

Rejuvenescimento Facial Através de Terapia Gênica

Facial Skin Rejuvenation Using Gene Therapy

Stephanie Gouveia Xavier, Bianca Cestari Zychar, Roberto de Melo Santos e Charlotte Cesty Borba de Saenz.

Centro Universitário Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU- São Paulo, Campus Santo Amaro, Departamento de Ciências e Saúde – Biomedicina.

(ste.gouveia@gmail.com, biancazychar@gmail.com, robertomellosantos@gmail.com, cestyborba@gmail.com)

Resumo. O tecido adiposo é formado por pré-adipócitos, células endoteliais, macrófagos, fibroblastos e células tronco mesenquimais ou células tronco adultas e, estas, quando devidamente estimuladas, dão origem a outros tipos teciduais. Na cirurgia plástica, células tronco são usadas para deformidades adquiridas e congênitas, alterações cicatriciais, queimaduras, estrias, manchas hiper e hipocrômicas. A obtenção de células tronco mesenquimais da medula óssea se tornam inviáveis por seu método invasivo devido a necessidade de anestesia geral. No entanto, o uso do cordão umbilical é menos invasivo, mas não se sabe se as células permanecem viáveis depois de anos. O ácido hialurônico, quando associado às células tronco mesenquimais, é capaz de preencher sulcos profundos da face, apresentando melhores resultados estéticos. Por este motivo, alguns autores indicam a combinação entre pele e gordura. Este estudo mostra diferentes técnicas de enxerto com células tronco de adipócitos encontradas na literatura.

Palavras-chaves: rejuvenescimento, células tronco adultas, adipócitos, cirurgia plástica.

Abstract. *The adipose tissue is constituted by pre-adipocytes, endothelial cells, macrophages, fibroblasts and mesenchymal stem cells or adult stem cells, and these, when properly stimulated, originates other tissue types. In plastic surgery, stem cells are used for acquired and congenital deformities, scarring, burns, stretch marks, hyper and hypochromic stains. The acquisition of mesenchymal stem cells from the bone marrow became unviable by its invasive method due to the need for general anesthesia. However, the use of the umbilical cord is less invasive, but it is not known whether the cells remain viable after years. Hyaluronic acid, when associated with mesenchymal stem cells, is able to fill deep grooves of the face, presenting better aesthetic results. For this reason, some authors indicate the combination between skin and fat. This study shows different graft techniques with adipocyte stem cells found in the literature.*

Key words: rejuvenation, adult stem cells, adipocytes, surgery, plastic.

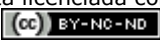
InterfaceHS – Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade

Vol. 13 no 2 – dezembro de 2018, São Paulo: Centro Universitário Senac

ISSN 1980-0894

Portal da revista InterfaceHS: <http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfaceHS/>

E-mail: interfacehs@sp.senac.br

Esta obra está licenciada com uma Licença [Creative Commons Atribuição-Não Comercial-Sem Derivações 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) 

1. Introdução

O estudo de enxerto de gordura autóloga iniciou-se por Miller (1923) e Neuber (1983) e, posteriormente, aperfeiçoado por outros pesquisadores (YARAK, 2009). O tecido adiposo é formado por pré-adipócitos, células endoteliais, macrófagos, fibroblastos e células tronco. Existem as células tronco mesenquimais (CTM) e as células tronco adultas (CTA) e, estas, quando devidamente estimuladas, dão origem a outros tipos teciduais (SILVA, 2008). As CTM do tecido adiposo são capazes de se diferenciarem em células da mesoderme, capazes de formar a cartilagem, ossos, músculos, e na mesoderme como hepatócitos, células pancreáticas endócrinas, neurônios (YARAK, 2010).

As CTM destacam-se por sua elevada plasticidade, podendo originar tecidos mesodermais e não mesodermais. São formadas a partir da 4ª semana do embrião, e podem ser obtidas, de diferentes tecidos, cordão umbilical, medula óssea, cérebro, músculos, tecido adiposo, entre outros (YARAK, 2010). Além disso, expressam um grande número de moléculas bioativas como as moléculas de adesão, as proteínas de matriz extracelular, as citocinas e os receptores para fatores de crescimento, permitindo interações com demais células (HUSS, 2009; BOBIS et al., 2006).

