

Caracterização da célula-tronco derivada do tecido adiposo subcutâneo

Characterization of adipose-derived stem cells

Marcelo Moreno¹, André Vallejo da Silva²

Descritores

Tecido adiposo
enxertia
Adipócitos

Keywords

Adipose tissue
Transplantation
Adipocytes

RESUMO

Atualmente há aumento do uso de células-tronco derivadas de tecido adiposo para o tratamento de diversas situações clínicas. No entanto, a origem destes componentes celulares é desconhecida, devido aos diferentes métodos utilizados para caracterizá-los em pesquisas publicadas desde que as células-tronco derivadas do tecido adiposo foram documentadas pela primeira vez. É possível encontrar a denominação deste tipo de célula-tronco como célula endotelial, pericito, célula-tronco hematopoética e mesenquimal. Baseado nestes resultados, o presente trabalho descreve uma revisão desde aspectos históricos, caracterização molecular e como este tipo de célula-tronco pode ser usado na cirurgia de reconstrução mamária.

ABSTRACT

Nowadays there is an increasing use of adipose derived stem cells to treatment of many clinical situations. However the origin of these cellular components is unknown, due to different methods used to characterize the cells on researches published since those adipose derived stem cells were documented in the first time. It is possible to find the nominated of this kind of stem cell like endothelial cell, pericyte, hematopoietic stem cell and mesenchymal cell. Based on these findings, this work describes a review since historical aspects, molecular characterization and how this kind of stem cell can be used in the breast reconstructive surgery.

Trabalho realizado no curso de Pós-graduação em Cirurgia Oncoplástica da Mama do Instituto Carlos Chagas – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

¹Professor do Curso de Medicina da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ) – Chapecó (SC), Brasil.

²Coordenador da Residência Médica de Mastologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

Endereço para correspondência: Marcelo Moreno – Avenida Senador Atilio Fontana, 591-E – Caixa Postal: 1141 – CEP 89809-000 – Chapecó (SC), Brasil – E-mail: mmoreno@unochapeco.edu.br

Conflito de interesses: nada a declarar.

Recebido em: 05/02/2012. Aceito em: 22/07/2013

Introdução

Com as técnicas cirúrgicas existentes, é possível propor reconstrução mamária para pacientes submetidas à retirada de todo ou parte do parênquima mamário. Mesmo nos casos em que somente seria necessária a retirada do tumor com pequena margem de segurança, técnicas de reconstrução podem ser empregadas para evitar cicatrizes assimétricas ou retrações teciduais, muitas vezes acentuadas pelo tratamento radioterápico adjuvante.

É possível reconstruir o volume glandular utilizando uma técnica isolada ou a associação de técnicas. As mais comumente empregadas são retalhos miocutâneos autólogos (músculo grande dorsal, músculo reto abdominal associado com tecido adiposo infraumbilical); utilização de próteses de silicone (com ou sem expansão tecidual prévia); lipoenxertia — transferência de gordura autóloga (lipofilling).

A técnica de lipoenxertia é usada principalmente em etapas de refinamento estético para simetrização da mama reconstruída em relação à contralateral. É realizada utilizando tecido adiposo aspirado de regiões como o abdome. Após a aspiração, o conteúdo é centrifugado para separar os elementos celulares e, então, injetado nos locais nos quais há deformidades.

Inúmeros trabalhos descreveram as propriedades das células-tronco encontradas no centrifugado do tecido adiposo subcutâneo, sugerindo o uso como fonte para regeneração de diferentes tecidos, o que também pode ser verificado em células-tronco da medula óssea ou cordão umbilical. No entanto, pode ser adquirido um maior número de células-tronco no tecido adiposo em comparação aos demais locais que são fonte desse tipo celular.

O objetivo deste trabalho é revisar a origem da célula-tronco encontrada no tecido adiposo, considerando o seu uso para a reconstrução mamária complementar.

