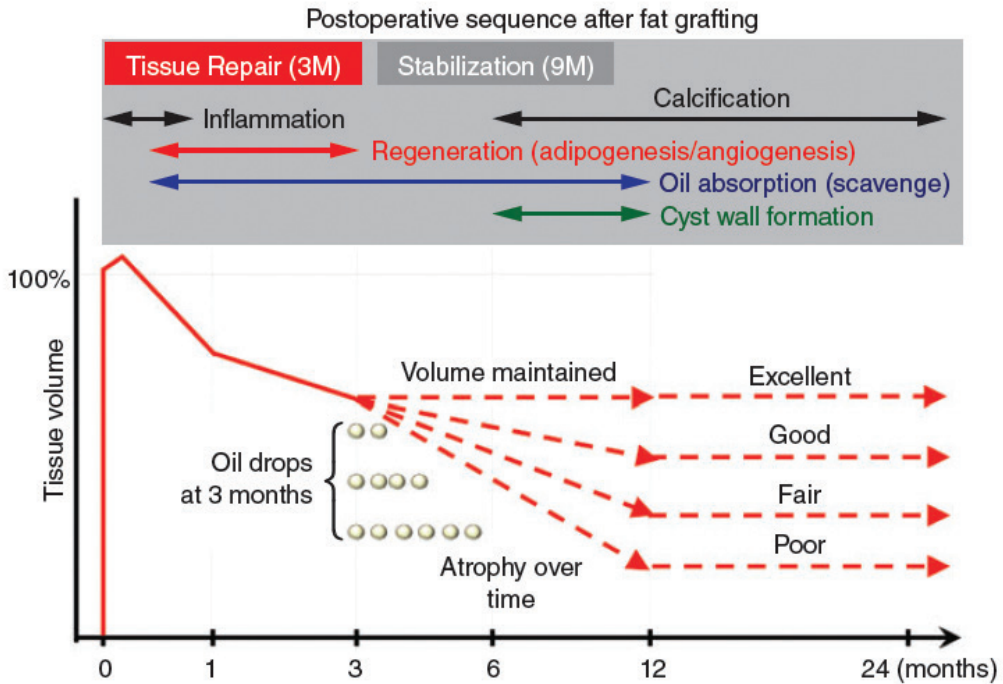


Fig 1.4-18 : Séquence postopératoire après le TGA (Yoshimura) (41)

Toujours selon cette théorie, l'adipogenèse va être activée par les ADSC après la mort adipocytaire, pendant la phase de régénération (*tissue repair*) durant les 3 premiers mois, produisant de nouveaux adipocytes. Après 3 mois, l'adipogenèse va être remplacée par la phase de résorption où les gouttelettes de triglycérides résultant de la mort cellulaire d'adipocytes vont être phagocytées par les macrophages. Cette phase d'absorption huileuse (*oil absorption*) est lente (plus d'un an). Si le diamètre du kyste huileux est de plus de 10 mm, une enveloppe se formera autour de ce kyste (*Cyst wall formation*). Cette enveloppe se calcifiera à partir de 6 mois (74–76) avec des répercussions au niveau radiologique.

Si le TGA présente de petites gouttelettes huileuses, la résorption sera terminée après 3 mois. Si le TGA présente de plus grosses gouttelettes huileuses, elles seront toujours présentes après 3 mois, et le tissu s'atrophiera entre 3 et 12 mois (fig 1.4-18).

De cette théorie du remplacement du greffon, on peut déduire, que plus le tissu receveur est de mauvaise qualité (par exemple post radiothérapie) avec une vascularisation médiocre, plus petit devrait être la taille des 'spaghettis' de lipofilling. Ceci est illustré par les techniques de TGA sur des seins irradiés avant une mastectomie. Le TGA va induire une néoangiogenèse permettant d'augmenter la vascularisation tissulaire et diminuera la fibrose radio induite.

Dans l'étude de Lesniak *et al.*, une mastectomie est pratiquée 19 semaines après une séance de lipofilling réalisée en nappage chez des patientes ayant bénéficié d'une tumorectomie suivie d'une radiothérapie. Ils ont pu ainsi démontrer une réduction des complications liées à la mastectomie, notamment au niveau cicatrisation post opératoire qui est améliorée permettant, également, une reconstruction par prothèse, même sur un sein radiothérapé (77).

Cependant, la réalité s'avère toutefois plus nuancée : aucune théorie ne permet, à elle seule, d'expliquer entièrement la survie grasseuse. Il est plus vraisemblable que les trois théories coexistent, chacune intervenant dans des proportions variables.

1.4.6. TGA enrichi

Actuellement, les principales limites du transfert grasseux autologue résident dans l'ampleur de la résorption volumique, difficile à anticiper et généralement comprise entre 30 % et 70 %. La qualité de cette résorption variable entraîne des séances de TGA répétées pour atteindre le volume souhaité.

Cette résorption est multifactorielle, dépendant des techniques de prélèvement et de purification ainsi que de la qualité du site receveur (78,79). De nombreuses études sont réalisées sur l'enrichissement du TGA par différentes techniques pour augmenter la survie grasseuse du TGA (80).

Ces techniques comprennent principalement :

- l'enrichissement par PRP (Platelet-Rich Plasma) activé
- l'enrichissement par SVF (Stromal Vascular Fraction)
- l'enrichissement par ADCS

1.4.6.1. Enrichissement du TGA par PRP

Le **Plasma Riche en Plaquette** (PRP) est basé sur la dégranulation des plaquettes sanguines. Les plaquettes sont des éléments sanguins anucléés, venant de la fragmentation des mégacaryocytes (fig 1.4-19).

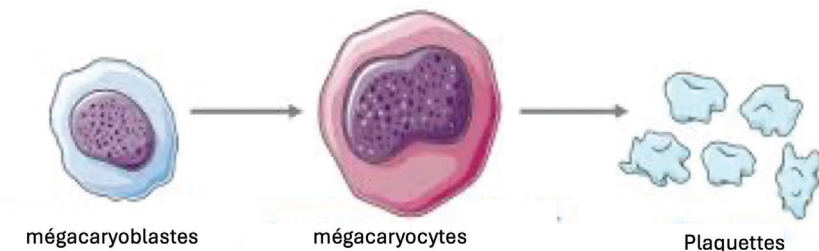


Fig 1.4-19 : lignée mégacaryocytaire : formation des plaquettes par fragmentation des mégacaryocytes (www.tila.im)

Les plaquettes sont présentes en nombre (150 à 400 000 par μL) et sont inactives en condition normale. Elles s'activeront au niveau d'une lésion de l'endothélium vasculaire,

déclenchant la cascade de coagulation. Par leur activation, elles se dégranuleront libérant des facteurs de croissance dont notamment le PDGF (platelet-derived growth factor), le TGF- β (transforming growth factor bêta), l'IGF (insuline like growth factor), le VEGF (vascular endothelium growth factor) et l'EGF (epidermal growth factor) (fig1.4-20).

Ces facteurs de croissance vont déclencher par liaison cellulaire via des récepteurs membranaires, l'hémostase, l'angiogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaire ainsi que la formation de nouvelles matrices extracellulaires (81).

Le PRP est préparé par la centrifugation d'un prélèvement sanguin du patient, permettant de séparer et concentrer les plaquettes dans la phase plasmatique sanguine. La sécrétion de facteurs de croissance venant des α -granules commence 10 min après l'injection de PRP et 95% sont libérés dans l'heure (82).

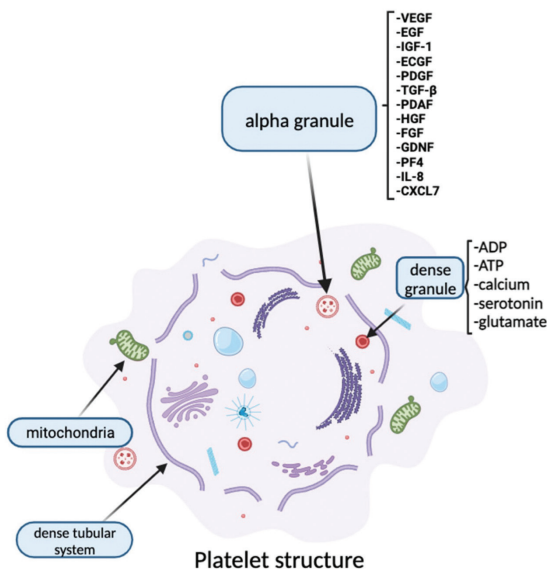


Fig. 1.4-20 : Structure histologique d'une plaquette (82)

Certains facteurs comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens et le tabagisme peuvent réduire la dégranulation plaquettaire. Les anti-inflammatoires de type COX1 et COX2 inhibent la cyclooxygénase responsable de la synthèse des prostaglandines et de thromboxane.

Le thromboxane A2 est une molécule essentielle pour l'agrégation plaquettaire. Si la production est diminuée, cela influencera négativement la dégranulation plaquettaire et par conséquent la libération de facteurs de croissance.

La première utilisation du PRP remonte à 1970 avec son utilisation chez les patients atteints de thrombocytémie. Son utilisation a ensuite été plus large à partir de 1990, notamment en dentisterie et chirurgie maxillofaciale (83). En chirurgie plastique, le PRP a été décrit spécialement pour la cicatrisation, les greffes osseuses et le TGA (84). Actuellement, le PRP est utilisé largement en orthopédie, dentisterie, médecine esthétique et notamment dans le traitement de l'alopécie (85).

Selon les travaux de Modaressi, l'association du PRP au TGA permettrait d'accroître la survie du greffon adipeux grâce à un apport complémentaire de facteurs de croissance, délivrés non seulement par le site receveur mais aussi par le PRP lui-même. Le PRP associé au TGA libère les facteurs de croissance et stimule l'angiogenèse ainsi que la différenciation et la prolifération tissulaire (81).

Nakamura *et al.* (85), ont étudié les effets du PRP avec du TGA chez le rat et ont démontré une moindre résorption du TGA si on lui associait du PRP (86).

Cette association a été validée en clinique humaine, notamment pour des transferts graisseux au niveau de la face, c'est-à-dire pour de petits volumes. La proportion adéquate de PRP/TGA est de 20% / 80%.

Cette association PRP/TGA permet d'augmenter la survie graisseuse, de diminuer les ecchymoses post opératoires ainsi que l'inflammation et de rendre l'injection TGA plus fluide (81).

Malheureusement, dans la chirurgie de sein, il est difficilement possible d'atteindre cette proportion 20/80. Cette technique de TGA enrichi avec du PRP, semble uniquement efficace pour des petits volumes (87).

1.4.6.2. TGA enrichi avec la SVF

Un autre moyen d'enrichir le TGA est d'y associer la **Fraction Vasculaire Stromale** (SVF, en anglais). Les cellules présente dans la SVF sont hétérogènes : ADSCs, cellules endothéliales, fibroblastes, péricytes et cellules immunitaires. Ces cellules jouent un rôle crucial dans la survie graisseuse du TGA (88,89).

Cette technique est appelée CAL (Cell-Assisted Lipotransfer), par l'association de cellules de SVF dans le TGA, et a été décrite en 2006 par Matsumoto (90).

Luan *et al.* (91) ont démontré l'efficacité du CAL sur les scalps irradiés de rat en terme de survie graisseuse mais aussi au niveau histologique (moins de fibrose, meilleure vascularisation) par rapport au TGA seul.

Wufuer *et al.* (92) ont réalisé une étude multicentrique sur l'enrichissement du TGA avec des cellules de SFV isolées par système PIOGEN-I (système automatisé en circuit fermé) après centrifugation de type Coleman (3 min à 3000 rpm) et élimination du surnageant et sous-nageant. Le mélange CAL est injecté au niveau facial avec un volume total moyen de 44,5 ml. L'évaluation de la survie graisseuse est effectuée par IRM. Ils montrent une augmentation de 10% de la survie graisseuse à 4 mois par rapport au groupe contrôle (respectivement 71,27% et 61,98%). Ces résultats sont identiques dans l'étude de Yin *et al.* (93). Cependant la durée de l'isolement du SVF augmente le temps opératoire total de 40% (fig 1.4-21).

Le CAL semble efficace mais uniquement pour les petits volumes de TGA utilisés dans la chirurgie faciale. En effet, la quantité efficace de cellules de la SVF à extraire du tissu adipeux est telle qu'il est nécessaire d'aspirer environ deux fois plus de tissu, pour un effet qui reste très limité. C'est donc une technique qui n'est pas du tout adaptée, actuellement, pour les plus grands volumes utilisés dans la chirurgie de reconstruction mammaire.

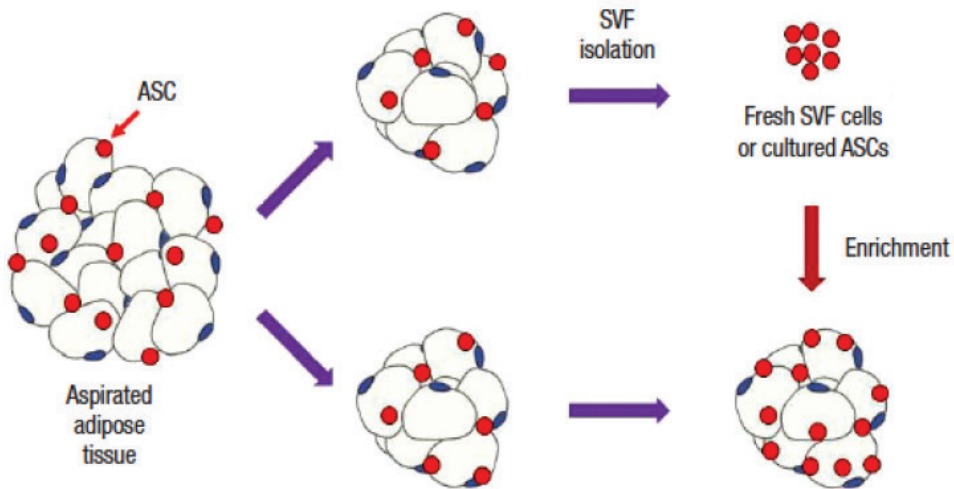


Fig. 1.4-21 : Illustration schématique du CAL (Cell-Assisted Lipotransfert) soit par addition de la SVF ou soit par ADCSs (94).

1.4.6.3. TGA enrichi avec des ADCS

Les ADCS en plus de leur potentiel de différenciation (voir 1.4.4) sécrètent un nombre élevé de facteurs de croissance dont l'epidermal growth factor (EGF), le vascular endothelial growth factor (VEGF), le basic fibroblast growth factor (bFGF), le keratinocyte growth factor (KGF), le platelet-derived growth factor (PDGF), l'hépatocyte growth factor (HGF) et le transforming growth factor beta (TGF- β) (95).

En plus des facteurs de croissance, les ADCSs libèrent des cytokines stimulant les granulocytes et macrophages ainsi que des interleukines (96).

L'isolement des ADCSs s'effectue typiquement avec une digestion enzymatique du tissu adipeux par collagénase suivie d'une centrifugation pour séparer les adipocytes matures des autres cellules, la SVF. Les ADCSs constituent 2% de la SVF (97). Ces ADCSs doivent être mises en culture pour augmenter leur nombre. (voir fig 1.4-22)

Il existe des méthodes non-enzymatiques (sans collagénase) pour isoler les ADCSs, plus simples et plus rapides. Ces méthodes utilisent la filtration, centrifugation et une agitation mécanique. Mais ces méthodes non-enzymatiques sont insuffisantes pour libérer efficacement les ADCSs de leur niche périvasculaire (95).

Ce faible rendement cellulaire constitue une limite majeure pour l'utilisation d'ADCSs (98).

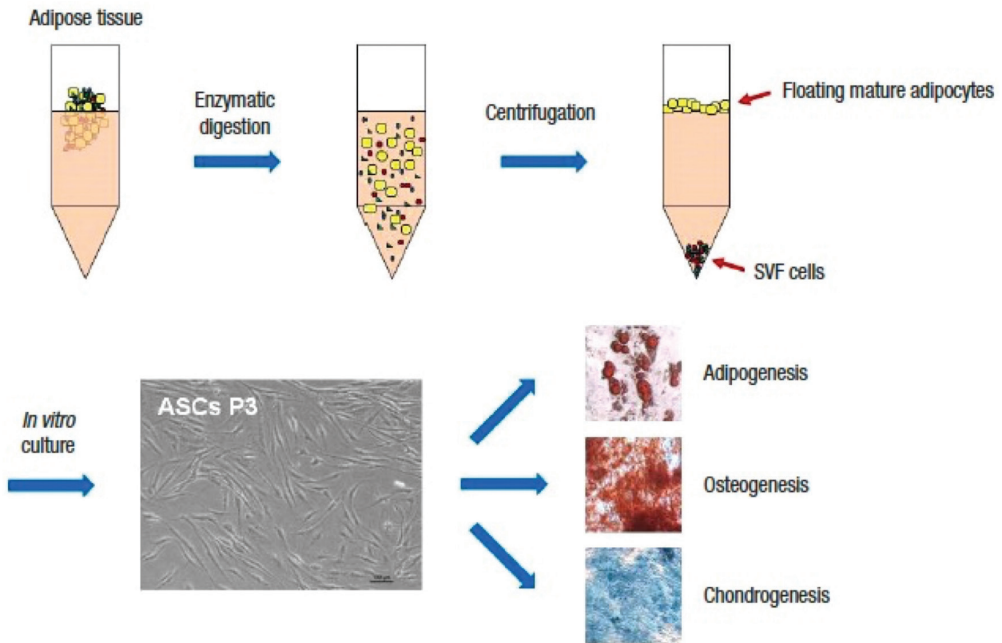


Fig. 1.4-22 : isolement des ADCs, par digestion enzymatique puis centrifugation et la SVF est mise en culture (94)

L'enrichissement du TGA par des ADCs en chirurgie mammaire, impliquant des volumes bien plus importants que ceux utilisés pour le visage, n'est actuellement pas envisageable en raison de la difficulté à obtenir une quantité suffisante de ces cellules souches.

1.5 Le Transfert de Graisse Autologue, une technique incontournable dans la reconstruction mammaire

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme (25,8% de l'ensemble des cancers féminins en 2020), touchant 1 femme sur 8 en Belgique.

Même après rémission, les femmes ayant subi une mastectomie ou une chirurgie conservatrice du sein (BCT) présentent souvent une altération de leur bien-être mental, social et sexuel (99,100). La reconstruction mammaire constitue une étape thérapeutique majeure pour atténuer ces effets, et son impact positif sur la santé mentale des patientes ayant choisi cette intervention est bien documenté (101,102).

Actuellement, entre 25 % et 50 % des femmes opérées d'un cancer du sein optent pour une reconstruction mammaire, soulignant l'importance d'une évaluation rigoureuse et d'une optimisation continue des techniques disponibles afin de garantir les meilleurs résultats cliniques.

Les approches les plus courantes dans les reconstructions mammaires consistent en l'utilisation de prothèses ou de lambeaux, tandis que le TGA est principalement utilisé comme traitement complémentaire pour corriger des défauts ou asymétries.

Plus récemment, la reconstruction mammaire par TGA exclusif ou hybride (avec un implant de taille réduit) (fig 1.5-1) permet de reconstruire le sein mastectomisé à l'aide d'un expandeur qui est progressivement dégonflé au fur et à mesure des séances de lipofilling (103,104).

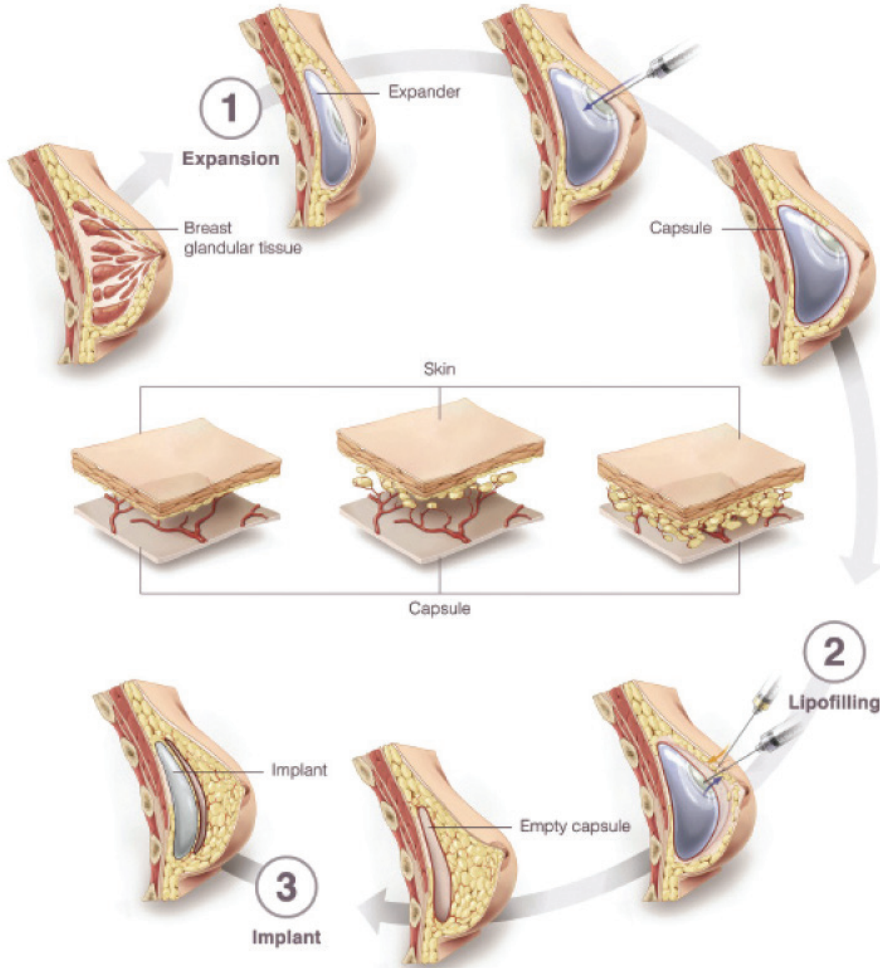


Fig 1.5-1 : Reverse expansion dans une reconstruction hybride du sein (Stillaert) (103)

Le TGA est devenu, au fil du temps, une technique centrale dans la reconstruction mammaire. De nombreuses recherches sont actuellement en cours sur l'utilisation de matrices 3D (scaffold) résorbables avec injection de TGA pour coloniser cette matrice, et de ce fait, reconstruire complètement un sein grâce à du tissu autologue sans lambeaux (DIEP ou grand dorsal).

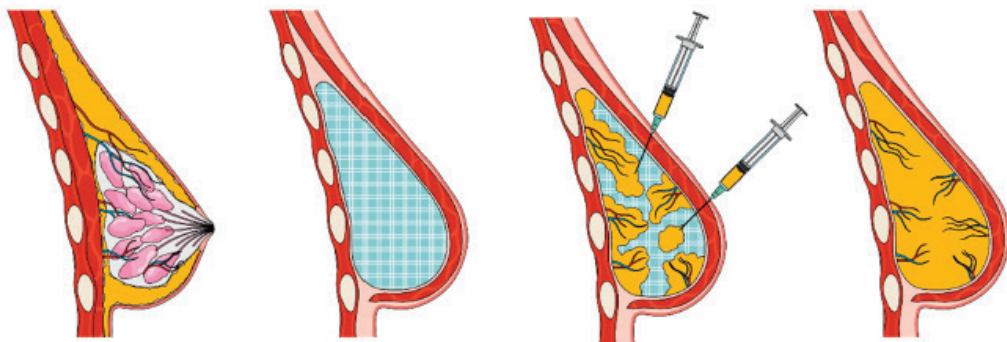


Fig 1.5-2 : concept de reconstruction mammaire avec matrice et TGA (Cheng et al.) (105)

Ces matrices (polycaprolactone, polydioxanone, collagène, ...) sont résorbables avec une excellente biocompatibilité et servent d'expandeur temporaire, permettant avec la réalisation d'un TGA d'obtenir une régénération tissulaire. Dans le principe, le TGA coloniserait la matrice, et les ADCS pourraient se différencier en adipocytes matures avec une néoangiogenèse qui pourrait assurer une reconstruction stable dans le temps (105). De nombreuses recherches sont en cours sur ce sujet.

1.5.1 Sécurité oncologique du TGA

L'utilisation du lipofilling dans un contexte oncologique mammaire soulève la question de son innocuité vis-à-vis d'un risque potentiel de récurrence néoplasique.

Plusieurs études *in vitro* et sur modèle animal ont suggéré le potentiel tumorigène associé au TGA (106,107). Dans la progression tumorale, les cellules adjacentes à la tumeur ne sont pas des éléments structurels passifs, mais bien des acteurs actifs dans la progression tumorale (108,109). La masse tumorale est indéniablement un phénomène complexe, où les différents types cellulaires (notamment les cellules néoplasiques, les fibroblastes, les cellules endothéliales et les cellules immunitaires) interagissent continuellement entre elles pour favoriser la progression tumorale (109,110).

Le stroma tumoral présente de nombreuses similitudes avec des états inflammatoires chroniques ou de cicatrisation, si bien que Flier *et al.* décrivent les tumeurs comme des "plaies qui ne guérissent jamais" (111). L'infiltration de cellules inflammatoires, incluant les lymphocytes T, les neutrophiles et les macrophages, est une caractéristique très fréquente des lésions tumorales mammaires (112,113). Par ailleurs, il est de plus en plus évident que les fibroblastes associés au cancer sont également des éléments importants dans l'homéostasie du cancer du sein (114).

Parmi les nombreux types cellulaires entourant les cellules cancéreuses mammaires, les plus abondants sont ceux qui composent le tissu adipeux mammaire (MAT), principalement les adipocytes matures et les ADCS. Pendant longtemps, le MAT était considéré comme une matrice passive. Plusieurs études ont mis en évidence le rôle important du MAT péri-tumoral dans la progression tumorale, et notamment sa

capacité à contribuer à l'inflammation locale par la sécrétion d'IL-6 (113). L'IL-6 est un acteur central du microenvironnement tumoral du cancer du sein, avec des fonctions multiples allant de la croissance tumorale à la résistance de certains traitements (hormonothérapie ou certaines chimiothérapies).

La question de la sécurité oncologique du TGA dans la reconstruction de sein, aussi bien pour corriger les séquelles de tumorectomies que pour reconstruire les mastectomies, a fait l'objet de larges débats.

Le TGA, ne pourrait-il pas favoriser une récurrence néoplasique ?

En 2011, l'étude de Petit *et al.* (22), étude multicentrique rétrospective basée sur 646 cas de TGA dans un contexte oncologique mammaire, a conclu que le TGA après traitement d'un cancer du sein présente un faible taux de complications et n'altère pas le suivi radiologique après chirurgie conservatrice. Petit *et al.* (115) ont ensuite publié une étude rétrospective de 59 cas de néoplasie intra-épithéliale (in situ) avec TGA et ont constaté une récurrence locorégionale à 5 ans de 18%, contre 3% chez les patientes n'ayant pas subi de TGA. Cette étude doit toutefois être interprétée avec prudence, en raison du nombre très restreint de patientes incluses et du fait qu'elles n'avaient reçu qu'une radiothérapie intra-opératoire, deux facteurs susceptibles d'influencer les résultats.

En 2015, Kronovitz *et al.* (116) ont publié une étude rétrospective de 1024 cas de reconstruction mammaire avec TGA associé, dont 305 dans le cadre d'une mastectomie prophylactique pour une mutation BRCA qu'ils ont comparés à 670 cas de seins cancéreux reconstruits sans lipofilling. Ils n'ont montré aucune augmentation des taux de récurrence locorégionale, de récurrences systémiques ou de nouveaux cancers du sein et confirment la sécurité oncologique du TGA.

La Haute Autorité Française (HAS), dans son rapport en 2015, valide le TGA dans le cadre d'une reconstruction après cancer. Cependant en cas de séquelle de tumorectomie après radiothérapie, un suivi de 2 ans est nécessaire avec un bilan comprenant échographie, mammographie et IRM permettant de s'assurer de l'absence de récurrence locorégionale avant la réalisation d'un TGA.

Depuis, de nombreuses études confirment la sécurité oncologique du TGA et notamment en 2024, Lo Torto *et al.* (25) qui ont réalisé une méta-analyse basée sur 40 études constituant un pool de 7619 patients ayant subi une tumorectomie ou une mastectomie, avec TGA associé. Aucune corrélation entre le TGA et une récurrence n'a été identifiée. Ils concluent que le TGA est une procédure sûre oncologiquement qui peut être utilisée en routine.

Le TGA est donc une technique validée sur le plan de sa sécurité oncologique dans des mains expertes et averties.

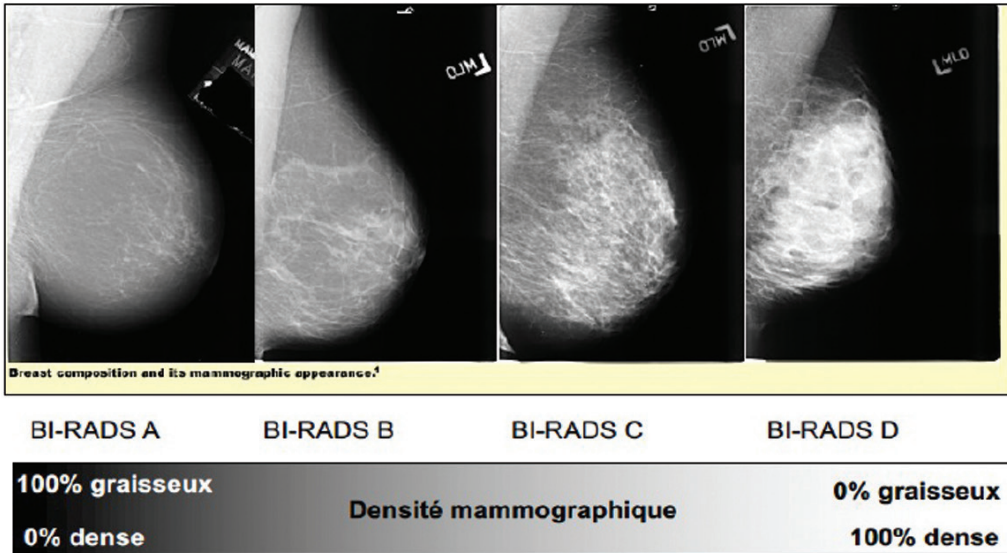
1.5.2. Modifications radiologiques du TGA

Le TGA induit des changements radiologiques au niveau du sein. Les travaux de Yoshimura (75) avec les trois zones du TGA dans la théorie du remplacement du greffon permettent de comprendre les modifications (cfr 1.4.5.3).

1.5.2.1. Densité mammaire

Au niveau mammographique, le tissu graisseux présente un aspect sombre tandis que la glande mammaire, plus dense, se traduit par un aspect plus clair.

Ceci est la base de la classification BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) de l'American College of Radiology (ACR). Cette classification permet de qualifier la densité du parenchyme mammaire sur la mammographie (117).



Densité mammographique: classification BI-RADS*

* Breast Imaging Reporting and Data System

Fig 1.5-3 : classification de la densité mammaire selon l'Américan College of Radiology (ACR)

La mammographie est la traduction radiologique des constituants graisseux et conjonctivo-glandulaires du sein. On distingue 4 catégories sur la base de la densité radiologique (classification BI-RADS) (fig 1.5-4)

- Seins graisseux (BIRADS-A) : plus de 75% de tissus graisseux
- Seins majoritairement graisseux (BIRADS-B) : 50-75% de tissus graisseux
- Seins majoritairement denses (BIRADS-C) : 25-50% de tissus graisseux
- Seins très denses (BIRADS-D) : moins de 25% de tissus graisseux

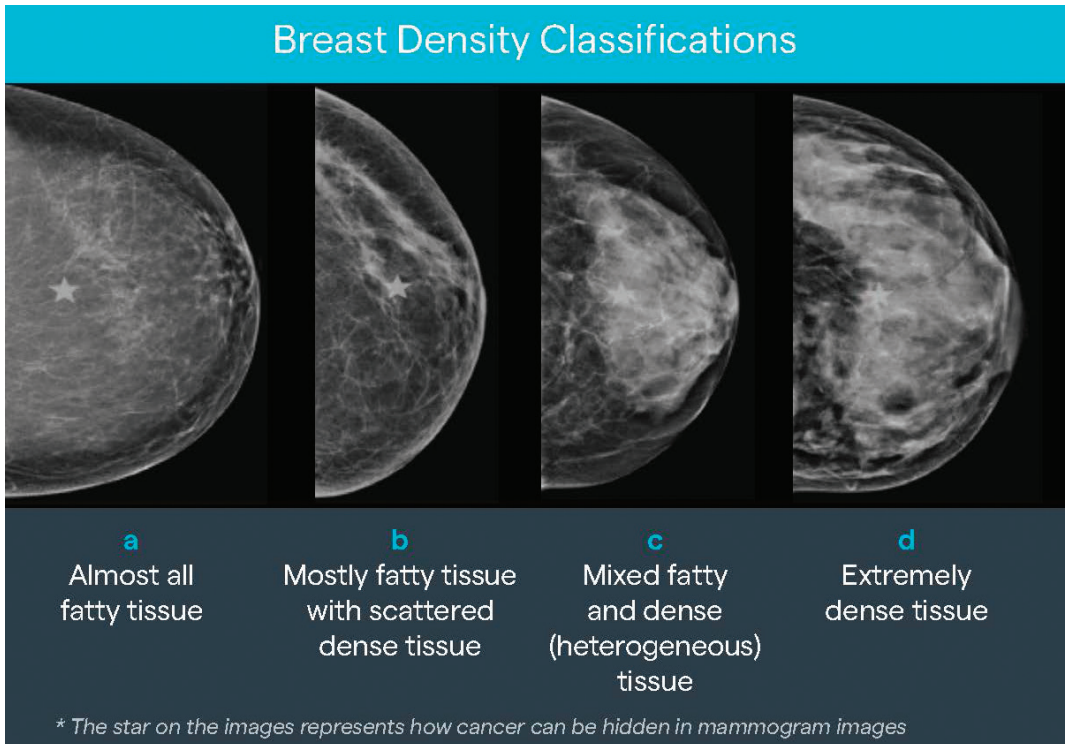
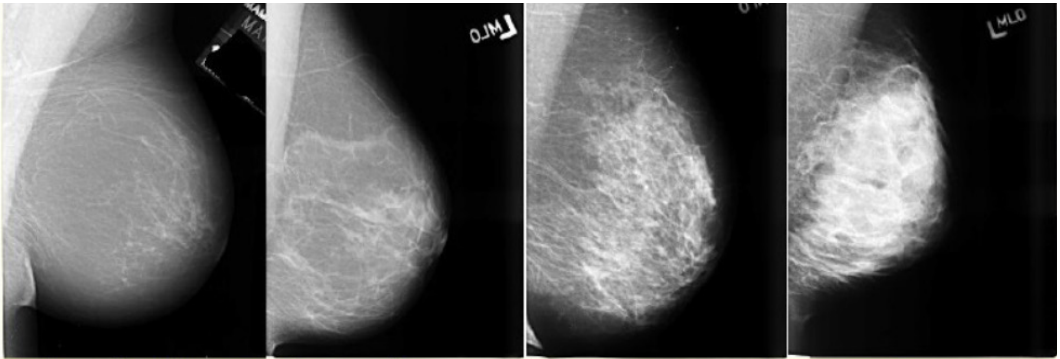


Fig 1.5-4 : exemple de densité mammaire sur mammographie (118)

La densité mammographique constitue un facteur de risque majeur de cancer du sein. Plus la proportion de tissu conjonctivo-glandulaire est élevée par rapport au tissu adipeux, plus le risque de développer un cancer mammaire augmente. Par ailleurs, une densité mammaire élevée réduit la sensibilité de la mammographie, entraînant une augmentation des faux négatifs, c'est à-dire un risque accru de non-détection d'un cancer du sein (fig 1.5-3).



Breast composition and its mammographic appearance.¹

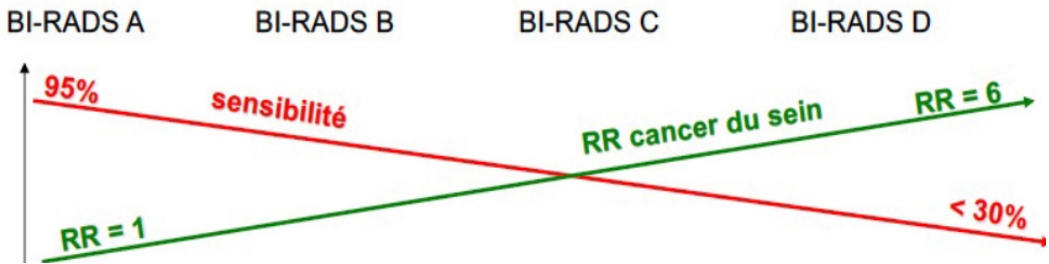


Fig 1.5-5 : Relation entre sensibilité de la mammographie et densité mammaire (BI-RADS) ainsi que risque relatif de cancer du sein. (cours de sénologie du Pr E.Lifrange)

De ce qui précède, on peut constater que plus le sein est grasseux, plus il est homogène et foncé, plus il est dense, plus le sein sera clair. Dans leur étude, Veber *et al.*, ont montré que le TGA pourrait diminuer la densité mammaire, c'est à dire passer à un stade BI-RADS moins élevé (118) (fig1.5-6).

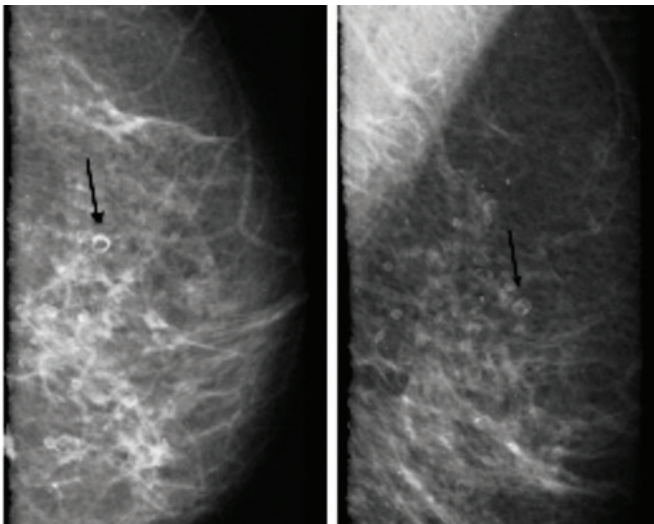
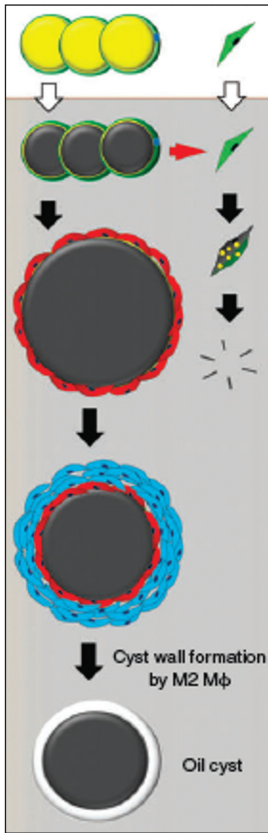


Fig 1.5-6 : Illustration de la diminution de densité mammaire post TGA. (à droite) : mammographie pré TGA de densité BI-RADS C, (à gauche) : mammographie postopératoire à 1 an après TGA de densité BI-RADS B (118)



1.5.2.2. Kystes huileux

Si on se réfère au point 1.4.5.3. sur la théorie du remplacement du greffon et plus particulièrement à la figure 1.4-18 de Yoshimura (41), dans la séquence post-opératoire du TGA, une fois que la phase d'absorption huileuse sera effectuée (9 mois) et si il y a une nécrose importante des adipocytes dans certaines zones de lipofilling, des kystes huileux apparaîtront à partir de 3 mois post TGA. Si la taille de ceux-ci est de plus d'1 cm, ils resteront en place et seront entourés d'une enveloppe et représenteront une 'bulle de savon'.