O material é de fácil obtenção e manipulação em laboratório, é pouco imunogênico e de fácil adaptação ao hospedeiro (YARAK, 2010). Ainda não existe um protocolo padrão para a transferência de enxerto, mas é certo que o procedimento satisfatório depende da técnica da coleta, limpeza, preparação e reinjeção do material. Atualmente, com a Engenharia Tecidual é possível combinar CTM a fatores de crescimento e/ou arcabouços (sintéticos ou biogênicos) para obter melhor resultado (YARAK, 2010).

Na cirurgia plástica, células tronco (CT) são usadas para deformidades adquiridas e congênitas, alterações cicatriciais, queimaduras, estrias, manchas hiper e hipocrômicas (*International Society of Aesthetic Plastic Surgery*, 2015). A técnica é realizada por cirurgia que consiste no enxerto de gordura, que é lipoaspirada de regiões específicas do corpo, devidamente preparada em laboratório e aplicada nas regiões atróficas do rosto.

Alguns cientistas acreditam que o tecido adiposo seja uma promissora fonte de células tronco para aplicações terapêuticas, quando comparada com as células tronco obtidas da medula óssea ou cordão umbilical. Além disso, por estar disponível em grandes quantidades (100ml até 1l) por meio da lipossucção e com mínima morbidade (Yokomizo et al., 2005; Coleman, 1995). Entretanto, há poucas revisões, na literatura científica, que abordam a caracterização celular e molecular.

O Brasil é um dos primeiros colocados entre os países que realizaram cirurgias plásticas nos últimos anos. Entre os procedimentos cirúrgicos faciais mais realizados no país, a cirurgia de pálpebra ficou em 1º lugar, seguida da rinoplastia e a lipoenxertia de face, totalizando cerca de 51,645 procedimentos. O Brasil fica atrás da Coreia do Sul com 63,326 e à frente dos Estados Unidos com 49,660 (*International Society of Aesthetic Plastic Surgery*, 2015, 2015). Com o crescimento do mercado estético e consequentemente de processos cirúrgicos, o entendimento de técnicas eficazes aliadas biotecnologia e de regulação genética são cada vez mais estudadas, como novo alvo terapêutico alternativo e eficaz para reparações e enxertos.

Assim, o objetivo desse trabalho foi descrever a obtenção de diferentes linhagens de células tronco para utilização em enxertos e rejuvenescimento facial através de revisão da literatura, além de comparar eficácia do uso de células tronco adultas (CTA) do tecido adiposo em relação as células tronco obtidas do cordão umbilical e/ou medula óssea.

2. Metodologia

Trata-se de uma revisão bibliográfica de artigos científicos indexados nos bancos de dados, Google acadêmico, Scielo, PubMed. Os critérios que foram utilizados para seleção dos artigos são: idiomas português e inglês; artigos completos; sem um limite temporal, mas priorizando-se estudos dos últimos 10 (dez) anos.

Cabe ressaltar, que para o preparo do manuscrito utilizamos principalmente as técnicas descritas em literatura apresentando os resultados encontrados pelos autores (*International Society of Aesthetic Plastic Surgery*, 2015), uma vez que não existe um procedimento padrão no preparo do material para que possa ser injetado até o momento.