Células-tronco: um breve histórico

A terminologia célula-tronco (CT) vem sendo usada desde a metade do século 19, quando foi descoberta a possibilidade de que algumas delas poderiam originar células de outros tecidos. As CTs podem ser classificadas em três categorias de acordo com sua capacidade de diferenciação¹:

- totipotentes: encontradas somente em tecidos embrionários muito jovens e com capacidade de originar um organismo idêntico;
- pluripotentes: encontradas na fase embrionária de blastocistos, podendo se diferenciar em qualquer tipo de tecido;
- multipotentes: presentes em tecidos fetais, cordão umbilical e em alguns tecidos de indivíduos adultos. Sua capacidade de diferenciação é menor que nas CTs pluripotentes.

Também é possível classificar as CTs de acordo com a origem^{1,2}:

- embrionárias: derivadas especificamente da fase embrionária do desenvolvimento; presentes no interior da massa celular do blastocisto;

- adultas (pós-natal): encontradas em tecidos adultos, podendo também ser consideradas as presentes no cordão umbilical e medula óssea.

As primeiras descrições sobre CTs adultas foram publicadas na década de 1960 e se referiam às CTs derivadas da medula óssea (CTMO), seguindo-se das encontradas no sistema hematopoiético^{2,3}. Na década seguinte, as CTs presentes no cordão umbilical foram identificadas, e no ano de 1992 Reynolds e Weiss documentaram as CTs do sistema neural³⁻⁵. Em 2001, Zuk² descreveu as CTs derivadas do tecido adiposo subcutâneo (CTAS).

Um dos primeiros usos terapêuticos de CTs foi em pacientes com leucemia e anemia, por meio de um transplante de medula óssea com a utilização de células multipotenciais presentes neste local. A técnica somente obteve sucesso depois da descrição do antígeno leucocitário humano (HLA) — sistema de histocompatibilidade pela identificação de grupo de antígenos celulares³. Em posse destes conhecimentos, a partir da década de 1970 foi possível realizar transplante de medula óssea entre indivíduos com genótipos diferentes, ampliando assim a possibilidade de tratamento dessas doenças do sistema sanguíneo. No entanto, a compatibilidade de componentes antigênicos entre indivíduos não gêmeos é rara, limitando a técnica. Com isso, em vários países o uso de CTs totipotentes ou pluripotentes para o tratamento das enfermidades em questão tem sido discutido. Nos últimos anos, vem sendo sugerido o uso de CTs pluripotentes para o tratamento de uma série de doenças/situações clínicas como trauma de medula espinhal, infarto do miocárdio, diabetes mellitus tipo I, distrofia muscular, etc. Entretanto, este tipo de aplicação clínica ainda é proibida na maior parte dos países que desenvolvem pesquisas na área devido a discussões éticas e bioéticas³⁻⁵.

Uma das maneiras de contornar a forma de obtenção das CTs pluripotentes seria gerar este tipo de elemento a partir de células somáticas e não retirá-las de embriões. Para tanto foi necessário identificar fatores que induzem o surgimento deste tipo celular em tecidos do indivíduo adulto. Várias técnicas vêm sendo descritas desde a década de 1960, entre elas a introdução de fatores de transcrição, mediada por retrovírus, em fibroblastos ou células de embrião murino, produzindo CTs similares em morfologia e capacidade de proliferação^{1,2}.

Um problema encontrado no uso de CTs adultas é a identificação destas células em meio a uma heterogeneidade celular. Devido à multilinhagem de diferenciação possível, a formação de outros tecidos pode ser decorrente da presença de populações celulares precursoras destes tecidos e não especificamente de uma CT mesenquimal³. No entanto, o próprio grupo de Zuk⁴, em 2002, isolou as CTAS e demonstrou a capacidade de diferenciação e clonogenicidade. Desde então, inúmeras publicações apresentaram a habilidade das CTAS (humanas e animais de experimentação) em se diferenciar em células de tecido mesenquimal e de tecido nervoso^{5,6}. Depois, alguns estudos confirmaram a capacidade das CTAS de originar células

de linhagem ectodérmica (células neuronal-like, oligodendrócitos, células de Schwann funcionais) e endodérmica (formas induzidas de hepatócitos, ilhotas de pâncreas)^{6,7}. Com isso, as descrições das aplicações clínicas das CTs e os usos em pesquisa aumentam a cada ano na literatura (Tabela 1).