Largo *et al.* (119) ont publié une méta-analyse regroupant un pool de 1453 patientes avec TGA. Des changements radiographiques post-TGA (mammo, IRM et échographie) sont présent dans 18% des cas. Les kystes huileux après 1 an, sont présent dans 11% des cas. Le TGA n'interfère pas avec le dépistage de cancer du sein.

Ces kystes huileux peuvent faire l'objet de ponction s'ils engendrent une gêne chez la patiente.

Fig 1.5-7 : Zone de nécrose dans la théorie du remplacement du greffon par Eto *et al.* (73)

1.5.2.3. Calcifications

Les calcifications apparaissent après 6 mois au niveau de l'enveloppe des kystes huileux qui se calcifie. (74-76). Elles sont détectées sur la mammographie, et présentes dans 6 à 17% des cas selon les séries (22,26,116).

En mammographie, deux principaux signes radiologiques sont observés : les opacités et les microcalcifications. Les opacités se caractérisent par une augmentation de densité, dont l'évaluation repose sur l'aspect des contours (réguliers ou irréguliers) ainsi que sur la texture de leur contenu interne (homogène ou hétérogène).

Une **opacité** à contours réguliers et à densité homogène est généralement considérée comme bénigne, tandis qu'une opacité à contours irréguliers et à structure hétérogène est suspecte de malignité.

Les **microcalcifications**, quant à elles, sont évaluées selon leur régularité, leur taille, leur morphologie et l'aspect géométrique de leurs contours, qu'ils soient anguleux ou arrondis (Fig 1.5-8). Des calcifications arrondies, homogènes et bien limitées sont en faveur d'une lésion bénigne, alors que des calcifications de forme anguleuse ou irrégulière, hétérogènes et mal délimitées constituent des critères radiologiques évocateurs de malignité.

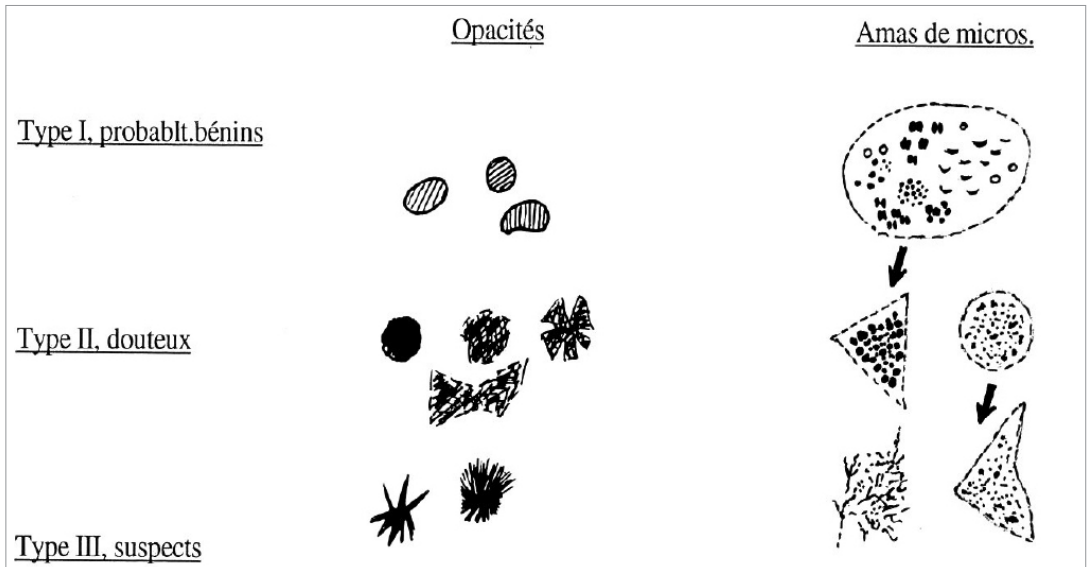


Fig 1.5-8 : Illustration des images mammographiques élémentaires (opacités et microcalcifications) (cours de sénologie du Pr E. Lifrange)

Un radiologue aguerri aux techniques de TGA, fera aisément la différence entre une calcification post-TGA et une suspicion de cancer du sein (118) (fig1.5-9 et fig 1.5-10).

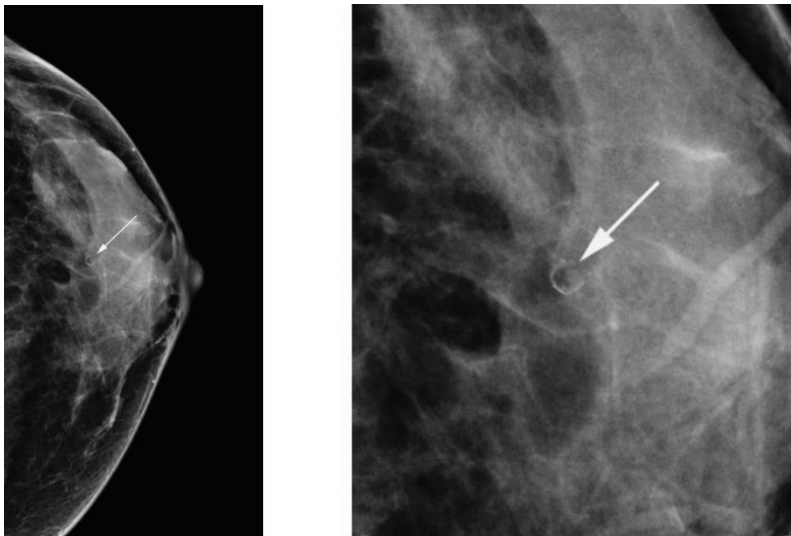


Fig 1.5-9 : calcifications classiques après TGA (120) de type bulles de savon

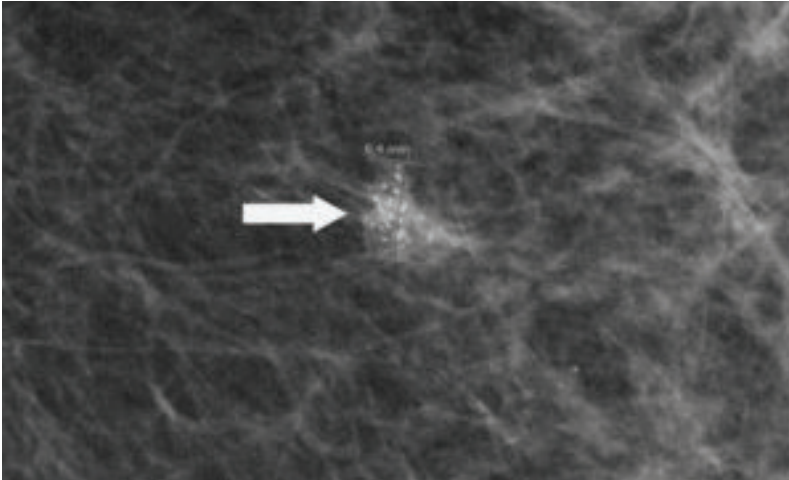


Fig 1.5-10 : microcalcifications 'douteuses' lors d'une mammographie de dépistage

Les lésions suspectes seront biopsiées pour avoir une histologie.

1.5.2.4. Cytostéatonécrose

Il s'agit d'une nécrose graisseuse résultant d'une inflammation stérile, consécutive à une saponification aseptique des triglycérides contenus dans les adipocytes lysés, par des lipases sanguines et tissulaires (121–123).

Sur le plan histologique, la zone de nécrose présente une accumulation de fibroblastes, cellules géantes et de macrophages contenant des lipides (124).

Berg *et al.* (125) ont subdivisé la nécrose graisseuse en trois stades :

1. **Stade précoce** : où les fragments d'adipocytes sont visibles
2. **Stade intermédiaire** : où les globules rouges et macrophages infiltrent la nécrose
3. **Stade tardif** : où il y a des cellules géantes multi-loculées, de l'hémosidérine et des calcifications.

Le diagnostic pourra se faire sur une mammographie, une échographie ou IRM (fig 1.5-11 et fig 1.5-12).

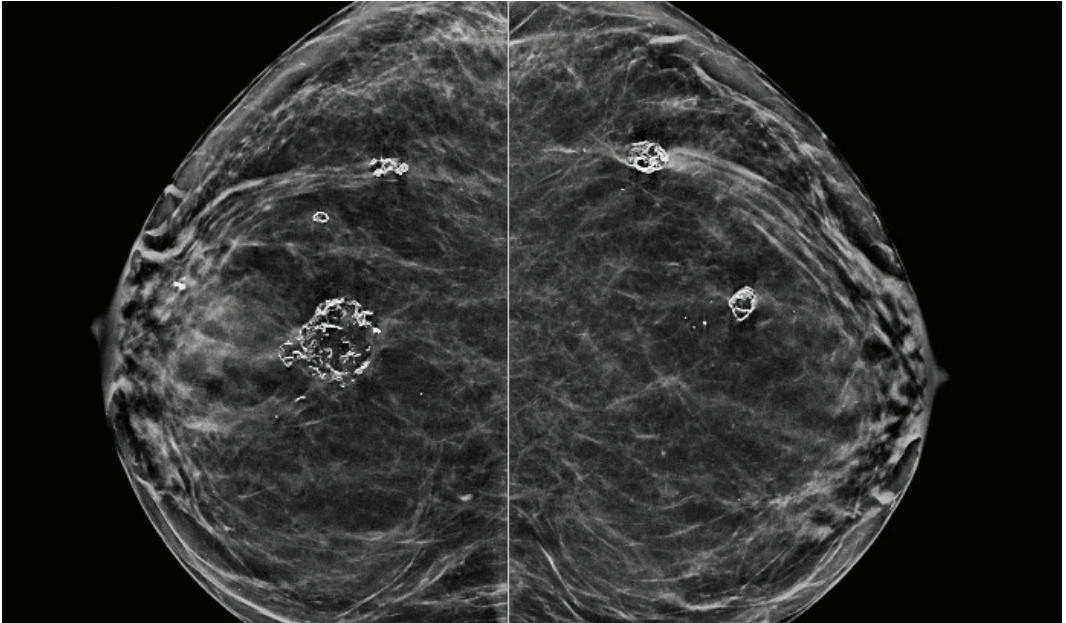


Fig 1.5-11 : kyste de cytotéatonécrose après TGA (www.mdsearchlight.com)



Fig 1.5-12 : Aspect échographique d'une cytotéatonécrose avec une composante liquide huileuse et solide

1.5.3. Aspect technique du TGA

La technique chirurgicale du TGA se distingue nettement de la lipoaspiration, geste habituel du chirurgien plasticien. Alors que la lipoaspiration consiste à réduire uniformément l'épaisseur du pannicule adipeux par destruction des unités adipocytaires, entraînant secondairement une rétraction cutanée via la cicatrisation, le TGA exige une approche plus fine. Le chirurgien doit y déposer des 'spaghettis' graisseux d'environ 2 mm de diamètre, disposés en multiples plans, afin d'assurer une répartition homogène du greffon.

L'expérience du chirurgien en TGA est importante pour réduire les complications de kystes huileux, microcalcifications ou cytotéatonécroses (126) (fig 1.5-13).

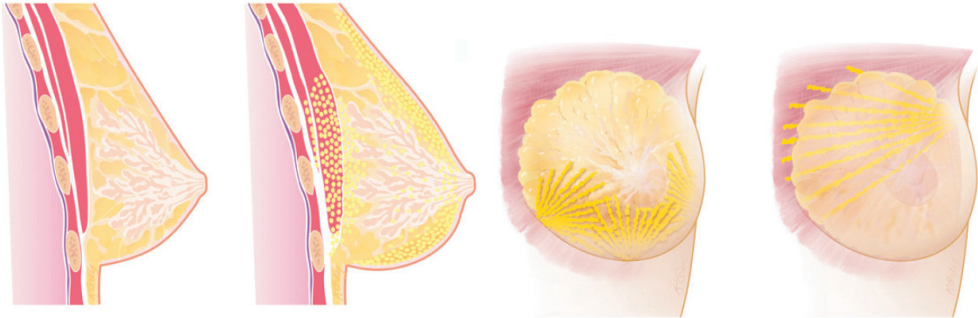


Fig 1.5-13 : TGA déposé sous forme de spaghettis dans tous les plans. Coleman (41)

Il est fondamental, lors de la réalisation d'un TGA, de veiller à ce que les 'spaghettis' graisseux injectés ne se croisent pas et ne se superposent pas. En effet, lorsque plusieurs dépôts se regroupent en un volume trop important, la surface de contact entre le TGA transplanté et le tissu receveur vascularisé devient insuffisante. Cette situation compromet la diffusion des nutriments et de l'oxygène vers le centre du greffon, entraînant alors une ischémie locale et, par conséquent, une nécrose centrale.

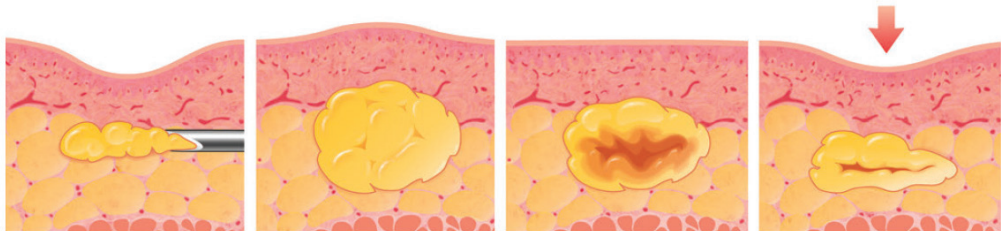


Fig 1.5-14 : injection de TGA sous forme de masse graisseuse, il y aura une nécrose centrale et une diminution du volume. Coleman (41)

Cette nécrose graisseuse n'est pas seulement un échec biologique du transfert mais elle peut également avoir des répercussions cliniques et radiologiques significatives. Sur le plan clinique, elle peut se manifester par l'apparition de nodules indurés, de zones douloureuses ou de calcifications palpables. Sur le plan radiologique, elle peut être source de confusion diagnostique, notamment en imagerie mammaire avec des radiologues peu aguerris, où les zones de nécrose et de calcification peuvent compliquer le suivi sénologique, nécessitant des examens complémentaires, voire des biopsies inutiles.

Ainsi, le respect d'une injection en spaghettis fins, parallèles et bien distribués, sans recouvrement excessif, est indispensable pour optimiser la survie du greffon, limiter les complications locales et assurer une interprétation radiologique fiable.

1.6. Objectifs et méthodologie de notre travail

Le TGA occupe aujourd'hui une place essentielle dans l'arsenal thérapeutique du chirurgien plasticien, notamment en reconstruction mammaire.

Cependant, malgré son large éventail d'applications, les techniques décrites dans la littérature présentent une grande hétérogénéité, tant sur le plan des protocoles de purification que des résultats obtenus. Le taux de survie du tissu adipeux greffé demeure particulièrement variable, oscillant entre 30 % et 80 % selon les méthodes utilisées. (18,46,127–129). Cette variabilité compromet la prévisibilité des résultats cliniques, générant des déceptions chez les patientes comme pour les chirurgiens.

Notre travail de recherche s'attache à identifier, valider et intégrer les paramètres critiques permettant d'optimiser la reproductibilité, d'augmenter la survie cellulaire et la sécurité du TGA. Il s'articule à la fois sur une analyse approfondie de la littérature scientifique et sur des investigations expérimentales.

Dans un premier temps, seront présentés les résultats de notre étude clinique « *Refined method of lipofilling following DIEP breast reconstruction: a 3D analysis of graft survival* » (130), qui a permis de valider les paramètres essentiels liés à la purification du tissu adipeux qui déterminent la viabilité du TGA.

Réalisée en 2015, cette étude a suscité de nombreuses réflexions, conduisant en 2019 au lancement d'un projet collaboratif franco-belge réunissant trois expertises complémentaires : un biologiste cellulaire spécialisé dans le tissu adipeux (Régis Roche), un chirurgien plasticien expérimenté dans le transfert de graisse autologue (Xavier Nélissen) et un ingénieur en dispositifs médicaux (François Cabaud).

Cette collaboration a favorisé le développement rapide et structuré d'un nouveau système automatisé de purification du tissu adipeux en vue du TGA. Dès le début de l'année 2020, les premières esquisses de cette technologie innovante ont abouti à la mise en place d'un banc d'essai, permettant d'affiner progressivement le protocole de purification. Ce processus a conduit à la conception d'Adipure®, un dispositif entièrement automatisé fonctionnant en circuit fermé, garantissant une standardisation optimale du geste chirurgical, une réduction des manipulations, ainsi qu'une amélioration globale de la qualité et de la sécurité du lipofilling en chirurgie plastique. Six brevets ont ainsi été déposés sur cette technologie (voir annexe).

Dans un second temps, une étude expérimentale comparative : « *Comparative analysis of a new automatic system and four existing techniques for autologous fat grafting* » (131), est menée afin d'évaluer les performances d'Adipure® face aux techniques de lipofilling déjà existantes, à la fois *in vitro* et *in vivo* sur modèle murin.



2.

PREMIERE ETUDE

2. PREMIERE ETUDE

2.1. Introduction

La première partie de ce travail consiste à valider la survie grasseuse de la technique Macrofill®, basé sur les travaux de Hoareau (112), en termes de rétention volumétrique dans les reconstructions mammaires par DIEP (voir annexes : *'Refined method of lipofilling following DIEP breast reconstruction : 3D analysis of graft survival'*)(130).

La reconstruction mammaire par lambeau perforant de l'artère épigastrique inférieure profonde (DIEP flap) s'est imposée, au cours des deux dernières décennies, comme l'une des techniques de référence en chirurgie reconstructrice. Toutefois, malgré des résultats globaux satisfaisants, des retouches secondaires sont souvent nécessaires pour améliorer la symétrie et restaurer les volumes. La zone supérieure du lambeau DIEP est fréquemment trop volumineuse, ce qui nécessite une réduction par lipoaspiration. À l'inverse, la zone inférieure présente souvent un déficit de projection.

Parmi les différentes options disponibles pour corriger ce manque de volume à la partie inférieure, le TGA représente une solution de choix en raison de son caractère mini-invasif et de ses résultats esthétiques naturels. Néanmoins, cette technique est encore impactée par une importante variabilité du taux de résorption grasseuse, rendant les résultats parfois imprévisibles. Pour améliorer la viabilité des greffons adipeux, plusieurs ajustements techniques ont été proposés : réduction de la pression d'aspiration, usage de canules fines, lavage des tissus gras pour éliminer les éléments délétères (sang, anesthésiques locaux, médiateurs inflammatoires), et centrifugation douce.

Dans ce contexte, Hoareau *et al.* (132) ont décrit un protocole de traitement de la graisse combinant aspiration modérée, lavages successifs et centrifugation douce, démontrant une meilleure viabilité du tissu adipeux dans un modèle murin.

L'évaluation de cette technique en clinique humaine soulève une question méthodologique : comment mesurer la résorption grasseuse et, plus particulièrement, déterminer avec fiabilité le volume mammaire ? Divers procédés ont été décrits, photographiques, radiographiques, optiques, par imagerie en résonance magnétique ou encore échographique chacun présentant ses avantages et ses limites. Dans cette première étude, réalisée en 2015, la photographie 3D VECTRA® (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.) représentait, parmi les outils alors disponibles, la méthode de référence. Sa précision avait été démontrée dans plusieurs travaux (133, 134), ce qui justifiait pleinement son utilisation dans ce contexte scientifique (135,136). Ce système, simple d'emploi et peu contraignant pour la patiente, justifie pleinement son choix dans cette étude.

L'évaluation volumétrique du sein demeure complexe. Bien qu'en apparence simple, la quantification du volume mammaire reste délicate et sujette à des variations significatives selon la technique utilisée.

Hoeffelin *et al.* (137) ont notamment mis en évidence l'existence d'un volume caché situé sous le sein, non mesurable par photographie 3D, entraînant ainsi une sous-estimation du volume mammaire réel. Dans le cadre du TGA, une partie du volume injecté peut

également se répartir dans des zones non accessibles à l'imagerie tridimensionnelle (*missed volume*), ce qui limite la précision de l'évaluation des variations volumétriques pré- et postopératoires. Afin de réduire ce biais, les acquisitions ont été standardisées à 15 jours postopératoires, moment où l'œdème est en grande partie résorbé, permettant ainsi un suivi plus fiable du volume mammaire in situ, c'est-à-dire de la partie effectivement visible (fig. 2.1-1) au cours des semaines suivant l'intervention.

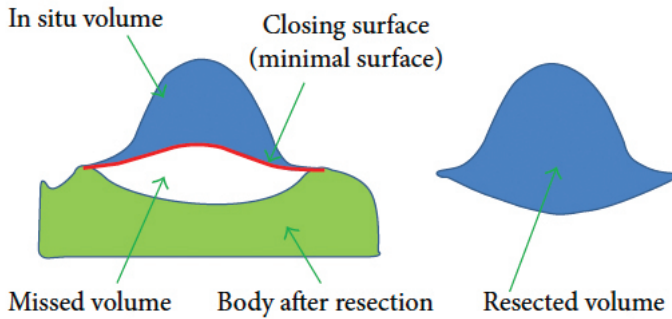


Fig 2.1-1 : 'missed volume' ou volume 'caché' du sein selon Hoeffelin (137)

En 2025, l'émergence de systèmes de photographie portable, plus maniables et dont la précision a été largement validée, combinée à la standardisation des prises de vue par intelligence artificielle (138), ouvre la voie à une amélioration substantielle de la reproductibilité et de la fiabilité des mesures volumétriques. Hoeffelin *et al.* (137), ont mis en évidence un volume caché sous le sein, qui ne peut être mesuré par photographie 3D, sous estimant ainsi le volume mammaire réel du sein.

L'objectif de cette première étude est d'évaluer la technique Macrofill® de traitement de la graisse dans le cadre de retouches post-DIEP flap, à l'aide du système de photographie 3D VECTRA, reconnu pour sa précision dans la mesure volumétrique mammaire (135). Cette méthode d'imagerie permet de suivre de manière non-invasive et reproductible l'évolution du volume mammaire après lipofilling, et constitue donc un outil adapté à l'analyse de la résorption adipeuse dans ce contexte.

2.2 Méthodologie de la première étude

Cette étude uni-centrique au CHC de Liège a été réalisée entre novembre 2013 et février 2014 sur des patientes ayant bénéficié d'une reconstruction mammaire par DIEP et qui nécessitaient une seconde intervention correctrice par TGA.

La purification du tissu grasseux a été réalisée par la technique MACROFILL® (Adipsculpt).

Cette technique est basée sur les travaux de Hoareau *et al.* (132), comprenant deux centrifugations douces et deux lavages.

2.2.1. Patientes

Les patientes incluses dans l'étude avaient toutes bénéficié d'une mastectomie suivie d'une reconstruction mammaire, réalisée soit immédiatement, soit de manière différée. La reconstruction était effectuée par lambeau libre autologue perforant de type DIEP bipédiculé.

Un transfert grasseux autologue (TGA) complémentaire a ensuite été réalisé, quelques mois après le DIEP, afin d'augmenter la projection du pôle inférieur du DIEP.

L'ensemble de la prise en charge chirurgicale a été réalisé au CHC de Liège entre novembre 2013 et février 2014. La purification du tissu grasseux autologue était effectuée selon la technique MACROFILL®, développée à partir des travaux de Horeau *et al.* (132). Cette méthode repose sur deux centrifugations douces successives, entrecoupées de deux étapes de lavage.

Le suivi postopératoire était assuré en consultation à Liège, avec réalisation systématique de photographies tridimensionnelles (Vectra®). La participation des patientes à ce protocole de suivi reposait sur un consentement implicite, matérialisé par leur accord à se présenter aux consultations et à effectuer les examens requis.

2.2.2 La chirurgie

La procédure chirurgicale est réalisée sous anesthésie générale. Le choix des sites de prélèvement est dépendant de la morphologie et des désirs de la patiente. Ils incluent les faces interne et latérale des cuisses ainsi que l'abdomen.

L'infiltration tumescence est composée de 1 litre de NaCl 0,9% avec 1 ampoule de 1ml de lévorénine (1mg/ml).

L'infiltration est réalisée selon le ration 1:1, c'est-à-dire 1 ml d'infiltration pour 1ml de graisse prélevée.

Le prélèvement est réalisé avec des seringues à incrément de 60ml (fournies avec le kit Macrofill®), permettant de limiter la pression négative d'aspiration à 0,45 bars.

Le diamètre des canules de prélèvement est de 3,5mm avec 10 trous de 2,5mm de diamètre.

Après le prélèvement de 45 ml de tissu grasseux, du liquide physiologique (NaCl 0,9%) sera ajouté (15ml) dans la seringue de 60 ml, constituant ainsi le premier lavage.

La seringue est délicatement agitée pour rendre la solution homogène.

Les seringues de 60ml sont placées dans une centrifugeuse spécifique qui permet une première centrifugation à 1000 rpm (100g) pendant 1 seconde permettant d'effectuer une décantation rapide. Le sous-nageant est évacué, et le liquide physiologique est ajouté pour atteindre à nouveau un volume de 60ml. Les seringues sont délicatement agitées réalisant ainsi le deuxième lavage. Une deuxième centrifugation d'une seconde à 100g est réalisée. Le sous-nageant est évacué à nouveau, et le liquide physiologique est ajouté pour atteindre à nouveau un volume de 60ml.

Une troisième et dernière centrifugation à 2000 rpm (400g) pendant 1 minute est alors réalisée.

Le sous-nageant est évacué une dernière fois et la graisse purifiée est transférée dans des seringues de 10ml et injectée en rétro-traçant à l'aide de canule de 2,1 mm.

Chez certaines patientes, une lipoaspiration est réalisée au niveau du pôle supérieur du sein pour réduire l'excès fréquemment observé dans cette zone après reconstruction par DIEP.



Fig 2.2- 1 : image des kits de lipofilling Macrofill (Adipsculpt)

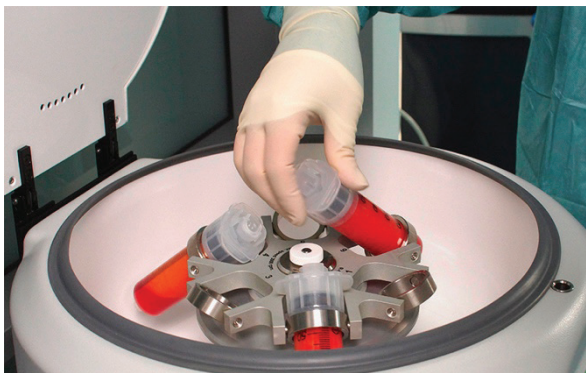


Fig 2.2-2 : Seringues à incrément MACROFILL disposées dans la centrifugeuse

2.2.3 Temps opératoire

Le temps opératoire exprimé en minutes est repris pour chaque procédure dans la feuille d'anesthésie. Il est mesuré entre l'intubation et l'extubation.

2.2.4 Acquisition volumétrique 3D

Chaque patiente incluse dans l'étude, bénéficie en préopératoire d'une acquisition volumétrique avec le système VECTRA® (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.). Cette mesure volumétrique est répétée au 15^{ème} jour post-opératoire, à 1 mois puis sera répétée mensuellement jusqu'à maximum 8 mois post-opératoire.



Fig 2.2-3 : Système VECTRA® de Canfield avec trois caméras permettant de mesurer des volumes

Les acquisitions sont réalisées en position debout, les mains sur les hanches.

Chaque photographie est comparée au niveau volumétrique à l'acquisition préopératoire.

Les variations de volume sont caractérisées localement par des modifications de la projection de tous les pixels entre deux acquisitions photographiques par le software VAM (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.).

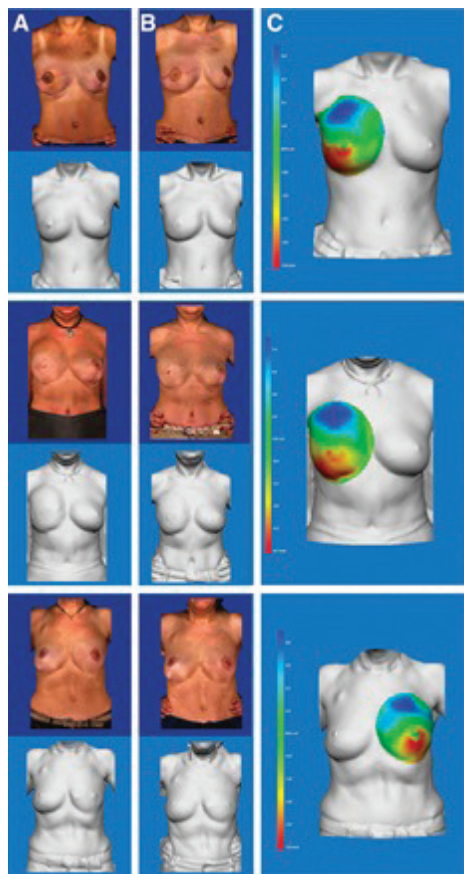


Fig 2.2-4 : Représentation des résultats par analyse 3D photographique sur 3 patientes.

A: photographie préopératoire

B: Photographie à 4 mois après la chirurgie.

C: Modèle 3D des modifications des projections de chaque pixel entre la photographie préopératoire et post opératoire.

Les photographies acquises avec le système Vectra® permettent la reconstruction de modèles numériques tridimensionnels (images grises dans la fig 2.2-4), générés à partir des clichés préopératoires et postopératoires. Le modèle préopératoire est superposé au modèle postopératoire afin d'évaluer précisément les variations morphologiques.

Dans la fig 2.2-4, les différences de projection dans la zone étudiée sont représentées par un code colorimétrique :

- les zones en rouge correspondent à une augmentation de projection entre les modèles pré et postopératoires, traduisant une augmentation de volume ;
- les zones en bleu indiquent une diminution de projection, reflétant une réduction de volume liée à une lipoaspiration préalable.

La correspondance entre les couleurs et les variations de projection (exprimées en millimètres) est fournie par l'échelle d'interprétation adjacente au modèle.

Les patientes seront suivies pendant minimum 4 mois avec ces photographies 3D, permettant de mesurer les variations volumétriques dans le temps et donc la survie graisseuse.

2.2.5 Analyses statistique

Les variables quantitatives présentant une distribution normale ont été décrites par la moyenne et l'écart-type (SD), tandis que celles dont la distribution s'écartait de la normalité ont été résumées par la médiane et l'intervalle interquartile (IQR : P25–P75). Les variables qualitatives ont été exprimées en effectifs absolus et en fréquences relatives (%). La comparaison des moyennes entre deux groupes indépendants a été réalisée à l'aide du test t de Student pour échantillons indépendants lorsque les conditions d'application étaient respectées ; dans le cas contraire, le test non paramétrique de Mann–Whitney a été utilisé. Les proportions ont été comparées par le test du chi carré ou, en présence d'effectifs faibles, par le test exact de Fisher. Le seuil de significativité statistique a été fixé à 5% ($p < 0,05$). Toutes les analyses ont été effectuées sur le nombre maximal d'observations disponibles.

2.3. Résultats

Au total, 42 patientes ont été incluses dans l'étude entre novembre 2013 et février 2014. Parmi elles, seules 23 patientes (soit 54,7 % de la cohorte initiale) ont bénéficié d'une acquisition photographique 3D d'au moins quatre mois postopératoires ou plus. L'analyse présentée ci-après porte exclusivement sur ces 23 patientes.

L'âge moyen de ces 23 patientes sélectionnées est de $51,5 \pm 7,4$ ans et le BMI moyen est de $22,7 \text{ kg/m}_2$ totalisant 25 seins opérés.

Le temps moyen entre le DIEP et le transfert graisseux est de $17 \pm 20,46$ mois.

Le volume moyen de TGA injecté est de $125 \pm 37,5$ ml.

72% des patientes ont bénéficié de radiothérapie sur le sein reconstruit. Les sites donneurs pour le prélèvement de graisse sont les faces internes des cuisses dans 80% des cas, les faces latérales des cuisses dans 67% et l'abdomen inférieur dans 60% des cas.

Le temps moyen opératoire est de $68 \pm 13,27$ minutes. Dans 48% des cas, le TGA est associé à d'autres procédures (correction de cicatrice abdominale 26%, correction du sillon sous-mammaire 17%, reconstruction du mamelon dans 13%, correction de cicatrice dans 4% et explantation de port-à-cath dans 4% des cas). En raison de l'existence d'un volume caché sous le sein décrit à la fig 2.1-1 (137), non accessible à la photographie 3D, l'image obtenue au quinzième jour postopératoire (J15) a été retenue comme référence. Selon la littérature internationale, l'œdème postopératoire est considéré comme quasi totalement résorbé à ce stade (135).

Ainsi, la photographie réalisée à J15 a servi de point de départ pour l'évaluation volumétrique, et a été comparée aux acquisitions postopératoires ultérieures (1 mois, 2 mois, etc.). Cette approche permet d'exclure le volume masqué, qui ne pourrait être quantifié de manière fiable qu'au moyen de techniques d'imagerie plus invasives, telles que l'IRM ou le scanner.

| Patient No. | Laterality | Age at Surgery (y) | Body Mass Index (kg/m ²) | Radiotherapy | Duration between DIEP and Lipofilling (months) | Surgery Duration (min) | Additional Procedures | Injected Volume (mL) | Follow-up (months) | Graft Survival Rate at 4 Months (%) | Graft Survival Rate at Last Follow-up (%) |
|-------------|------------|--------------------|--------------------------------------|--------------|--|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-------------------------------------|---|
| 1 | Left | 51 | 22.2 | Yes | 23.0 | 58 | No | 135 | 4 | 79 | 79 |
| 2 | Left | 66 | 23.7 | Yes | 20.3 | 57 | Yes | 140 | 4 | 86 | 86 |
| 3 | Left | 56 | 21.6 | Yes | 19.3 | 53 | No | 110 | 4 | 23 | 23 |
| 4 | Right | 48 | 20.6 | No | 7.1 | 68 | Yes | 120 | 4 | 77 | 77 |
| 5 | Left | 53 | 23.0 | Yes | 4.6 | 55 | Yes | 120 | 4 | 100 | 100 |
| 6 | Left | 60 | 27.7 | No | 98.1 | 65 | No | 120 | 4 | 69 | 69 |
| 7 | Left | 59 | 23.7 | Yes | 49.5 | 70 | No | 140 | 8 | 86 | 78 |
| 8 | Left | 59 | 20.8 | Yes | 5.7 | 67 | No | 135 | 4 | 80 | 80 |
| 9 | Right | 51 | 21.8 | No | 3.9 | 70 | Yes | 80 | 4 | 83 | 83 |
| 10 | Left | 60 | 20.8 | No | 5.0 | 63 | No | 240 | 8 | 68 | 68 |
| 11 | Right | 45 | 20.3 | Yes | 8.7 | 71 | Yes | 140 | 4 | 60 | 60 |
| 12 | Left | 62 | 20.7 | Yes | 24.2 | 44 | No | 110 | 4 | 67 | 67 |
| 13 | Left | 52 | 21.6 | Yes | 8.3 | 84 | Yes | 110 | 4 | 44 | 44 |
| 14 | Left | 45 | 23.3 | Yes | 12.7 | 84 | Yes | 120 | 4 | 89 | 89 |
| 15 | Right | 37 | 27.3 | Yes | 11.0 | 58 | Yes | 80 | 4 | 85 | 85 |
| 16 | Right | 56 | 21.2 | No | 21.6 | 68 | No | 80 | 5 | 93 | 91 |
| 17 | Bilateral | 49 | 21.6 | Yes | 5.1 | 87 | No | 120/120 | 4 | 69/59 | 69/59 |
| 18 | Right | 43 | 25.5 | No | 5.3 | 82 | Yes | 160 | 8 | 99 | 97 |
| 19 | Bilateral | 46 | 23.7 | Yes | 11.1 | 96 | No | 170/150 | 4 | 50/62 | 50/62 |
| 20 | Right | 52 | 19.9 | Yes | 8.1 | 73 | Yes | 170 | 4 | 86 | 86 |
| 21 | Right | 42 | 25.1 | No | 7.6 | 75 | Yes | 55 | 4 | 58 | 58 |
| 22 | Right | 51 | 29.0 | Yes | 21.4 | 61 | No | 80 | 8 | 81 | 81 |
| 23 | Left | 41 | 17.9 | Yes | 9.7 | 56 | No | 120 | 4 | 58 | 52 |

Tab 2.3-1 : Information sur les patientes sélectionnés (130)

A 15 jours post-opératoires, la projection au niveau du site d'injection augmente d'une moyenne de 9 mm comparé à la situation préopératoire. Quand on compare la photo 3D post opératoire finale pour une moyenne de 5 mois (entre 4-8 mois) avec la photo post opératoire de 15 jours, une augmentation de 70,9% de projection reste présente (moyenne de 6,3 mm de projection à la photographie 3D finale).

Il n'y a pas de différence significative entre les seins irradiés et les seins non-irradiés, soit une p value >0,05.

La figure 2.3-1 montre l'évolution de la projection dans les zones de lipoaspiration et d'injection avec des extrapolations pour les patientes manquant leur rendez-vous postopératoire (24% des rendez-vous).

La majorité de la résorption se produit dans les deux premiers mois post-opératoires comme le montre la fig 2.3-1. A deux mois, projection mesurée est de 77% par rapport à la référence (15j post-op). Après deux mois, la courbe s'infléchit démontrant une stabilisation de la résorption graisseuse à partir de trois mois avec conservation de 72,4% de projection à quatre mois. Au-delà de quatre mois (pour 6 patientes) la moyenne de résorption est de 3% (0 à 8% selon les patientes).

Une lipoaspiration au niveau du pôle supérieur est réalisée chez 48% des patientes, engendrant une réduction de la projection dans ces zones de 5,6 mm avec une variation dans le temps non significative (p value supérieure à 0,05).

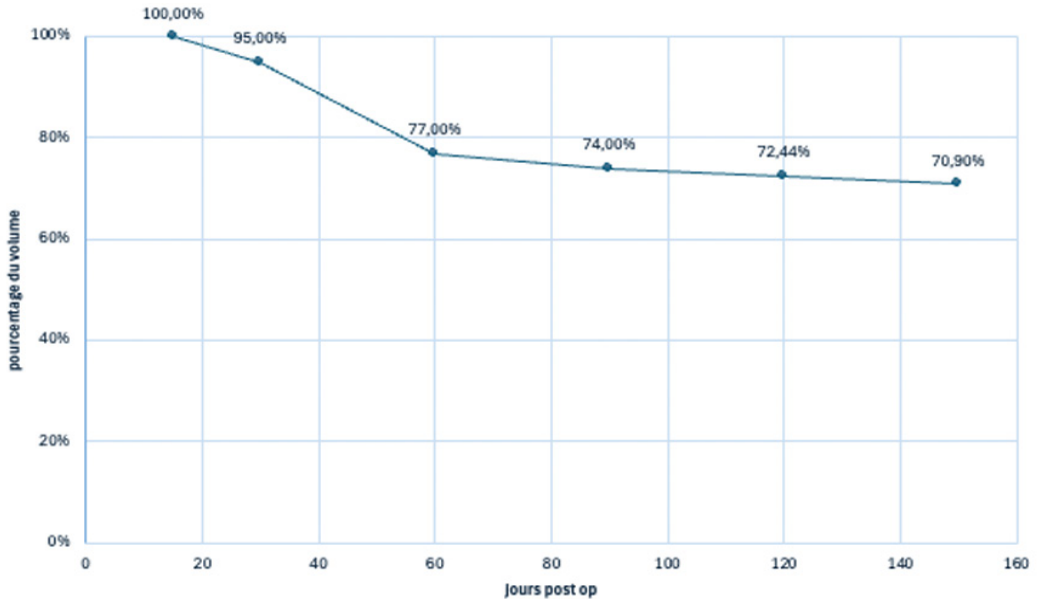


Fig 2.3-1 : Evolution de la survie grasseuse représentée par l'évolution de la projection du sein dans les zones injectées sur une période de quatre mois postopératoire. Le maximum de projection est déterminé sur la photographie postopératoire de 15 jours (130).