3. Resultados

A pele delimita o organismo do ambiente externo e por isso esta sujeita a agressões como intempéries e radiação solar e, assim, sofre com o envelhecimento precoce. Ela é formada por duas camadas: a epiderme e a derme. A epiderme um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado e por não ter vascularização, recebe os nutrientes por fluidos que saem dos capilares da derme. É a camada mais externa e por estar em constante mitose, perdem o núcleo conforme suas células migram para a superfície, sofrendo descamação. A derme é a camada que esta abaixo da epiderme, é mais espessa, formada por tecido conjuntivo frouxo a denso não modelado, com colágeno tipo I, fibras elásticas e reticulares e substância mucopolissacarídea. É vascularizada e innervada. Possui glândulas sebáceas e sudoríparas e folículos pilosos. Contém fibroblastos, macrófagos, mastócitos e outros leucócitos. Possui funções como a manutenção da sua homeostasia, proteção do organismo contra agentes externos, absorção e secreção de líquidos, controle de temperatura, barreira contra água, absorção de luz ultravioleta, evitando que atinjam o organismo, metabolismo de vitamina D, sensorial e estética (HARRIS, 2009; VIDOR, 2015).

A camada subcutânea fica abaixo da derme e é constituída por fibroblastos, adipócitos, pré-adipócitos (isentos de lipídeos), monócitos, macrófagos, linfócitos, matriz intersticial, CT, rede microcirculatória, unidades neurovegetativas e unidades energético-gordurosas. A matriz intersticial é formada pelo colágeno, elastina, ácido hialurônico, glicoproteínas e proteoglicanas. As unidades energético-gordurosas são formadas pelos adipócitos. O subcutâneo é vascularizado e possui terminações nervosas e quando há necessidade, sofre sinalização química e promove a lipólise. Por isso, é considerado como reserva de energia e órgão endócrino, também possui funções como isolamento térmico, barreira física, secreção de proteínas e peptídeos. Pode ser dividido em tecido adiposo marrom, que é mais raro ou tecido adiposo branco, encontrado na camada subcutânea ou em vísceras (COSTA; DUARTE, 2006; HARRIS, 2009; YARAK, 2010).

As CT se classificam pelo potencial de diferenciação: totipotentes, quando se diferenciam em qualquer tecido humano; pluripotentes, encontradas no blastocisto diferenciam-se nas células dos três folhetos germinativos; multipotentes diferenciam-se em vários tipos celulares de um mesmo folheto; oligopotentes diferenciam-se em poucas células de um mesmo folheto; e unipotentes, que diferenciam-se em somente um tipo de célula de um único folheto. Quanto à origem, podem ser embrionárias (totipotentes ou pluripotentes), adultas ou somáticas (organismo já desenvolvido). Quanto à divisão celular, podem ser determinístico, ou seja, geram uma nova CT e uma progenitora; ou estocástica ou aleatória, onde algumas CT geram somente novas CT e outras geram somente células progenitoras. As CTA são responsáveis por manter o tecido, conforme envelhecimento ou dano (YARAK, 2010).

O médico francês Yves-Gerard Illouz foi quem começou a usar a lipoenxertia. Um estudo *in vivo* demonstra que os adipócitos começam a morrer no primeiro dia da transferência

e sobrevivem células encontradas numa borda de 300 mm do tecido, onde são encontradas células tronco de tecido adiposo (CTAD), mostrando a importância destas células na estabilidade do tecido transferido, por isso, atualmente se emprega o enriquecimento do tecido lipoaspirado com células tronco manipulado em laboratório (MEDEIROS; RESENDE, 2014; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA PLÁSTICA, 2014).

A obtenção de CTM da medula óssea se torna inviável por seu método invasivo devido a necessidade de anestesia geral e por haver apenas uma CTM em 10^5 células do estroma. Mas a obtenção por cordão umbilical é menos invasiva, porém não se sabe sobre sua viabilidade depois de anos. A concentração de CTM de tecido adiposo é a mesma encontrada na medula óssea e quando isoladas em cultura crescem facilmente, por secretarem fatores de crescimento. Em 300 ml de tecido adiposo lipoaspirado, podem ser obtidos $2,6 \times 10^8$ de adipócitos e, aparentemente, as CTAD se mantêm inalteradas com a criopreservação e o tecido adiposo se mantém preservado por duas semanas. O *homing* (migração para o tecido alvo) ocorre por meio de inflamação ou trauma, mediados por quimiocinas, receptores de quimiocinas e adesão de moléculas no endotélio, o que permite estudar métodos para o aumento do recrutamento dessas células e usá-las como veículos de agentes biológicos, além de diminuir a quantidade de material necessário, oferecendo melhor resultado. A proliferação de CTM em pessoas jovens é melhor, mas a capacidade de modificação não muda. A ligação entre quantidade de adipócitos e CTAD é igual, independente do índice de massa corporal (IMC), o que pode causar variação entre pacientes é a região doadora, tempo de armazenamento dessas células e duração da collagenase. Todas as faixas etárias possuem CTAD, porém, conforme a idade a quantidade diminui (YARAK, 2010; GOMES, 2011).