As aplicações das CTAS estão mudando o curso do uso de CTs na medicina, uma vez que as CTs embrionárias têm inconveniente ético e político na maioria dos países que desenvolvem pesquisas nesta área^{6,7}.

No artigo em que é realizada uma análise do futuro da aplicação das CTAS, Zuk arrisca que viveremos a era das CTs adultas considerando o número crescente de publicações utilizando este tipo celular³, o que estudos experimentais continuam evidenciando⁸⁻¹².

Células Tronco originárias da medula óssea versus Células Tronco originárias do tecido adiposo subcutâneo

A medula óssea humana é originária do mesoderma embrionário e formada por uma população de CTs hematopoiéticas sustentadas por células mesenquimais. O estroma da medula

óssea é heterogêneo e contém várias populações celulares, incluindo as CTs mesenquimais⁶.

CTMO são capazes de se diferenciar em células adipogênicas, osteogênicas, miogênicas e condrogênicas. Também possuem papel regenerativo, formando neovascularização e miofibroblastos¹³. Entretanto, o uso de componentes da medula óssea autóloga tem algumas limitações:

- a obtenção precisa ser realizada com o auxílio de anestesia geral ou bloqueio raquidiano;
- fornece baixo número de CTs (aproximadamente 1 CT em cada 10⁵ células mesequimais adjacentes), sendo necessária a expansão do número celular ex vivo, o que é oneroso e passível de contaminação ou perda de material durante a manipulação laboratorial¹⁴.

CTs mesenquimais com características similares às CTMO têm sido isoladas em diferentes tecidos, conforme descrito anteriormente. Deste grupo de células, as que mais vêm sendo estudadas e descritas são as derivadas do tecido adiposo, especificamente o subcutâneo^{2,3,15}.

CTAS possuem a mesma origem embrionária das células que compõem a medula óssea. Pode-se adquirir uma fração celular por meio de um lipoaspirador, e a fração pode ser processada em múltiplas linhagens celulares. Esta fração celular foi denominada lipoaspirado processado por Zuk et al.¹⁴. Assim como as CTMO, as CTAS também têm capacidade de diferenciação em vários subtipos celulares mesequimais^{4,14}.

Considerando as diferentes possibilidades de obtenção de CTs para uso terapêutico, Gimble et al sugeriram alguns critérios que seriam ideais para orientar a escolha da fonte dessas CTs⁸:

- encontradas em quantidade abundante (milhões a bilhões de células);
- adquiridas com procedimento minimamente invasivo;
- e diferenciar em múltiplas linhagens celulares;
- ser seguras e efetivamente transplantadas para hospedeiro autólogo ou alogênico;
- ser manufaturadas.

As CTs que podem ser incluídas em todos estes cinco critérios seriam as CTAS, uma vez que grande parte da população possui tecido adiposo abundante. As CTAS são separadas a partir de lipoaspirado, realizado facilmente com procedimento menos invasivo e dolorido do que a coleta de CTMO (é possível obter pequenas quantidades de tecido adiposo, como 100 a 200 mL, com anestesia local). Em média 1g de tecido adiposo possui aproximadamente 5x10³ CTAS.

Conforme descrito anteriormente, as CTAS presentes em lipoaspirados possuem potencial para formar tecido ósseo, cartilaginoso, muscular e adiposo¹⁶. Além disso, por serem autólogas, evita-se resposta imune do hospedeiro⁹.

Tabela 1. Usos de células-tronco derivadas do tecido adiposo subcutâneo, estudos experimentais e clínicos

Estágio de aplicação de uso	Local/objetivo
Pesquisa básica	Tecido adiposo
	Tecido ósseo
	Cartilagem
	Músculo esquelético
	Músculo liso
	Tecido nervoso
	Corda vocal/tecido laríngeo
	Bexiga/uretra
	Tecido cardiovascular ⁸
	Tecido sanguíneo
Pesquisa básica	Tecido pancreático
	Tecido hepático
	Tecido epitelial/pele
	Células epiteliais de túbulo renal
	Reparo de disco intervertebral
	Reparo de medula espinhal
	Regeneração de nervo periférico
	Tratamento de glioblastoma
	Doença de Huntington
	Esclerose múltipla
Tratamento de doença ou perda tecidual	Acidente vascular cerebral
	Incontinência urinária
	Disfunção erétil
	Reparo hepático
	Diabetes Mellitus
	Colite
	Artrite reumatóide
	Regeneração cutânea e de tendão
	Rejuvenescimento/estética
	Reconstrução mamária ^{9,10}
	Cicatrizes pós queimaduras ¹¹