2.4. Discussion

Notre étude intitulée *"Refined method of lipofilling following DIEP breast reconstruction: 3D analysis of graft survival"* (130) permet de situer la technique MACROFILL[®], telle que décrite par Hoareau et al. (132), par rapport à la méthode de centrifugation de référence proposée par Coleman. Choi et al. (2013) (135) rapportent en effet une survie volumétrique moyenne de 52 % à cinq mois pour les greffons adipo-cytaires traités selon la technique de Coleman, mesurée par analyse volumétrique Vectra[®].

Dans notre cohorte, la purification selon la méthode MACROFILL[®] aboutit à une survie volumétrique moyenne de 70,9 % à cinq mois, soit une amélioration relative supérieure à 36 % par rapport aux données publiées pour la technique de Coleman.

Notre étude a mis en évidence deux paramètres déterminants pour l'optimisation de la purification du tissu adipeux :

- **La centrifugation douce**, moins traumatique que la méthode initialement décrite par Coleman, permettant de préserver l'intégrité cellulaire des lobules gras-seux.
- **Le lavage**, qui contribue à améliorer la qualité du tissu adipeux utilisé lors du TGA.

Ces deux paramètres ont été validés cliniquement chez des patientes bénéficiant d'une reconstruction mammaire par lambeaux autologues (DIEP).

Afin de mieux comprendre l'importance de ces deux facteurs, il convient de s'appuyer à la fois sur les données de la littérature et sur les principes de la mécanique des fluides.

Dans cette perspective, j'examinerai l'évolution des différentes techniques de purification du tissu adipeux.

2.4.1 Évolution des techniques de purification grasseuse.

Différentes techniques de purification ont été étudiées pour permettre d'isoler les adipocytes. Ces techniques sont la décantation, la centrifugation et la filtration. Revenons sur les principes physiques de ces techniques et de leur évolution.

2.4.1.1. La décantation

La **décantation** est une séparation mécanique qui consiste à laisser reposer un mélange hétérogène afin que les phases qui le composent se séparent naturellement sous l'effet de la gravité, en raison de leurs différences de densité.

- **Principe** : la phase la plus dense (souvent un liquide ou un solide en suspension) se dépose au fond du récipient, tandis que la phase la moins dense reste en surface.
- **Utilisation** : elle est couramment employée pour séparer un liquide clair d'un solide précipité ou de particules en suspension, ou pour séparer deux liquides non-miscibles (ex. eau et huile).
- **Limites** : c'est un procédé lent et peu efficace pour séparer des phases dont les densités sont proches ou lorsque les particules sont très fines et restent longtemps en suspension.

Si on applique la décantation sur un lipoaspirat, celui-ci se décompose en 3 couches distinctes : l'huile, le tissu grasseux, le liquide acellulaire.

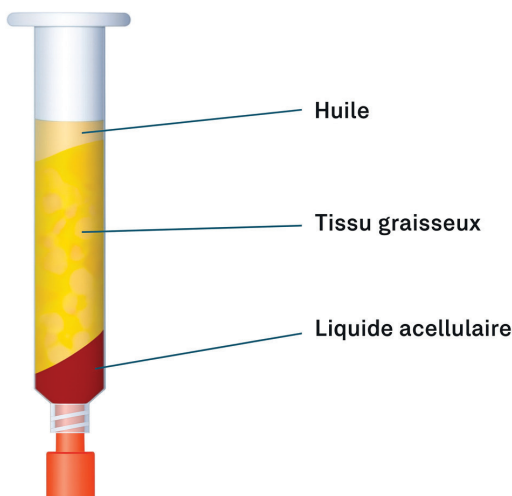


Fig 2.4-1 : schéma de la séparation des phases du TGA (41).

Pour expliquer cette séparation, on utilise la loi de Stokes de la **décantation gravitationnelle** :

$$v = \frac{2}{9} \cdot \frac{r^2(\rho_p - \rho_f)g}{\eta}$$

Avec :

v = vitesse de décantation (m/s)

r = rayon de la particule (m)

ρ_p = densité de la particule (kg/m³)

ρ_f = densité du fluide (kg/m³)

g = accélération gravitationnelle (9,81 m/s²)

η = viscosité dynamique du fluide (Pa·s)

Si on applique la formule de Stokes à une particule de lipofilling de 3mm de diamètre (dépendant des trous de la canule de prélèvement) dans un liquide de type sérum, on aura :

$r = 0,0015$ m (rayon d'une particule de 3 mm)

$\rho_p = 950$ kg/m³ (densité de la graisse)

$\rho_f = 1000$ kg/m³ (densité du plasma)

$g = 9,81$ m/s² (gravité)

$\eta = 0,0015$ Pa·s (viscosité du plasma à 37°C)

Application de la formule :

$$v = (2/9) \times [r^2 \times (\rho_p - \rho_f) \times g] / \eta$$

$$v = (2/9) \times [(0,0015)^2 \times (950 - 1000) \times 9,81] / 0,0015$$

$$v \approx -0,16 \text{ m/s}$$

La vitesse de décantation est de -0,16 m/s pour la particule de graisse.

A titre de comparaison, voici les vitesses de décantation de différentes matières (globules rouges, sable grossier (particule de 1mm de diamètre) et de billes de verre de 2 mm de diamètre).

Vitesses de décantation dans le sérum physiologique

| Matériau (particule) | Taille prise en compte | Densité ρ_p (kg/m ³) | Vitesse de décantation v (m/s) | Comportement |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Graisse (lipofilling) | 3 mm (r = 1,5 mm) | 950 | -0,16 | Ascension ($\rho_p < \rho_f$) |
| Globule rouge (\approx sphère) | 8 μ m (r = 4 μ m) | 1125 | $2,9 \times 10^{-6}$ | Décantation très lente |
| Sable grossier | 1 mm (r = 0,5 mm) | 2650 | 0,60 | Décantation rapide |
| Bille de verre | 2 mm (r = 1,0 mm) | 2500 | 2,18 | Décantation très rapide |

Tab 2.4-1 : comparaison des vitesses de décantation dans le sérum physiologique (graisse, globules rouges, sable et billes de verres).

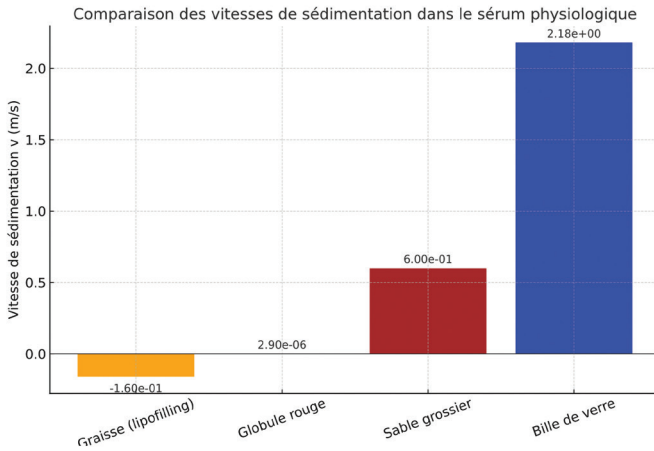


Fig 2.4-2 : Comparaison des vitesses de décantation (graisse, globules rouges, sable et bille de verre)

Le fait que la vitesse soit négative donne l'indication que la particule de graisse va monter par rapport au plasma, car la graisse est moins dense que le plasma.

Il faudra donc plusieurs minutes pour que la décantation s'effectue (15 à 30 min).

Une décantation dans une seringue de 10 ml, présente une petite surface de décantation, même si chaque particule de graisse migre à une vitesse calculée par la loi de Stokes, la vitesse globale de décantation (séparation des phases) dépend de la surface de décantation. Plus la surface horizontale est grande, plus les particules graisseuses peuvent se déplacer simultanément.

Plus la surface de décantation est petite, plus les particules stagnent en se 'bousculant', ralentissant ainsi la séparation.

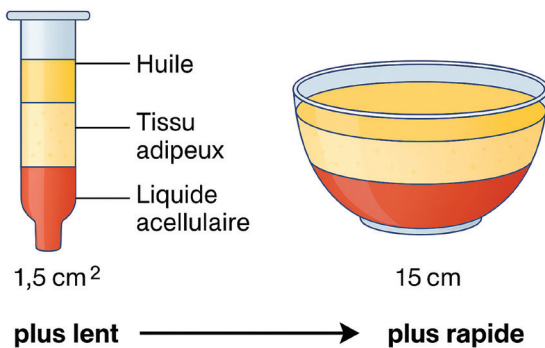


Fig 2.4-3 : différence de vitesse de décantation en fonction de la surface du récipient

Il est donc préférable d'avoir une grande surface de décantation et de réaliser cette décantation dans des récipients de grande taille.

Dans l'étude de Campbell et al. (2025), après une décantation de 40 min, le sous-nageant et le sur-nageant sont évacués, puis le tissu graisseux autologue est centrifugé. Le résultat montre qu'il reste, dans le lipoaspirat décanté, 22,5% de solution aqueuse ainsi que 4% d'huile (139).



Fig 2.4-4 : centrifugation à 3000 rpm pendant 1 m du lipoaspirat recueilli après décantation. 0,4% débris cellulaires, 22,5% solution aqueuse, 73,2% tissu adipeux et 3,9% d'huile (139).

La décantation est une technique simple, nécessitant du temps et une grande surface. La graisse traitée par décantation contient environ 30% de liquide (liquide d'infiltration et huile) qui sera résorbé par l'organisme, une fois le TGA effectué (131).

D'autre part l'oxydation du tissu graisseux par l'air ambiant (grande surface de décantation) réduit la viabilité tissulaire.

Malgré sa simplicité et son faible coût, cette méthode semble la moins adaptée pour une purification efficace du tissu graisseux (131,140) et posera de nombreux problèmes chez les patientes avec une résorption importante et un plus grand nombre de kystes huileux et de cytotéatonecrose.

2.4.1.2. La centrifugation

La centrifugation est une technique de séparation basée sur l'application d'une force centrifuge, qui accélère la sédimentation des particules selon leur densité.

Alors que la décantation repose uniquement sur la gravité ($g = 9,81 \text{ m/s}^2$), la centrifugation applique une force centrifuge plus élevée que la gravité. On parle de force centrifuge ou encore Relative Centrifugal Force (RCF).

La séparation des phases (selon leur densité) sera donc plus rapide que par la décantation simple.

La relation entre la force g (RCF, *Relative Centrifugal Force*) et la vitesse de rotation en tours par minute (RPM) dépend du rayon du rotor (en cm) de la centrifugeuse.

$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \cdot r \cdot N^2$$

Où :

RCF : Force centrifuge relative (en g)

r : Rayon du rotor (en cm, distance entre l'axe et le fond du tube)

N : Vitesse de rotation (en tours par minute, tr/min)

Exemple (centrifugeuse avec rayon de 10 cm à 3000 tr/min) :

$$\mathbf{RCF} = 1.118 \times 10^{-5} \times 10 \times 3000^2 \approx 1006 \text{ g}$$

Cela signifie que les particules subissent une force équivalente à environ 1000 fois la gravité terrestre.

C'est Sydney Coleman qui a décrit en 1997 la purification graisseuse par centrifugation (141) ainsi que le terme de « lipostructure ».

Le prélèvement est effectué par aspiration manuelle avec une seringue de 10 ml et une canule de 3mm de diamètre au niveau de l'abdomen et des faces latérales des cuisses.

La graisse est ensuite centrifugée à 3000 tours par minute pendant 3 minutes, permettant la séparation des différentes phases. La réinjection s'effectue à l'aide de micro canules (entre 0,7mm et 1,2mm de diamètre) au niveau de la face.

Cette technique applique donc une force centrifuge de plus de 1000g pour un rayon de 10 cm.

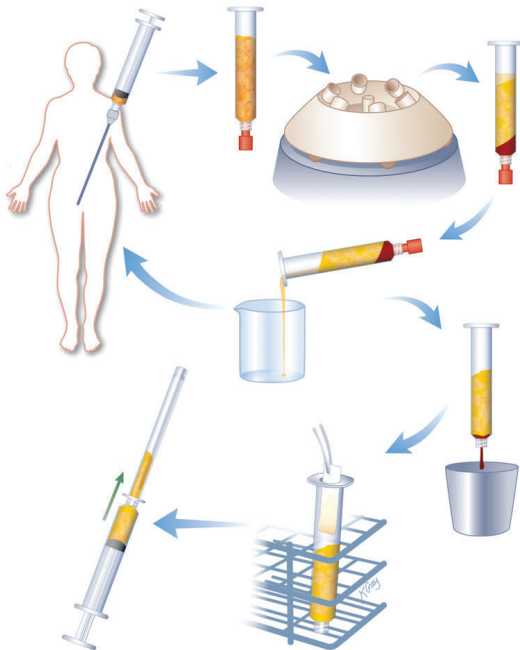


Fig 2.4-5 : technique de purification selon Coleman (centrifugation) (41).

Hoareau *et al.* (132) ont décrit les effets de la centrifugation sur la survie graisseuse aussi bien *in-vitro* qu'*in-vivo*. Dans leur étude, le prélèvement graisseux est effectué par une technique manuelle à l'aide d'une seringue après infiltration tumescence (40 ml lidocaïne 2% + Adréraline 1% dans un litre de lactate Ringer). Le prélèvement est effectué avec une canule de 2mm de diamètre avec un trou unique de 3,4 mm². L'aspiration est effectuée avec une seringue de 10 ml luer-lock avec une légère dépression.

Les seringues sont placées verticalement et maintenues pendant 2 minutes, puis le sous-nageant est éliminé (phase liquide). Une centrifugation à différentes vitesses et pendant des durées différentes est réalisée sur les différents échantillons.

Les seringues contrôles (décantation seule) sont maintenues 2 minutes supplémentaires et le sous nageant est mesuré par rapport à l'ensemble du volume.

De manière attendue, plus la centrifugation est longue et la vitesse élevée, plus l'extraction de liquide est importante.

Ceci est illustré dans le graphique ci-dessous.

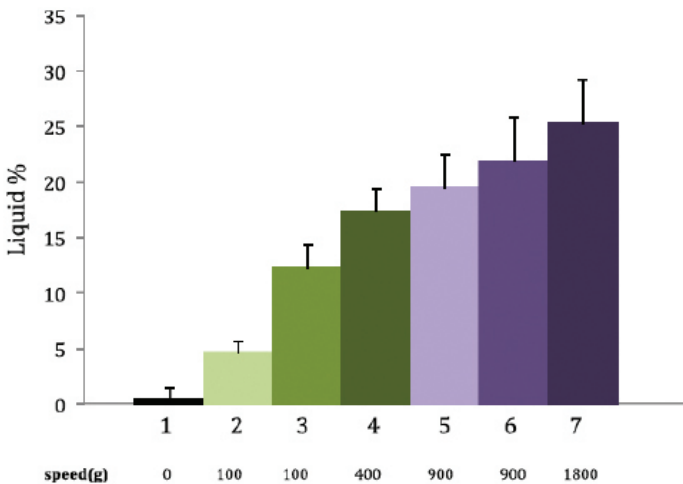


Fig 2.4-6 : extraction de liquide en fonction de la vitesse de centrifugation (132). Après prélèvement, le tissu a été centrifugé selon les protocoles suivants : décantation pendant 2 minutes ; 100 g pendant 1 seconde ; 100 g pendant 1 minute ; 400 g pendant 1 minute ; 900 g pendant 1 minute ; 900 g pendant 3 minutes ; et 1800 g pendant 10 minutes. Le volume initial de tissu a été mesuré avant centrifugation, puis le volume de liquide libéré après centrifugation a été déterminé. Les résultats, illustrés par un graphique, présentent le pourcentage moyen \pm écart-type du volume de liquide obtenu à partir d'un volume initial de tissu adipeux, chez trois patients distincts.

L'extraction de liquide interstitiel par centrifugation est comparée à une décantation de 2 minutes.

On peut extraire plus de 25% de liquide en plus d'une décantation simple avec une centrifugation de 1800g.

La valeur “g” est la force centrifuge relative (RCF : Relative Centrifugal Force). Ce qui signifie que les adipocytes subissent une force centrifuge (vers l’extérieur) 1800 fois plus grande que la gravité terrestre ($g = 9,81 \text{ m/s}^2$) càd une accélération de $17\,658 \text{ m/s}^2$.

Le g est appelé “g-force” mais physiquement c’est une accélération.

La Force centrifuge est calculée en Newtons (exprimé en kg m/s^2) qui est la multiplication de la masse par l’accélération ou $F = m \cdot a = m \cdot \text{RCF}$ (en m/s^2).

Si on centrifuge 10g de tissu adipeux à 1800 g, cela engendrera une force de 176, 58 Newtons. ($F = 0,01 \cdot 17\,658$).

Ce graphique démontre que plus le tissu est centrifugé à une vitesse élevée, plus il est possible d’extraire le liquide interstitiel. Une centrifugation ‘douce’ à 400g pendant 1 min permet d’extraire 17% de liquide comparé à une centrifugation plus importante de 900g qui permet de gagner 3% de liquide en plus et atteindre 20 %.

On peut considérer que la centrifugation ‘totale’ à 1800g pendant 10 min extrait la totalité du liquide interstitiel.

Hoareau *et al.* (132) ont mesuré **l’effet de lyse des adipocytes** sur la quantité d’huile recueillie après différentes centrifugations. Ceci permet d’avoir une idée de la destruction cellulaire adipocytaire *in vitro*. Ils ont mesuré le volume initial avant centrifugation puis le volume d’huile après différentes centrifugations par rapport au volume initial, obtenant ainsi un pourcentage d’huile.

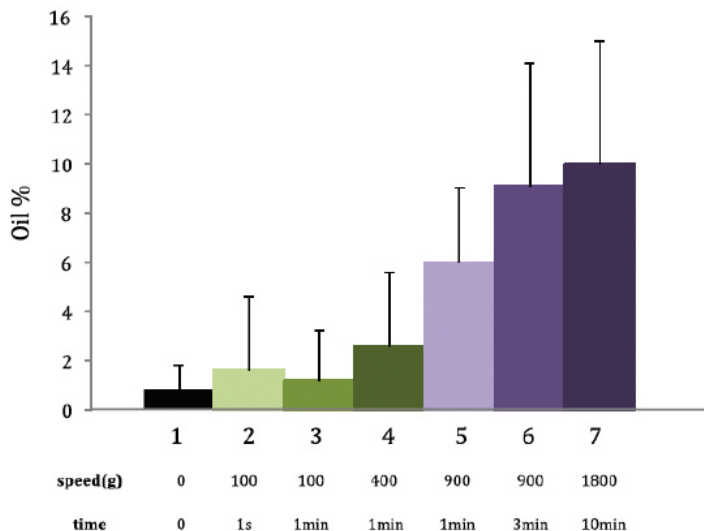


Fig 2.4-7 : pourcentage d’huile (lyse cellulaire) en fonction de la vitesse de centrifugation(132) L’huile libérée par le tissu adipeux après centrifugation a été analysée selon différents protocoles. Après prélèvement, le tissu a été soumis soit à une décantation pendant 2 minutes, soit à une centrifugation à 100 g pendant 1 seconde ou 1 minute, à 400 g pendant 1 minute, à 900 g pendant 1 ou 3 minutes, ou encore à 1800 g pendant 10 minutes. Le volume initial de tissu a été mesuré avant centrifugation, puis le volume d’huile obtenu après centrifugation a été déterminé. Les résultats, présentés sous forme de graphique, indiquent le pourcentage moyen \pm écart-type du volume d’huile libérée à partir d’un volume initial de tissu adipeux, chez trois patients différents.

2. Première étude

Ce graphique démontre bien que plus le tissu est centrifugé (de 100g à 1800g), plus il y aura de l'huile. L'huile provient principalement des adipocytes lysés, démontrant ainsi qu'une centrifugation à partir de 900g est délétère pour le tissu adipeux. Une centrifugation plus douce, jusqu'à 400g ne produit pas plus de 3% d'huile.

Les auteurs (132) ont ensuite injecté des souris immunodéprimées (SCID beige mice) avec le tissu adipeux obtenu par les différentes conditions de centrifugations (conditions 1 à 7).

Les souris ont été sacrifiées 1 mois après leur injection de l'échantillon gras.

Les différents échantillons ont été examinés macroscopiquement.

L'échantillon traité par simple décantation contient macroscopiquement plus d'huile que les autres échantillons qui ont été traités par centrifugation (soft : 400g/ 1min et high : 900g/ 3min).



Fig 2.4-8 : vue macroscopique des greffes adipocytaires après 1 mois. Les annotations 'O' dans les échantillons décantation, repèrent les zones huileuses macroscopiques sous forme de gouttelettes huileuses (132).

Une étude histologique des différents échantillons a été réalisée, dont les résultats sont illustrés dans la fig 2.4-9.

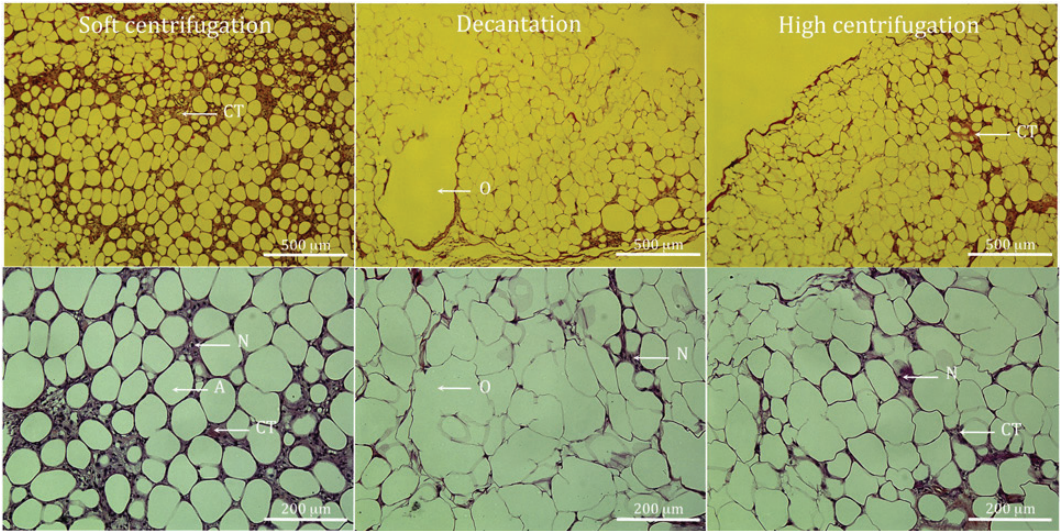


Fig. 2.4-9 : Coupes histologiques des greffes adipeuses préparées selon les différents protocoles (soft centrifugation : 400g/1 min, décantation et high centrifugation : 900g/3min). CT : connective tissue ; A : adipocyte ; O : lacune huileuse ; N : noyaux (132).

Les résultats montrent plus de 20% d'huile dans les échantillons avec décantation seule, comparé à 10% d'huile pour la soft et high centrifugation (fig 2.4-10).

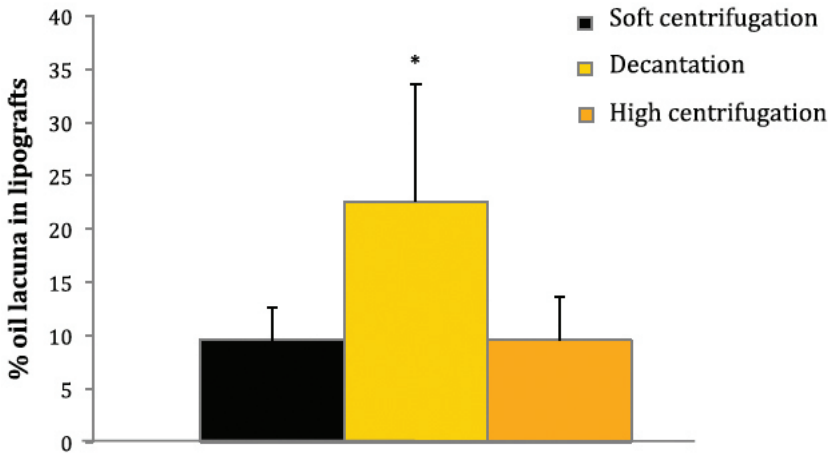


Fig 2.4-10 : pourcentage de gouttelettes huileuses dans les greffons adipeux traités par différentes méthodes (soft, high et décantation). (132)

Dans les échantillons avec centrifugation "high" (900g /3min), le tissu conjonctif est moins présent (fig 2.4-9).

La centrifugation apparaît donc plus efficace pour la purification du TGA que la simple décantation, tant *in-vitro* qu'*in vivo*. Il est cependant recommandé de limiter la vitesse de centrifugation pour ne pas dépasser 400g (130).

2.4.1.3. La filtration

La **filtration** est une méthode de séparation mécanique qui consiste à faire passer un mélange hétérogène à travers un milieu poreux (filtre) afin de retenir les particules solides ou certaines phases, tout en laissant passer le fluide ou la phase souhaitée.

Il existe sur le marché plusieurs systèmes de filtration pour purifier la graisse (ex : Puregraft®).

Le filtre laisse passer les liquides, débris cellulaires, les globules rouges mais retient le tissu adipeux.

Les lobules adipeux extraits lors de l'aspiration ayant généralement une dimension de 1 à 5 mm de diamètre (bien que cela dépende aussi de la taille des trous de la canule utilisée), un filtre avec des pores de 50 microns permet de retenir les adipocytes et d'éliminer les éléments plus petits. Par exemple, les globules rouges ayant un diamètre de 6 à 8 microns passeront à travers ce filtre et seront éliminés.

Le système de Puregraft® présente un double filtre : 800 microns pour le premier et 74 microns pour le deuxième. Les lobules adipeux resteront 'coincés' dans le filtre tandis que les débris ou cellules plus petites ainsi que le liquide seront éliminés et passeront à travers le filtre. Cette technique utilise un double lavage du tissu.

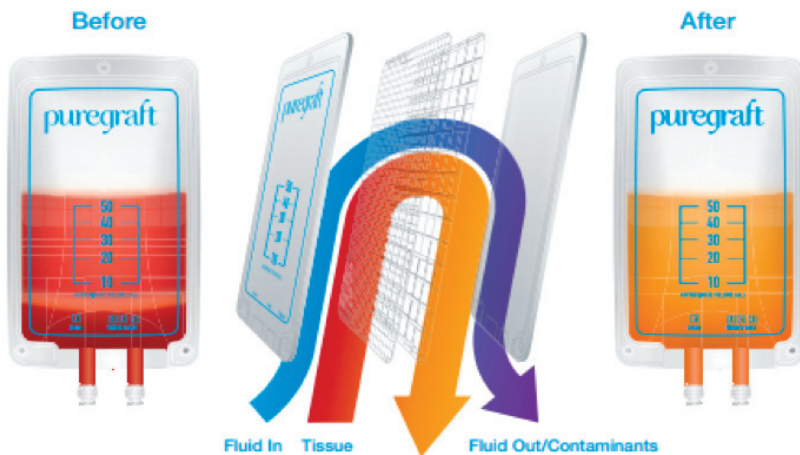


Fig 2.4-11 : schéma de la purification par double filtre Puregraft® et lavage

Un deuxième système est également sur le marché : le Revolve® (Allergan®).

Ce système est composé d'un filtre statique avec un système de brassage du tissu adipeux. Cette technique est également associée à deux lavages. On peut qualifier Revolve® de filtration passive également puisque le filtre est statique (fig 2.4-12).



Fig 2.4-12 : schéma du système de filtration Revolve[®]

La filtration présente l'avantage de préserver la viabilité cellulaire, car elle constitue une méthode de purification moins traumatique que la centrifugation, respectant ainsi l'intégrité des cellules. Elle permet en outre d'effectuer efficacement le lavage du tissu adipeux (142,143). Néanmoins, à l'instar de la centrifugation, cette technique implique une manipulation peropératoire, nécessitant l'intervention d'un personnel expérimenté et spécifiquement dédié. Cette contrainte se traduit par un allongement du temps opératoire, et donc de la durée d'anesthésie, ainsi que par une augmentation du risque de contamination bactérienne susceptible de conduire à des complications infectieuses.

C'est dans ce contexte marqué par l'existence de divers systèmes de purification, présentant des performances variables en termes de survie grasseuse, que nous avons tenté de développer une approche de purification visant à offrir une efficacité accrue.

2.4.2. Développement d'une nouvelle technique de purification : la filtration rotative

En se basant sur l'efficacité de la filtration et en considérant l'intérêt d'une centrifugation douce (132) pour la purification grasseuse, nous avons développé le concept d'une filtration rotative.

Cette technologie associe deux techniques, une filtration et une rotation douce.

La filtration est effectuée avec un filtre de 800 microns et permet le passage des éléments liquides ou plus petits que les unités lobulaires qui sont prélevées par une canule avec des trous de 3 mm. Toute particule plus petite que 0,8 mm (soit 800 microns) passera à travers le filtre.

En appliquant une rotation à ce filtre, nous augmentons la migration des liquides et débris cellulaires à travers celui-ci. Il s'agit donc d'une **filtration active**.

La filtration active est un procédé de purification du tissu adipeux qui combine plusieurs principes physiques : la pression différentielle, la force centrifuge douce et la filtration mécanique.

Voici les fondements physiques qui la régissent :

2.4.2.1 Loi de Darcy

Elle décrit l'écoulement d'un fluide à travers un milieu poreux en fonction de la pression appliquée :

$$Q = \frac{k \cdot A \cdot \Delta P}{\mu \cdot L}$$

où :

- Q : débit volumique (m^3/s)
- k : perméabilité du filtre (m^2)
- A : surface de filtration (m^2)
- ΔP : pression différentielle (Pa)
- μ : viscosité du fluide (Pa·s)
- L : épaisseur du filtre (m)

Le débit de la filtration (Q) est directement proportionnel à la pression différentielle (ΔP) de part et d'autre du filtre. Lors d'une filtration active avec rotation du filtre, la pression différentielle est augmentée par la force centrifuge.

2.4.2.2 Force centrifuge

Lorsqu'un système de filtration est mis en rotation, une force centrifuge s'exerce sur les particules :

$$F_c = m \cdot \omega^2 \cdot r$$

où :

- F_c : force centrifuge (N)
- m : masse de la particule (kg)
- ω : vitesse angulaire (rad/s)
- r : distance au centre de rotation (m)

Pour appliquer cette force centrifuge dans la loi de Darcy, il faut calculer la pression centrifuge engendrée par la force centrifuge selon la formule :

$$P(r) = \frac{1}{2} \cdot \rho \cdot \omega^2 \cdot (r_2^2 - r_1^2)$$

où :

$P(r)$ = pression centrifuge entre les rayons r^1 et r^2 (Pa)

ρ = densité du fluide (kg/m^3)

ω = vitesse angulaire (rad/s)

r^1, r^2 = distances depuis l'axe de rotation (m)

Cette pression centrifuge vient s'ajouter à la pression hydrostatique dans la loi de Darcy.

$$Q = \frac{k \cdot A \cdot (\Delta P_{\text{hydrostatique}} + \Delta P_{\text{centrifuge}})}{\mu \cdot L}$$

Le débit de filtration est augmenté par la rotation du filtre, accélérant ainsi la migration des particules légères (huile, liquide d'infiltration, sang,..) à travers la membrane.

2.4.2.3 Filtration mécanique

Le filtre agit comme un tamis, retenant les particules dont le diamètre est supérieur à celui des pores :

- Si diamètre_particule > diamètre_pore : la particule est retenue
- Si diamètre_particule < diamètre_pore : la particule traverse

Exemple : un filtre de 74 μm laisse passer les globules rouges ($\sim 7 \mu\text{m}$) mais retient les adipocytes ($\sim 50\text{--}150 \mu\text{m}$).

La filtration active repose sur une combinaison de principes physiques : la loi de Darcy (écoulement sous pression), la force centrifuge (accélération de séparation) et la filtration mécanique.

Cette approche permet une purification rapide et douce du tissu adipeux, idéale pour le lipofilling, préservant ainsi au maximum l'intégrité des adipocytes.

2.4.3 Importance du lavage dans la purification du lipofilling

Un autre facteur essentiel pour obtenir une purification optimale du TGA est le lavage du tissu adipeux.

Le tissu adipeux contient des cellules souches appelées 'adipose-derived stem cells' (ADSC), et ce tissu adipeux constitue le principal réservoir de cellules souches dans l'organisme. Ces ADSC sont indispensables pour la survie grasseuse du lipofilling, permettant la néovascularisation et modulant la réponse anti-inflammatoire (144,145). Certains auteurs proposent d'ailleurs d'enrichir le lipofilling, notamment avec des cellules souches, pour augmenter la survie grasseuse (94).

Il est donc important d'étudier les paramètres qui pourraient influencer la survie des ADSC pendant la lipoaspiration et la purification du tissu. Un point critique concerne notamment le liquide d'infiltration utilisé avant la lipoaspiration de prélèvement. Ce liquide

d'infiltration contient habituellement de l'adrénaline, généralement à une concentration de 1 mg/l ou encore 1 µg/ml. L'adrénaline permet une vasoconstriction locale au niveau des sites de prélèvement, et réduit ainsi la charge en dérivés sanguins (GR, plaquettes et plasma) dans le lipoaspirat, et par extension, réduit les hématomes postopératoires.

Il est aussi possible d'ajouter des anesthésiants locaux permettant d'effectuer le prélèvement graisseux sous anesthésie locale, et qui permettent également de diminuer aussi les douleurs post-opératoires. Klein a depuis longtemps décrit une technique tumescente d'infiltration pour les lipoaspirations (146).

Composition de la solution de Klein :

| Composant | Quantité |
|---------------------------------|---|
| Sérum physiologique (NaCl 0,9%) | 1000 mL (solvant de base) |
| Lidocaïne | 500 mg (souvent 50 mL à 1%) |
| Adrénaline | 1 mg (habituellement 1 mL d'adrénaline à 1 mg/mL) |
| Bicarbonate de sodium | 10 mEq (souvent 10 mL de bicarbonate à 8,4%) |

Tab 2.4-2 : composition de la solution de Klein

La dose maximale de lidocaïne sans adrénaline est de 3-5 mg/kg. Si on ajoute de l'adrénaline, on peut monter jusque 7 mg/kg. En cas de solution tumescente (Klein), la dose maximale de lidocaïne est de 35 à 55 mg/kg.

Le bicarbonate de sodium est utilisé pour tamponner l'acidité de la lidocaïne qui présente un pH de 4-6 pour des raisons de stabilité et de conservation de la solution. L'augmentation de pH de la solution de Klein permet de réduire la douleur lors de l'injection.

Le principe d'action de la lidocaïne repose sur le blocage des canaux sodiques voltage-dépendants situés sur la membrane des neurones. La lidocaïne traverse la membrane cellulaire neuronale et bloque par liaison le canal sodium voltage-dépendant. La lidocaïne empêche l'entrée de sodium, bloquant ainsi la genèse du potentiel d'action, ce qui entraîne un arrêt réversible de la conduction nerveuse.

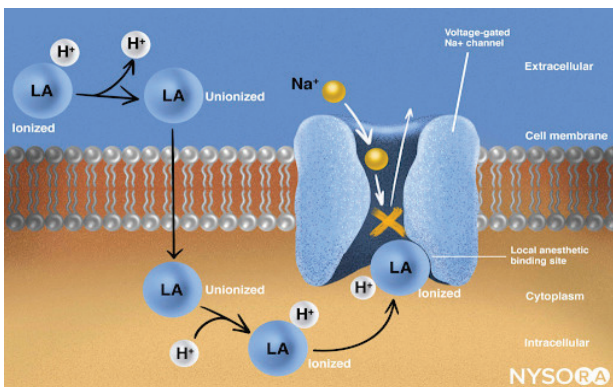


Fig 2.4-13 : mécanisme d'action de la lidocaïne (LA) bloquant le canal sodique voltage dépendant, empêchant ainsi la genèse d'un potentiel d'action

L'adrénaline, diminue la vascularisation de la zone infiltrée par vasoconstriction, prolongeant ainsi l'action de la lidocaïne en diminuant son élimination par voie vasculaire.

Cependant, plusieurs études ont prouvé que la lidocaïne peut affecter la viabilité de nombreuses cellules comprenant les fibroblastes (147), chondrocytes (148) et myoblastes lors de régénération musculaire notamment après un exercice musculaire intense (149).

Girard *et al.* (150), ont étudié l'effet de l'adrénaline et de la lidocaïne sur la viabilité des cellules souches adipeuses (ADSC) en les exposant à différentes concentrations (équivalentes aux concentrations cliniques) de lidocaïne (avec et sans adrénaline) avec des temps d'exposition différents. Ils ont notamment mesuré l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) qui est un enzyme intracellulaire relargué dans le milieu de culture (extracellulaire) lorsque la membrane cellulaire des ASC est détruite. Ceci constitue donc un bon indicateur de cytotoxicité.

L'exposition à la lidocaïne n'affecte pas la viabilité cellulaire des ADSC après 1 à 2 heures d'exposition mais induit une cytotoxicité après 4h d'exposition.

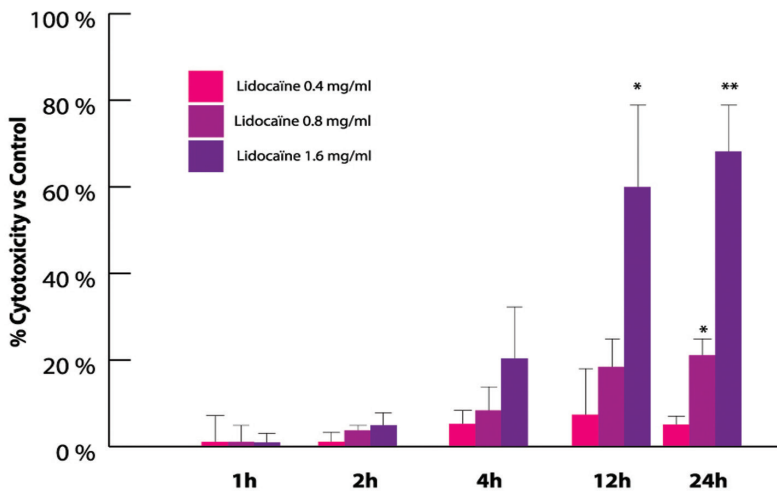


Fig 2.4-14 : Mesure de la cytotoxicité (LDH) sur les ADSC (adipose-derived stem cells) après exposition à la lidocaïne. Les ADSC sont exposées à différentes concentrations de lidocaïne. Source Girard *et al.* (150)

Dans la même étude, Girard *et al.* (150) démontrent que l'adrénaline n'a pas de cytotoxicité sur les ADSC et qu'elle peut donc être utilisée sans problème pour l'infiltration dans le cadre d'un TGA.

Le lavage du lipoaspirat permet l'élimination de lidocaïne et donc augmente la survie des adipocytes. Moore *et al.* (151), ont démontré que la lidocaïne pouvait altérer le métabolisme et la croissance des adipocytes, mais que si ces cellules étaient lavées, elles retrouvaient pleinement leurs fonctions.

Le lavage permettrait, avec une centrifugation (ou filtration active), l'extraction notamment de lidocaïne, du tissu graisseux. A l'inverse, une simple décantation engendre un contact avec la lidocaïne plus important avec des conséquences sur la survie graisseuse.

Gentile *et al.* (152) ont récemment (2024) démontré la supériorité du lavage et de la filtration par rapport à la centrifugation seule. La survie graisseuse par lavage et filtration est de plus de 70 % à 6 mois par rapport à la centrifugation seule (44% à 6 mois).

L'article de Girard *et al.* (153) montre les effets des lavages et des centrifugations sur la qualité du lipofilling avec ou sans lidocaïne. Ils comparent plusieurs protocoles de purification graisseuse, 6 au total.

| | Décantation | Lavages | Centrifugation |
|-----------------------------|-------------|---------|---------------------------------|
| Décantation | 5 min | 0 | --- |
| Lavage et décantation | 5 min | 1 | --- |
| 1 centrifugation | ---- | 0 | 1 min à 400g |
| 1 lavage et centrifugation | ---- | 1 | 1 min à 400g |
| 2 lavages et centrifugation | ---- | 2 | 1 s à 100g et 1 min à 400g |
| 3 lavages et centrifugation | ---- | 3 | (1 s à 100g)x 2 et 1 min à 400g |

Tabl 2.4-3 : 6 protocoles de purification graisseuse dans l'étude de Girard *et al.* (153)

Dans cette étude, ils ont infiltré du liquide + adrénaline (1mg/l) avec lidocaïne (40ml lidocaïne 2% dans 1l) d'un côté et sans lidocaïne de l'autre. (voir schéma).