Um trabalho realizado para quantificar a obtenção de células viáveis da porção vâsculo-estromal do tecido adiposo usou um grupo de pessoas no qual foi utilizado cânula de 3 mm de diâmetro e 25 cm de comprimento acoplada a uma máquina de vácuo sob pressão negativa constante de 350 mmHg, comparado a outro grupo que foi utilizado cânula de 2,5 mm de diâmetro e 15 cm de comprimento acoplada a uma seringa com rosca de 10 cc, tracionado de 2 cc em 2 cc, usando baixas pressões de aspiração. Os adipócitos foram obtidos da região infraumbilical, no qual apresenta maior rendimento de células nucleadas. Nesse experimento, foi demonstrado que não há diferença importante, apesar de haver maior número de células no primeiro grupo, a pressão negativa não alterou o crescimento celular e a expressão dos marcadores de superfície se mantiveram. Observaram que em pressões baixas de 10 cc, acontece menor lise de adipócitos maduros, porém com menor quantidade de células e forças centrífugas de até 4200 são seguras (TISSIANI; AGUENA; BUENO; ALONSO, 2014).

O procedimento de obtenção de CTM de tecido adiposo descrito por Zuk et al. é por meio de lipoaspiração úmida, descrito na literatura como superior a lipoaspiração ultrassônica. É feita limpeza com soro fisiológico em 300ml do lipoaspirado, adicionado collagenase à 0,075% para digestão extracelular em banho-maria e, posteriormente, centrifugação a 1200g. Yoshimura et al também descreve o mesmo método, mas utiliza a porção não-gordurosas centrifugada, porém em menor quantidade (GOMES, 2011).

Na pesquisa realizada em um Hospital Universitário no Rio de Janeiro, foi feita infiltração de 50 cc de solução de lidocaína 0,25% e adrenalina 1:500.000 na região infraumbilical e o material foi lipoaspirado com cânula de 3 mm de diâmetro. As cânulas, depois da lipoaspiração, foram seladas e colocadas em decantador por 30 minutos, para remoção de sangue e adicionado 10 cc de solução antibiótica. O material foi cultivado em cultura Dulbecco's Modified Eagles Medium com suplementação de 10% de soro fetal bovino e antibiótico, mantido em estufa a 37°C com 5% de CO₂. Dois dias antes, as células foram lavadas com solução fisiológica e adicionado plasma autólogo para remoção de proteínas fetais bovinas. Antes do enxerto, o material foi dissociado com solução de tripsina 0,125% e 0,78 mM de EDTA e ressuspensas em soro fisiológico, sendo uma parte com ácido hialurônico em 1:2 em um volume final de 0,6 mL e uma parte sem ácido hialurônico. As aplicações foram em sulcos nasogenianos. No grupo onde foram enxertadas somente as CTM, houve melhora sutil, mas não preencheu sulcos profundos.

Seu efeito durou 10 meses. No grupo onde foram combinados os dois materiais, houve efeito imediato do ácido hialurônico e em longo prazo das CTM, sendo apresentado melhora no tônus ao longo do tempo. Não houve regressão em nenhum dos casos durante um ano e nenhum efeito colateral. A segurança do ácido hialurônico se deve a sua biocompatibilidade, porém é reabsorvível pelo corpo (6-12 meses). Quando associado às CTM, são capazes de preencher sulcos profundos (SILVA, 2008).