Modificado de Zuk et al.³ e de Gimble et al.⁸

Características histológicas das células tronco derivadas do tecido adiposo subcutâneo e mecanismos de ação

Macroscopicamente, há cinco tipos de tecido adiposo no corpo humano: 1) tecido adiposo da medula óssea; 2) gordura marrom; 3) tecido adiposo mamário; 4) tecido adiposo mecânico e 5) gordura branca⁸. As diferenças entre esses tecidos são devido às funções que o tecido adiposo desempenha em cada topografia na qual é encontrado^{8,9}:

- medula óssea: onde ocorre a hematopoiese; serve de reserva de energia e de citocinas para o processo de produção das células do sangue e para a osteogênese;
- gordura marrom: é encontrada próximo a grandes órgãos como coração, rim, aorta e gônadas no recém-nascido e desaparece nos adultos maduros. É responsável pelo controle da temperatura;
- tecido adiposo mamário: fornece nutrientes e energia durante o período da lactação; é regulado pelos hormônios associados ao período gravídico;
- tecido adiposo mecânico: dá suporte mecânico a locais como palmas de mão, solas de pé e região orbital;
- tecido adiposo branco: reservatório de energia e isolamento térmico; também se considera que tem papel endocrinológico.

Zuk caracteriza a CTAS como uma célula semelhante a um fibroblasto, e chama a atenção ao fato de ser a mesma morfologia da CTMO². Tratam-se de células de fácil manipulação e que podem ser expandidas *in vitro* sem necessitar de lotes específicos de soro para diferenciação em outras linhagens celulares⁸.

O adipócito maduro pode aumentar de tamanho, mas não em número de células, devido à diferenciação terminal que esta célula possui dentro da sequência de diferenciação a partir da célula que originou¹⁷. Entretanto, a célula precursora ou pré-adipócito pode rapidamente se distinguir, possuindo características de fibroblasto que adquire inclusões lipídicas, passando por um estágio multilocular, que aos poucos se somam em uma lacuna contendo material lipídico (adipócito maduro)^{17,18}.

São diversas as hipóteses sobre a maneira como as CTAS atuam nos locais em que são inseridas. Quando o material biológico contendo as CTAS é injetado em áreas como cicatrizes e defeitos de preenchimento, estas células secretam citocinas e fatores de crescimento, estimulando a multiplicação celular no local. Elas também podem modular o recrutamento de outras células endógenas, promovendo a diferenciação celular de acordo com a linhagem necessária⁸. Além disso, pode ocorrer a supressão do processo de inflamação local¹⁶.

Características moleculares de superfície da células tronco derivadas do tecido adiposo subcutâneo

Semelhante aos outros tipos de CT, as CTAS expressam em sua superfície proteínas celulares específicas e clusters de diferenciação (CD). A população de células encontradas em

lipoaspirados subcutâneos expressam moléculas de superfície como: CD29, CD44, CD71, CD90, CD105/SH2 e SH3^{4,8,19}.

Apesar da semelhança entre as CTAS e CTMO, a identificação destas duas linhagens celulares ainda é controversa, incluindo a origem das CTAS²⁰.

A localização microscópica da CT progenitora do adipócito permanece controversa: não está claro se elas ficam no endotélio dos vasos presentes no tecido adiposo, se são um pericito ou se estão no compartimento estromal⁸. Um fato presente em muitos artigos que descrevem a caracterização dos antígenos de superfície das CTAS é que os preadipócitos teriam antígenos iguais aos das células endoteliais e pericitos^{4,8,14,21-23}.