Ils ont ensuite traité la graisse avec et sans lidocaïne par les 6 protocoles décrits au tableau 2.4-3.

Enfin ils ont injecté des souris 'nude' (immunodéficientes) avec de la graisse traitée par les 6 protocoles et dans les deux conditions : avec et sans lidocaïne. Après 1 mois, les souris sont sacrifiées et la graisse est analysée histologiquement et macroscopiquement.

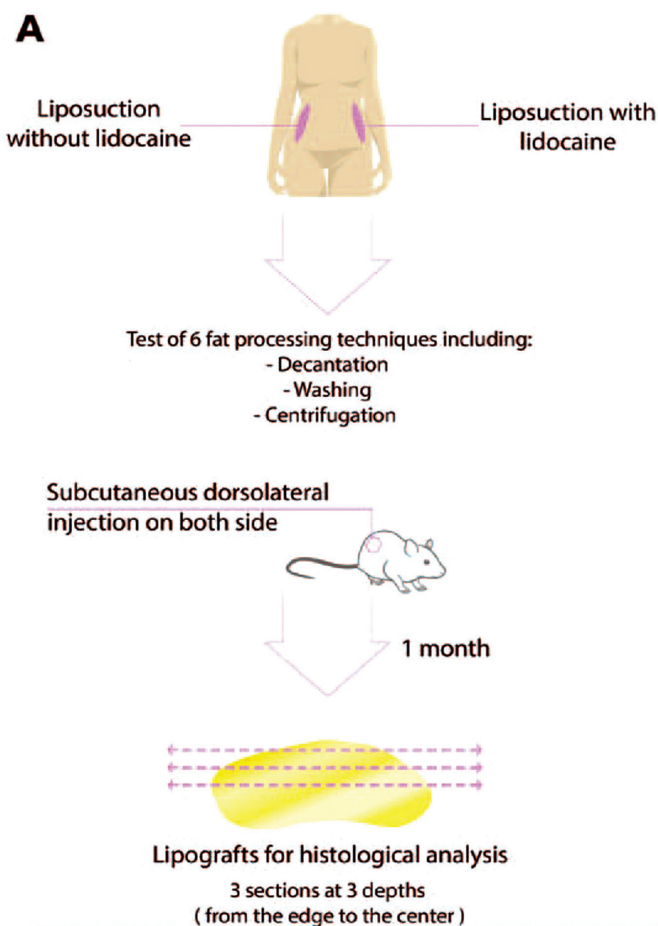


Fig 2.4-15: Schéma de l'étude de Girard et al. (153).

A l'analyse macroscopique, le protocole de décantation seule présente de nombreux lacs huileux, particulièrement avec la lidocaïne. La centrifugation augmente l'homogénéité des adipocytes. Plus on réalise de lavages en association avec la centrifugation, plus la qualité de la graisse augmente. La centrifugation seule, sans lavage, laisse de grands lacs huileux et de la fibrose (figure 2.4-17).

Selon leur étude, la décantation seule produit des greffes de plus petits volumes, par le fait que le liquide interstitiel de la greffe se résorbe rapidement. La décantation seule provoque une hétérogénéité des adipocytes plus importante que le traitement par centrifugation. L'addition de lidocaïne au protocole de décantation amène des kystes huileux plus grands.

Les lavages améliorent la survie graisseuse en éliminant la lidocaïne mais également les molécules pro-inflammatoires. La centrifugation produit des greffes adipeuses de plus grandes tailles et plus homogènes, dû à la concentration des adipocytes en éliminant le liquide interstitiel.

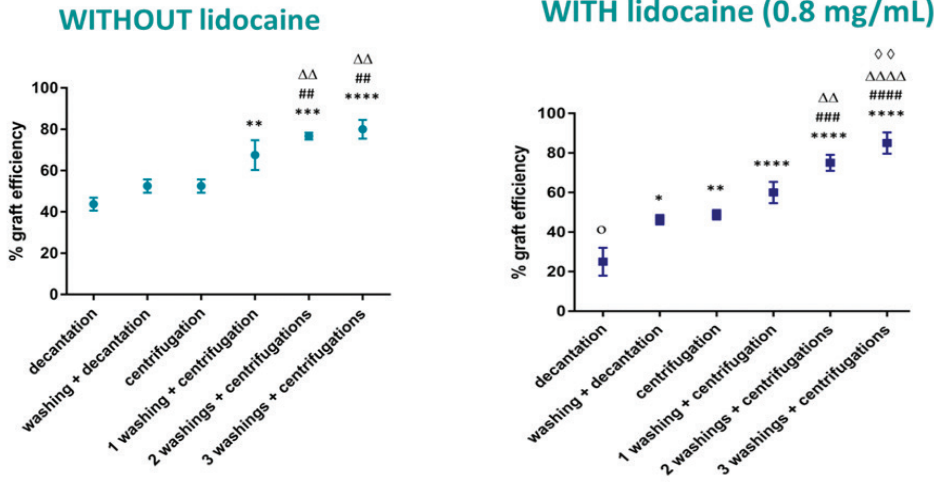


Fig 2.4-16: Survie du greffon avec ou sans utilisation de lidocaine (153)

En conclusion de leur étude, Girard *et al.* (153) proposent de réaliser deux lavages avec une centrifugation douce (400g pendant 1 min) pour une infiltration SANS lidocaine et 3 lavages avec une centrifugation douce pour une infiltration AVEC lidocaine.

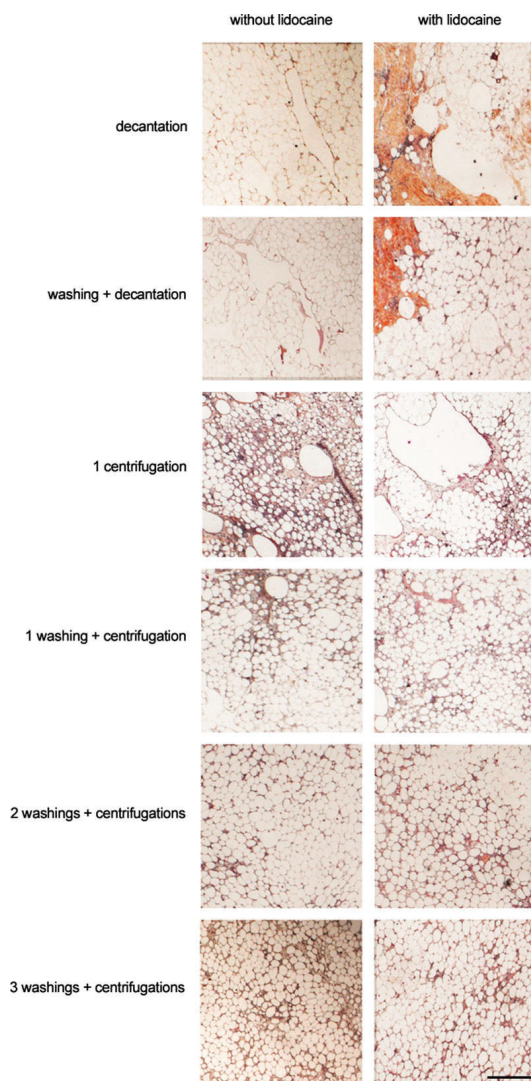


Fig 2.4-17: structure histologique des greffes adipeuses AVEC ou SANS lidocaïne après coloration hématoxylin/eosin/safran selon les 6 protocoles de traitement adipeux.

Cette étude de Girard *et al.* (40) est à la base de la technique MACROFILL (Adip'sculpt) utilisée dans notre première étude (Refined method of lipofilling following DIEP breast reconstruction : 3D analysis of graft survival) (130). Le protocole utilisé dans cette étude est basé sur des lavages et une centrifugation douce (400g pendant 1 min).

L'étude de la survie graisseuse a été réalisée avec l'acquisition 3D (Vectra) utilisant la variation de projection de chaque 'pixel', ce qui permet de suivre l'évolution volumétrique dans les zones de lipoaspiration (souvent réalisé dans le pôle supérieur du sein) et dans les zones de lipofilling (souvent dans le pôle inférieur). Ceci permet une plus grande précision dans ces différentes zones du sein, plutôt qu'une étude du volume global du sein.

Le point de référence initial est la photographie à 15 jours post-opératoires. Ce délai de 15 jours est généralement admis comme période où l'œdème post-opératoire aura quasi complètement disparu.

Bien que cette méthode ne nous ait pas permis d'évaluer une perte potentielle de graisse au cours de cette période postopératoire initiale de 15 jours, elle nous a néanmoins donné une idée très précise de la perte globale de graisse. Nous avons pris la décision d'exclure les patientes qui n'avaient pas été suivies pendant au moins 4 mois, période à l'issue de laquelle la phase de résorption de la graisse prend fin. (154,155).

Comme attendu dans cette étude, la lipoaspiration de réduction du pôle supérieur entraîne une réduction de la projection qui est stable dans le temps. Par contre la projection du pôle inférieur ayant bénéficié d'un lipofilling va diminuer dans le temps, témoignant de la résorption graisseuse. Néanmoins, cette résorption reste extrêmement modérée par rapport aux autres études utilisant des techniques plus classiques notamment avec la décantation.

Avec ce lipofilling purifié par centrifugations douces et lavages, nous atteignons 70,9% de projection stable après 5 mois postopératoires par rapport à la photographie 3D prise à 15 jours postop. Ce résultat peut être comparé à la technique de Coleman qui présente un maintien de projection de 52% à 5 mois post op, mesures prises avec la référence d'une photographie 3D (Vectra®) à 1 sem post op (135).

L'évolution de la courbe de résorption graisseuse, avec stabilisation à 3 mois, est en corrélation avec les données de la littérature (154,155).

Notre étude, Nélissen *et al.* (130), permet donc de valider que plusieurs étapes et règles doivent être respectées pour un lipofilling :

- Le respect d'une dépression (vide) minimale durant le prélèvement pour limiter les traumatismes cellulaires (156).
- L'utilisation de canules de petit diamètre (3mm) avec des trous de petits diamètres (2mm) permettant le prélèvement de petits lobules graisseux, qui sont plus facilement revascularisés (72,157).
- La réalisation de lavages multiples permettant aux molécules pro-inflammatoires et aux facteurs cytotoxiques contenus dans le lipoaspirat, d'être éliminés (132,158,159).
- La centrifugation, réalisée à une vitesse modérée, pour préserver l'intégrité de la membrane cellulaire de l'adipocyte (160,161).

Cette étude comporte plusieurs limites ou biais méthodologiques. Il s'agit d'un travail unicentrique, reposant sur un échantillon restreint de 23 patientes, ce qui limite la puissance statistique et la généralisation des résultats. Une étude multicentrique, impliquant plusieurs chirurgiens et une cohorte plus large, permettrait de renforcer la précision des estimations de survie volumétrique.

Par ailleurs, la survie volumétrique ne peut être assimilée à la survie graisseuse. En effet, le maintien du volume observé peut être influencé par la survenue de complications liées au transfert graisseux autologue, telles que la formation de kystes huileux ou de nodules de cytotéatonécrose, qui augmentent artificiellement le volume mesuré.

La corrélation entre survie volumétrique et survie grasseuse aurait nécessité une évaluation radiologique complémentaire. La réalisation d'une échographie postopératoire à partir de six mois aurait permis de quantifier l'éventuelle présence de kystes ou de nodules. En l'absence d'anomalies radiologiques à ce délai, il serait alors possible de considérer le maintien volumétrique comme représentatif d'une véritable survie grasseuse.

2.4.4 Importance de la dépression dans le prélèvement grasseux

Intéressons-nous à la dépression de l'aspiration lors du prélèvement du tissu grasseux.

Les adipocytes matures sont des cellules fragiles qui possèdent très peu de résistance face aux traumatismes tandis que les ADSC sont plus résistantes (162). Cela s'explique relativement facilement par le rapport entre le volume des cellules et la résistance des membranes qui est similaire entre les 2 types de cellules. Par ailleurs, l'effet volumateur est plus dépendant de la qualité et de la survie des adipocytes tandis que l'effet régénérateur dépend plus des ADSC.

La pression négative du prélèvement des lobules adipeux est un des facteurs importants affectant la viabilité des adipocytes (163).

Selon Bonomi *et al.* (164), le prélèvement de tissu adipeux constitue en lui-même une forme de pré-conditionnement mécanique, susceptible d'affecter la viabilité cellulaire. En particulier la pression négative appliquée et le diamètre des trous de la canule influencent les contraintes de cisaillement (shear stress) exercées sur les adipocytes et les cellules stromales (ADSC). Une pression excessive ou un flux trop rapide induisent une rupture membranaire, une libération de débris lipidiques, et une diminution du potentiel régénératif du greffon.

Ces lésions toucheraient notamment les péricytes et les cellules souches mésenchymateuses de la SVF, pourtant essentielles à la revascularisation.

Ce constat justifie le recours à des techniques de liposuction à pression modérée (~-300 à -350 mmHg), associées à des canules de calibre adapté, afin de minimiser les effets de cisaillement et de préserver l'intégrité cellulaire du greffon.(164)

Chen *et al.* ont démontré deux fois plus de cellules dans la SVF isolée à partir du tissu adipeux prélevé sous une pression négative plus faible (225 mmHg) que sous une pression négative plus élevée (410 mmHg). Ils ont également rapporté une croissance cellulaire plus rapide et une concentration plus élevée de certains facteurs de croissance dans les cellules obtenues sous une pression négative plus faible. (165)

Une canule de diamètre de 3 à 4 mm est préconisée pour permettre l'obtention d'un flux laminaire plus doux et par conséquent moins de traumatismes mécaniques. (166)

Le diamètre des orifices de la canule constitue un paramètre déterminant, car il conditionne la taille des lobules grasseux prélevés. De petits lobules présentent un potentiel volumateur limité, mais leur survie est favorisée par une meilleure revascularisation. À l'inverse, des lobules plus volumineux assurent un effet de comblement supérieur, mais leur vascularisation est compromise, ce qui augmente le risque de résorption (fig 2.4-18).

Dans la technique de Coleman, appliquée aux transferts graisseux autologues (TGA) au niveau de la face, la taille optimale des orifices est d'environ 1 mm (généralement comprise entre 0,8 et 1,2 mm), afin d'obtenir de petits lobules compatibles avec une intégration et une survie tissulaire accrues (141).

En revanche, pour les TGA mammaires, où l'objectif principal est l'augmentation de volume, il est recommandé d'utiliser des canules présentant des orifices plus larges, de l'ordre de 2,5 mm, permettant le prélèvement de lobules adipeux plus conséquents (167).

Taille des trous de la canule de prélèvement

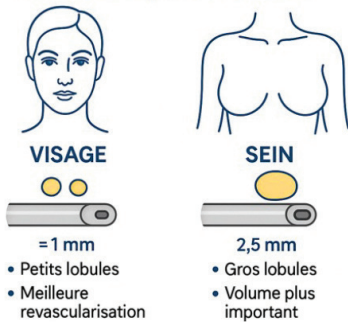


Fig 2.4-18 : importance de la taille des trous de la canule de prélèvement et de la taille des lobules adipeux selon le site receveur du TGA

Lors de la phase de réinjection, l'utilisation d'une seringue de 10 ml de type Luer Lock constitue la pratique la plus courante. Ce dispositif repose sur un système de connexion étanche, basé sur l'emboîtement par vissage d'un filetage conique mâle et femelle. Le diamètre interne de la sortie, au niveau de la connexion Luer Lock, est de 2,5 mm. Ainsi, tout lobule adipeux dont le diamètre excède cette valeur est soumis à une contrainte mécanique lors du passage, entraînant une déformation pouvant induire une lyse cellulaire (fig 2.4-19).

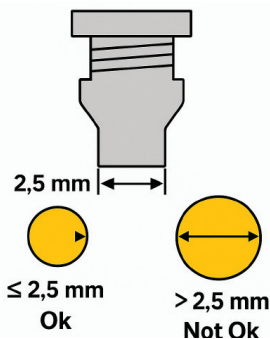


Fig 2.4-19 : importance de la taille des trous de la canule de prélèvement selon le site receveur du TGA

2.4.5 Développement d'une nouvelle technique de purification du TGA : ADIMATE®

À la lumière des éléments précédents, plusieurs critères apparaissent essentiels à la conception d'un dispositif médical performant pour la réalisation d'un TGA. Résumons les en quelques lignes.

Tout d'abord, une étape de purification du tissu adipeux est indispensable. La décantation simple s'avère insuffisante car elle laisse subsister une phase liquide importante (souvent supérieure à 30 %) ainsi que des débris cellulaires. La centrifugation, bien qu'efficace pour éliminer la quasi-totalité de cette phase aqueuse, exerce une force trop importante, compromettant la viabilité des adipocytes et des cellules souches dérivées du tissu adipeux (ADSC). À cet égard, une technique de filtration apparaît plus appropriée, permettant une élimination adéquate des fluides tout en préservant l'intégrité cellulaire.

La filtration active, reposant sur l'application d'une force centrifuge à travers un système de filtres en rotation, se montre plus performante que la filtration passive. Toutefois, la vitesse de rotation doit être précisément calibrée : elle doit être suffisante pour extraire efficacement la phase aqueuse sans pour autant endommager les cellules.

Par ailleurs, un protocole de lavage du tissu est nécessaire pour éliminer les résidus huileux, les agents anesthésiques locaux, les éléments sanguins et autres débris. L'aspiration initiale de la lipoaspiration doit également être modérée afin de limiter les traumatismes mécaniques.

Le choix d'une canule d'aspiration de calibre adapté est crucial afin de prélever un volume significatif de tissu tout en respectant l'intégrité des unités adipocytaires.

Le dispositif, dans son ensemble, ne doit présenter aucune variation de calibre afin de limiter les turbulences dans le flux graisseux et d'éviter les augmentations de résistance susceptibles de générer un échauffement du tissu graisseux.

L'ensemble du système devrait fonctionner en circuit fermé, à usage unique, garantissant une stérilité optimale et minimisant le contact avec l'air afin de prévenir l'oxydation graisseuse. Enfin, le dispositif devrait permettre une réinjection automatisée du tissu adipeux greffé, toujours en circuit fermé, réduisant ainsi les manipulations manuelles, sources potentielles de contamination et de perte de temps.

La réinjection devrait être réalisée à l'aide d'une canule de 2 mm de diamètre, selon une technique rétro-traçante, sous forme de fins dépôts (technique dite "en spaghettis"), assurant une répartition homogène du greffon.

Tous ces éléments, résumés dans le tableau 2.4-4, constituent l'appareil de lipofilling idéal.

| Étape | Exigences techniques | Justifications |
|------------------------------------|--|---|
| 1. Aspiration | <ul style="list-style-type: none"> - Pression d'aspiration modérée - Canule de diamètre adapté - Calibre constant | Réduction des traumatismes cellulaires, préservation des unités adipocytaires, limitation des turbulences |
| 2. Purification | <ul style="list-style-type: none"> - Rejet de la décantation (>30% de phase liquide) - Rejet de la centrifugation violente - Filtration active à vitesse contrôlée | Filtration douce éliminant l'excès aqueux tout en maintenant la viabilité des adipocytes et ADSC |
| 3. Lavage | <ul style="list-style-type: none"> - Rinçage avec solution adaptée - Élimination de l'huile, anesthésiques, sang, débris | Amélioration de la qualité du greffon, réduction des facteurs pro-inflammatoires et contaminants |
| 4. Configuration du système | <ul style="list-style-type: none"> - Circuit fermé - Usage unique - Absence de variation de calibre | Stérilité maximale, protection contre l'oxydation, réduction des frottements et échauffements |
| 5. Réinjection | <ul style="list-style-type: none"> - Réinjection automatisée - Canule de 2 mm - Technique rétro-traçante « spaghettis » | Homogénéité de la distribution du greffon, efficacité du comblement, réduction des pertes de volume |

Tab 2.4-4 : synthèse des caractéristiques d'un système automatisé performant

2.4.5.1 Contexte et développement

Le projet, initié en 2019 dans le cadre d'un partenariat franco-belge, a réuni trois compétences complémentaires : un biologiste cellulaire spécialisé dans le tissu adipeux (Régis Roche), un chirurgien plasticien expérimenté dans le transfert graisseux autologue (Xavier Nélissen) et un ingénieur expert en dispositifs médicaux (François Cabaud).

Cette synergie a permis de développer de manière rapide et structurée un système automatisé de purification du tissu adipeux. En l'espace de cinq ans, six brevets ont été déposés, portant sur l'appareil, le protocole de purification ainsi que sur le kit stérile à usage unique.

Actuellement, Adimate® (Hardware) et Adipure® (partie stérile, à usage unique) sont commercialisés dans toute l'Europe et en Australie. L'ouverture au marché Américain, dépendant de la certification FDA, est prévue dans le courant 2026.

2.4.5.2 Description du système

Le dispositif Adimate® est un appareil médical automatisé (automate) permettant : la lipoaspiration, l'infiltration, et le transfert graisseux autologue.



Fig 2.4-20: système de TGA Adimate® et Adipure®

Il fonctionne exclusivement avec le kit stérile Adipure®, à usage unique, composé de :

- Un bol collecteur de tissu gras
- Un panneau intégrant la totalité du circuit de fluides
- Un système double compartiment : un 'bol' externe rigide résistant à la dépression et une colonne filtrante rotative interne muni d'un filtre de 800 µm, et d'un piston.

Cette colonne filtrante est entraînée en rotation par le moteur d'Adimate®, générant une force centrifuge contrôlée. L'ensemble du système de circulation des fluides est régulé par des valves deux voies à pincement (pinch valves), pilotées par un logiciel propriétaire exécutant un protocole préprogrammé (non modifiable par l'utilisateur).

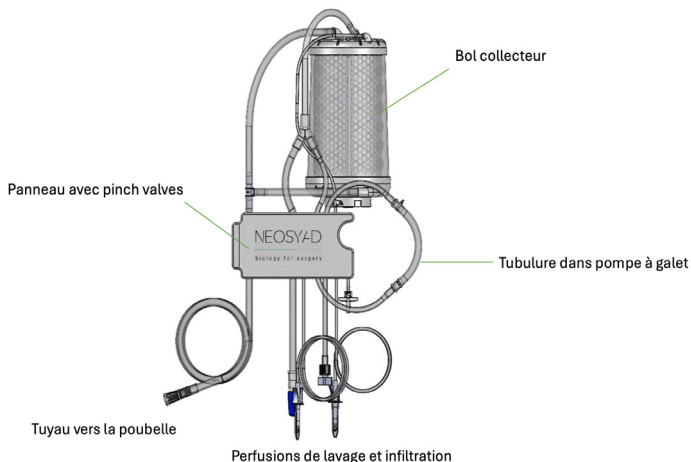


Fig.2.4-21 : Schéma d'Adipure®, kit stérile à usage unique

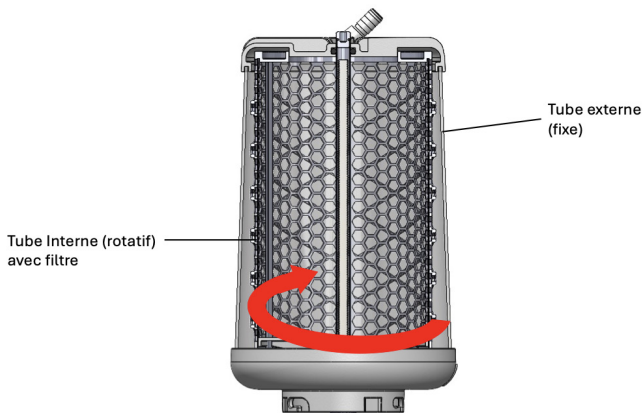


Fig.2.4-22 : coupe transversale dans un kit Adipure®, montrant le système de filtre rotatif

2.4.5.3 Connexions externes

Le kit Adipure® est relié au patient via deux tubulures distinctes :

- L'une pour l'infiltration et l'injection de tissu graisseux
- L'autre pour le prélèvement par lipoaspiration

Tuyau aspiration

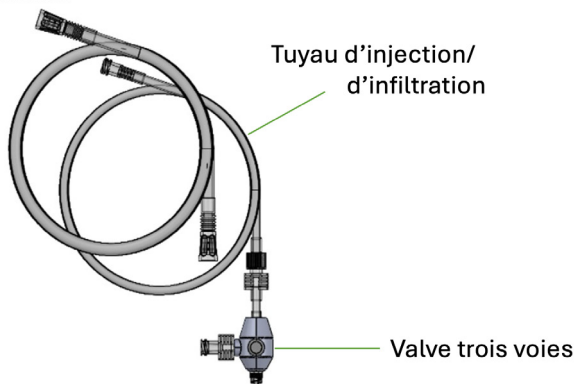


Fig 2.4-23 : tubulures aspiration et infiltration/réinjection

Deux perfusions sont connectées :

- Une solution de lavage (1 L de sérum physiologique)
- Une solution d'infiltration (1 L de sérum physiologique + 1 mg d'adrénaline, avec ou sans anesthésique local)



Fig.2.4-24 : Système Adimate® et Adipure® (kit stérile à usage unique)

2.4.5.4 Protocole de purification

Le processus s'effectue en **deux phases** :

1. Phase de prélèvement :

- > Activation continue de la filtration rotative
- > Lavage automatique tous les 100 cc prélevés
- > Pré-purification immédiate, utile pour éliminer les anesthésiques locaux

2. Phase de purification finale :

- > Déclenchée automatiquement dès que le volume cible est atteint
- > Durée : 9 minutes pour 500 cc
- > Deux cycles complets de lavage et de filtration rotative à 26g
- > Aucune intervention humaine requise

2.4.5.5 Transfert final

Une fois la purification terminée, le fond du bol Adipure® se soulève (équivalent à un piston de seringue) pour permettre l'extraction du tissu graisseux traité. Une pompe à galets transfère le tissu purifié dans la tubulure d'infiltration. Une seringue de 10 cc, équipée d'une valve trois voies, permet :

- Le remplissage par aspiration dans une position
- L'injection vers le patient dans l'autre position, via une canule dédiée

Le système Adimate®/Adipure® constitue le premier dispositif médical entièrement automatisé dédié au prélèvement, au traitement et à la réinjection du tissu graisseux autologue (TGA). La question demeure toutefois de déterminer si son efficacité est comparable, voire supérieure, à celle des systèmes existants non automatisés. C'est précisément l'objet de notre deuxième étude (131), qui visait à comparer différents procédés de purification, tant *in vitro* que *in vivo*.

2.5 Résumé et conclusion de la première étude

La première étude (130) évalue la survie graisseuse après lipofilling dans les retouches de reconstructions mammaires par lambeau DIEP, en s'appuyant sur une mesure volumétrique standardisée par photographie 3D. Le problème clinique est double : d'une part, la zone supérieure du lambeau est fréquemment en excès et justifie une réduction par lipoaspiration ; d'autre part, la zone inférieure manque souvent de projection et bénéficie d'un TGA.

Dans ce contexte, la question centrale n'est pas seulement de « combien injecter », mais surtout de « comment préparer le greffon » pour obtenir une rétention volumétrique prévisible et durable. La littérature scientifique pointe trois étapes critiques dans la réalisation d'un TGA: le prélèvement, la préparation/purification et la réinjection.

L'objectif de l'étude est donc d'objectiver, en situation réelle de retouche post-DIEP, l'apport d'une purification standardisée fondée sur une centrifugation douce et des lavages répétés, comparativement aux approches encore largement utilisées telles que la décantation.

Sur le plan méthodologique, l'étude est monocentrique et inclut des patientes reconstruites par DIEP nécessitant une retouche par TGA. Le prélèvement est réalisé à une basse pression d'aspiration afin de minimiser le traumatisme cellulaire. La purification suit un protocole dérivé d'Hoareau (132) (Macrofill®) combinant deux particularités essentielles : une centrifugation douce, qui maximise l'extraction de phase aqueuse tout en limitant la lyse adipocytaire observée avec des vitesses de centrifugation plus élevées ; des lavages itératifs, qui éliminent les anesthésiants locaux résiduels, dérivés sanguins et médiateurs pro-inflammatoires. La réinjection repose sur une technique rétro-traçante en « spaghetti » pour en optimiser la revascularisation.

L'évaluation volumétrique est réalisée par photographie 3D VECTRA selon un protocole fixe : acquisition préopératoire, référence précoce à distance de l'œdème post-opératoire immédiat, puis suivi mensuel. Cette approche permet de mesurer la variation de projection dans les zones d'intérêt (réduction au pôle supérieur, augmentation au pôle inférieur).

Les résultats montrent une courbe de rétention avec une décroissance initiale limitée suivie d'une stabilisation à 5 mois (de plus de 70% de survie volumétrique). La réduction du pôle supérieur par lipoaspiration demeure stable dans le temps, confirmant la pertinence de la stratégie de remodelage.

Au pôle inférieur, l'augmentation de projection obtenue par TGA conserve une proportion importante (70%) de l'effet initial, ce qui démontre à la fois la qualité du greffon et l'adéquation de la technique de purification. L'analyse ne met pas en évidence de diminution spécifique attribuable à la radiothérapie antérieure lorsque la préparation est optimisée, ce qui va dans le sens d'un rôle majeur joué par la purification sur la viabilité cellulaire, indépendamment de certains facteurs contextuels (âge, BMI, traitements adjuvants, ...).

Sur le plan biophysique, trois lignes se dégagent.

Premièrement, le prélèvement à faible dépression et par canules adaptées réduit les contraintes de cisaillement, préserve les adipocytes et maintient la composante régénérative de la SVF/ADSCs.

Deuxièmement, la combinaison centrifugation douce avec lavages s'avère supérieure à la décantation : la première extrait la phase aqueuse de façon efficace sans atteindre les vitesses d'accélération délétères, tandis que les seconds (lavages) diminuent la charge en toxiques potentiels (anesthésiques locaux), débris lipidiques et éléments pro-inflammatoires.

Troisièmement, la réinjection en spaghettis favorise la revascularisation et limite les nécroses centrales, condition nécessaire à la stabilité volumétrique.

Combinés, ces éléments expliquent les courbes volumétriques observées et la reproductibilité clinique obtenue dans un contexte de retouche post-DIEP.

Au niveau technique, la décantation laisse une fraction liquidienne et des débris non négligeables, tandis qu'une centrifugation à vitesse élevée accroît la lyse adipocytaire ; à l'inverse, l'association d'une centrifugation douce avec lavages améliore la qualité du greffon mais demeure exigeante en manipulations peropératoires. Dans cette continuité, des systèmes de filtration passive, ont été développés. Basés sur des membranes à porosité calibrée, ils permettent l'élimination des globules rouges, des débris cellulaires et des résidus aqueux tout en retenant les lobules adipeux. Toutefois, la filtration reste ici dépendante de la gravité ou de la pression manuelle, avec une efficacité limitée et un résidu liquidien encore notable.

Partant de ce constat, nous avons formalisé une nouvelle technique : la filtration active, qui combine une filtration mécanique à porosité calibrée, une pression différentielle conforme à la loi de Darcy et l'application d'une faible force centrifuge sur un filtre en rotation. L'objectif est d'augmenter la pression transmembranaire et d'accélérer l'évacuation des phases aqueuse et huileuse, tout en limitant le stress mécanique au niveau du filtre sur les adipocytes et la SVF.

Cette approche a été transposée en pratique clinique à travers le dispositif Adimate®/ Adipure® : un automate qui pilote le processus et un kit stérile à usage unique opérant en circuit fermé. Le kit comporte une colonne filtrante rotative, un bol collecteur et l'ensemble du circuit de fluides ; l'automate pilote les moteurs et les pinch valves selon un protocole préprogrammé non modifiable par l'utilisateur. La purification est standardisée et associe filtrations rotatives à faible *g* et lavages séquentiels, avant réinjection assistée du greffon. L'ensemble vise à réduire les manipulations, à maintenir la stérilité grâce à un circuit fermé et à produire un tissu homogène, pauvre en résidus huileux et en phase aqueuse.

Cette nouvelle méthode de filtration active sera ensuite comparée aux autres techniques de purification dans la seconde partie de ce travail, qui comprend à la fois une étude *in vitro* et une étude *in vivo*.

3.

DEUXIEME ETUDE

3. DEUXIEME ETUDE

3.1. Introduction

La seconde partie de ce travail consiste à comparer l'efficacité de plusieurs procédés de purification grasseuse (voir annexe : *Comparative analysis of a new automatic system and four existing techniques for autologous fat grafting*) (131).

La phase de préparation du tissu adipeux joue un rôle crucial dans la viabilité des cellules greffées, notamment des adipocytes et des cellules stromales vasculaires. Elle comprend quatre étapes clés : infiltration, aspiration, purification et réinjection. De nombreuses variantes techniques existent pour chacune de ces étapes, notamment la décantation, la filtration, la centrifugation douce ou rapide, et le lavage, chacune ayant un impact différent sur la qualité du greffon.

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude expérimentale comparative portant sur cinq techniques distinctes de purification de la graisse :

1. la décantation simple,
2. la technique de Coleman (centrifugation manuelle),
3. le système **Puregraft®**,
3. le système **Macrofill®**,
4. le **nouveau dispositif Adipure®**, développé dans le cadre de ce travail, combinant filtration active avec lavages automatisés via un automate (AdiMate®).

Ces cinq techniques ont été comparées selon un protocole standardisé, à la fois *in vitro*, par analyse des différentes fractions (graisse, liquide, huile), et *in vivo*, par injection des greffons purifiés chez des souris immunodéficientes.

L'évaluation de la survie du tissu grasseux a été réalisée selon plusieurs critères objectifs : poids, volume, résorption, contenu huileux résiduel et présence de fibrose.

Ce protocole comparatif vise à identifier la méthode de préparation la plus performante en termes de qualité tissulaire et de viabilité, en vue d'une application standardisée et optimisée du TGA en pratique clinique.

3.2. Méthodologie de la deuxième étude

Dans cette étude publiée en 2023, nous comparons notre nouveau système (AdiMate®/ Adipure®) à deux techniques classiques (décantation et Coleman) et à deux systèmes commerciaux existants (Puregraft® et Macrofill®).

Nous comparons l'efficacité sur la greffe adipeux de cinq processus de purification distinctes :

1. La **technique de décantation** consiste en la séparation du lipofiltrat sous l'effet de la gravitation en plusieurs phases non-miscibles selon leur densité.
2. La **centrifugation selon la technique de Coleman**, dite centrifugation classique, qui utilise la force centrifuge (3000 rpm pendant 3 min, équivalent à 1200g) pour la séparation des substances de densité différente.
3. La **filtration passive avec le dispositif Puregraft®** est une technique de filtration permettant la séparation entre le tissu adipeux et les liquides contaminants.
4. La **centrifugation douce avec la technique Macrofill®** qui associe plusieurs lavages à la centrifugation douce (1000 rpm pendant 1 min, équivalent au maximum à 400g).

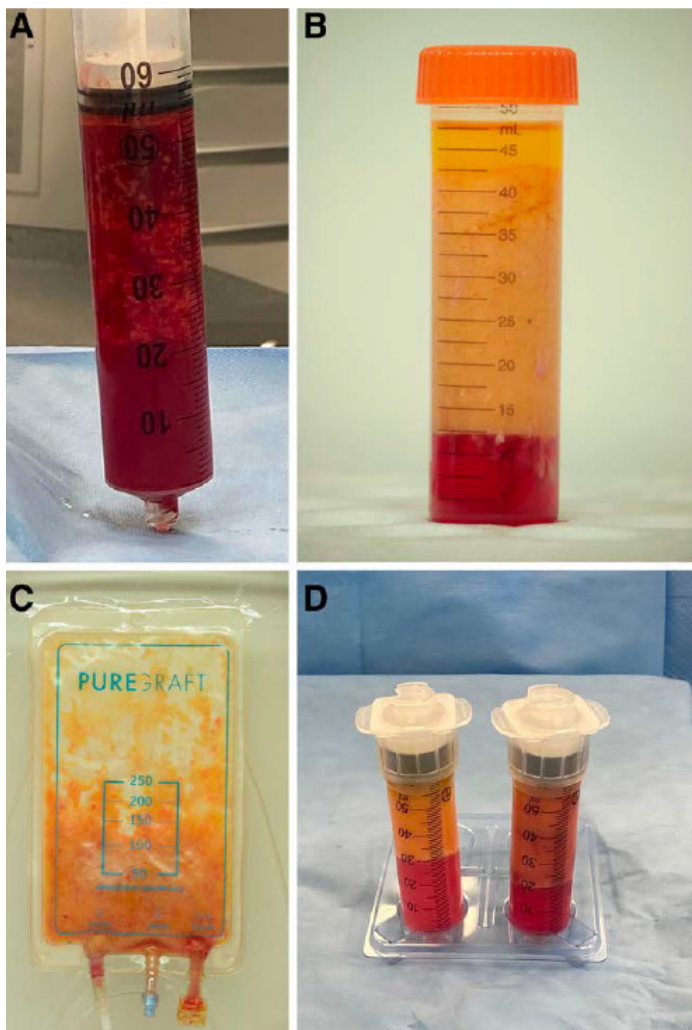


Fig 3.2-1 : Techniques de purification comparées : A. décantation B. Coleman C. Puregraft D. Macrofill

5. La filtration active avec la technique ADIPURE® qui associe filtration rotative (26g) et lavage.



Fig 3.2-2 : image d'ADIMATE®

Après purification du tissu adipeux par ces 5 techniques, nous analysons les quantités de tissu adipeux, liquide et huile *in vitro* et l'efficacité *in vivo* sur la souris.

L'efficacité *in vivo* de la greffe adipeuse est évaluée au travers de plusieurs paramètres incluant poids, taille de la greffe adipeuse, quantité d'huile et présence de fibrose.

3.2.1 Patientes

Les prélèvements de graisse sont obtenus sous forme de lipoaspirats de 5 patientes bénéficiant d'une abdominoplastie avec transposition de l'ombilic et lipoaspiration abdominale. Les zones de prélèvement sont localisées au niveau de l'abdomen et des flancs.

Les zones de lipoaspiration abdominale sont infiltrées avant la lipoaspiration avec une solution tumescente (liquide physiologique 0,9% NaCl et Adrénaline 2%) avec un ratio de 1/1 (càd volume infiltré égal au volume lipoaspiré). 500 ml de lipoaspirat sont prélevés manuellement chez chaque patiente, par le même chirurgien. La technique de prélèvement est identique chez les 5 patientes et utilise des seringues de prélèvement macrofill à incrément permettant une aspiration constante de moins de 0,5 atm et une canule de prélèvement de 3,5 mm de diamètre avec 20 trous de 2,5 mm de diamètre.

Un minimum de 550 ml sera ainsi prélevé sur chaque patiente. Ce volume sera distribué dans les différents protocole de purification, à savoir, 50 ml pour la décantation, 80 ml pour la centrifugation de type Coleman, 120 ml pour la centrifugation douce (Macrofill®), 150 ml pour la filtration passive (Puregraft®) et 150 ml pour la filtration active (Adipure®).

| Protocole de purification | Volume (ml) |
|-----------------------------------|-------------|
| Décantation | 50 |
| Centrifugation de type Coleman | 80 |
| Centrifugation douce (Macrofill®) | 120 |
| Filtration passive (Puregraft®) | 150 |
| Filtration active (Adipure®) | 150 |
| Total prélevé par patiente | 550 |

Tab. 3.2-1 : Répartition volumétrique du prélèvement graisseux des patientes selon les techniques de purification



Fig 3.2-3 : Seringue à incréments (Adip'sculpt)



Fig 2.2-4 : Canule de prélèvement (3,5mm diamètre, 20 trous de 2,5 mm de diamètre)

3.2.2 Procédures de purification adipeuse

Entre 50 et 150 ml de lipoaspirat sont utilisés pour chaque condition de purification. Les seringues de 50 ml sont stockées en position verticale pendant 10 min et le sous-nageant (liquide d'infiltration) est éliminé avant d'entreprendre les différents traitements des 5 techniques de purification.

1. **Protocole de décantation** : la seringue de 50 ml est laissée 10 min supplémentaire en position verticale avant de retirer la phase liquide.
2. **Protocole de Coleman** : 80 ml de lipoaspirat est transféré dans 2 tubes de 50 cc pour une centrifugation de 3min à 1200g (g = accélération gravitationnelle) qui correspond à 3000 tours par min. Le sous-nageant constituant la phase liquide ainsi que le surnageant constituant la phase huileuse sont éliminés.
3. **Protocole Macrofill®** : le lipoaspirat est stocké dans deux seringues de 60 ml fournies par le fabricant (*Stemcis*). Après une décantation de 5 min et l'élimination du sous-nageant (phase liquide), le tissu adipeux est lavé avec 15 ml de lactate ringer pour 35 ml de tissu adipeux. Les deux seringues sont centrifugées à 100g pendant 1 seconde permettant d'avoir une séparation douce des phases liquide et solide. Cette procédure de lavage est répétée deux fois. La troisième centrifugation est réalisée à 400g pendant 1 min (1700 tours par minute). Le sous-nageant et le surnageant (huile) sont éliminés.
4. **Protocole Puregraft®** : 150 ml de lipoaspirat sont traités selon le protocole du fabricant. Le tissu graisseux est lavé deux fois avec 150 ml de NaCl et laissé en position verticale pendant 5 min entre les lavages et l'élimination de la phase liquide.

5. **Protocole Adipure®** : 150 ml de lipoaspirat est introduit dans le système automatique. Une première centrifugation à 26g (480 tours par minute) est réalisée pendant 30 secondes (élimination de la phase liquide), puis 400 ml de NaCl sont ajoutés avec un mélange par rotation pendant 1min 30 sec, suivi d'une deuxième centrifugation à 26g pendant 30 sec (élimination de la phase liquide). Cette phase de lavage est réalisée deux fois puis une troisième centrifugation à 26g pendant 1 min et 15 sec (dernière phase d'élimination de la phase liquide).

Les seringues de 50 ml traitées par les 5 protocoles sont transférées dans des seringues de 10 ml.



Fig 3.2-5 : transfert de la graisse traitée dans des seringues de 1ml pour l'injection in-vivo

4 seringues de 10 ml (40 ml) sont réservées, pour chaque protocole, à l'analyse *in vitro* et 1 seringue (10 ml), qui sera transféré dans des seringues de 1 ml (fig 3.2-5) pour l'injection *in vivo* des souris.

| Protocole de purification | Volume initial (ml) | Nb seringues (10ml) | Analyse in vitro (ml) | Injection in vivo (ml) |
|--|---------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|
| Décantation | 50 | 5 | 40 | 10 |
| Centrifugation de type Coleman | 50 | 5 | 40 | 10 |
| Centrifugation douce (Macrofill®) | 50 | 5 | 40 | 10 |
| Filtration passive (Puregraft®) | 50 | 5 | 40 | 10 |
| Filtration active (Adipure®) | 50 | 5 | 40 | 10 |
| Total prélevé par patiente | 250 | 25 | 200 | 50 |

Tab 3.2-2 : Répartition des seringues selon les protocoles de purification

3.2.3 Expériences IN VITRO

Chaque échantillon traité par les différents protocoles est mis en culture sur une plaque de 24 puits (0,3ml de tissu dans chaque, puis combiné à 0,6ml de solution d'Eagle modifiée par Dulbecco appelé DMEM (supplémenté avec 1% de sodium purvate, 10% FBS, 1% Ultraglutamine et 1% penicillin/streptomycin). Soit 5 plaques de 24 puits par patientes, représentant donc au total 25 plaques pour l'ensemble des cinq patientes.

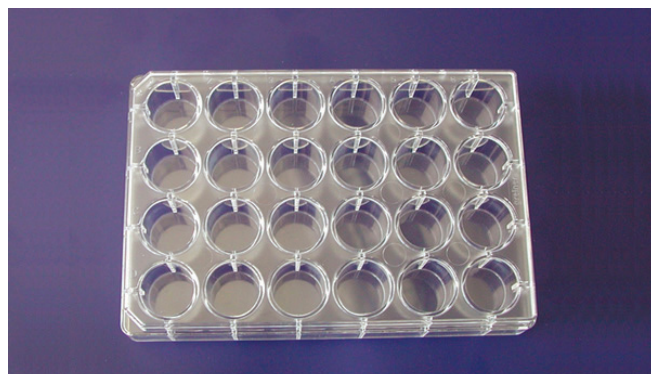


Fig 3.2-6 : plaque de 24 puits de mise en culture

Les différentes plaques sont incubées à 37°C avec 5% de CO₂ pendant 48h.

Après deux jours, les 24 puits d'un même protocole sont collectés et centrifugés à 400g pendant 2 min. L'huile et les tissus sont pesés séparément pour mesurer leur quantité.

3.2.4 Expériences IN VIVO

3.2.4.1 Animaux

Notre étude est réalisée sur 75 souris femelles adultes (âgées de 7 sem) CB17-SCID immunodéficientes, tolérant ainsi une greffe de tissu humain. Les animaux ont été fournis par le CER group de Marche-en-Famenne (Belgique). Le protocole de l'étude a été approuvé par le comité d'éthique (PS-2022-NEO-001).

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie pendant 1 semaine. Ils sont maintenus à 20-24°C, avec 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.

15 souris sont dédiées pour chaque patiente donneuse (5 patientes). Chaque souris est injectée avec deux des 5 protocoles de traitement (1 technique par flanc). Les souris sont anesthésiées avec de l'isoflurane pendant la procédure d'injection chirurgicale.

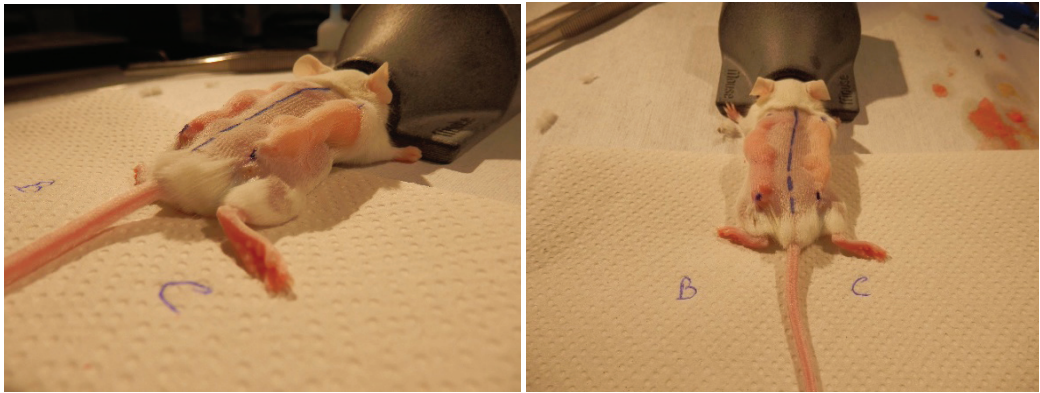
Chaque souris a été injectée avec un volume de 1ml de graisse humaine au niveau de chaque flanc avec une canule de 1,25 mm connectée sur une seringue de 1ml luer-lock. Chaque seringue est pesée avant l'injection, remplie de tissu adipeux, et repesée après, permettant de déterminer le poids de la greffe du tissu adipeux injecté.

| Patiente | Souris | Flancs | Décantation | Coleman | Macrofill® | Puregraft® | Adipure® |
|--------------|-----------|------------|-------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Patiente 1 | 15 | 30 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Patiente 2 | 15 | 30 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Patiente 3 | 15 | 30 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Patiente 4 | 15 | 30 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Patiente 5 | 15 | 30 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Total | 75 | 150 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |

Tab 3.2-3 : Répartition des flancs des souris par patientes. 15 souris par patiente avec 30 flancs et donc 6 flancs par protocole par patient.

3. Deuxième étude

Après 28 jours, les souris sont euthanasiées et les greffes adipeuses séparées de la peau, pesées avec une balance précise, et fixées dans du formaldéhyde pendant 48h pour les analyses histologiques.



Injection de graisse humaine (flancs)



→
28 jours



Analyse de la greffe

human fat



Fig 3.2-7 : protocole de TGA sur souris

3.2.4.2 Analyse histologique

Les échantillons fixés sont déshydratés dans plusieurs bains d'alcool à concentration croissante et inclus dans de la paraffine. Les blocs de paraffine sont d'abord sectionnés longitudinalement en deux moitiés. Sur chacune des faces ainsi obtenues, des niveaux successifs sont préparés au microtome sous forme de coupes de 4 µm d'épaisseur, trois sections étant prélevées sur chacune des deux moitiés.

Les lames obtenues sont ensuite colorées soit à l'hématoxyline-éosine (HE), soit au trichrome de Masson.

La coloration HE permet d'évaluer la présence de gouttelettes huileuses, les signes d'inflammation ainsi que l'homogénéité de taille et de morphologie des adipocytes, tandis que le trichrome de Masson est utilisé pour l'évaluation du degré de fibrose.

Les coupes sont scannées et les mesures et les scores histologiques sont réalisés en utilisant le NDPview software (Hamamatsu, Japan). Les greffes adipeuses, après avoir été pesées et mesurées, sont analysées histologiquement. Les paramètres étudiés sont la présence de vacuoles huileuses, de tissus fibreux, de signes inflammatoires, la taille et la forme des adipocytes. Le score histologique du TGA est utilisé dans plusieurs études (168,169) depuis 2005 et dépend de plusieurs paramètres : gouttelettes huileuses, fibrose, inflammation et morphologie des adipocytes. Ces différents paramètres sont quantifiés individuellement sur différentes échelles (voir tabl 3.3-4) puis additionné, avec un score maximal de 12.

| Gouttelettes | | Signes de | | Signes | | Taille et forme | | Score Max | |
|--------------|---|-----------|---|----------------|---|-----------------|---|-----------|--|
| Huileuses | | Fibrose | | d'inflammation | | des adipocytes | | | |
| <2% | 5 | Aucun | 3 | Aucun | 3 | Homogène | 1 | 12 | |
| 2%-5% | 4 | Minimal | 2 | Minimal | 2 | Hétérogène | 0 | | |
| 5%-10% | 3 | Modéré | 1 | Modéré | 1 | | | | |
| 10%-15% | 2 | Etendue | 0 | Etendue | 0 | | | | |
| 15-20% | 1 | | | | | | | | |
| >20% | 0 | | | | | | | | |

Tabl 3.3-4 : Scores histologiques : le plus haut score sera attribué à la greffe de meilleure qualité et les scores plus bas seront attribués à la greffe de mauvaise qualité.

3.2.4.3 Analyse statistique

Les variables quantitatives présentant une distribution normale sont décrites par la moyenne et l'écart-type (SD), tandis que celles dont la distribution s'écarte de la normalité sont résumées par la médiane et l'intervalle interquartile (IQR : P25–P75). Les variables qualitatives sont exprimées en effectifs absolus et en fréquences relatives (%). La comparaison des moyennes entre deux groupes a été réalisée à l'aide du test t de Student pour échantillons indépendants lorsque les conditions d'application (normalité et homogénéité des variances) étaient respectées ; dans le cas contraire, le test non paramétrique de Mann–Whitney a été utilisé. Les proportions ont été comparées par le test du chi carré ou, en présence d'effectifs faibles, par le test exact de Fisher. Pour les comparaisons intra-sujets (variables appariées), les moyennes ont été comparées à l'aide du test t de Student pour échantillons appariés lorsque les hypothèses de normalité étaient vérifiées ; sinon, le test non paramétrique des rangs signés de Wilcoxon a été appliqué. Les proportions appariées ont été analysées à l'aide du test de McNemar. Le seuil de significativité statistique a été fixé à 5% ($p < 0,05$). Toutes les analyses ont été effectuées sur le nombre maximal d'observations disponibles. Les traitements statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Prism software (GraphPad, La Jolla USA).

3.3 Résultats

3.3.1 Analyses IN VITRO

3.3.1.1. Résorption tissulaire en culture

Les lipoaspirats des 5 patientes donneuses et traités par les 5 protocoles sont mis en culture pendant 2 jours dans un milieu de culture (DMEM). Après deux jours de culture, les échantillons subissent une séparation des phases par centrifugation (400g) pendant 2 minutes.

La quantité de tissu 'solide' et l'huile sont pesés après leur séparation de phase.

Les tissus 'solides' sont significativement plus élevés pour le protocole Coleman et Adipure® ($2,93 \pm 0,21$ g pour le Coleman et $3,23 \pm 0,19$ g pour Adipure®) comparé à la décantation ($2,48 \pm 0,17$ g), Puregraft® ($2,71 \pm 0,2$ g) ou le Macrofill® ($2,62 \pm 0,21$ g) (voir fig 3.3-1).

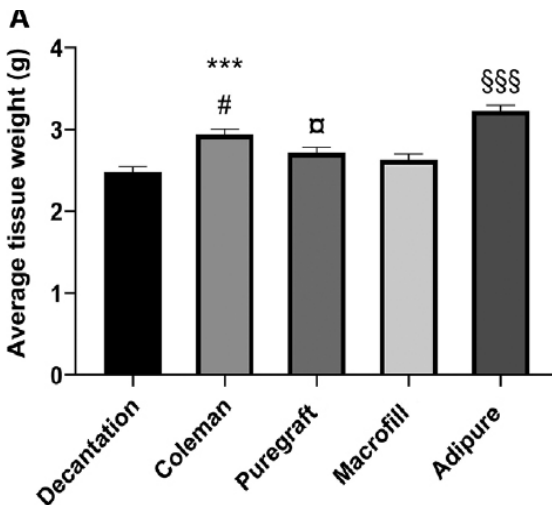


Fig 3.3-1 : Evaluation du tissu adipeux IN VITRO après les purifications avec les 5 différents protocoles.

(n = 5 patientes), càd 25 plaques de 24 puits (5 plaques par patiente, 1 plaque par protocole par patient). Chaque protocole représente la moyenne par technique (moyenne de 5 plaques). §§§ p<0,005 comparé aux autres protocoles et *** p<0,0005 comparé à la décantation et macrofill. #p<0,05 comparé au Puregraft.

Mise en culture de 48h, mesure de la phase adipeuse tissulaire.

La quantité du tissu adipeux est significativement plus haute avec le protocole Adipure® comparé aux autres techniques, y compris la méthode Coleman (§§§ : p<0.0001 comparé aux autres conditions).

3.3.1.2. Huile en culture

La quantité d'huile est mesurée après 48h de culture. Dans les protocoles utilisant un système de filtration (Puregraft® et Adipure®), seulement de très faibles volumes ont été détectés et mesurés ($0,055 \pm 0,013$ g pour Puregraft® et $0,01 \pm 0,007$ g pour Adipure®), correspondant respectivement à 2% et 0,3% de la quantité tissulaire), tandis que des

quantités plus importantes d'huile ont été mesurés dans les autres protocoles (0,185 ± 0,077g pour la décantation, 0.143 ± 0,078g pour le Coleman et 0,185 ± 0,067g pour le Macrofill®) correspondant respectivement à 7,45%, 4,9% et 7% de la quantité tissulaire.

B

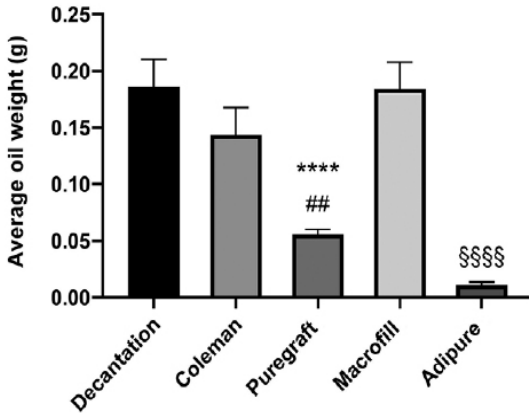


Fig 3.3-2 : Mesure In Vitro de la quantité d'huile après purification avec les 5 techniques différentes. Chaque technique est représentée par la moyenne d'huile des 5 plaques représentant les 5 patientes. ## p<0,001 comparé à la technique de Coleman. **** p<0,0001 comparé à la décantation et au Macrofill®. §§§§ p<0,0001 comparé au Puregraft®.

La quantité d'huile est significativement plus basse (proche de zéro) avec le protocole Adipure® comparé aux autres techniques (§§§§ p<0,0001 comparé aux autres conditions).

3.3.2 Analyses IN VIVO

3.3.2.1 Survie tissulaire après 1 mois

Après 1 mois, les greffes adipeuses sont prélevées des souris et le poids tissulaire est mesuré (Fig 3.3-3).

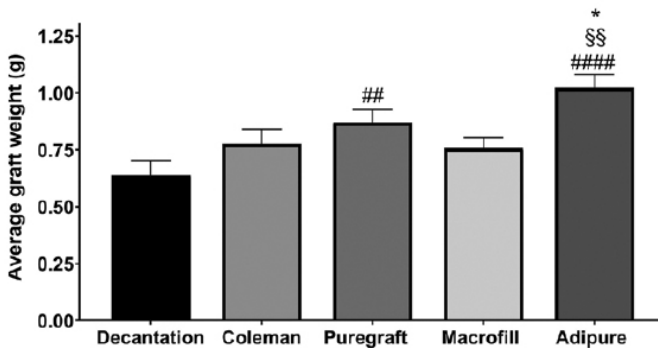


Fig 3.3-3 : Evaluation in vivo de la greffe adipeuse, 1 mois après l'implantation sous cutanée. Les greffes adipeuses ont été traitées avant l'implantation par une des 5 techniques de purification étudiées. (n=5 patientes, n=6 injections par technique et par patiente). La greffe adipeuse est entièrement prélevée après 1 mois et pesée. Les résultats sont exprimés en moyenne. *p<0,1 adipure comparé à Puregraft®. ## p<0,01 et #### p<0,0001 comparé à la décantation. §§ p<0,01 adipure® comparé à Coleman et au Macrofill®.

Les protocoles utilisant une méthode de filtration, soit passive (Puregraft®) ou active (Adipure®, filtration rotative), donnent de meilleurs résultats ($0,87 \pm 0,0155g$ pour le puregraft® et $1,02 \pm 0,058g$ pour l'Adipure®) comparé aux autres techniques ($0,63 \pm 0,064g$ pour la décantation, $0,77 \pm 0,065g$ pour la méthode Coleman et $0,75 \pm 0,048g$ pour le Macrofill®). La technique Adipure® est statistiquement supérieure en termes de taille et de poids de la greffe adipeuse comparé aux autres techniques étudiées.

3.3.2.2 Etude du score histologique à 1 mois

Plus le score histologique est bas, moins la qualité de la greffe sera élevée (plus de kystes huileux, tissus fibreux et signes inflammatoires) (tabl 3.3-4).

Les résultats globaux des scores histologiques sont présentés dans la fig 3.3-4.

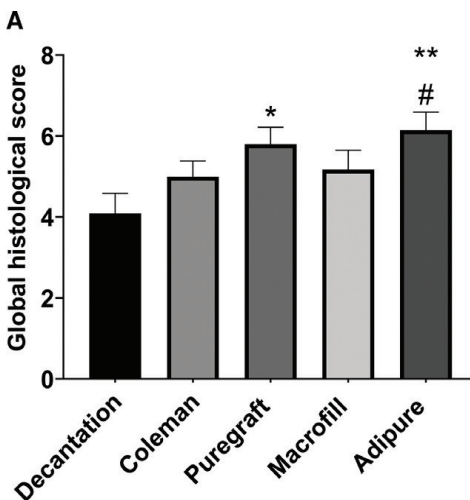


Fig 3.3-4 : Evaluation des greffes adipeuses selon le score histologique global 1 mois après l'implantation sous-cutanée. Les greffes adipeuses sont purifiées selon 5 techniques différentes. (n=5 patientes, n=6 injections par technique et par patiente). L'entièreté de la greffe est prélevée après 1 mois *p<0,05 et **p<0,01 comparé à la décantation. #p<0,1 comparé à la technique Coleman..

Le score histologique est basé sur des colorations Hématoxyline-Eosine et Trichrome de Masson. Les sections longitudinales sont préparées à deux niveaux différents. Le score global inclut les gouttelettes huileuses, l'inflammation, la fibrose et la taille et forme des adipocytes.

Les protocoles utilisant des méthodes de filtration, soit passive (Puregraft®), soit active (Adipure® avec filtration rotative), donnent les meilleurs scores histologiques ($5,8 \pm 0,41$ pour Puregraft® et $6,14 \pm 0,45$ pour Adipure®), tandis que la décantation a le score histologique le plus bas ($4,09 \pm 0,5$). Les techniques utilisant la centrifugation conventionnelle (forte avec 1200g pour Coleman et douce avec 400g pour le Macrofill®) donnent des scores histologiques intermédiaires ($5 \pm 0,38$ pour Coleman et $5,17 \pm 0,47$ pour Macrofill®).

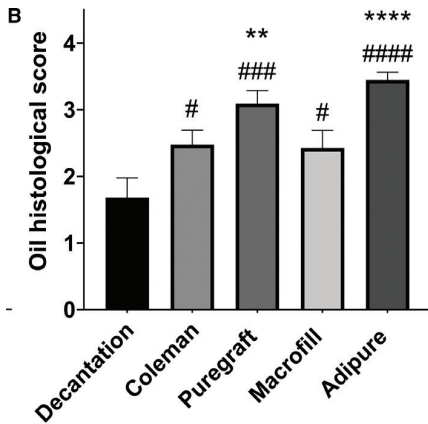


Fig 3.3- 5 : Score huileux spécifique par technique. ** $p < 0,05$ et **** $p < 0,001$ comparé avec les techniques de Macrofill et Coleman. # $p < 0,1$, ### $p < 0,001$ et #### $p < 0,0001$ comparé à la décantation.

La Fig 3.3-5 montre les résultats du score histologique spécifique aux gouttelettes huileuses (score maximal de 5), qui est le marqueur principal de l'intégrité du TGA. De la même manière que pour le score global, mais de façon encore plus marquée, les protocoles utilisant une méthode de filtration obtiennent les scores les plus élevés ($3,09 \pm 0,19$ pour Puregraft® et $3,45 \pm 0,11$ pour Adipure®), tandis que la purification par centrifugation donne des résultats intermédiaires ($2,47 \pm 0,22$ pour Coleman et $2,42 \pm 0,26$ pour Macrofill®). Le score de gouttelettes huileuses est significativement plus élevé avec Puregraft® et Adipure® par rapport à toutes les autres techniques. Les résultats histologiques représentatifs de chaque condition sont illustrés dans la figure 3.3-6.

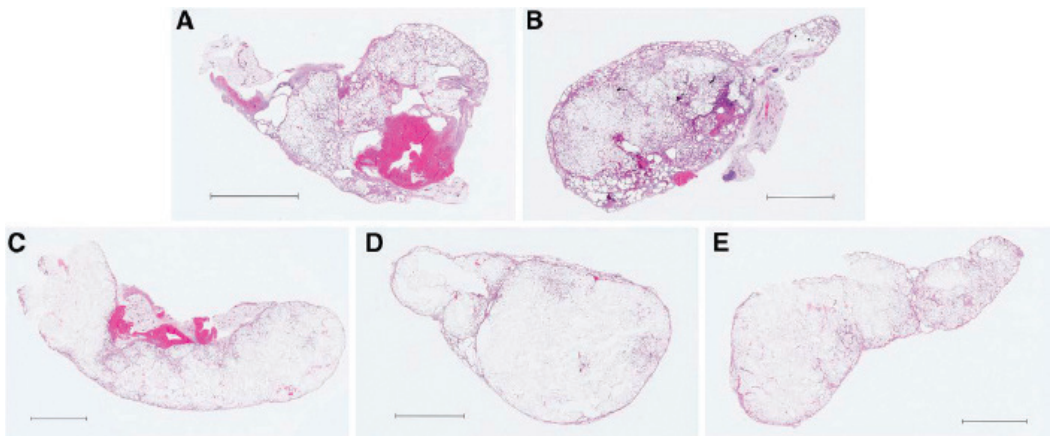


Fig 3.3-6 : Résultats histologiques des greffes adipeuses prélevées 1 mois après l'implantation sous-cutanée, selon les différentes techniques. Les images histologiques colorées avec de l'Hématoxiline-Eosine (A : Décantation, B : Coleman, C : Puregraft, D : Macrofill et E : Adipure). L'échelle sur les coupes représente 5 mm.

3.4. Discussion

Le TGA est actuellement une technique faisant partie de l'armementarium de la chirurgie plastique. Il est utilisé dans de multiples domaines, que ce soit pour la chirurgie de reconstruction ou pour la chirurgie esthétique ou encore la chirurgie régénératrice.

Cependant, la résorption du tissu graisseux après transfert reste très variable engendrant des résultats inconstants.

La qualité du tissu autologue dépend directement des techniques de purification utilisées pour extraire la phase liquide (liquide d'infiltration, dérivés sanguins, huile, ...) en vue d'obtenir un tissu graisseux homogène d'adipocytes viables.

Au cours de la dernière décennie, le TGA a suscité un regain d'intérêt considérable, en raison de ses nombreuses indications en reconstruction et augmentation mammaire. Contrairement au lipofilling facial, le TGA mammaire nécessite la préparation de volumes bien plus importants de tissu adipeux, ce qui constitue un véritable défi pour l'équipe chirurgicale, à la fois pour le temps opératoire et pour le respect des conditions de stérilité.

Ces dernières années, plusieurs dispositifs médicaux ont été commercialisés. Même si les protocoles tendent à évoluer favorablement, notamment grâce à l'ajout d'étapes de lavage dont l'efficacité est démontrée (153,170), le TGA de grand volume se heurte encore à deux difficultés majeures :

- pour les patientes : la résorption tissulaire après injection,
- pour l'équipe opératoire : le temps de préparation et le maintien de conditions aseptiques optimales.

La manipulation du tissu adipeux demeure en grande partie manuelle, et les études *in vitro/in vivo* peinent à démontrer une supériorité nette d'une technique ou d'un dispositif par rapport aux autres. Certaines publications rapportent un avantage à la centrifugation associée à un lavage (142,153), d'autres à la filtration avec lavage (143), tandis que plusieurs travaux ne constatent aucune différence significative, que ce soit *in vivo* (171) ou en clinique (143,172,173), entre centrifugation et filtration passive.

Partant de ce constat, nous avons développé un nouveau dispositif dédié au TGA (Adimate®/Adipure®), visant à optimiser à la fois l'efficacité de la greffe et le temps de préparation en salle d'opération. Ce système associe :

- un automate permettant la lipoaspiration et l'infiltration,
- un kit stérile à usage unique assurant un traitement automatisé du tissu adipeux par filtration combinée à une centrifugation à 26g, intégrant deux lavages automatiques.

Dans cette 2^{ème} étude (131), nous avons comparé la qualité du tissu obtenu avec ce dispositif à celle obtenue avec d'autres systèmes du marché (centrifugation ou filtration), ainsi qu'avec les techniques conventionnelles les plus répandues (méthode Coleman et décantation). Une approche *in vivo* a été retenue afin de s'approcher au mieux de l'efficacité clinique potentielle. Bien qu'elle ne remplace pas une étude clinique humaine, l'utilisation d'un

modèle de xénogreffe chez des souris immunodéficientes offre l'avantage de permettre une quantification histologique précise de la qualité et du succès de la greffe adipeuse, et ce modèle est aujourd'hui très largement reconnu pour sa fiabilité (142,153,171).

Le prélèvement du tissu adipeux a été réalisé de manière identique pour toutes les techniques (prélèvement manuel à la seringue avec la même canule), sous faible dépression (< 0,5 atm), et sans anesthésique local dans la solution d'infiltration (anesthésie générale), afin de limiter la mortalité cellulaire (150,156).

Les résultats confirment plusieurs données de la littérature : la **décantation** simple du tissu donne des résultats inférieurs à toutes les autres techniques testées (143,153,174–176) Cette méthode laisse jusqu'à 30 % de phase liquide, ce qui peut expliquer une efficacité de greffe faible (~60 %)(132) (figure 3.3-3). Les résultats histologiques sont également médiocres, avec un score global de 4/12 (figure 3.3-4) et un nombre élevé de gouttelettes huileuses (1,68/4 dans la figure 3.3-5). Bien que rapide et peu coûteuse, la décantation apparaît donc comme la technique la moins efficace pour purifier le tissu adipeux et devrait être évitée.

Les techniques de **centrifugation**, qu'elles soient réalisées à haute vitesse sans lavage (1200g, Coleman) ou à vitesse modérée avec lavage (400g, Macrofill®), donnent des résultats similaires *in vivo*, tant en efficacité de greffe (0,77 g vs 0,75 g dans la figure 3.3-3), qu'en score histologique global ($5 \pm 0,38$ vs $5,17 \pm 0,47$ / 12 dans la figure 3.3-4) ou en score spécifique lié à la quantité d'huile ($2,47 \pm 0,22$ vs $2,42 \pm 0,26$ / 4 dans la figure 3.3-5).

Les performances obtenues avec Macrofill® en modèle murin (75 % d'efficacité) correspondent à celles rapportées cliniquement (70 % de survie de greffe) (130), dans notre première étude.

De manière surprenante, les résultats *in vitro* semblent favoriser la méthode Coleman par rapport à Macrofill®, alors même que les conditions de purification du second (vitesse plus faible et lavages intégrés) devraient théoriquement mieux préserver l'intégrité du tissu adipeux. Toutefois, cette différence n'est significative que pour la quantité de tissu obtenue, avec une différence relativement modeste entre les deux techniques ($0,77 \pm 0,065$ g pour la technique de Coleman et $0,75 \pm 0,048$ g par le Macrofill®, fig 3.3-3).

En tout état de cause, cela confirme qu'une étude comparative fiable ne peut pas se limiter à des expérimentations *in vitro* et qu'un modèle *in vivo* permet d'obtenir des données transposables à la clinique de manière plus pertinente.

Nos observations de la deuxième étude corroborent également les travaux montrant l'intérêt des techniques de **filtration** avec lavage pour préserver l'intégrité et la viabilité cellulaire, par rapport à la centrifugation classique (143,170). Ainsi, les dispositifs Puregraft® et Adipure®, tous deux basés sur la filtration avec deux lavages, donnent des résultats supérieurs aux autres techniques. Cela se reflète globalement aussi bien *in vitro* (quantité d'huile, fig 3.3-2) qu'*in vivo*, en terme de survie graisseuse (poids, fig 3.3-3) et de qualité (histologie, fig 3.3-4 et fig 3.3-5).

La moindre performance *in vitro* de Puregraft® par rapport à Coleman peut s'expliquer par un résidu de liquide plus élevé (20 à 25 %) lié à la filtration passive (figure 3.3-1), alors que *in vivo*, Puregraft® pourrait bénéficier d'un moindre traumatisme cellulaire (fig 3.3-3).

Dans notre étude comparative (131), Adipure® (**filtration active**) donne des résultats significativement meilleurs que le Puregraft® (filtration passive), à la fois *in vitro* et *in*

vivo en terme de survie grasseuse (poids du greffon, figure 3.3-4), avec une survie grasseuse de $\pm 100\%$ après 1 mois.

Cette supériorité peut à nouveau s'expliquer par la quantité de liquide présente dans le tissu après purification, mesurée entre 5 et 10% en moyenne après le protocole Adipure®, soit encore 15% de moins que le Puregraft®, ce qui, in fine, a un impact bénéfique sur la survie grasseuse (figure 3.3-4).

Les analyses histologiques confirment cette hypothèse, car aucune différence significative n'est observée dans les coupes histologiques entre les deux méthodes, ce qui confirme l'intérêt de la filtration pour préserver l'intégrité des cellules grasses (figures 3.3-4 et 3.3-5, 3.3-6).

Cette étude présente plusieurs limites et sources potentielles de biais. Il s'agit d'un travail unicentrique, réalisé par un seul opérateur, ce qui limite la généralisation des résultats. Une étude multicentrique, impliquant plusieurs chirurgiens, renforcerait la puissance statistique et la validité des conclusions.

La taille de l'échantillon pourrait également être augmentée afin d'améliorer la robustesse des observations. Par ailleurs, la durée d'incubation des souris avec le TGA, fixée ici à 28 jours, pourrait être prolongée afin d'atteindre le plateau de survie volumétrique observé cliniquement à cinq mois.

Enfin, les analyses histologiques pourraient être approfondies. L'ajout de marqueurs immunohistochimiques permettrait de caractériser plus précisément la nature et la densité des cellules inflammatoires, ainsi que le degré de fibrose, offrant ainsi une lecture plus fine des processus biologiques en jeu.

3.5 Résumé et conclusion de la deuxième étude

Cette deuxième étude (131) avait pour objectif de comparer l'efficacité de cinq techniques de purification du tissu grasseux : la décantation, la centrifugation classique (méthode Coleman), la centrifugation douce avec lavages (Macrofill®), la filtration passive (Puregraft®) et la filtration active (Adipure®).

Les prélèvements adipeux ont été répartis selon des protocoles standardisés, puis analysés à la fois *in vitro* et *in vivo*. Les expérimentations *in vitro* ont permis d'évaluer la proportion de tissu grasseux viable, la quantité de liquide et d'huile résiduelle. Les analyses *in vivo* ont consisté en des xéno greffes sur des souris immunodéficientes, permettant d'évaluer la survie tissulaire, l'intégrité histologique et la présence éventuelle de fibrose ou kystes huileux.

Les résultats mettent en évidence des différences nettes entre les techniques. La **décantation** apparaît comme la méthode la moins performante, en raison d'une purification incomplète et d'une moindre qualité des greffons. Les techniques de **centrifugation**, qu'elles soient classiques (Coleman) ou plus douces et associées à des lavages, offrent des résultats intermédiaires mais ne garantissent pas une homogénéité optimale du tissu.

En revanche, les systèmes de **filtration** se distinguent par leur capacité à préserver l'intégrité cellulaire ainsi qu'à limiter la présence d'huile et de liquide. Parmi ceux-ci, le dispositif Adipure®, basé sur une **filtration active** avec lavages automatisés, présente les performances les plus favorables, tant sur le plan quantitatif que qualitatif.

Ces résultats suggèrent que la standardisation de la purification du tissu adipeux par filtration active automatisée représente une avancée significative dans le domaine du TGA.

4.

DISCUSSION GENERALE

4. DISCUSSION GENERALE

J'ai tenté de maintenir, dans ce travail, un fil conducteur de nos deux travaux dans le transfert graisseux autologue (TGA), en justifiant que la qualité du greffon dépend d'abord de sa préparation, qui peut être (ou doit être) standardisée pour apporter des résultats prévisibles et reproductibles. La première étude (130) clinique, montre que l'on peut atteindre une rétention volumétrique stable (70%) après retouches post-DIEP en combinant prélèvement à faible dépression, lavages répétés, centrifugation modérée et réinjection en "spaghettis". La seconde, expérimentale (131), démontre que, parmi les procédés de purification, la filtration surpasse la décantation et les centrifugations classiques, et que la **filtration active** (rotative, à faible *g*, avec lavages automatisés) constitue le meilleur compromis entre extraction de phase aqueuse/huileuse et préservation des adipocytes ainsi que de la SVF.

Ce que dit la clinique (étude 1)

Dans les retouches de reconstructions mammaires par lambeaux autologues DIEP, le problème clinique est double : excès de volume au pôle supérieur (corrigé par lipoaspiration) et manque de projection au pôle inférieur (corrigé par TGA). L'étude a testé une chaîne opératoire rigoureuse : aspiration douce (pour limiter le traumatisme cellulaire lors du prélèvement), lavages itératifs (pour ôter anesthésiques locaux, dérivés sanguins et médiateurs inflammatoires), centrifugation douce (pour concentrer le greffon sans lyse) et réinjection rétro-traçante en dépôts fins (pour favoriser la revascularisation). Mesurée par photographie 3D, la variation volumétrique post-opératoire suit une pente initiale de résorption courte puis un plateau avec 70 % de rétention ; la réduction du pôle supérieur reste stable, et les antécédents de radiothérapie ne réduisent pas ces résultats de survie graisseuse lorsque la préparation est optimisée. Nous pouvons donc en conclure qu'un greffon pauvre en phase liquide et peu traumatisé se revascularise vite, limite les nécroses centrales stabilisant ainsi son volume.

Ce que montre l'expérimentation (étude 2)

L'analyse comparative des différentes méthodes de purification met en évidence une hiérarchisation nette des performances selon la technique utilisée.

La **décantation**, bien que simple à mettre en œuvre, s'avère lente et laisse persister une fraction liquidienne importante ainsi qu'une proportion accrue de débris et d'huile. Ces caractéristiques se traduisent *in vivo* par une survie de greffe plus faible et des scores histologiques dégradés.

Les **centrifugations** présentent une efficacité intermédiaire : les hautes vitesses permettent une extraction accrue des liquides, mais induisent une lyse cellulaire importante générant davantage d'huile. À l'inverse, une centrifugation douce, lorsqu'elle est associée à des lavages répétés, limite mieux la dégradation cellulaire, tout en restant inférieure à la filtration.

La **filtration passive**, qui associe un mécanisme de tamisage mécanique à des lavages, permet une meilleure préservation tissulaire. Toutefois, son efficacité demeure

partiellement dépendante de la gravité ou de la pression manuelle appliquée, et un résidu liquidien significatif peut persister.

En revanche, la **filtration active**, telle que mise en œuvre dans le dispositif Adipure®, combine l'application d'une pression transmembranaire (selon la loi de Darcy), une faible force centrifuge et des lavages standardisés dans un circuit fermé. Ce procédé aboutit à une réduction optimale des phases aqueuses et huileuses, se traduisant par un greffon plus homogène, une meilleure survie du tissu adipeux et de meilleurs scores histologiques, caractérisés par une diminution des gouttelettes huileuses et une architecture adipocytaire mieux préservée.

Ces résultats expérimentaux fournissent une explication cohérente aux observations cliniques : c'est la réduction stricte des phases excédentaires, combinée à une limitation des contraintes mécaniques, qui conditionne la survie des adipocytes et le maintien du potentiel régénératif de la SVF et des ADSC.

La supériorité de la filtration active repose sur la combinaison de trois leviers physico-biologiques complémentaires. Tout d'abord, la rotation de la colonne filtrante génère une pression transmembranaire accrue à faible force centrifuge, ce qui augmente le gradient de pression à travers le filtre et accélère l'évacuation des phases liquides. Cette dynamique permet d'obtenir une purification plus efficace tout en évitant les contraintes mécaniques délétères associées aux forces centrifuges élevées. Ensuite, l'intégration de lavages séquentiels standardisés favorise l'élimination des anesthésiques locaux, en particulier la lidocaïne, mais aussi des dérivés sanguins et des médiateurs pro-inflammatoires.

Ce processus contribue à purifier le greffon et à réduire sa charge inflammatoire initiale, améliorant ainsi la viabilité cellulaire. Enfin, le fonctionnement en circuit fermé et automatisé limite les manipulations manuelles, ce qui diminue les risques de contamination et d'oxydation.

La continuité logique entre nos deux travaux se construit autour d'une progression cohérente. La première étude a validé cliniquement l'intérêt d'un greffon concentré et lavé par des moyens manuels méticuleux, confirmant qu'un tissu pauvre en phase aqueuse et huileuse, respectant l'intégrité cellulaire offre une meilleure stabilité volumétrique.

La seconde étude a démontré qu'à technologie comparable, la filtration, en particulier active, permettait d'obtenir une qualité tissulaire supérieure et une performance *in vivo* accrue. De cette double validation découle l'émergence d'Adimate®/Adipure®: un dispositif automatisé associant un système d'aspiration et d'infiltration à un kit stérile à usage unique, réalisant une filtration rotative à faible force centrifuge couplée à des lavages en circuit fermé, puis assistant la réinjection. Ce système incarne l'opérationnalisation des principes qui maximisent la viabilité adipocytaire et standardise ce que la main humaine peine à reproduire de manière identique, en particulier lorsque les volumes à traiter deviennent importants.