Mesmo não conhecendo a origem da CT presente em lipoaspirados, a The International Society for Cellular Therapy orientou que para que uma CT seja considerada de origem estromal/mesenquimal deve expressar as moléculas de superfície CD105, CD73 e CD90, e não expressar CD45, CD34, CD14 ou CD11b CD79 ou CD19 e moléculas de HLA-DR²⁴. No entanto, sabe-se que a CT tem como característica a expressão da molécula CD34 e não expressa a CD31 (CD34⁺/CD31⁻). Nos lipoaspirados do tecido subcutâneo, células CD34⁺/CD31⁻ são encontradas em abundância, sugerindo que a maioria delas provém de tecido conjuntivo de vasos sanguíneos²⁵. O fato da molécula CD34 não estar expressa em muitos estudos experimentais seria por conta da perda da expressão durante as múltiplas etapas de cultura em meio laboratorial²⁶.

Gimble, Katz e Bunnell⁸ defenderam que existe uma população de CTAS com diferentes denominações de acordo com as publicações (CTs derivadas do estroma, células estromais adultas derivadas do tecido adiposo, células adiposas estromais, CTs mesenquimais adiposas, lipoblastos, pericitos, preadipócitos e células processadas de lipoaspirado) e descreveram a denominação escolhida pela Fat Applied Technology Society: "CT derivada do tecido adiposo", para definir a célula isolada, plástica e aderente e multipotente^{8,16,24}.

Mesmo assim a controversa continua. Em publicações subsequentes, a descrição é que as CTs do lipoaspirado são células do tecido vascular (células endoteliais e da musculatura lisa da parede dos vasos), e não do tecido estromal, ou uma população específica de células como pré-adipócitos^{27,28}.

O fato de ainda não estar definida a localização microscópica da CT progenitora do adipócito faz com que exista uma nomenclatura diferente nos artigos que estudam esta população celular. Mais de 90% das CTAS coexpressam marcadores mesenquimais (CD10, CD13 e CD90), marcadores encontrados em pericitos (sulfato de condroitina proteoglicana, CD140a e CD140b) e de músculo liso (alfa-actina, caldesmona e calponina). Estas características sugerem que a maioria das células CD34⁺ verificadas no tecido adiposo subcutâneo são provenientes de pericitos e auxiliam na estabilização vascular e interação com as endoteliais no processo de revascularização após a injeção do lipoaspirado^{8,24-26,28}.

Partindo destes achados, Traktuev et al.²⁵ sugeriram que os novos adipócitos surgem de pré-adipócitos presentes no lipoaspirado e são sustentados por neovascularização surgida a partir de pericitos que representariam CT mesenquimais deste conteúdo; ou as CTAS teriam localização perivascular e poderiam se diferenciar tanto no tecido adiposo quanto no vascular adjacente. Segundo os mesmos autores, este achado orienta uma nova abordagem no uso terapêutico do lipoaspirado que deve levar em consideração um papel integrado de diferentes linhagens celulares assim como o uso de CTAS para a revascularização em outros sítios anatômicos, como a musculatura cardíaca, nos quais o resultado principal seria devido à ação dos pericitos²⁵.

Yoshimura et al.²⁸ descreveram que células da fração vascular de lipoaspirados possuem características de superfície semelhantes à fração mesenquimal, sugerindo populações diferentes de CTs no lipoaspirado²⁸. O fato das CTAS expressarem CD34 na ausência de CD45 diferencia estas células das CTs originárias da linhagem hematopoietica²⁵.

Apesar dos inúmeros trabalhos defendendo diferentes achados sobre a origem e identidade da CTAS, acredita-se que nenhum estudo usou um número considerável de marcadores moleculares. Além disso, houve heterogeneidade de técnicas para isolamento e purificação dessa população celular, considerando diferentes fenótipos. Isso tudo colabora para uma indefinição sobre o uso/necessidade clínica deste tipo de CT¹⁶. Se for considerada a caracterização fenotípica prévia do conjunto celular encontrado na fração vascular estromal do lipoaspirado é possível dizer que existem CTAS, células endoteliais, células de musculatura lisa, pericitos, fibroblastos, CTs hematopoieticas ou células

endoteliais progenitoras, ou seja, populações de diferentes células, sendo algumas com potencial de diferenciação comum às CTAS. Assim, o resultado terapêutico encontrado nos trabalhos que descrevem o uso do lipoaspirado seria resultante do conjunto celular encontrado neste conteúdo e não somente às CTAS^{15,16,19}.