Ce qu'il reste à démontrer en pratique clinique (études à venir)

Sur le plan pratique, plusieurs bénéfices peuvent être attendus. Le dispositif devrait produire un greffon plus homogène, moins huileux et moins aqueux, ce qui favorise une revascularisation rapide, diminue l'incidence des kystes huileux et de la cytotéatonecrose, et réduit ainsi les chirurgies répétées. L'automatisation garantit une meilleure prédictibilité, en limitant la variabilité inter-opérateur et inter-patiente grâce au verrouillage des paramètres clés (force centrifuge, durée, volumes de lavage). Par ailleurs, l'efficacité opératoire est renforcée : la réduction des manipulations diminue les « temps morts », améliore la sécurité en maintenant des conditions aseptiques sur l'ensemble de la chaîne et s'avère particulièrement déterminante dans les indications de transfert graisseux de grand volume.

Ces observations reposent sur des arguments notables : des preuves complémentaires issues à la fois d'une étude clinique réelle et d'un modèle de xéno-greffe contrôlée, des mesures objectivées par photographie 3D et par analyses histologiques scorées. Certaines limites doivent toutefois être soulignées : la première étude était monocentrique et non comparative, tandis que la seconde reposait sur un modèle murin, dont la transposabilité à l'humain, bien que forte, n'est pas totale. Ces limites ne remettent pas en cause le signal convergent observé, mais mettent en évidence la nécessité d'une validation supplémentaire notamment en clinique humaine.

La suite logique consisterait en une étude prospective multicentrique étudiant la filtration active (Adimate®/Adipure®). Cette étude devrait évaluer comme critères principaux : la rétention volumétrique 3D, le taux de retouches, les complications (kystes huileux, cytotéatonecrose), le temps opératoire et la satisfaction des patientes. Des sous-analyses devront également être menées selon des paramètres contextuels tels que la radiothérapie antérieure, le morphotype, les volumes injectés ou encore les sites donneurs, avec un suivi prolongé d'au moins six à douze mois afin d'évaluer la stabilité des résultats.

En d'autres termes, ce dispositif ouvre la voie vers un transfert graisseux plus fiable et reproductible.

5.

CONCLUSION

5. CONCLUSION

Le transfert graisseux autologue (TGA) s'est progressivement imposé comme une technique chirurgicale incontournable dans la reconstruction mammaire, à la croisée des chemins de la chirurgie plastique, de la médecine régénérative et de l'oncologie. Longtemps controversé en raison des incertitudes sur sa sécurité oncologique et la variabilité de la survie graisseuse, il bénéficie aujourd'hui d'un corpus scientifique solide, validé par les principales sociétés savantes internationales. Son efficacité dans la correction des séquelles post-chirurgicales, dans la restauration des volumes et dans l'amélioration de la trophicité tissulaire est désormais pleinement reconnue.

La greffe adipeuse ne se limite plus à une simple technique de comblement. Grâce à la présence dans le tissu adipeux de cellules souches mésenchymateuses (ADSC) et de la fraction vasculaire stromale (SVF), elle agit également comme un vecteur régénératif. Ces cellules contribuent à la néoangiogenèse, modulent les réponses inflammatoires et stimulent les processus de réparation tissulaire, en particulier dans des tissus irradiés. Ce potentiel biologique confère au TGA un rôle thérapeutique élargi, ouvrant la voie à des reconstructions mammaires plus naturelles, sans recours systématique aux implants ou lambeaux.

Dans ce cadre, notre travail s'organise autour de deux études principales que nous avons réalisées. La première avait pour objectif d'évaluer la performance du Macrofill®, qui associe centrifugations douces à des phases de lavage, dans la perspective d'un transfert graisseux autologue. Elle a mis en évidence que l'association d'une centrifugation douce (400 g) à deux lavages successifs permettait d'obtenir une survie graisseuse supérieure à 70 %, y compris dans des tissus mammaires irradiés. Cela nous a conduit à la conception du dispositif médical automatisé Adimate®, en introduisant le concept de filtration active. Ces résultats ont conduit à la conception et au développement d'un dispositif médical innovant : Adimate®. Ce système automatisé, en circuit fermé, assure une purification standardisée du tissu adipeux par filtration active avec lavages. Conçu pour garantir un environnement stérile et reproductible, Adimate® combine les étapes de prélèvement, traitement et réinjection dans une séquence fluide et sécurisée. L'objectif est de réduire la variabilité inter opérateur, de diminuer le temps de purification, d'optimiser la qualité du greffon et de faciliter l'usage en pratique quotidienne, tout en respectant les exigences réglementaires des dispositifs médicaux.

La deuxième étude de ce travail, menée *in vitro*, a montré que la technique de filtration active associée à un lavage (Adipure®) permettait d'éliminer une part significative de phase huileuse et de contaminants tout en améliorant la viabilité cellulaire. En comparaison avec la centrifugation classique, la simple décantation et la filtration passive, les tissus obtenus présentaient une meilleure intégrité histologique des adipocytes, moins de kystes huileux *in vivo* sur la souris. La survie graisseuse est, également, supérieure aux autres techniques.

Au-delà de la technique, les perspectives à plus long terme du TGA se dessinent à l'interface de la biologie cellulaire et de l'ingénierie tissulaire. L'association du lipofilling à des matrices tridimensionnelles résorbables (scaffolds) constitue une approche

prometteuse pour la reconstruction mammaire autologue. Ces biomatériaux, imprimés en 3D ou d'origine biologique, servent de structure temporaire pour la colonisation par le tissu greffé.

Ils favorisent l'organisation tridimensionnelle du néo tissu, facilitent la différenciation des ADSCs en adipocytes matures et soutiennent la néo angiogenèse nécessaire à la viabilité du greffon.

Sur le plan oncologique, les inquiétudes initiales quant à un risque potentiel de récurrence ont été largement dissipées. Les méta-analyses récentes, notamment celle de Lo Torto en 2024 (portant sur plus de 14000 patientes), confirment l'absence de lien entre TGA et augmentation du risque néoplasique. La vigilance reste néanmoins de mise, et la rigueur des indications, du geste et le suivi radiologique doivent être strictement respectés. Les modifications d'imagerie induites par le TGA (microcalcifications, kystes huileux, zones de cytotéatonecrose) sont aujourd'hui bien connues et facilement différenciables des lésions suspectes par des radiologues entraînés.

En définitive, le TGA occupe désormais une place centrale dans l'arsenal thérapeutique du chirurgien plasticien. Il ne s'agit plus simplement de transplanter un volume graisseux, mais bien de transférer une unité cellulaire et fonctionnelle complexe, capable de participer activement à la régénération tissulaire. Grâce à l'intégration des avancées technologiques (comme Adimate®), biologiques (SVF, ADSCs, PRP) et structurelles (scaffolds 3D), la reconstruction mammaire devient une procédure personnalisée, reproductible et centrée sur la biologie cellulaire.

Cette approche marque une évolution majeure dans la manière de concevoir la chirurgie reconstructive, en s'inscrivant pleinement dans les principes de la médecine régénérative et de la chirurgie de demain.

6.

BIBLIOGRAPHIE

1. Neuber GA. Fetttransplantation. Chir Kongr Verhandl Deutsche Gesellschaft chir. 1893;22:66.
2. Czerny Vincent. Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein Lipom. 1897;27:72.
3. Hollander E. Die Kosmetische Chirurgie. In: Handbuch der Kosmetik. Joseph M. Leipzig; 1912. p. 690-1.
4. Lexer E. Die Freien Transplantationen. Annals of Surgery,. 1914; 60(2) : 166-194.
5. Gillies Harold D. Plastic surgery of the face. Frowde, Hodder, Stoughton. London; 1920.
6. Illouz YG, Illouz YG. Body Contouring by Lipolysis: A 5-Year Experience with over 3000 Cases. Plastic and Reconstructive Surgery 1983;72(5): 591-597.
7. Fournier PF. Therapeutic Megalipoextraction or Megaliposculpture. *os*. 1 avr 1996;6(2):167-79.
8. Bircoll Mel. Cosmetic Breast Augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. Plastic and Reconstructive Surgery. 1987;267-71.
9. Ellenbogen R. Free Autogenous Pearl Fat Grafts in the Face-A Preliminary Report of a Rediscovered Technique. Annals of Plastic Surgery. mars 1986;16(3):179 -194..
10. Report on autologous fat transplantation. ASPRS Ad-Hoc Committee on New Procedures, September 30, 1987. *Plast Surg Nurs*. 1987;7(4):140-1.
11. Brown F, Sargent S, Cohen SR, Morain WD. Mammographic changes following reduction mammoplasty. Plastic & Reconstructive Surgery. 1987; 80(5) :691-698.
12. Kneeshaw PJ, Lowry M, Manton D, Hubbard A, Drew PJ, Turnbull LW. Differentiation of benign from malignant breast disease associated with screening detected microcalcifications using dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging. *The Breast*. 1 févr 2006;15(1):29-38.
13. Kim S, Park J. Mammographic and ultrasonographic features after autogenous myocutaneous flap reconstruction mammoplasty. *Journal of Ultrasound Med*. 2004;23:275-282.
14. Chala F, De Barros N, De Camargo Moraes P. Fat necrosis of the breast : mammographic, sonographic, computed tomography and magnetic resonance imaging findings. *Curr Probl DiagnRadiol*. 2004;33:106-126.
15. Fischer U, Baum F, Obenauer S. Comparative study in patients with microcalcifications: Full-field digital mammography vs screen-film mammography. *Eur Radiol*. 2002;(12):2679.
16. Coleman SR. Lipoinfiltration of upper lip white roll. *Aesthetic Surgery Journal*. 1994;431-4.
17. Coleman SR SR. The technique of periorbital lipoinfiltration. *Operat Tech Plast Reconstr Surg*. 1994;(1):20-6.
18. Delay E, Garson S, Tousson G, Sinna R. Fat Injection to the Breast: Technique, Results, and Indications Based on 880 Procedures Over 10 Years. *Aesthetic Surgery Journal*. sept 2009;29(5):360-76.
19. Gutowski KA. Current Applications and Safety of Autologous Fat Grafts: A Report of the ASPS Fat Graft Task Force. *Plastic and Reconstructive Surgery*. juill 2009;124(1):272-80.
20. Lohsiriwat V, Curigliano G, Rietjens M, Goldhirsch A, Petit JY. Autologous fat transplantation in patients with breast cancer: "silencing" or "fueling" cancer recurrence? *The Breast*. août 2011;20(4):351-7.
21. Évaluation de la sécurité et des conditions de réalisation de l'autogreffe de tissu adipeux dans la chirurgie reconstructrice, réparatrice et esthétique du sein. Haute Autorité de Santé. (2015).
22. Petit JY, Lohsiriwat V, Clough KB, Sarfati I, Ihrai T, Rietjens M, *et al*. The Oncologic Outcome and Immediate Surgical Complications of Lipofilling in Breast Cancer Patients: A Multicenter Study—Milan-Paris-Lyon Experience of 646 Lipofilling Procedures: *Plastic and Reconstructive Surgery*. août 2011;128(2):341-6.

23. Breast reconstruction using lipomodelling after breast cancer treatment, Interventional procedure guidance, NICE, January 2012
24. Skillman J., McManus P, Hamilton S., Roy P, O'Donoghue JM. UK Guidelines for lipomodelling of the breast on behalf of plastic, reconstructive and aesthetic surgery and association of breast surgery expert advisory group. *J of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2022;75(2):511-518.
25. Lo Torto F, Patanè L, Abbaticchio D, Pagnotta A, Ribuffo D. Autologous Fat Grafting (AFG): A Systematic Review to Evaluate Oncological Safety in Breast Cancer Patients. *JCM*. 26 juill 2024;13(15):4369.
26. 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. *Raff M, éditeur. MBoC*. déc 2002;13(12):4279-95.
27. Rigotti G, Marchi A, Gali E. Clinical treatment of radiotherapy tissue damages by lipoaspirates transplant: A healing process mediated by adipose derived stem cells (ASCs). *Plastic & Reconstructive Surgery* 2007;119(5):1409-1422.
28. Cervelli V, Storti G. Regenerative Surgery. In: Maruccia M, Giudice G, éditeurs. *Textbook of Plastic and Reconstructive Surgery Springer* (2022): p. 463-79.
29. Ferreira MY, Carvalho Junior JDC, Ferreira LM. Evaluating the quality of studies reporting on clinical applications of stromal vascular fraction: A systematic review and proposed reporting guidelines (CLINIC-STRA-SVF). *Regenerative Therapy*. déc 2023;24:332-42.
30. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant Mouse OB Protein: Evidence for a Peripheral Signal Linking Adiposity and Central Neural Networks. *Science*. 28 juill 1995;269(5223):546-9.
31. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. déc 1994;372(6505):425-32.
32. Shiffman MA. Fat Cell Biochemistry and Physiology. In: Shiffman MA, éditeur. *Autologous Fat Transfer*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010 p. 29-36.
33. Fenzl A, Kiefer FW. Brown adipose tissue and thermogenesis. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 1 juill 2014;19(1):25-37.
34. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. sept 2004;92(3):347-55.
35. Tsuji W. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *WJSC*. 2014;6(3):312.
36. Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical Endocrinology*. avr 2006;64(4):355-65.
37. Ohsaki Y, Cheng J, Suzuki M, Shinohara Y, Fujita A, Fujimoto T. Biogenesis of cytoplasmic lipid droplets: From the lipid ester globule in the membrane to the visible structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. juin 2009;1791(6):399-407.
38. Verstraeten VLRM, Renes J, Ramaekers FCS, Kamps M, Kuijpers HJ, Verheyen F, *et al*. Reorganization of the nuclear lamina and cytoskeleton in adipogenesis. *Histochem Cell Biol*. mars 2011;135(3):251-61.
39. Cassisa A. Pathophysiology of subcutaneous fat. *G Ital Dermatol Venereol*. août 2013;148(4):315-23.
40. Sbarbati A, Accorsi D, Benati D, Marchetti L, Orsini G, Rigotti G, *et al*. Subcutaneous adipose tissue classification. *Eur J Histochem*. 25 nov 2010;54(4):48.

41. Coleman SR, Mazzola RF, Pu LLQ, éditeurs. *Fat Injection: From Filling to Regeneration*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2018
42. Arner P. Differences in Lipolysis between Human Subcutaneous and Omental Adipose Tissues. *Annals of Medicine*. janv 1995;27(4):435-8.
43. Ricquier D. Fundamental mechanisms of thermogenesis. *Comptes Rendus Biologies*. 3 mai 2006;329(8):578-86.
44. Elabd C, Chiellini C, Carmona M, Galitzky J, Cochet O, Petersen R, *et al*. Human Multipotent Adipose-Derived Stem Cells Differentiate into Functional Brown Adipocytes. *Stem Cells*. 1 nov 2009;27(11):2753-60.
45. Tseng YH, Kokkotou E, Schulz TJ, Huang TL, Winnay JN, Taniguchi CM, *et al*. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*. 21 août 2008;454(7207):1000-4.
46. Métrat S. Tissu adipeux brun et tissu adipeux beige : données actuelles. *Médecine des Maladies Métaboliques*. juin 2014;8(3):280-4.
47. Trotzier C, Sequeira I, Auxenfans C, Mojallal AA. Fat Graft Retention: Adipose Tissue, Adipose-Derived Stem Cells, and Aging. *Plastic & Reconstructive Surgery*. mars 2023;151(3):420e-31e.
48. 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 Engineering*. avr 2001;7(2):211-28.
49. Macey MG. Principles of Flow Cytometry. In: Macey MG, éditeur. *Flow Cytometry [Internet]*. Totowa, NJ: Humana Press; 2007. p. 1-15.
50. Aust L, Devlin B, Foster SJ, Halvorsen YDC, Hicok K, Du Laney T, *et al*. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy*. janv 2004;6(1):7-14.
51. Maumus M, Peyrafitte JA, D'Angelo R, Fournier-Wirth C, Bouloumié A, Castella L, *et al*. Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype. *Int J Obes*. sept 2011;35(9):1141-53.
52. Boquest AC, Shahdadfar A, Brinchmann JE, Collas P. Isolation of Stromal Stem Cells From Human Adipose Tissue. In: *Nuclear Reprogramming*. New Jersey: Humana Press; 2005
53. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M, *et al*. Comparison of Multi-Lineage Cells from Human Adipose Tissue and Bone Marrow. *Cells Tissues Organs*. 2003;174(3):101-9.
54. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *blood cells*. 1 janv 1978;7-25.
55. Ghaben AL, Scherer PE. Adipogenesis and metabolic health. *Nat Rev Mol Cell Biol*. avr 2019;20(4):242-58.
56. Cawthorn WP, Scheller EL, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *Journal of Lipid Research*. févr 2012;53(2):227-46.
57. Farmer SR. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metabolism*. oct 2006;4(4):263-73.
58. Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. nov 2011;12(11):722-34.
59. Barak Y, Nelson MC, Ong ES, Jones YZ, Ruiz-Lozano P, Chien KR, *et al*. PPAR γ Is Required for Placental, Cardiac, and Adipose Tissue Development. *Molecular Cell*. oct 1999;4(4):585-95.
60. Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, *et al*. PPAR γ Is Required for the Differentiation of Adipose Tissue In Vivo and In Vitro. *Molecular Cell*. oct 1999;4(4):611-7.

61. Wang F, Mullican SE, DiSpirito JR, Peed LC, Lazar MA. Lipoatrophy and severe metabolic disturbance in mice with fat-specific deletion of PPAR γ . *Proc Natl Acad Sci USA*. 12 nov 2013;110(46):18656-61.
62. Wu Z, Rosen ED, Brun R, Hauser S, Adelmant G, Troy AE, et al. Cross-Regulation of C/EBP α and PPAR γ Controls the Transcriptional Pathway of Adipogenesis and Insulin Sensitivity. *Molecular Cell*. févr 1999;3(2):151-8.
63. Lefterova MI, Zhang Y, Steger DJ, Schupp M, Schug J, Cristancho A, et al. PPAR γ and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale. *Genes Dev*. 1 nov 2008;22(21):2941-52.
64. Björntorp P. Effects of age, sex, and clinical conditions on adipose tissue cellularity in man. *Metabolism*. nov 1974;23(11):1091-102.
65. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. juin 2008;453(7196):783-7.
66. Tang W, Zeve D, Suh JM, Bosnakovski D, Kyba M, Hammer RE, et al. White Fat Progenitor Cells Reside in the Adipose Vasculature. *Science*. 24 oct 2008;322(5901):583-6.
67. Gupta RK, Mepani RJ, Kleiner S, Lo JC, Khandekar MJ, Cohen P, et al. Zfp423 Expression Identifies Committed Preadipocytes and Localizes to Adipose Endothelial and Perivascular Cells. *Cell Metabolism*. févr 2012;15(2):230-9.
68. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, et al. Metabolic Dysregulation and Adipose Tissue Fibrosis: Role of Collagen VI. *Molecular and Cellular Biology*. 1 mars 2009;29(6):1575-91.
69. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, et al. Hypoxia-Inducible Factor 1 α Induces Fibrosis and Insulin Resistance in White Adipose Tissue. *Molecular and Cellular Biology*. 1 août 2009;29(16):4467-83.
70. Neuhof H, Hirshfield S. *The Transplantation of tissues*. New york : Appelton; 1923.
71. Peer L. Cell survival theory versus replacement theory. *Plastic & Reconstructive Surgery*. 1955;161-8.
72. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, et al. The Fate of Adipocytes after Nonvascularized Fat Grafting: Evidence of Early Death and Replacement of Adipocytes. *Plastic and Reconstructive Surgery*. mai 2012;129(5):1081-92.
73. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, et al. The Fate of Adipocytes after Nonvascularized Fat Grafting: Evidence of Early Death and Replacement of Adipocytes. *Plastic and Reconstructive Surgery*. mai 2012;129(5):1081-92.
74. Mineda K, Kuno S, Kato H, Kinoshita K, Doi K, Hashimoto I, et al. Chronic Inflammation and Progressive Calcification as a Result of Fat Necrosis: The Worst Outcome in Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery*. mai 2014;133(5):1064-72.
75. Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, et al. Degeneration, Regeneration, and Cicatrization after Fat Grafting: Dynamic Total Tissue Remodeling during the First 3 Months. *Plastic and Reconstructive Surgery*. mars 2014;133(3):303e-13e.
76. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo Manipulation of Stem Cells for Adipose Tissue Repair/Reconstruction. *Regen Med*. nov 2011;6(sup6):33-41.
77. Lesniak DM, Sarfati I, Meredith I, Millochau J, Wang KC, Nos C, et al. Fat Grafting before Delayed Prophylactic Mastectomy and Immediate Implant Reconstruction for Patients at High Risk of Complications. *Plastic & Reconstructive Surgery*. janv 2022;149(1):52-6.

78. Arias E, Huang YH, Zhao L, Seelaus R, Patel P, Cohen M. Virtual Surgical Planning and Three-Dimensional Printed Guide for Soft Tissue Correction in Facial Asymmetry. *Journal of Craniofacial Surgery*. mai 2019;30(3):846-50.
79. O'Neill RC, Abu-Ghname A, Davis MJ, Chamata E, Rammos CK, Winocour SJ. The Role of Fat Grafting in Buttock Augmentation. *Seminars in Plastic Surgery*. févr 2020;34(01):038-46.
80. Acharya P, Mohammed C, Desai A, Rojas Gomez MC, Sunil G, Duran S PX, et al. Maximizing the Longevity and Volume Retention of Fat Grafts: Advances in Clinical Practice. *Cureus*
81. Modarressi A. Platelet Rich Plasma (PRP) Improves Fat Grafting Outcomes. *World J Plast Surg*. janv 2013;2(1):6-13.
82. Vladulescu D, Scurtu LG, Simionescu AA, Scurtu F, Popescu MI, Simionescu O. Platelet-Rich Plasma (PRP) in Dermatology: Cellular and Molecular Mechanisms of Action. *Biomedicines*. 19 déc 2023;12(1):7.
83. Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Australian Dental Journal*. juin 2020;65(2):131-42.
84. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: A systematic review. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. mars 2013;66(3):301-11.
85. Gkini MA, Kouskoukis AE, Tripsianis G, Rigopoulos D, Kouskoukis K. Study of platelet-rich plasma injections in the treatment of androgenetic alopecia through an one-year period. *J Cutan Aesthet Surg*. 2014;7(4):213.
86. Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Murakami K, Kishimoto S, Nakamura S, et al. Platelet-Rich Plasma (PRP) Promotes Survival of Fat-Grafts in Rats. *Annals of Plastic Surgery*. juill 2010;65(1):101-6.
87. Gentile P, Di Pasquali C, Bocchini I, Floris M, Eleonora T, Fiaschetti V, et al. Breast Reconstruction With Autologous Fat Graft Mixed With Platelet-Rich Plasma. *Surg Innov*. août 2013;20(4):370-6.
88. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba-Kojima E, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *Journal Cellular Physiology*. juill 2006;208(1):64-76.
89. Lee JW, Park SH, Lee SJ, Kim SH, Suh IS, Jeong HS. Clinical Impact of Highly Condensed Stromal Vascular Fraction Injection in Surgical Management of Depressed and Contracted Scars. *Aesth Plast Surg*. déc 2018;42(6):1689-98.
90. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shigeura T, Sato T, et al. Cell-Assisted Lipotransfer: Supportive Use of Human Adipose-Derived Cells for Soft Tissue Augmentation with Lipoinjection. *Tissue Engineering*. déc 2006;12(12):3375-82.
91. Luan A, Duscher D, Whittam AJ, Paik KJ, Zielins ER, Brett EA, et al. Cell-Assisted Lipotransfer Improves Volume Retention in Irradiated Recipient Sites and Rescues Radiation-Induced Skin Changes. *Stem Cells*. 1 mars 2016;34(3):668-73.
92. Wufuer M, Choi TH, Najmiddinov B, Kim J, Choi J, Kim T, et al. Improving Facial Fat Graft Survival Using Stromal Vascular Fraction-Enriched Lipotransfer: A Multicenter Randomized Controlled Study. *Plastic & Reconstructive Surgery*. avr 2024;153(4):690e-700e.
93. Yin Y, Li J, Li Q, Zhang A, Jin P. Autologous fat graft assisted by stromal vascular fraction improves facial skin quality: A randomized controlled trial. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. juin 2020;73(6):1166-73.
94. Hong KY. Fat grafts enriched with adipose-derived stem cells. *Arch Craniofac Surg*. 20 août 2020;21(4):211-8.

95. Oberbauer E, Steffenhagen C, Wurzer C, Gabriel C, Redl H, Wolbank S. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: current state of the art. *Cell Regeneration*. 2015;4(1):4:7.
96. Kilroy GE, Foster SJ, Wu X, Ruiz J, Sherwood S, Heifetz A, *et al.* Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: Expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors. *Journal Cellular Physiology*. sept 2007;212(3):702-9.
97. Strem BM, Hedrick MH. The growing importance of fat in regenerative medicine. *Trends in Biotechnology*. févr 2005;23(2):64-6.
98. Senesi L, De Francesco F, Farinelli L, Manzotti S, Gagliardi G, Papalia GF, *et al.* Mechanical and Enzymatic Procedures to Isolate the Stromal Vascular Fraction From Adipose Tissue: Preliminary Results. *Front Cell Dev Biol*. 7 juin 2019;7:88.
99. Ahn SK, Oh S, Kim J, Choi J, Hwang K. Psychological Impact of Type of Breast Cancer Surgery: A National Cohort Study. *World j surg*. sept 2022;46(9):2224-33.
100. Fortunato L, Loreti A, Cortese G, Spallone D, Toto V, Cavaliere F, *et al.* Regret and Quality of Life After Mastectomy With or Without Reconstruction. *Clinical Breast Cancer*. juin 2021;21(3):162-9.
101. Archangelo SDCV, Sabino M, Veiga DF, Garcia EB, Ferreira LM. Sexuality, depression and body image after breast reconstruction. *Clinics*. 2019;74:e883.
102. Chen W, Lv X, Xu X, Gao X, Wang B. Meta-analysis for psychological impact of breast reconstruction in patients with breast cancer. *Breast Cancer*. juill 2018;25(4):464-9.
103. Stillaert FB, Lannau B, Van Landuyt K, Blondeel PN. The Prepectoral, Hybrid Breast Reconstruction: The Synergy of Lipofilling and Breast Implants. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*. juill 2020;8(7):e2966.
104. Stillaert FB, Sommeling C, D'Arpa S, Creytens D, Van Landuyt K, Depypere H, *et al.* Intratissular expansion-mediated, serial fat grafting: A step-by-step working algorithm to achieve 3D biological harmony in autologous breast reconstruction. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. déc 2016;69(12):1579-87.
105. Cheng M, Janzekovic J, Finze R, Mohseni M, Saifzadeh S, Savi FM, *et al.* Conceptualizing Scaffold Guided Breast Tissue Regeneration in a Preclinical Large Animal Model. *Bioengineering*. 10 juin 2024;11(6):593.
106. Bertolini F. Contribution of endothelial precursors of adipose tissue to breast cancer: Progression-link with fat graft for reconstructive surgery. *Annales d'Endocrinologie*. mai 2013;74(2):106-7.
107. Wang YY, Lehuédé C, Laurent V, Dirat B, Dauvillier S, Bochet L, *et al.* Adipose tissue and breast epithelial cells: A dangerous dynamic duo in breast cancer. *Cancer Letters*. nov 2012;324(2):142-51.
108. Place AE, Jin Huh S, Polyak K. The microenvironment in breast cancer progression: biology and implications for treatment. *Breast Cancer Res*. déc 2011;13(6):227.
109. Mueller MM, Fusenig NE. Friends or foes – bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nat Rev Cancer*. nov 2004;4(11):839-49.
110. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor Stroma and Regulation of Cancer Development. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 1 févr 2006;1(1):119-50.
111. Flier JS, Underhill LH, Dvorak HF. Tumors: Wounds That Do Not Heal. *N Engl J Med*. 25 déc 1986;315(26):1650-9.
112. Fridman WH, Galon J, Pagès F, Tartour E, Sautès-Fridman C, Kroemer G. Prognostic and Predictive Impact of Intra- and Peritumoral Immune Infiltrates. *Cancer Research*. 1 sept 2011;71(17):5601-5.

113. Mantovani A, Marchesi F, Porta C, Sica A, Allavena P. Inflammation and cancer: Breast cancer as a prototype. *The Breast*. 2007;16:27-33.
114. K Polyak, Kalluri R. The role of the microenvironment in mammary gland development and cancer. In: *perspect Biol*. 2010. (cold spring harb.; vol. 2).
115. Petit JY, Rietjens M, Botteri E, Rotmensz N, Bertolini F, Curigliano G, *et al*. Evaluation of fat grafting safety in patients with intra epithelial neoplasia: a matched-cohort study. *Annals of Oncology*. juin 2013;24(6):1479-84.
116. Kronowitz SJ, Mandujano CC, Liu J, Kuerer HM, Smith B, Garvey P, *et al*. Lipofilling of the Breast Does Not Increase the Risk of Recurrence of Breast Cancer: A Matched Controlled Study. *Plastic and Reconstructive Surgery*. févr 2016;137(2):385-93.
117. Obenauer S, Hermann KP, Grabbe E. Applications and literature review of the BI-RADS classification. *Eur Radiol*. mai 2005;15(5):1027-36.
118. Veber M, Tourasse C, Toussoun G, Moutran M, Mojallal A, Delay E. Radiographic Findings after Breast Augmentation by Autologous Fat Transfer. *Plastic and Reconstructive Surgery*. mars 2011;127(3):1289-99.
119. Largo RD, Tchang LAH, Mele V, Scherberich A, Harder Y, Wettstein R, *et al*. Efficacy, safety and complications of autologous fat grafting to healthy breast tissue: A systematic review. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. avr 2014;67(4):437-48.
120. Veber M, Tourasse C, Moutran M, Mojallal A. Clinical Analyses of Clustered Microcalcifications after Autologous Fat Injection for Breast Augmentation: *Plastic and Reconstructive Surgery*. janv 2012;129(1):168e-9e.
121. Chang CS, Lanni MA, Mirzabeigi MN, Bucky LP. Large-Volume Fat Grafting: Identifying Risk Factors for Fat Necrosis. *Plastic & Reconstructive Surgery*. nov 2022;150(5):941e-9e.
122. Rao A, Saadeh PB. Defining Fat Necrosis in Plastic Surgery: *Plastic and Reconstructive Surgery*. déc 2014;134(6):1202-12.
123. Lee J, Park HY, Kim WW, Lee JJ, Keum HJ, Yang JD, *et al*. Natural course of fat necrosis after breast reconstruction: a 10-year follow-up study. *BMC Cancer*. déc 2021;21(1):166.
124. Vasei N, Shishegar A, Ghalkhani F, Darvishi M. Fat necrosis in the Breast: A systematic review of clinical. *Lipids Health Dis*. déc 2019;18(1):139.
125. Berg WA, Sechtin AG, Marques H, Zhang Z. Cystic Breast Masses and the ACRIN 6666 Experience. *Radiologic Clinics of North America*. sept 2010;48(5):931-87.
126. De Decker M, De Schrijver L, Thiessen F, Tondou T, Van Goethem M, Tjalma WA. Breast cancer and fat grafting: efficacy, safety and complications—a systematic review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. déc 2016;207:100-8.
127. Kim HY, Jung BK, Lew DH, Lee DW. Autologous Fat Graft in the Reconstructed Breast: Fat Absorption Rate and Safety based on Sonographic Identification. *Arch Plast Surg*. nov 2014;41(06):740-7.
128. Gerth DJ, King B, Rabach L, Glasgold RA, Glasgold MJ. Long-Term Volumetric Retention of Autologous Fat Grafting Processed With Closed-Membrane Filtration. *Aesthetic Surgery Journal*. 1 sept 2014;34(7):985-94.
129. Zocchi M, Zuliani F, Nava M. Bicompartimental breast lipostructuring. 7th International Congress of Aesthetic Medicine; 2005 oct 13; Milan, Italy.
130. Nelissen X, Lhoest F, Preud'Homme L. Refined Method of Lipofilling following DIEP Breast Reconstruction: 3D Analysis of Graft Survival. 2015;

131. Nelissen X, Licciardi S, Nizet C, Delay E, Roche R. Comparative Analysis of a New Automatic System and Four Existing Techniques for Autologous Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*. oct 2023;11(10):e5349.
132. Hoareau L, Bencharif K, Girard AC, Gence L, Delarue P, Hulard O, *et al*. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: A new method to improve graft efficiency. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. mai 2013;66(5):712-9.
133. Herold C, Ueberreiter K, Busche MN, Vogt PM. Autologous Fat Transplantation: Volumetric Tools for Estimation of Volume Survival. A Systematic Review. *Aesth Plast Surg*. avr 2013;37(2):380-7.
134. Losken A, Seify H, Denson DD, Paredes AA, Carlson GW. Validating Three-Dimensional Imaging of the Breast: *Annals of Plastic Surgery*. mai 2005;54(5):471-6.
135. Choi M, Small K, Levovitz C, Lee C, Fadl A, Karp NS. The Volumetric Analysis of Fat Graft Survival in Breast Reconstruction: *Plastic and Reconstructive Surgery*. févr 2013;131(2):185-91.
136. Small K, Choi M, Petruolo O, Lee C, Karp N. Is There an Ideal Donor Site of Fat for Secondary Breast Reconstruction. *Aesthetic Surgery Journal*. 1 mai 2014;34(4):545-50.
137. Hoeffelin H, Jacquemin D, Defaweux V, Nizet JL. A Methodological Evaluation of Volumetric Measurement Techniques including Three-Dimensional Imaging in Breast Surgery. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-10.
138. Supramaniam SK. Current Advances in Artificial Intelligence in the Field of Aesthetic Surgery and Breast Augmentation: Short Review. *Am J Cosmet Surg*. sept 2025;42(3):223-8.
139. Campbell CA, Grogan GM, St. Jean S, Kabaria N, Gardocki-Sandor M, Cottler PS. Preclinical Volume Retention of Fat Grafts Processed with REVOLVETM Technology or Decantation Methods in Irradiated and Nonirradiated Wounds. *JCM*. 30 avr 2025;14(9):3100.
140. Langridge BJ, Jasionowska S, Khan H, Awad L, Turner BRH, Varghese J, *et al*. Achieving optimal clinical outcomes in autologous fat grafting: A systematic review of processing techniques. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. juin 2023;81:9-25.
141. Coleman SR. Facial Recontouring with Lipostructure. *Clinics in Plastic Surgery*. avr 1997;24(2):347-67.
142. Hivernaud V, Lefourn B, Robard M, Guicheux J, Weiss P. Autologous fat grafting: A comparative study of four current commercial protocols. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. févr 2017;70(2):248-56.
143. Fang C, Patel P, Li H, Huang LT, Wan H, Collins S, *et al*. Physical, Biochemical, and Biologic Properties of Fat Graft Processed via Different Methods. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*
144. Zhu M, Zhou Z, Chen Y, Schreiber R, Ransom JT, Fraser JK, *et al*. Supplementation of Fat Grafts With Adipose-Derived Regenerative Cells Improves Long-Term Graft Retention. *Annals of Plastic Surgery*. févr 2010;64(2):222-8.
145. Tiryaki T, Findikli N, Tiryaki D. Staged Stem Cell-enriched Tissue (SET) Injections for Soft Tissue Augmentation in Hostile Recipient Areas: A Preliminary Report. *Aesth Plast Surg*. déc 2011;35(6):965-71.
146. Klein JA. The Tumescence Technique for Lipo-Suction Surgery. *Am J Cosmet Surg*. 1 déc 1987;4(4):263-7.
147. Fedder C, Beck-Schimmer B, Aguirre J, Hasler M, Roth-Z'graggen B, Urner M, *et al*. In vitro exposure of human fibroblasts to local anaesthetics impairs cell growth. *Clinical and Experimental Immunology*. 8 oct 2010;162(2):280-8.

148. Grishko V, Xu M, Wilson G, Pearsall AW. Apoptosis and Mitochondrial Dysfunction in Human Chondrocytes Following Exposure to Lidocaine, Bupivacaine, and Ropivacaine: The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume. mars 2010;92(3):609-18.
149. Jacobs TF, Vansintjan PS, Roels N, Herregods SS, Verbruggen G, Herregods LL, *et al.* The effect of Lidocaine on the viability of cultivated mature human cartilage cells: an in vitro study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* juill 2011;19(7):1206-13.
150. Girard AC, Atlan M, Bencharif K, Gunasekaran MK, Delarue P, Hulard O, *et al.* New Insights into Lidocaine and Adrenaline Effects on Human Adipose Stem Cells. *Aesth Plast Surg.* févr 2013;37(1):144-52.
151. Moore JH, Kolaczynski JW, Morales LM, Considine RV, Pietrzowski Z, Noto PF, *et al.* Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesth Plast Surg.* juill 1995;19(4):335-9.
152. Gentile P, Ossanna R, Sierra LAQ, Sbarbati A. Mechanical Purification of Lipofilling: The Relationship Between Cell Yield, Cell Growth, and Fat Volume Maintenance. *Aesth Plast Surg.* juin 2024;48(12):2306-18.
153. Girard AC, Mirbeau S, Gence L, Hivernaud V, Delarue P, Hulard O, *et al.* Effect of Washes and Centrifugation on the Efficacy of Lipofilling With or Without Local Anesthetic: Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open. août 2015;3(8):e496.
154. Delay E, Streit L, Toussoun G, La Marca S, Ho Quoc C. Lipomodelling: an important advance in breast surgery. *Acta Chir Plast.* 2013;55(2):34-43.
155. Coleman SR, Saboeiro AP. Fat Grafting to the Breast Revisited: Safety and Efficacy: Plastic and Reconstructive Surgery. mars 2007;119(3):775-85.
156. Cheriyan T, Kao HK, Qiao X, Guo L. Low Harvest Pressure Enhances Autologous Fat Graft Viability. *Plastic & Reconstructive Surgery.* juin 2014;133(6):1365-8.
157. Nguyen PSA, Desouches C, Gay AM, Hautier A, Magalon G. Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: The use of adipose tissue as dermal filler. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* déc 2012;65(12):1692-9.
158. Vilaboa SDA, Llull R, Mendel TA. Returning Fat Grafts to Physiologic Conditions Using Washing: Plastic and Reconstructive Surgery. août 2013;132(2):323e-6e.
159. Condé-Green A, Gontijo De Amorim NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: A comparative study. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* août 2010;63(8):1375-81.
160. Xie Y, Zheng D, Li Q, Chen Y, Lei H, Pu LLQ. The effect of centrifugation on viability of fat grafts: an evaluation with the glucose transport test. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* mars 2010;63(3):482-7.
161. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, Gonda K, Harii K, *et al.* Influences of Centrifugation on Cells and Tissues in Liposuction Aspirates: Optimized Centrifugation for Lipotransfer and Cell Isolation: Plastic and Reconstructive Surgery. mars 2008;121(3):1033-41.
162. Von Heimburg D, Hemmrich K, Haydarlioglu S, Staiger H, Pallua N. Comparison of Viable Cell Yield from Excised versus Aspirated Adipose Tissue. *Cells Tissues Organs.* 2004;178(2):87-92.
163. Molitor M, Trávníčková M, Měšťák O, Christodoulou P, Sedlář A, Bačáková L, *et al.* The Influence of Low- and High-Negative-Pressure Liposuction and Different Harvesting Sites on the Viability and Yield of Adipocytes and Other Nucleated Cells. *Aesth Plast Surg.* déc 2021;45(6):2952-70.

164. Bonomi F, Limido E, Weinzierl A, Harder Y, Menger MD, Laschke MW. Preconditioning Strategies for Improving the Outcome of Fat Grafting. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 1 avr 2025;31(2):94-108.
165. Chen YW, Wang JR, Liao X, Li SH, Xiao LL, Cheng B, *et al*. Effect of suction pressures on cell yield and functionality of the adipose-derived stromal vascular fraction. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. févr 2017;70(2):257-66.
166. Mojallal A, Auxenfans C, Lequeux C, Braye F, Damour O. Influence of negative pressure when harvesting adipose tissue on cell yield of the stromal-vascular fraction. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2008;18(4-5):193-7.
167. Vazquez OA, Markowitz MI, Becker H. Fat Graft Size: Relationship Between Cannula and Needle Diameters. *Cureus*. 9 avr 2020
168. Shoshani O, Livne E, Armoni M, Shupak A, Berger J, Ramon Y, *et al*. The Effect of Interleukin-8 on the Viability of Injected Adipose Tissue in Nude Mice: *Plastic and Reconstructive Surgery*. mars 2005;115(3):853-9.
169. Atik B, Öztürk G, Erdoğan E, Tan Ö. Comparison of Techniques for Long-Term Storage of Fat Grafts: An Experimental Study: *Plastic and Reconstructive Surgery*. déc 2006;118(7):1533-7.
170. Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, Shanahan RK, Strem BM, Yu JC, *et al*. Comparison of Three Different Fat Graft Preparation Methods: Gravity Separation, Centrifugation, and Simultaneous Washing with Filtration in a Closed System. *Plastic and Reconstructive Surgery*. avr 2013;131(4):873-80.
171. Ansoorge H, Garza JR, McCormack MC, Leamy P, Roesch S, Barere A, *et al*. Autologous Fat Processing Via the Revolve System: Quality and Quantity of Fat Retention Evaluated in an Animal Model. *Aesthetic Surgery Journal*. 1 mars 2014;34(3):438-47.
172. Mestak O, Sukop A, Hsueh YS, Molitor M, Mestak J, Matejovska J, *et al*. Centrifugation versus PureGraft for fatgrafting to the breast after breast-conserving therapy. *World J Surg Onc*. 2014;12(1):178.
173. Hanson SE, Garvey PB, Chang EI, Reece GP, Liu J, Baumann DP, *et al*. A Prospective, Randomized Comparison of Clinical Outcomes with Different Processing Techniques in Autologous Fat Grafting. *Plastic & Reconstructive Surgery*. nov 2022;150(5):955-62.
174. Condé-Green A, Wu I, Graham I, Chae JJ, Drachenberg CB, Singh DP, *et al*. Comparison of 3 Techniques of Fat Grafting and Cell-Supplemented Lipotransfer in Athymic Rats. *Aesthetic Surgery Journal*. 1 juill 2013;33(5):713-21.
175. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, Cataldo C, Rossano F, Nicoletti G, *et al*. Effects of a New Centrifugation Method on Adipose Cell Viability for Autologous Fat Grafting. *Aesth Plast Surg*. juin 2011;35(3):341-8.
176. Valmadrid AC, Kaoutzanis C, Wormer BA, Farinas AF, Wang L, Al Kassis S, *et al*. Comparison of Telfa Rolling and a Closed Washing System for Autologous Fat Processing Techniques in Postmastectomy Breast Reconstruction. *Plastic & Reconstructive Surgery*. sept 2020;146(3):486-97.



7.

ANNEXE

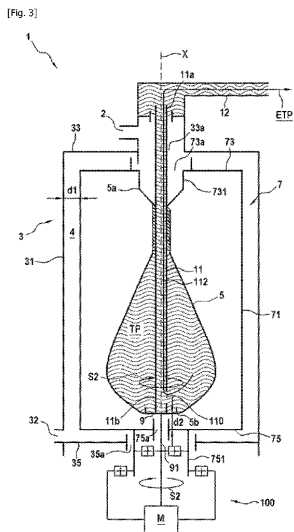
ANNEXE 1 : BREVETS



- (51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2023/000067
- (22) Date de dépôt international :
28 avril 2023 (28.04.2023)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
FR2204370 09 mai 2022 (09.05.2022) FR
- (71) Déposant : **NEOSYAD** [FR/FR] ; 400, rue Pierre Berthier, 13290 AIX-EN-PROVENCE (FR).
- (72) Inventeurs : **ROCHE, Régis** ; 1226, Chemin de St Marc, 13410 LAMBESC (FR). **CABAUD, François** ; 465, Chemin de Vergon, 13510 EGUILLES (FR). **NELISSEN, Xavier** ; 2, rue Lambert Tilkin, 4453 VILLERS SAINT SIMÉON (BE).
- (74) Mandataire : **LAIK, Eric** et al. ; CABINET BEAU DE LOMENIE, 158 Rue de l'Université, 75340 PARIS CEDEX 07 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

(54) Title: DEVICE FOR PURIFYING ADIPOSE TISSUE

(54) Titre : DISPOSITIF DE PURIFICATION DE TISSU ADIPEUX



(57) **Abstract:** The present invention relates to a device (1) comprising: - a chamber (3), - a flexible filter (5) able to retain adipose tissue, the filter extending along a main axis (X) between a lower end (5b) and an upper end (5a), - a lower attachment element (9) secured to the lower end and an upper attachment element (731) secured to the upper end, - a discharge duct (11) extending between a lower portion and an upper portion in communication with the outside of the device, and - a drive system (100) able to assume a purification configuration in which the lower and upper attachment elements are conjointly rotated, and a discharge configuration in which one of the attachment elements (9) is moved relative to the other attachment element (731) so as to wind the filter around itself.

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne un dispositif (1), comprenant : - une enceinte (3), - un filtre (5) souple apte à retenir le tissu adipeux, le filtre s'étendant le long d'un axe principal (X) entre une extrémité inférieure (5b) et une extrémité supérieure (5a), - un élément d'attache (9) inférieur solidaire de l'extrémité inférieure et un élément d'attache (731) supérieur solidaire de l'extrémité supérieure, - un conduit d'évacuation (11) s'étendant entre une portion inférieure et une portion supérieure en communication avec l'extérieur du dispositif, et - un système d'entraînement (100) apte à prendre une configuration de purification dans laquelle les éléments d'attache inférieur et supérieur sont mis en rotation conjointe, et une configuration d'évacuation dans laquelle l'un des éléments d'attache (9) est mis en mouvement relatif par rapport à l'autre élément d'attache (731) de sorte à enrouler le filtre sur lui-même.

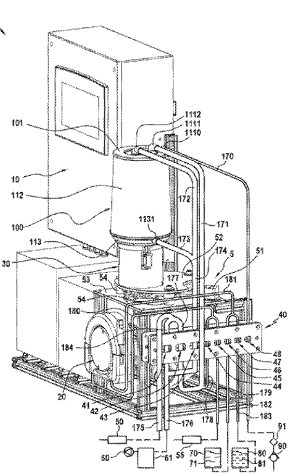


- (51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2023/000060
- (22) Date de dépôt international :
27 avril 2023 (27.04.2023)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
FR2204070 29 avril 2022 (29.04.2022) FR
- (71) Déposant : **NEOSYAD** [FR/FR] ; 400, rue Pierre Berthier, 13290 AIX-EN-PROVENCE (FR).
- (72) Inventeurs : **ROCHE, Régis** ; 433, chemin De La Martinière, 83510 LORGUES (FR). **CABAUD, François** ; 465, chemin De Vergon, 13510 EGUILLES (FR). **NELISSEN, Xavier** ; 2, rue Lambert Tilkin, 4453 VILLERS SAINT SIMÉON (BE).
- (74) Mandataire : **DESORMIERE, Pierre-Louis** et al. ; CABINET BEAU DE LOMENIE, 158 Rue de l'Université, 75340 PARIS CEDEX 07 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,

(54) Title: METHOD AND MACHINE FOR TRANSPLANTING FAT

(54) Titre : PROCÉDE ET MACHINE DE TRANSPLANTATION DE GRAISSE

[Fig. 1]



(57) Abstract: The present invention relates to a machine (1) for transplanting fat, comprising: - a fat-suction circuit, - a filtration device (100) comprising a filter defining a centrifuging chamber (160) for adipose tissue, the filter having a pore size configured to allow a liquid medium to pass and hold adipose tissue back, - a rotational-drive device (30) connected to the filtration device, - a mass-measurement device (5) configured to measure the mass of adipose tissue present in the filtration device, - a processing unit (10) configured to control the rotational-drive device (30) in such a way as to initiate at least one centrifuging filtration sequence on the basis of a predetermined mass of adipose tissue sucked up, the processing unit also being configured to calculate a quantity ($Q_{\text{injectable}}$) of adipose tissue that is injectable after each purification sequence.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une machine (1) de transplantation de graisse comprenant : - un circuit d'aspiration de graisse, - un dispositif de filtration (100) comprenant un filtre délimitant une chambre de centrifugation (160) pour un tissu adipeux, le filtre présentant une taille de pore configurée pour laisser passer un milieu liquide et retenir un tissu adipeux, - un dispositif d'entraînement en rotation (30) relié au dispositif de filtration, - un dispositif de mesure de masse (5) configuré pour mesurer la masse de tissu adipeux présent dans le dispositif de filtration, - une unité de traitement (10) configurée pour commander le dispositif d'entraînement en rotation (30) de manière à initier au moins une séquence de filtration par centrifugation en fonction d'une masse prédéterminée de tissu adipeux aspiré, l'unité de traitement étant en outre configurée pour calculer une quantité de tissu adipeux injectable ($Q_{\text{injectable}}$) après chaque séquence de purification.

[Suite sur la page suivante]





- (51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2022/052078
- (22) Date de dépôt international :
04 novembre 2022 (04.11.2022)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
FR2113140 08 décembre 2021 (08.12.2021) FR
- (71) Déposant : **NEOSYAD** [FR/FR] ; 400 Rue Pierre Berthier, 13290 Aix-en-Provence (FR).
- (72) Inventeurs : **ROCHE, Régis** ; 433 Chemin de la Martinière, 83510 Lorgues (FR). **CABAUD, François** ; 465 Chemin de Vergon, 13510 Eguilles (FR). **NELISSEN, Xavier** ; 2 Rue Lambert Tilkin, 4453 Villers Saint Siméon (BE).
- (74) Mandataire : **DESORMIERE, Pierre-Louis** et al. ; Cabinet Beau de Lomenie, 158 Rue de l'Université, 75340 Paris Cedex 07 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

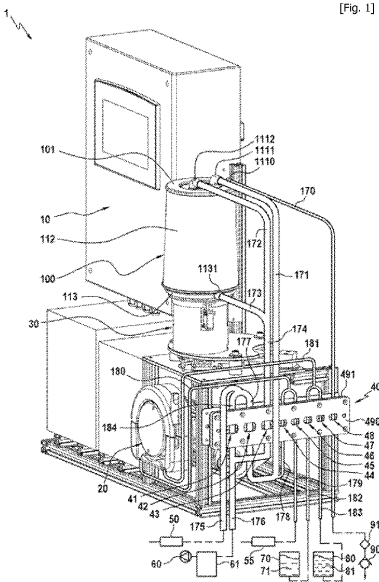
Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title: DISPOSABLE FILTRATION DEVICE FOR PURIFYING ADIPOSE TISSUE

(54) Titre : DISPOSITIF DE FILTRATION À USAGE UNIQUE POUR LA PURIFICATION DE TISSU ADIPEUX

[Fig. 1]



(57) Abstract: The present invention relates to a disposable filtration device (100) for purifying adipose tissue, which device comprises at least: - a sealed enclosure (110); - a filter (120) present in the sealed enclosure, said filter delimiting a centrifugation chamber (160) for adipose tissue; - pipes (170-183) connected to the sealed enclosure; - a rotary drive plate (131) linked to the filter (120), the rotary drive plate being configured to cooperate with a rotary drive device (30).

(57) Abrégé : La présente invention concerne un dispositif de filtration à usage unique (100) pour la purification d'un tissu adipeux comprenant au moins : - une enceinte étanche (110), - un filtre (120) présent dans l'enceinte étanche, ledit filtre délimitant une chambre de centrifugation (160) pour un tissu adipeux, - des tuyaux (170-183) reliés à l'enceinte étanche, - un plateau rotatif (131) en liaison avec le filtre (120), le plateau rotatif étant configuré pour coopérer avec un dispositif d'entraînement en rotation (30).

WO 2023/105130 A1



(51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
A61K 35/35 (2015.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2022/052073

(22) Date de dépôt international :
03 novembre 2022 (03.11.2022)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR2113137 08 décembre 2021 (08.12.2021) FR

(71) Déposant : NEOSYAD [FR/FR] ; 400 Rue Pierre Berthier,
13290 Aix-en-Provence (FR).

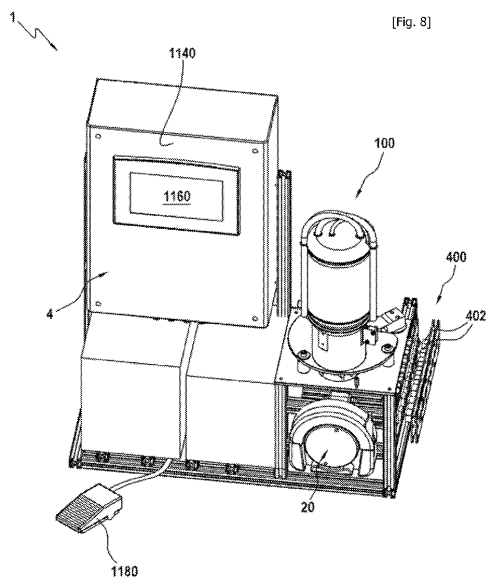
(72) Inventeurs : ROCHE, Régis ; 433 Chemin de la Marti-
nette, 83510 Lorgues (FR). CABAUD, François ; 465 Che-
min de Vergon, 13510 Eguilles (FR). NELISSEN, Xavier
; 2 Rue Lambert Tilkin, 4453 Villers Saint Siméon (BE).

(74) Mandataire : LAIK, Eric et al. ; Cabinet Beau de Lomenie,
158 Rue de l'Université, 75340 Paris Cedex 07 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

(54) Title: MACHINE FOR THE PURIFICATION OF ADIPOSE TISSUE AND INTRODUCTION OF THE PURIFIED ADIPOSE TISSUE INTO A PATIENT'S BODY

(54) Titre : MACHINE POUR LA PURIFICATION D'UN TISSU ADIPEUX ET L'INTRODUCTION DU TISSU ADIPEUX PURIFIÉ DANS LE CORPS D'UN PATIENT



(57) Abstract: The present invention relates to a machine (1) for the purification of adipose tissue and the introduction of the purified adipose tissue into a patient's body, the machine comprising at least: - a material-circulating circuit, comprising at least (i) a purification device (100) able to purify adipose tissue taken from a patient's body, the purification device comprising means for retaining the adipose tissue and for filtering polluting substances, delimiting a treatment volume intended to receive the adipose tissue, and a rotating means able to rotate the retaining and filtering means, and (ii) an introduction device able to be placed in communication with the purification device and intended for the introduction of the purified adipose tissue into the patient's body, the circuit being further provided with means for controlling the circulation of material, which means are able to allow or prevent communication between elements of the circuit, and - a control unit (4) configured to actuate the purification device and the control means, and able to place the circuit at least in a configuration for purifying the adipose tissue and for introducing the purified adipose tissue into the patient's body.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une machine (1) pour la purification d'un tissu adipeux et l'introduction du tissu adipeux purifié dans le corps d'un patient, la machine comprenant au moins : - un circuit de circulation de matière comprenant au moins (i) un dispositif (100) de purification apte à purifier un tissu adipeux prélevé du corps d'un patient, le dispositif de

[Suite sur la page suivante]



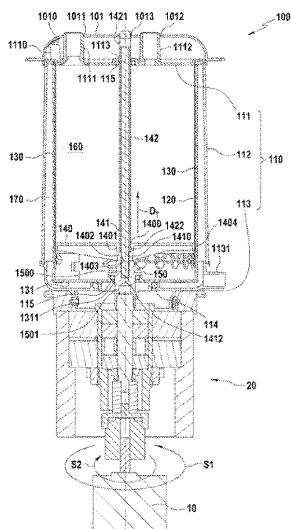


- (51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
A61K 35/35 (2015.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2022/052006
- (22) Date de dépôt international :
21 octobre 2022 (21.10.2022)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
FR2113135 08 décembre 2021 (08.12.2021) FR
- (71) Déposant : **NEOSYAD** [FR/FR] ; 400, rue Pierre Berthier,
13290 AIX-EN-PROVENCE (FR).
- (72) Inventeurs : **ROCHE, Régis** ; 433, chemin de la Marti-
nette, 83510 LORGUES (FR). **CABAUD, François** ; 465,
chemin de Vergon, 13510 EGUILLES (FR). **NELISSEN,**
Xavier ; 2, rue Lambert Tilkin, 4453 VILLERS SAINT SI-
MEON (BE).
- (74) Mandataire : **DESORMIERE, Pierre-Louis** et al. ;
CABINET BEAU DE LOMENIE, 158 Rue de l'Université,
75340 PARIS CEDEX 07 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,
SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, CV, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

(54) Title: DEVICE FOR PURIFYING ADIPOSE TISSUE

(54) Titre : DISPOSITIF DE PURIFICATION DE TISSU ADIPEUX

[Fig. 2]



(57) Abstract: The present invention relates to a device (100) for purifying adipose tissue, said device comprising at least one sealed enclosure (110), a filter (120) present in the sealed enclosure, and a means (10, 20) for rotating the filter, said filter delimiting a centrifugation chamber (160) for centrifuging adipose tissue and having a pore size configured to allow a liquid medium to pass and to retain adipose tissue.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un dispositif pour la purification (100) d'un tissu adipeux comprenant au moins une enceinte étanche (110), un filtre (120) présent dans l'enceinte étanche, ledit filtre délimitant une chambre de centrifugation (160) pour un tissu adipeux et un moyen d'entraînement en rotation du filtre (10, 20), le filtre présentant une taille de pore configurée pour laisser passer un milieu liquide et retenir un tissu adipeux.

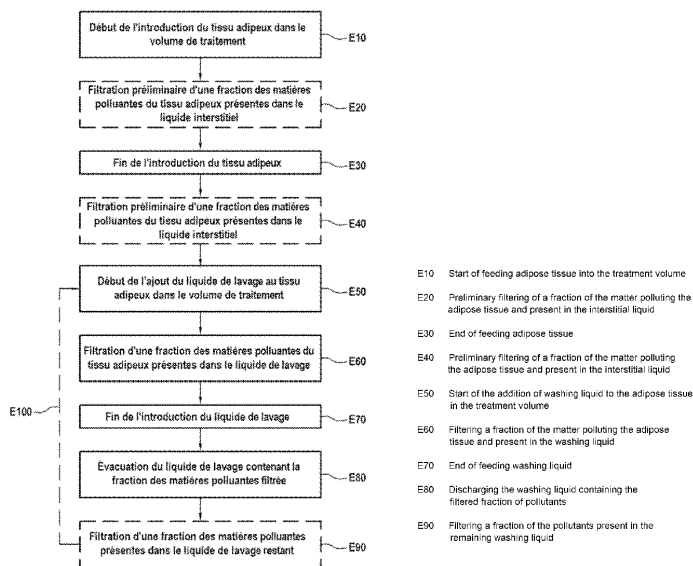


- (51) Classification internationale des brevets :
A61M 1/00 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
A61K 35/35 (2015.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2022/052008
- (22) Date de dépôt international :
24 octobre 2022 (24.10.2022)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
FR2113138 08 décembre 2021 (08.12.2021) FR
- (71) Déposant : NEOSYAD [FR/FR] ; 400, rue Pierre Berthier, 13290 AIX-EN-PROVENCE (FR).
- (72) Inventeurs : **ROCHE, Régis** ; 433, chemin de la Martinière, 83510 LORGUES (FR). **CABAUD, François** ; 465, chemin de Vergon, 13510 EGUILLES (FR). **NELISSEN, Xavier** ; 2, rue Lambert Tilkin, 4453 VILLERS SAINT SIMÉON (BE).
- (74) Mandataire : **LAÏK, Eric** et al. ; CABINET BEAU DE LOMENIE, 158 Rue de l'Université, 75340 PARIS CEDEX 07 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,

(54) Title: METHOD FOR PURIFYING ADIPOSE TISSUE AND ASSOCIATED PURIFIED ADIPOSE TISSUE

(54) Titre : PROCÉDE DE PURIFICATION D'UN TISSU ADIPEUX ET TISSU ADIPEUX PURIFIÉ ASSOCIÉ

[Fig. 1]



(57) Abstract: The invention relates to a method for purifying adipose tissue, said method comprising at least the steps consisting in: adding a washing liquid (E50) to an adipose tissue that is to undergo purification, contains pollutants and is present in a treatment volume delimited by means for retaining the adipose tissue and filtering the pollutants; filtering (E60) a fraction of the pollutants of the adipose tissue, contained in the washing liquid, by centrifuging the contents of the treatment volume by causing the retention and filtration means to rotate; and discharging (E80) the washing liquid containing the filtered fraction of pollutants.

(57) Abrégé : L'invention concerne un procédé de purification d'un tissu adipeux, comprenant au moins : l'ajout d'un liquide de lavage (E50) à un tissu adipeux à purifier comprenant des matières polluantes et présent dans un volume de traitement délimité par des moyens

[Suite sur la page suivante]

ANNEXE 2 :

1^{ère} ÉTUDE

Redefined Method of Lipofilling following
DIEP Breast Reconstruction :
3D Analysis of Graft Survival



Refined Method of Lipofilling following DIEP Breast Reconstruction: 3D Analysis of Graft Survival

Xavier Nelissen, MD
 Florence Lhoest, MD
 Laurence Preud'Homme, MD

Background: The deep inferior epigastric perforator (DIEP) flap technique gives good clinical results, but aesthetic surgical adjustments are often necessary. Lipofilling represents a good complementary method, but fat resorption within the few months after surgery limits its use. Recently, a new protocol was introduced and successfully evaluated on murine models. This study aims to evaluate this protocol following a DIEP procedure by three-dimensional analysis.

Methods: Within a period of 4 months, every patient having undergone breast reconstruction with DIEP and who required a lipofilling adjustment was invited to take part in this study. All surgeries were performed using the Adip'sculpt disposable medical device MACROFILL (Laboratoires SEB-BIN, Boissy-l'Aillerie, France). Fat resorption was analyzed using a three-dimensional photography system.

Results: Twenty-three patients were included, with a total of 25 breasts operated on. Injections were carried out on irradiated breasts in 73% of cases, and average injection volume was 124 mL (SD = 39 mL), whereas average operating time was 68 minutes (44–96 minutes). At an average follow-up of 5 months (4–8 months), 70.9% of projection gain afforded by the lipofilling was still present.

Conclusions: It is now clear that particular rules should be respected for an efficient lipofilling, particularly regarding aspiration cannula characteristics, vacuum used, and the necessity of washes and soft centrifugations. We demonstrate here that by following a specific protocol that addresses these precautions, while using material that is specifically adapted, a 70.9% fat survival rate can be achieved, even in the very unfavorable case of postirradiation DIEP breast reconstruction. (*Plast Reconstr Surg Glob Open* 2015;3:e526; doi: 10.1097/GOX.0000000000000495; Published online 25 September 2015.)

The deep inferior epigastric perforator (DIEP) flap technique has emerged over the last 20 years as the solution of choice for breast re-

construction.¹⁻⁴ However, despite the good clinical results that are obtained with this technique, surgical adjustments to achieve better symmetry are often necessary.⁵ Surgeons have diverse techniques at their disposal, of which autologous fat transfer stands out, with good cosmetic results attainable at the cost of a fairly nontraumatic surgical procedure.⁶

Autologous transfer of adipose tissue was first described in 1893 by Neuber,⁷ but it is Coleman⁸ who popularized it a century later with his "lipostructure" technique. The main feature of this technique is centrifugation of the fat, which eliminates a portion

From the Clinique Mont Saint-Martin, Mont Saint-Martin, Liège, Belgium.

Received for publication March 20, 2015; accepted July 22, 2015.

Copyright © 2015 The Authors. Published by Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of The American Society of Plastic Surgeons. All rights reserved. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially.

DOI: 10.1097/GOX.0000000000000495

Disclosure: The authors have no financial interest to declare in relation to the content of this article. The Article Processing Charge was paid for by the authors.

of the blood elements and compacts the tissue before reinjection. Despite being widely used, breast lipofilling still remains a controversial subject, mainly due to the high rate of grafted fat resorption in the months following surgery.⁹ To circumvent these problems, several authors have modified the Coleman protocol to optimize graft success. Recent reports in the literature have highlighted that a reduced applied pressure during aspiration is a critical element in avoiding damage to harvested adipocytes.¹⁰ Small suction cannulas have also been shown to promote tissue survival and vascularization.¹¹ Furthermore, graft survival can be improved through the removal of deleterious elements (blood, local anesthetics, inflammatory molecules, etc.) by washing the fat with a physiological solution.^{12,13} Finally, centrifugation speed is also an important criterion because strong centrifugation can significantly affect the viability of adipocytes before their reinjection.^{14,15}

Against this backdrop, Hoareau et al¹⁶ recently proposed a fat treatment protocol that associates moderate harvesting pressure, successive washes, and gentle centrifugations. The authors demonstrated in a murine model that there is an improvement in the viability of fat treated with this protocol. However, to our knowledge, this technique has not been the subject of any human studies.

The evaluation of this technique in humans raises a technical question as to how can fat resorption be measured and more particularly, in this study, how can breast volume be determined. Diverse photographic, radiographic, optic, nuclear magnetic resonance imaging, and ultrasound techniques have been proposed to evaluate breast volume, each with their own advantages and disadvantages. Of these tools, the three-dimensional (3D) photographic VECTRA (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.) technique has been shown to be precise^{17,18} and has been used in several recent studies.^{19,20} The use of this system is also simple and not excessively restrictive for the patient. It is for these reasons that we have chosen this technique for the study.

The aim of this study was to conduct 3D analysis to determine the fate of transferred fat in the breast following a post-DIEP refinement procedure, using a protocol that combines moderate harvesting pressure, successive washes, and gentle centrifugations.

MATERIALS AND METHODS

In our institution, between November 2013 and February 2014, every patient having undergone breast reconstruction with DIEP and who required a lipofilling adjustment was invited to take part in this study. We have carried out the lipofilling with

the single-use Adip'sculpt MACROFILL kit (Laboratoires SEBBIN, Boissy l'Aillierie, France). This kit enables the harvesting, treatment, and reinjection of fat according to the specifications of the protocol proposed by Hoareau et al.¹⁶

This study was performed in accordance with Helsinki Declaration, and all the subjects enrolled in this study gave oral informed consent.

Surgery

Surgery was carried out under general anesthesia. The choice of fat harvesting sites was dependent upon each patient and included the medial and lateral thighs and the sides of the abdomen. The tumescent solution was composed of 1 L of NaCl (0.9%) and a vial of 1 mL of levorenine (1 mg/mL). Infiltration was conducted with a ratio of 1 mL of tumescent solution for 1 mL of harvested fat.

Harvesting was carried out incrementally with 60 mL syringes to harvest with a maximum pressure of 0.45 bars. Ten-hole (holes of 2.5 mm diameter) 3.5 mm diameter cannulas were used for harvesting. After removal of around 45 mL of tissue, the remaining volume of the syringe was completed with NaCl solution (0.9%) to wash the fat. The syringe was gently agitated and then centrifuged at 1000 rpm (100g) for 1 second to reduce decantation time. After evacuation of the supernatant fluid, the washing step was repeated, followed by centrifugation at 2000 rpm (400g) for 1 minute.

Thus, the purified fat was transferred into 10 mL syringes and then injected with 2.1-mm-diameter cannulas.

In certain patients, liposuction was carried out in the upper pole of the breast to reduce the frequently observed volume excess of this zone following DIEP reconstruction.

Operating Time

The operating time was noted in the anesthetists' reports. It was measured between the intubation and extubation times.

3D Photography

Each patient was given the opportunity to undergo preoperative 3D photography with the VECTRA system (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.), then after 15 days, 1 month, and then every month up to a maximum of 8 months postoperative. Acquisition was carried out in a standardized position, patient standing with their hands on their hips. Each acquisition was compared with the initial preoperative acquisition. Increase in volume was characterized by local increases in measured projection with the VAM Analysis software (Canfield Scientific, Fairfield, N.J.) (Fig. 1).



Fig. 1. Representative results of 3D photography analysis on 3 patients. A, Preoperative photographs. B, postoperative (4 months) 3D acquisitions. C, 3D mapping of projection differences between preoperative and postoperative acquisitions. Red areas represent augmentation of projection (positive), whereas blue areas represent decrease of projection (negative). The association between the color and the variation of projection in millimeters is indicated in the figure.

Patients who did not benefit from a minimum follow-up of 4 months were excluded from the study.

RESULTS

Forty-two patients seen in our institute between November 2013 and February 2014 met the criteria for inclusion. Of these, 23 patients benefited from 3D imaging follow-up for at least 4 months. These 23 patients, with an average age of 51.5 years (SD = 7.4

years; range, 37–66 years) and an average body mass index of 22.7 kg/m² (SD = 2.7 kg/m²; range, 17.9–29.0 kg/m²), were thus included in the study with a total of 25 breasts operated. On average, 17 months passed (4–98 months) between the DIEP reconstruction and the fat transfer. The average injection volume was 125 mL (SD = 38 mL; range, 55–240 mL). The injection was carried out on irradiated breasts in 72% of cases (Table 1). The donor sites included the interior of the thighs in 80% of cases, the outside of the thighs in 67% of cases, and the sides of the abdomen in 60% of cases.

The average operating time was 68 minutes (44–96 minutes). In 48% of cases, lipofilling was associated with one or several additional procedures (correction of abdominal scar in 26% of cases, correction of the submammary fold in 17% of cases, nipple reconstruction in 13% of cases, correction of visible scar in 4% of cases, and removal of an implantable catheter port in 4% of cases).

At 15 days postoperative, projection at the injection site increased by an average of 9.0 mm compared with the preoperative situation. When the final 3D examination of each patient after an average follow-up of 5 months (4–8 months) was considered, a 70.9% increase in projection was still present (6.3 mm of projection at the final examination). Although most patients have previously undergone radiotherapy, no significant differences could be noticed between nonirradiated and irradiated breasts.

Figure 2 shows the monthly evolution of projections in the liposuction and injection zones, with extrapolations where the patients missed their appointments (24% of appointments). The majority of resorption occurred in the first 2 months postoperative, with a 77.7% increase in projection that remained stable after this length of time. We noted that there was stabilization of the resorption from the third month postoperative with, at 4 months, conservation of 72.4% of the projection increase. Beyond 4 months (for 6 patients), the average of resorption between 4 months and the last follow-up was 3% (0–8% according to patients) (Table 1).

Liposuction of the upper pole conducted in 48% of patients brought about a 5.6 mm reduction in projection with no statistically significant variation over time.

DISCUSSION

Patients presenting for breast symmetry adjustment following DIEP reconstruction are classically women who underwent multiple operations and for whom the prospect of undergoing a fairly nontraumatic procedure, such as lipofilling, to finish their treatment seems very appealing. Moreover, it has been

Table 1. Patients and Procedure Information

| Patient No. | Laterality | Age at Surgery (y) | Body Mass Index (kg/m ²) | Radiotherapy | Duration between DIEP and Lipofilling (months) | | Surgery Duration (min) | Additional Procedures | Injected Volume (mL) | Follow-up (months) | Graft Survival Rate at 4 Months (%) | Graft Survival Rate at Last Follow-up (%) |
|-------------|------------|--------------------|--------------------------------------|--------------|--|-------------|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-------------------------------------|---|
| | | | | | Lipofilling | Lipofilling | | | | | | |
| 1 | Left | 51 | 22.2 | Yes | 23.0 | 58 | No | 135 | 4 | 79 | 79 | |
| 2 | Left | 66 | 23.7 | Yes | 20.3 | 57 | Yes | 140 | 4 | 86 | 86 | |
| 3 | Left | 56 | 21.6 | Yes | 19.3 | 53 | No | 110 | 4 | 23 | 23 | |
| 4 | Right | 48 | 20.6 | No | 7.1 | 68 | Yes | 120 | 4 | 77 | 77 | |
| 5 | Left | 53 | 23.0 | Yes | 4.6 | 55 | Yes | 120 | 4 | 100 | 100 | |
| 6 | Left | 60 | 27.7 | No | 98.1 | 65 | No | 120 | 4 | 69 | 69 | |
| 7 | Left | 59 | 23.7 | Yes | 49.5 | 70 | No | 140 | 8 | 86 | 78 | |
| 8 | Left | 59 | 20.8 | Yes | 5.7 | 67 | No | 135 | 4 | 80 | 80 | |
| 9 | Right | 51 | 21.8 | No | 3.9 | 70 | Yes | 80 | 4 | 83 | 83 | |
| 10 | Left | 60 | 20.8 | No | 5.0 | 63 | No | 240 | 8 | 68 | 68 | |
| 11 | Right | 45 | 20.3 | Yes | 8.7 | 71 | Yes | 140 | 4 | 60 | 60 | |
| 12 | Left | 62 | 20.7 | Yes | 24.2 | 44 | No | 110 | 4 | 67 | 67 | |
| 13 | Left | 52 | 21.6 | Yes | 8.3 | 84 | Yes | 110 | 4 | 44 | 44 | |
| 14 | Left | 45 | 23.3 | Yes | 12.7 | 94 | Yes | 120 | 4 | 89 | 89 | |
| 15 | Right | 37 | 27.3 | Yes | 11.0 | 58 | Yes | 80 | 4 | 85 | 85 | |
| 16 | Right | 56 | 21.2 | No | 21.6 | 68 | No | 80 | 5 | 93 | 91 | |
| 17 | Bilateral | 49 | 21.6 | Yes | 5.1 | 87 | No | 120/120 | 4 | 69/59 | 69/59 | |
| 18 | Right | 43 | 25.5 | No | 5.3 | 82 | Yes | 160 | 8 | 99 | 97 | |
| 19 | Bilateral | 46 | 23.7 | Yes | 11.1 | 96 | No | 170/150 | 4 | 50/62 | 50/62 | |
| 20 | Right | 52 | 19.9 | Yes | 8.1 | 73 | Yes | 170 | 4 | 86 | 86 | |
| 21 | Right | 42 | 25.1 | No | 7.6 | 75 | Yes | 55 | 4 | 58 | 58 | |
| 22 | Right | 51 | 29.0 | Yes | 21.4 | 61 | No | 80 | 8 | 81 | 81 | |
| 23 | Left | 41 | 17.9 | Yes | 9.7 | 56 | No | 120 | 7 | 58 | 52 | |

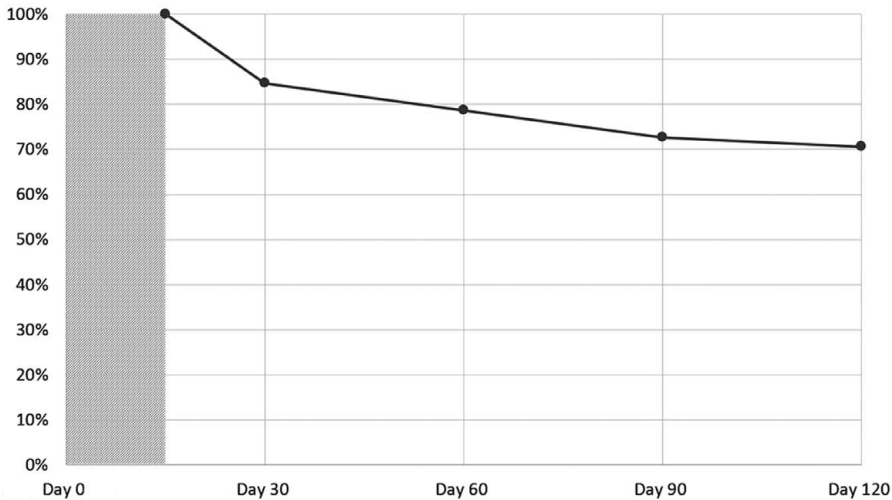


Fig. 2. Fat graft survival represented as the evolution of breast projection at the injection area over 4 months after surgery. Maximum projection augmentation (100%) is defined as the projection at the first postoperative assessment (15 days).

shown that this technique could, beyond its volume increasing aspects, also enable fat flap stabilization,²¹ which represents an advantage due to the fact that DIEP also possesses its own postoperative complications, the most serious of which is flap loss. Indeed, fat grafts serve as a cushion and a specialized gliding surface, avoiding kinking or twisting of the pedicle or avoiding vascular compression.²¹ Furthermore, fat grafts provide an angiogenic environment that may contribute to the survival of a new anastomosis.²¹ However, although now largely democratized, breast lipofilling is nonetheless underused due to the problem of fat resorption in the initial months following surgery. This fat loss can be up to 90% in certain experimental studies^{22,23} and is situated between 40% and 60% in a large majority of clinical studies.^{19,20,24}

The aim of our study was to evaluate a lipofilling protocol in human patients associated with a single-use surgical kit. This protocol, which had previously been successfully assessed in a murine model,¹⁶ is based on low-pressure harvesting using moderate-sized cannulas with small-diameter holes. The protocol is completed with multiple washes of the harvested tissue, associated with mild centrifugation, before reinjection of the fat with fine-bore cannulas.

We chose to use 3D photography to evaluate fat survival over time. However, contrary to other authors who used breast volume as a unit of measurement,¹⁹ we preferred measuring local projections in millimeters. Indeed, liposuction of the upper pole that we have carried out in combination with injec-

tion of the lower pole would have made calculation of global breast volume impractical. The initial postoperative image acquisition that served as a reference was conducted 15 days after surgery. A 15-day delay enabled us to overcome the problem of postoperative edema, which could have distorted the measurements. Although this method did not enable us to evaluate a potential loss of fat during this initial 15-day postoperative period, it did nonetheless give us a very precise idea of global fat loss. We took the decision to exclude patients who had not been monitored for a minimum of 4 months, the period after which the fat resorption phase comes to an end.^{24,25}

Unsurprisingly, liposuction of the upper pole led to a reduction in projection that remained stable over time. Projection of the inferior pole, which benefited from a fat injection, decreased over time as a result of fat resorption. Nevertheless, this resorption remains extremely moderate in comparison with data from recent studies obtained with classically used techniques. With lipofilling, we achieved a 70.9% maintenance of projection at 5 months compared with the level of projection at 15 days after surgery. Clearly, there is a flattening of the absorption curve from the third month (Fig. 2), which is coherent with other data in the literature.^{24,25}

Breast lipofilling has been the subject of a large number of studies over the last 20 years. Although, to date, no technique has yet to be adopted universally, a consensus is emerging in the literature

as to the steps and rules that should be respected when collecting and processing fat. These include the following:

- The respect of a minimal vacuum during lipoaspiration to limit cell trauma.¹⁰
- The use of a small-diameter cannula with small-diameter holes, enabling the harvesting of small-diameter adipose lobules, which will be more easily vascularized.^{11,26}
- The carrying out of multiple washings that enable inflammatory molecules and cell death factors linked to lipoaspiration to be eliminated.^{12,13,16}
- Centrifugation conducted at moderate speeds to preserve adipocyte membrane integrity.^{14,15}

CONCLUSION

In conclusion of this study, we demonstrate that, by following a specific protocol that addresses the aforementioned precautions and recommendations, while using material that is specifically adapted, it is possible to obtain a satisfactory level of fat survival, even in the clinically unfavorable case of postirradiation DIEP breast reconstruction.

Xavier Nelissen, MD
Clinique Mont Saint-Martin
Mont Saint-Martin 61
4000 Liège, Belgium
E-mail: xavier.nelissen@chirplast.be

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all patients who consented to take part in this study.

REFERENCES

1. Haekens CM, Enajat M, Keymeulen K, et al. Self-esteem and patients' satisfaction after deep inferior epigastric perforator flap breast reconstruction. *Plast Surg Nurs*. 2011;31:160–166.
2. Hamdi M, Weiler-Mithoff EM, Webster MH. Deep inferior epigastric perforator flap in breast reconstruction: experience with the first 50 flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1999;103:86–95.
3. Nahabedian MY, Momen B, Galdino G, et al. Breast reconstruction with the free TRAM or DIEP flap: patient selection, choice of flap, and outcome. *Plast Reconstr Surg*. 2002;110:466–475; discussion 476.
4. Tønseth KA, Hokland BM, Tindholdt TT, et al. Quality of life, patient satisfaction and cosmetic outcome after breast reconstruction using DIEP flap or expandable breast implant. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008;61:1188–1194.
5. Enajat M, Smit JM, Rozen WM, et al. Aesthetic refinements and reoperative procedures following 370 consecutive DIEP and SIEA flap breast reconstructions: important considerations for patient consent. *Aesthetic Plast Surg*. 2010;34:306–312.
6. Weichman KE, Broer PN, Tanna N, et al. The role of autologous fat grafting in secondary microsurgical breast reconstruction. *Ann Plast Surg*. 2013;71:24–30.