Células tronco derivadas do tecido adiposo subcutâneo e reconstrução mamária

A glândula mamária é formada basicamente por dois tipos de tecido: epitelial e mesenquimal. O predomínio de cada um deles depende da constituição genética do indivíduo e da sua massa corporal.

A presença do tecido adiposo interposto entre o fibroso dá sustentação ao tecido epitelial glandular e auxilia na gênese do contorno da mama¹⁷. Assim como o tecido glandular, o adiposo é organizado em lóbulos de gordura, que podem ser distinguidos em exame de ultrassonografia, pois são morfologicamente unidas independentes e contêm, em média, 10² a 10³ adipócitos. Cada adipócito maduro tem 90% de seu volume formado por lipídeo acumulado no citoplasma, e o tecido adiposo possui grande potencial de adaptação e mudança com volume e suplemento vascular, podendo aumentar ou diminuir dependendo do estímulo¹⁸.

Devido às características do tecido adiposo subcutâneo, incluindo o fato de conter um grande número de CTs (conforme caracterização descrita nesse trabalho), o uso de lipoaspirados oferece um grande potencial para a reconstrução do volume mamário pós-mastectomia^{17,18}. Isso pode ser considerado tanto em reconstrução imediata quanto tardia, associando rotação de retalho miocutâneo (Figura 1), ou próteses. Além do volume

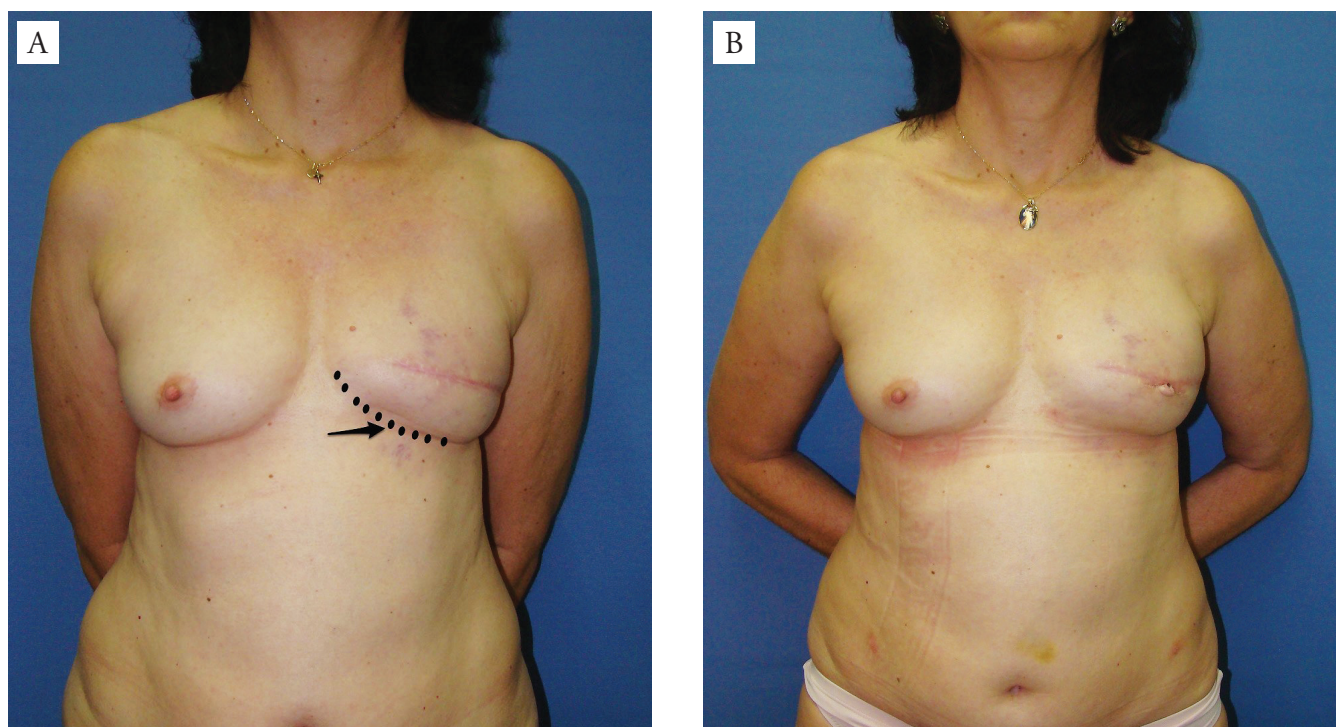


Figura 1. Aspecto clínico pré (A) e pós (B) lipoenxertia em segundo tempo de reconstrução tardia com rotação do músculo grande dorsal — definição do contorno