7. Neuber F. Fettransplantation. Bericht über die Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Chirurgie. *Zentralbl Chir*. 1893;22:66.
8. Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg*. 1997;24:347–367.
9. ELFadl D, Garimella V, Mahapatra TK, et al. Lipomodelling of the breast: a review. *Breast*. 2010;19:202–209.
10. Cheriyan T, Kao HK, Qiao X, et al. Low harvest pressure enhances autologous fat graft viability. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:1365–1368.
11. Nguyen PS, Desouches C, Gay AM, et al. Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: the use of adipose tissue as dermal filler. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012;65:1692–1699.
12. Condé-Green A, de Amorim NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63:1375–1381.
13. Dos-Anjos Vilaboa S, Llull R, Mendel TA. Returning fat grafts to physiologic conditions using washing. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132:323e–326e.
14. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121:1033–1041; discussion 1042–1043.
15. Xie Y, Zheng D, Li Q, et al. The effect of centrifugation on viability of fat grafts: an evaluation with the glucose transport test. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63:482–487.
16. Hoareau L, Bencharif K, Girard AC, et al. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: a new method to improve graft efficiency. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013;66:712–719.
17. Herold C, Ueberreiter K, Busche MN, et al. Autologous fat transplantation: volumetric tools for estimation of volume survival. A systematic review. *Aesthetic Plast Surg*. 2013;37:380–387.
18. Losken A, Seify H, Denson DD, et al. Validating three-dimensional imaging of the breast. *Ann Plast Surg*. 2005;54:471–476; discussion 477–478.
19. Choi M, Small K, Levovitz C, et al. The volumetric analysis of fat graft survival in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131:185–191.
20. Small K, Choi M, Petruolo O, et al. Is there an ideal donor site of fat for secondary breast reconstruction? *Aesthet Surg J*. 2014;34:545–550.
21. Bar-Meir ED, Yueh JH, Tobias AM, et al. Autologous fat grafting: a technique for stabilization of the microvascular pedicle in DIEP flap reconstruction. *Microsurgery*. 2008;28:495–498.
22. Nguyen A, Pasyk KA, Bouvier TN, et al. Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg*. 1990;85:378–386; discussion 387–389.
23. Kononas TC, Bucky LP, Hurley C, et al. The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft-tissue augmentation: a volumetric and histologic study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg*. 1993;91:763–768.
24. Delay E, Streit L, Toussoun G, et al. Lipomodelling: an important advance in breast surgery. *Acta Chir Plast*. 2013;55:34–43.
25. Coleman SR, Saboeiro AP. Fat grafting to the breast revisited: safety and efficacy. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119:775–785; discussion 786–787.
26. Eto H, Kato H, Suga H, et al. The fate of adipocytes after non-vascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129:1081–1092.

ANNEXE 3 :

2^{ème} ÉTUDE

Comparative Analysis of a New Automatic
System and Four Existing Techniques
for Autologous Fat Grafting

Comparative Analysis of a New Automatic System and Four Existing Techniques for Autologous Fat Grafting

Xavier Nelissen, MD*
 Séverine Licciardi, MS†
 Christophe Nizet, MD*
 Emmanuel Delay, MD‡
 Régis Roche, PhD†

Background: Autologous fat grafting is increasingly used worldwide and is a very attractive technique in many ways. However, treatment duration and postinjection tissue resorption remain problematic elements, which are largely related to the preparation method used. Moreover, few scientific studies objectively compare different fat preparation methods. This study analyzes the efficiency and quality of lipoaspirates prepared with a new filtration/centrifugation system (Adipure) in comparison with several existing techniques.

Methods: Patient lipoaspirates were processed by five different techniques: decantation, centrifugation, Macrofill, Puregraft, and Adipure. Adipose tissue was evaluated in vitro for tissue resorption and oil formation, as well as in vivo after subcutaneous injections in immunodeficient mice. Adipose grafts were collected after 1 month, weighed, and analyzed by histology with a detailed scoring method.

Results: Decanting gives inferior results to all other techniques, in terms of amount of tissue and oil in vitro, or graft weight and histological analysis in vivo. Methods using classical Coleman centrifugation (1200g), or a modified one (400g) associated with washes (Macrofill) produce very similar results, both in vitro and in vivo. Techniques using filtration systems (Puregraft and Adipure) produce less oil overall and have a higher grafting efficiency. The best results regarding grafting efficiency and oil quantity are found with the Adipure device.

Conclusions: A combination of filtration and very low-speed centrifugation potentiates the advantages of these techniques, in terms of graft efficiency. The adipose tissue purification being done in a few minutes, in an automatic way, undoubtedly provides a strong advantage for the use of this new system. (*Plast Reconstr Surg Glob Open* 2023; 11:e5349; doi: 10.1097/GOX.0000000000005349; Published online 16 October 2023.)

INTRODUCTION

Whether for reconstructive or cosmetic surgery, autologous fat grafting (AFG) is increasingly used throughout the world. This technique uses the patient's fat tissue mainly for its volumizing effect, but also for its healing and regenerative properties.¹⁻⁵

Autologous fat grafts are in many ways ideal fillers with several attractive features,⁶ and the technique has experienced tremendous development in the last 10 years for

breast reconstruction, due to its extremely natural results and its very low complications.⁷⁻¹⁰

However, one of the major problems concerns the resorption of adipose tissue after reinjection, which will lead to a significant decrease in injected volume in the months following injection.⁶ Indeed, conditions of harvesting, preparation, and reinjection of the adipose tissue will considerably influence its survival during and after surgery. Depending on the techniques and volumes used, tissue survival after injection can vary from 30% to 70%,¹¹⁻¹³ which significantly impacts the outcome and number of surgical procedures to achieve the expected result. However, very few scientific studies compare objectively the different fat preparation methods.

Fat processing can be broadly divided into four steps: infiltration, aspiration, purification, and reinjection. Each of these steps is essential for the survival of both fat cells and vascular stromal cells and will each influence, to a greater or lesser extent, postinjection results.^{6,11,14,15} Historically, the majority of surgeons harvested fat with a syringe coupled with manual aspiration,¹⁶ then performed

From the *Department of Plastic, Reconstructive, Maxillofacial Surgery and Burn Center, University Hospital of Liege, Liege, Belgium; †Neosyad Company, Aix en Provence, France; and ‡Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Centre Léon Bérard, Lyon, France.

Received for publication June 14, 2023; accepted September 8, 2023.

Copyright © 2023 The Authors. Published by Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of The American Society of Plastic Surgeons. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

DOI: 10.1097/GOX.0000000000005349

Disclosure statements are at the end of this article, following the correspondence information.

centrifugation. However, since high-speed centrifugation is harmful to adipose tissue cells,¹⁷⁻¹⁹ other techniques have been developed using decantation, filtration, or gentle centrifugations.^{15,20-23} In addition, washing the tissue to remove potentially pro-inflammatory substances such as blood, oil, and cellular debris has been shown to improve outcomes.^{14,24-28} However, since this washout requires more preparation time, it is still only rarely used by practitioners.

In view of all studies on the subject and various devices already developed, some consensus seems to be emerging regarding the most effective preparation technique for adipose tissue. Indeed, washing coupled with passive filtration is less traumatic than centrifugation, whereas the latter is the most effective in removing liquid from the tissue. However, studies comparing these two techniques have found similar results.²⁰ Furthermore, washing coupled with active filtration is faster to perform than passive filtration^{23,29} and seems to yield better results regarding the number of viable adipocytes,³⁰ but the purification duration is still significant for large volumes of tissue.

Ideally, the fat should be washed and filtered, together with soft centrifugation, to eliminate the maximum amount of liquid in a very short time. Based on these elements, we developed a new device dedicated to the lipofilling technique, to improve results and make them more reproducible. (Fig. 1) The device is composed of an automaton (AdiMate) associated with a single-use medical device (Adipure), allowing it to perform washes, together with active filtration by centrifugation at very low speed (26g), in an automatic way.

In this study, we compare this new device to classical techniques (decantation and Coleman) and two existing devices on the market (Puregraft and Macrofill) (Figs. 1 and 2). We analyzed the different quantities of tissue, liquid, and oil *in vitro* after adipose tissue purification, as well as the efficiency of the graft *in vivo*, in immunodeficient mice. The effectiveness of the graft was evaluated through a detailed analysis via assessment of several parameters, including weight, size of the grafts, oil amount, and presence of fibrosis.

MATERIAL AND METHODS

Patients

Lipoaspirates were obtained from five patients undergoing abdominal dermolipectomy associated with liposuction. Patients were infiltrated with a tumescence solution (0.9% NaCl saline solution, 2% adrenaline) before aspiration. Approximately 500 mL was collected manually per patient, with classical 50 mL syringes or 60 mL specific syringes (Macrofill kit), respecting a vacuum of less than 0.5 atm (plunger pulled 10 mL per 10 mL) using a 3.5-mm cannula with 20 holes of 2.5-mm diameter.

Adipose Tissue Processing

Between 50 and 150 mL of lipoaspirate was used for each condition. The 50 mL syringes were left to settle for 10 minutes to remove the infiltration mixture. Decantation protocol: 1 × 50 mL syringe was left to stand for a further

Takeaways

Question: How to improve the preparation of fat tissue for autologous fat grafting?

Findings: Our team has developed a new technique, combining filtration and centrifugation at very low speed, to purify adipose tissue fully and automatically in less than 10 minutes. The quality of the treated fat was tested *in vitro* and *in vivo* on immunodeficient mice and compared with four other techniques.

Meaning: Development of a new lipofilling machine allows for automatic fat purification.

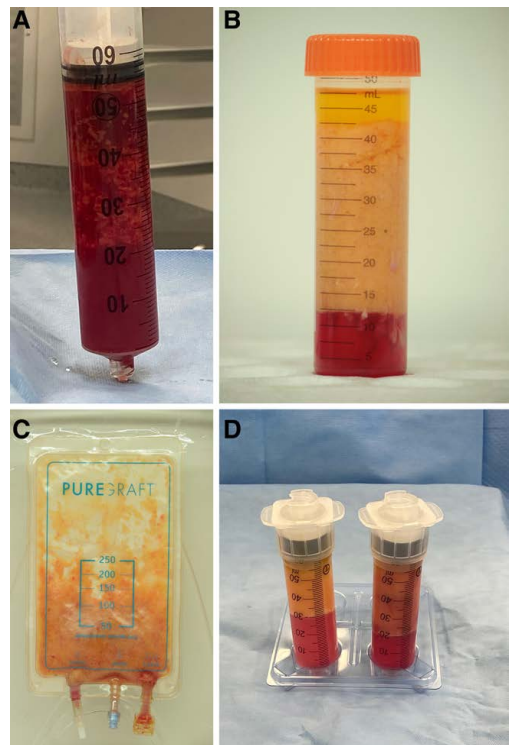


Fig. 1. Comparative and representative photographs of adipose tissue preparations with the different devices and techniques used. A, Decantation; B, Coleman; C, Puregraft; D, Macrofill.

10 minutes before removing the liquid phase. Coleman method: 80 mL of fat tissue was transferred into 2 × 50 mL tubes and centrifuged for 3 minutes at 1200g. The oil supernatant and the lower liquid phase were discarded. Macrofill (2 × 60 mL manufacturer's specific syringes): after decantation for 5 minutes and removal of the lower liquid phase, fat tissue was washed by the addition of 15 mL of Ringer lactate for 35 mL of tissue and centrifuged quickly at 100g for 1 second (centrifugation was stopped as soon as 100g was

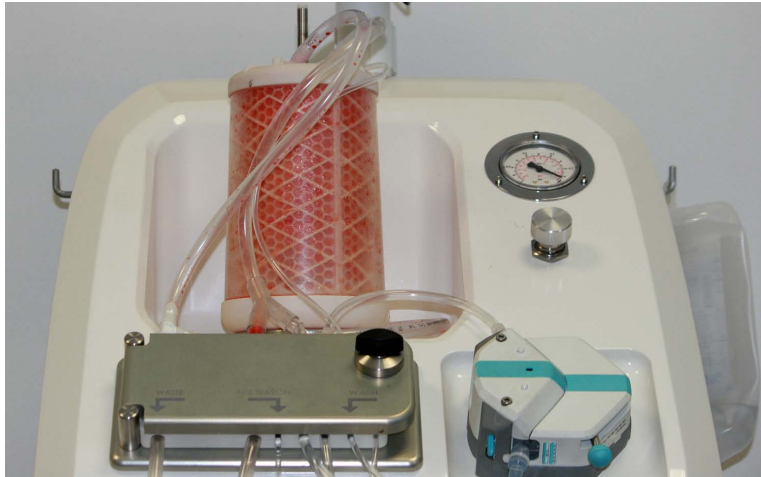


Fig. 2. AdiMate machine and Adipure single-use kit.

reached for gentle phase separation, according to manufacturer's purification protocol). This procedure was repeated twice. The final washing step was followed by centrifugation at 400g for 1 minute. At each step, the oil supernatant and the lower liquid phase were discarded. Puregraft: 150 mL of tissue was processed according to the manufacturer's protocol. Fat tissue was washed twice with 150 mL NaCl and allowed to settle for 5 minutes between the two washes and liquid removal. Adipure (automatic protocol): 150 mL of adipose tissue were aspirated into the Adipure device, first centrifuged at 26g for 30 seconds (liquid removal), then mixed with 300 mL of NaCl under intermittent rotation for 1 minute 30 seconds (washing), followed by centrifugation at 26g for 30 seconds (liquid removal). This washing cycle was repeated twice with the last centrifugation at 26g for 1 minute 15 seconds (last step of liquid removal).

After processing, 50 mL of fat from each condition was transferred to 10 mL syringes, with 40 mL dedicated to in vitro assays, and 10 mL for mice injection.

In Vitro Experiments

Tissue Culture

Processed fat tissue from each protocol was cultured in 24-well microplates, and 0.3 mL of fat was distributed into each well and combined with 0.6 mL of DMEM (supplemented with 1% sodium pyruvate, 10% FBS, 1% Ultraglutamine and 1% penicillin/streptomycin). The plates were then incubated at 37°C, 5% CO₂ for 48h. After two days, 24 wells were harvested, pooled, and centrifuged at 400g for 2 minutes. The oil and tissue layers were weighed to assess their quantities.

In Vivo Experiments

Animals

The study was performed on 75 adult (7 weeks old) CB17 severe combined immunodeficient (SCID) female

mice (Envigo, France). Animal care was provided by the CER Animal Facility (Marche-en-Famenne, Belgium). This study protocol was approved by the local ethical commission (PS-2022-NEO-001). Animals were acclimatized to the animal facility conditions for 1 week, maintained at 20–24°C and given a 12 hour/12 hour light/dark cycle. The experiments were realized with the adipose tissue from five patients, with 15 mice per patient (n = 6 injections per protocol per patient). Mice were kept under isoflurane during the entire surgical procedure. In each flank, a volume of 1 mL of human fat was injected using a 1.25-mm cannula connected to a preloaded 1-mL luer-lock syringe. The weight of each graft was accurately determined by weighing syringes before and after injection. After 4 weeks, each mouse was euthanized, and human fat grafts were separated from the skin, weighted with a precision scale, and fixed in 4% formaldehyde (weight/volume) for 48 hours for further histological analysis.

Histological Analysis

Fixed samples were dehydrated in alcohol baths and embedded in paraffin. Paraffin blocks were then sectioned with a microtome in 4-µm tissue sections (two levels, three slides per level) and stained with hematoxylin-eosin (HE) or with Masson trichrome. HE slides were used to evaluate oil vacuole presence, signs of inflammation, and homogeneity of adipocyte size and shape, whereas Masson trichrome was used for the evaluation of the fibrosis score in fat graft samples. Slides were scanned (S360 Hamamatsu, Japan), and area measurements and histological scoring were performed using the NDPview software (Hamamatsu, Japan). Histological scoring was adapted from previous studies.^{22,27}

Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using the Prism (GraphPad, La Jolla-USA) software. Significance was

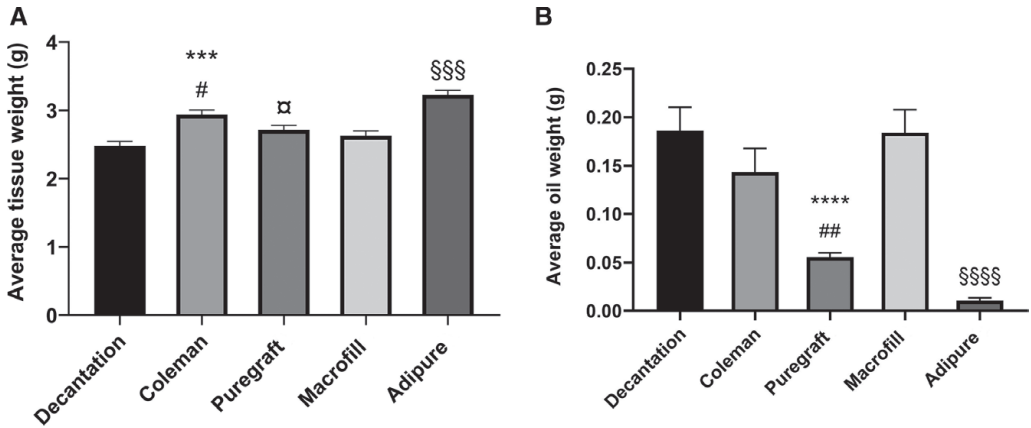


Fig. 3. In vitro evaluation of adipose tissue (A) and oil quantity (B) after purification with five different techniques (n = 5 patients). Graphs represent the mean of 25 plates of 24 wells (five plates per patient) per technique ± SEM. Purified samples were incubated in the presence of a culture medium for 48 hours. A, The adipose tissue phase was measured. \$\$\$P < 0.005 compared with all conditions. ***P < 0.005 compared with decantation and Macrofill conditions. #P < 0.05 compared with Puregraft condition. αP < 0.05 compared with decantation. B, The oil supernatant was measured. \$\$\$P < 0.0001 compared with all conditions. ****P < 0.0001 compared with decantation and Macrofill conditions. ##P < 0.01 compared with Coleman’s condition.

determined by an unpaired parametric *t* test for each condition, compared with each of the other conditions. A *P* value of less than or equal to 0.1 was considered significant.

RESULTS

In Vitro Analysis

Tissue Resorption in Culture

Lipoaspirates obtained from five donors and purified with the five different protocols were seeded in culture plates with a culture medium. After 2 days of culture, the remaining tissue phase was significantly higher with the Adipure and Coleman techniques (3.23 ± 0.19 g for Adipure and 2.93 ± 0.21 g for Coleman method) compared with decantation (2.48 ± 0.17 g), Puregraft (2.71 ± 0.2 g) or Macrofill (2.62 ± 0.21 g) (Fig. 3A). In addition, the amount of remaining tissue is significantly higher with Adipure compared with all other techniques, including the Coleman method.

Oil Formation in Culture

In addition to the adipose tissue phase, oil formation was also measured (Fig. 3B). In protocols using filtration, only a limited amount of oil was detected (0.055 ± 0.013 g for Puregraft and 0.01 ± 0.007 g for Adipure, corresponding respectively to 2% and 0.3% of tissue quantity), whereas higher quantities are measured with the other conditions (0.185 ± 0.077 g for decantation, 0.143 ± 0.078 g for Coleman method, and 0.185 ± 0.067 g for Macrofill, corresponding respectively to 7.45%, 4.9%, and 7% of tissue quantity). The amount of oil is significantly lower (close to zero) with Adipure compared with all other techniques.

In Vivo Analysis

Tissue Survival after 1 Month

After 1 month, grafts were harvested, and the remaining tissue weight was assessed (Fig. 4). Protocols using a filtration method, either passive (Puregraft) or active (Adipure with low-speed centrifugation), give the best results (0.87 ± 0.0155 g for Puregraft and 1.02 ± 0.058 g for Adipure) compared with other techniques (0.63 ± 0.064 g for decantation, 0.77 ± 0.065 g for Coleman method and 0.75 ± 0.048 g for Macrofill). The Adipure technique resulted in statistically higher remaining tissue size and weight (1.02 ± 0.058 g) than all other techniques.

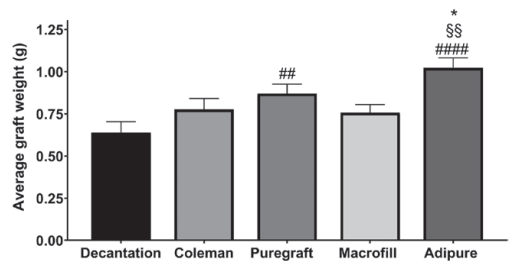


Fig. 4. In vivo evaluation of fat grafts 1 month after subcutaneous implantation. Fat grafts were performed in mice after purification with five different techniques (n = 5 patients, n = 6 injections per technique per patient). The entire graft was removed after 1 month and weighed. Results are expressed as mean ± SEM. *P < 0.1 compared with Puregraft condition. ##P < 0.01 and ####P < 0.0001 compared with decantation condition. \$\$P < 0.01 compared with Coleman and Macrofill conditions.

Table 1. Detailed Histological Scoring Grid of Adipose Tissue Grafts

| Scoring Criteria | Oil Vacuoles | Signs of Fibrosis | Signs of Inflammation | Adipocyte Size and Shape | Maximal Score |
|------------------|--------------|-------------------|-----------------------|--------------------------|---------------|
| Evaluation Score | <2% | Absent | Absent | Homogeneous | 12 |
| | 2%–5% | Minimal | Minimal | Heterogeneous | 0 |
| | 5%–10% | Moderate | Moderate | | |
| | 10%–15% | Extensive | Extensive | | |
| | 15%–20% | | | | |
| | >20% | | | | |

The higher scores are attributed to healthy criteria, whereas the lower scores are assigned to injured grafts.

Histological Scoring at 1 Month

Harvested grafts were histologically analyzed for the presence of oil vacuoles, fibrous tissue, signs of inflammation, and adipocyte size and shape (Table 1). The lower the scores, the worse the condition of the adipose tissue (more oil cysts, fibrous tissue and signs of inflammation).

The results of global histological scoring are presented in Figure 5A. Protocols using a filtration method, either passive (Puregraft) or active (Adipure with low-speed centrifugation), give the highest scores (5.8 ± 0.41 and 6.14 ± 0.45 respectively), whereas decantation shows the lowest score (4.09 ± 0.5). Techniques using conventional centrifugation (strong, 1200g for the Coleman method or soft, 400g for Macrofill) give intermediate results (5 ± 0.38 and 5.17 ± 0.47 respectively).

Figure 5B shows the results of the specific histological score of oil vacuoles (maximum score 5), which is the main

marker of adipose tissue integrity. In the same way as for the global score, but to a greater extent, protocols using a filtration method give the highest scores (3.09 ± 0.19 for Puregraft and 3.45 ± 0.11 for Adipure), whereas decantation still shows the lowest score (1.68 ± 0.3). Techniques using conventional centrifugation give intermediate results (2.47 ± 0.22 for Coleman and 2.42 ± 0.26 for Macrofill). The oil vacuole score is significantly higher with Puregraft and Adipure compared with all other techniques. Representative histological results for each condition are illustrated in Figure 6.

DISCUSSION

AFG has seen a strong revival of interest over the past decade, thanks to the multiple indications of this technique for breast reconstruction and augmentation. Unlike facial lipofilling, breast AFG requires the preparation of

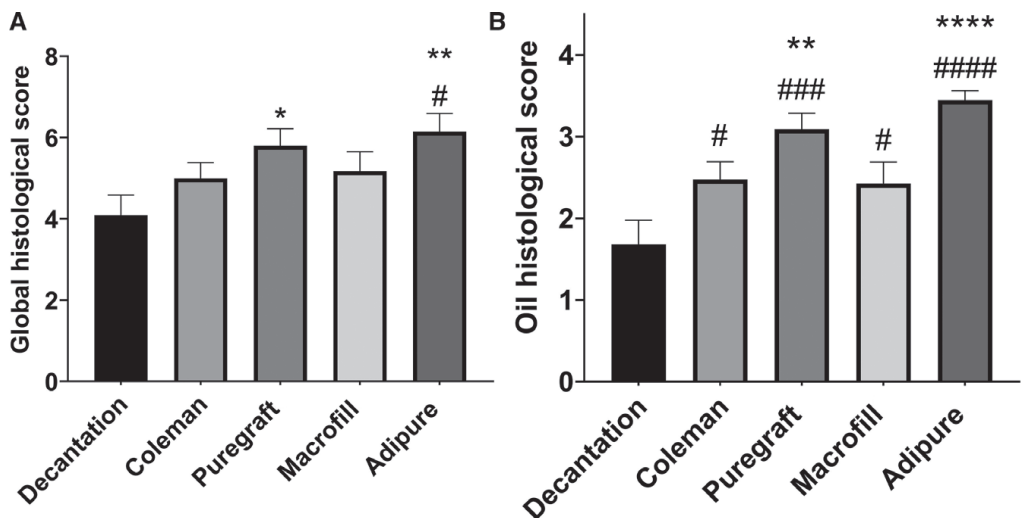


Fig. 5. In vivo evaluation of fat grafts 1 month after subcutaneous implantation. Fat grafts were performed in mice following purification with five different techniques (n = 5 patients, n = 6 injections per technique per patient). The entire graft was removed after 1 month. Histological scoring was performed on HE with Masson’s trichrome-stained sections. Longitudinal sections were prepared from two different graft depths. A, Global scoring includes oil vacuole, inflammation, fibrosis and adipocyte size and shape. *P < 0.05 and **P < 0.01 compared with decantation condition. #P < 0.1 compared with Coleman condition. Results are expressed as mean ± SEM. B, Oil vacuoles specific scoring. **P < 0.05 and ****P < 0.001 compared with Macrofill and Coleman conditions. #P < 0.1; ###P < 0.001 and ####P < 0.0001 compared with decantation condition.

Downloaded from http://journals.lww.com/psp by aKLUADKX7XaH8IKVAMVZU16njljRaYRzra3HWFrj9Qa9oakicpeEIV489GxBieW10VX+0UDJd4Lut01VAKSL8KHPPH82QARUVeVESVBNVAGUqUyF5p5p11PM on 04/14/2024

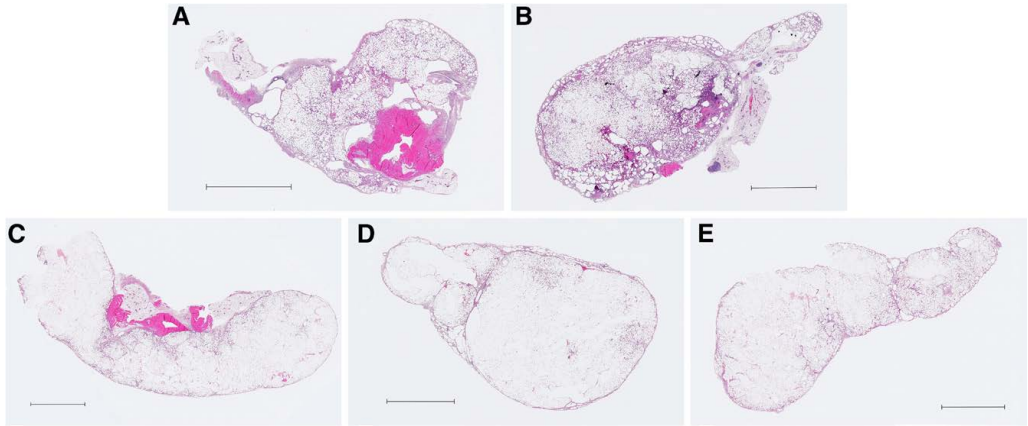


Fig. 6. Histological results of grafts recovered 1 month after injection according to the different techniques. Representative histological images of HE-stained sections from (A) decantation technique, (B) Coleman technique, (C) Puregraft protocol, (D) Macrofill protocol, and (E) Adipure protocol. The scale bar represents 5mm.

much larger quantities of adipose tissue, thus becoming a real challenge for the operating team if considering time and sterility constraints. In fact, several medical devices have appeared on the market in recent years; however, even if the protocols are evolving favorably by adding washes that have shown their effectiveness,^{15,26,27} AFG for large volumes still comes up against two major problems: for patients, tissue resorption after injection and, for the operating team, time and aseptic conditions for fat preparation. Indeed, the handling of adipose tissue remains mainly manual, while *in vitro/in vivo* studies struggle to show a clear superiority of one device or technique over the other, with some showing an advantage to centrifugation and washing,^{22,27} some showing better results with filtration and washing,³⁰ and others showing no significant differences *in vivo*²⁶ or at the clinical level,^{20,30,31} between centrifugation and active or passive filtration.

Based on this statement, we wished to develop a new device dedicated to the AFG technique, which would optimize both graft efficiency and preparation time in the operating room. This device is composed of an automaton that allows the surgeon to perform liposuction and infiltration, as well as a single-use kit allowing adipose tissue treatment to be performed in an automated way. The tissue preparation technique consists of filtration combined with 26g centrifugation and integrates two automatically performed washes.

In this study, we compared the quality of the fat obtained with this new device to that obtained with other devices on the market, using centrifugation or filtration, as well as the classical and widespread techniques (Coleman and decantation). We have chosen an *in vivo* approach to obtain indications of the potential clinical effectiveness. So, even if it obviously cannot compete with a clinical study in humans, the xenograft model in immunodeficient mice is an excellent model because it allows for precise histological quantification of the success and quality of the graft.^{22,26,27}

In addition, adipose tissue was harvested in an identical way between all the techniques (manually with a syringe, with the same cannula), while respecting a low depression (lower than 0.5 atm), without using local anesthetics in the infiltration solution (general anesthesia) to limit cell death during harvesting and later.^{32,33}

Firstly, the results we obtained allow us to confirm results from several previous studies, namely that simple decantation of the tissue leads to inferior results to all other techniques tested.^{24,27,30,34,35} Indeed, in this technique, the liquid represents up to 30% of the volume,¹⁷ which may explain the poor grafting efficiency of about 60% (Fig. 4). In addition, we also note overall poor histological results (4 out of 12, Fig. 5A) as well as an important number of oily vacuoles within the tissue (1.68 out of 4, Figs. 5B and 6). In fact, even though it is fast and inexpensive, decantation should probably be considered the least effective technique for purifying adipose tissue and should be avoided.

Secondly, our results also confirm that the centrifugation technique, at high speed without washing (1200g, Coleman) or medium speed with washing (400g, Macrofill), gives globally similar results *in vivo*, whether for grafting efficiency (respectively, 0.77g and 0.75g of graft weight, Fig. 4), global histological score (respectively, 5 ± 0.38 and 5.17 ± 0.47 out of 12, Fig. 5A), or specific score concerning oil quantity (respectively, 2.47 ± 0.22 and 2.42 ± 0.26 out of 4, Fig. 5B). Results of Macrofill in mice (75% graft efficiency) are close to those obtained clinically for breast reconstructions in a study dedicated to this device³⁶ where authors obtained a graft survival rate of 70%.

Surprisingly, *in vitro*, results seem to favor the Coleman method over the Macrofill device, whereas the Macrofill purification conditions are rather in favor of adipose tissue preservation (lower speed + washes). However, the difference is only significant for the tissue quantity, and with a rather small difference between the two techniques

(2.93 ± 0.21 for the Coleman method compared with 2.62 ± 0.21 g for Macrofill). In any case, this confirms that a reliable comparative study cannot be limited to in vitro experiments and that a living model provides a lot of important data that can be transposed to the clinic more reliably.

Finally, our study corroborates other works showing the interest of preserving integrity and cell viability of adipose tissue, by using a filtration technique rather than a classical centrifugation.^{15,30} Indeed, and even if protocols are based on very different technologies, results observed with Puregraft and Adipure, which both use filtration with two washes, are superior to the other techniques. This is globally reflected both in vitro (oil quantity) and in vivo on graft efficiency (weight) and quality (histology). The fact that Puregraft seems to give inferior results to the Coleman technique in vitro (Fig. 3A) can probably be explained by the amount of liquid still present in the tissue after the Puregraft protocol, measured at an average range of 20% to 25% (data not shown), because of the passive filtration. On the other hand, it is possible that in vivo, Puregraft has an advantage over the Coleman technique because the tissue is less damaged by filtration than centrifugation (Fig. 4).

However, between the two filtration techniques, Adipure gives significantly better results than Puregraft, both in vitro and in vivo on graft efficiency (graft weight, Fig. 4), with a remarkable efficiency of 100% after one month. This superiority can again be explained by the amount of liquid present in the tissue after purification, measured at an average range of 5%–10% after the Adipure protocol (data not shown), ie, approximately 15% less than with Puregraft, and this finally has a beneficial impact on graft efficiency (Fig. 4). The histological studies confirm this hypothesis because no significant difference is observed in the sections between the two methods, which confirms the interest of filtration for the preservation of fat cell integrity (Fig. 5 and Fig. 6C and 6E).

CONCLUSIONS

Overall, this study confirms both in vitro and in a proven animal model that AFG efficacy is highly dependent on used protocols, as well as the superiority of adipose tissue preparation techniques involving filtration and washing rather than centrifugation or decantation. The Adipure device, which uses active filtration by rotation, provides results superior to those of conventional methods and the Puregraft and Macrofill devices. If these encouraging graft efficacy results are confirmed by medium- and long-term clinical studies, a preparation time of less than 10 minutes combined with a fully automated protocol will make this system highly attractive for the operating room.

Régis Roche, PhD

260 Rue René Descartes, 13290
Aix en Provence, France
E-mail: r.roche@neosyad.com

DISCLOSURE

Régis Roche and Séverine Licciardi are employees of Neosyad. Régis Roche holds stocks in Neosyad. Xavier Nelissen holds stocks in Neosyad. Drs. Nizet and Delay have no financial interest to declare in relation to the content of this article. This study was funded by the Neosyad Company.

REFERENCES

- Alessandri-Bonetti M, Egro FM, Persichetti P, et al. The role of fat grafting in alleviating neuropathic pain: a critical review of the literature. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2019;7:e2216.
- Zhu M, Xue J, Lu S, et al. Anti-inflammatory effect of stromal vascular fraction cells in fat transplantation. *Exp Ther Med*. 2019;17:1435–1439.
- Huang SH, Wu SH, Lee SS, et al. Fat grafting in burn scar alleviates neuropathic pain via anti-inflammation effect in scar and spinal cord. *PLoS One*. 2015;10:e0137563.
- Fredman R, Katz AJ, Hultman CS. Fat grafting for burn, traumatic, and surgical scars. *Clin Plast Surg*. 2017;44:781–791.
- Papadopoulos S, Vidovic G, Neid M, et al. Using fat grafting to treat breast implant capsular contracture. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2018;6:e1969.
- Fontes T, Brandão I, Negrão R, et al. Autologous fat grafting: harvesting techniques. *Ann Med Surg (Lond)*. 2018;36:212–218.
- Delay E, Streit L, Toussoun G, et al. Lipomodelling: an important advance in breast surgery. *Acta Chir Plast*. 2013;55:34–43.
- Delay E, Sinna R, Ho Quoc C. Tuberosity breast correction by fat grafting. *Aesthet Surg J*. 2013;33:522–528.
- Gentile P. Breast silicone gel implants versus autologous fat grafting: biomaterials and bioactive materials in comparison. *J Clin Med*. 2021;10:3310.
- Stillaert FB, Lannau B, Van Landuyt K, et al. The prepectoral, hybrid breast reconstruction: the synergy of lipofilling and breast implants. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2020;8:e2966.
- Hivernaud V, Lefourn B, Guicheux J, et al. Autologous fat grafting in the breast: critical points and technique improvements. *Aesthetic Plast Surg*. 2015;39:547–561.
- Leopardi D, Thavaneswaran P, Mutimer KLA, et al. Autologous fat transfer for breast augmentation: a systematic review. *ANZ J Surg*. 2014;84:225–230.
- Wolf GA, Gallego S, Patrón AS, et al. Magnetic resonance imaging assessment of gluteal fat grafts. *Aesthetic Plast Surg*. 2006;30:460–468.
- Condé-Green A, de Amorim NFG, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63:1375–1381.
- Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, et al. Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131:873–880.
- Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, et al. Trends in autologous fat grafting to the breast: a national survey of the American Society of Plastic Surgeons. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132:35–46.
- Hoareau L, Bencharif K, Girard AC, et al. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: a new method to improve graft efficiency. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013;66:712–719.
- Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121:1033–1041.
- Bozkurt M, Kapı E, Şirinoğlu H, et al. The effects of the centrifugation speed on the survival of autogenous fat grafts in a rat model. *J Plast Surg Hand Surg*. 2016;50:161–166.

20. Mestak O, Sukop A, Hsueh YS, et al. Centrifugation versus PureGraft for fat grafting to the breast after breast-conserving therapy. *World J Surg Oncol*. 2014;12:178.
21. Kang D, Luan J. Fat necrosis after autologous fat transfer (AFT) to breast: comparison of low-speed centrifugation with sedimentation. *Aesthetic Plast Surg*. 2018;42:1457–1464.
22. Hivernaud V, Lefourn B, Robard M, et al. Autologous fat grafting: a comparative study of four current commercial protocols. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2017;70:248–256.
23. Hanson SE, Garvey PB, Chang EI, et al. A prospective pilot study comparing rate of processing techniques in autologous fat grafting. *Aesthet Surg J*. 2019;39:331–337.
24. Condé-Green A, Wu I, Graham I, et al. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: a pilot study. *Aesthet Surg J*. 2013;33:713–721.
25. Chen Y, Chai Y, Yin B, et al. Washing lipoaspirate improves fat graft survival in nude mice. *Aesthetic Plast Surg*. 2022;46:923–936.
26. Ansonge H, Garza JR, McCormack MC, et al. Autologous fat processing via the Revolve system: quality and quantity of fat retention evaluated in an animal model. *Aesthet Surg J*. 2014;34:438–447.
27. Girard AC, Mirbeau S, Gence L, et al. Effect of washes and centrifugation on the efficacy of lipofilling with or without local anesthetic. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2015;3:e496.
28. Chiu WK, Fracol M, Feld LN, et al. A comparison of fat graft processing techniques: outcomes in 1,158 procedures in prosthetic breast reconstructions. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2019;7:e2276.
29. Hanson SE, Garvey PB, Chang EI, et al. A randomized prospective time and motion comparison of techniques to process autologous fat grafts. *Plast Reconstr Surg*. 2021;147:1035–1044.
30. Fang C, Patel P, Li H, et al. Physical, biochemical, and biologic properties of fat graft processed via different methods. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2020;8:e3010.
31. Hanson SE, Garvey PB, Chang EI, et al. A prospective, randomized comparison of clinical outcomes with different processing techniques in autologous fat grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2022;150:955–962.
32. Cheriyan T, Kao HK, Qjao X, et al. Low harvest pressure enhances autologous fat graft viability. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:1365–1368.
33. Girard AC, Atlan M, Bencharif K, et al. New insights into lidocaine and adrenaline effects on human adipose stem cells. *Aesthetic Plast Surg*. 2013;37:144–152.
34. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, et al. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35:341–348.
35. Valmadrid AC, Kaoutzianis C, Wormer BA, et al. Comparison of telfa rolling and a closed washing system for autologous fat processing techniques in postmastectomy breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2020;146:486–497.
36. Nelissen X, Lhoest F, Preud'Homme L. Refined method of lipofilling following DIEP breast reconstruction: 3D analysis of graft survival. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2015;3:e526.

Downloaded from http://journals.lww.com/prsgo by aKIUADkYXAH9kVAMW7u16mJfRqYtZr3HMFmJ30avpakic-p8E1V4b9gB1ew10XX+0UDJdLU701VAKSL8kHPH82CaRUVeVESVbVUAGLguyYF5p5pr1.pdf on 04/14/2024