resultante de injeção de lipoaspirado contendo CTAS, também é possível a melhora clínica dos sintomas locorregionais causados pelo tratamento com radioterapia no plastrão mamário²⁹.

Referências

1. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*. 2000;100(1):157-68.
2. Zuk PA. Stem cell research has only just begun. *Science*. 2001;293(5528):211-2.
3. Zuk PA. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Mol Biol Cell*. 2010;21(11):1783-7.
4. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-95.
5. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143-7.
6. Zuk PA. Tissue engineering craniofacial defects with adult stem cells? Are we ready yet? *Pediatr Res*. 2008;63(5):478-86.
7. Bixby S, Kruger GM, Mosher JT, Joseph NM, Morrison SJ. Cell-intrinsic differences between stem cells from different regions of the peripheral nervous system regulate the generation of neural diversity. *Neuron*. 2002;35(4):643-56.
8. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res*. 2007;100(9):1249-60.
9. Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(3 Suppl):121S-8.
10. Yoshimura K, Suga H, Eto H. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med*. 2009;4(2):265-73.
11. Klinger M, Marazzi M, Vigo D, Torre M. Fat injection for cases of severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction. *Aesthetic Plast Surg*. 2008;32(3):465-9.
12. Taha MF, Hedayati V. Isolation, identification and multipotential differentiation of mouse adipose tissue-derived stem cells. *Tissue Cell*. 2010;42(4):211-6.
13. Brittan M, Chance V, Elia G, Poulsom R, Alison MR, MacDonald TT, et al. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovasculogenesis and myofibroblasts. *Gastroenterology*. 2005;128(7):1984-95.
14. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-28.
15. Mizuno H. Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch*. 2009;76(2):56-66.
16. Locke M, Feisst V, Dunbar PR. Concise review: human adipose-derived stem cells (ASC): separating promise from clinical need. *Stem Cells*. 2011;29(3):404-11.
17. Patrick CW. Breast tissue engineering. *Annu Rev Biomed Eng*. 2004;6:109-30.
18. Patrick CW Jr. Adipose tissue engineering: the future of breast and soft tissue reconstruction following tumor resection. *Semin Surg Oncol*. 2000;19(3):302-11.
19. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Schreiber RE, Fraser JK, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med*. 2005;54(3):132-41.
20. Peroni D, Scambi I, Pasini A, Lisi V, Bifari F, Krampera M, et al. Stem molecular signature of adipose-derived stromal cells. *Exp Cell Res*. 2008;314(3):603-15.
21. Ashjian PH, Elbarbary AS, Edmonds B, De Ugarte D, Zhu M, Zuk PA, et al. In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111(6):1922-31.
22. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Dragoo JL, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs*. 2003;174(3):101-9.
23. De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk PA, Elbarbary A, Zhu M, Ashjian P, et al. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett*. 2003;89(2-3):267-70.
24. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-17.
25. Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, Kolonin M, Arap W, Pasqualini R, et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res*. 2008;102(1):77-85.
26. Suga H, Matsumoto D, Eto H, Inoue K, Aoi N, Kato H, et al. Functional implications of CD34 expression in human adipose-derived stem/progenitor cells. *Stem Cells Dev*. 2009;18(8):1201-10.
27. Aiba K, Sharov AA, Carter MG, Foroni C, Vescovi AL, Ko MS. Defining a developmental path to neural fate by global expression profiling of mouse embryonic stem cells and adult neural stem/progenitor cells. *Stem Cells*. 2006;24(4):889-95.
28. 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. *J Cell Physiol*. 2006;208(1):64-76.
29. Rigotti G, Marchi A, Galìè M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(5):1409-22.