Em outro experimento realizado, a lipoaspiração em local anestesiado com solução de xilocaína 0,4%, utilizando cânula de 4 mm de diâmetro, 20 ou 25 cm de comprimento, com 3 furos distais e vácuo à 500 mmHg, o material foi transferido para um frasco a cada 3-5 minutos, para diminuir a permanência no vácuo. O material foi lavado e o tempo entre a lipoaspiração e a enxertia não ultrapassou 15 minutos. A inoculação no local foi feita com pouca pressão para que o enxerto mantivesse diâmetro, de aproximadamente 4 mm. Ocorreram reações adversas, como teleangiectasia na região de dorso nasal, volume tardio do tecido adiposo transplantado em nariz, contorno mandibular, lábio, geniana e malar em alguns voluntários. As alterações vasculares se devem ao aumento na necessidade de nutrientes e da retirada de resíduos da região, além de estar em contato com a vascularização da porção subdérmica, gerando hipertrofia e neoformação vascular no receptor e no material transplantado. O volume tardio acontece devido à hipertrofia de adipócitos nos casos de receptores jovens, em ganho de peso dos pacientes, ou pela ativação de genes de adipócitos ou CTM, pois durante processo inflamatório pode ocorrer adipogênese, a partir de alguns dias após enxertia, na fase de nutrição. A ativação ou descontrole gênico pode ocorrer em alguns casos, como na perda de ancoragem (quando fragmentos adiposos estão separados em exsudato e em reabsorção de partes inviáveis do tecido transplantado), em moléculas sinalizadoras do exsudato e quando acontecem alterações na matriz extracelular (mudanças na concentração do colágeno do enxerto). A multiplicação, diferenciação e maturação de CTM se mostram ativas com fatores indutores físicos e químicos (hormônios, fatores de crescimento, citocinas e aspectos da matriz extracelular) (SOCIEDADE INTERNACIONAL DE CIRURGIA PLÁSTICA, 2012).

Na técnica usada por Yarak, S. em 2009, não foi realizado nenhum preparo ou lavagem com solução fisiológica do material, pois, ainda não havia um consenso sobre a preparação do material antes do enxerto, defendendo a hipótese que poderia diminuir a viabilidade dos pré adipócitos e adipócitos e perda de fibras reticulares. Antes do procedimento, foi injetada a solução de Klein anestésica, na técnica de tumescência, contendo lidocaína 2%, 25 – 50 ml, epinefrina 1:1000, 0,5 – 1mL, soro fisiológico 0,9%, 1000mL e bicarbonato de sódio 10%, 10mL e foi aguardado de 10 à 15 minutos. Foi usada cânula de 3mm e ponta romba, com orifício ventral e dois laterais e conectada a seringa. É feita a lipoaspiração, em seguida, uma tunelização com a cânula e, posteriormente, são injetados adipócitos diretamente na região a ser tratada, de forma retrógrada, lenta, em pequenas quantidades e em partes nos planos profundos e superficiais. É finalizado com sutura e curativo. Foi realizada uma massagem para uniformizar o enxerto. Na técnica realizada, foram descritas algumas complicações não comuns, como hematomas, edema, infecções esporádicas, necrose do enxerto, pseudocisto, infiltração de gordura intravascular e lesão em alguns tecidos, como nervos, músculos, vasos e glândulas. O resultado é definido pelo grau de fibrose induzida por histiócitos, responsáveis pela limpeza de adipócitos não viáveis, e pelo número de células viáveis, incluindo pré adipócitos e adipócitos. O trabalho cita que a sobrevivência das células gordurosas depende das características da região receptora ou presença de doenças de base, do que do tipo de coleta e métodos de injeção e quanto maior o número de CTM desse material, melhor será o resultado do preenchimento. Para a autora, a duração do tratamento depende do grau do envelhecimento cutâneo intrínseco e extrínseco (YARAK, 2009).

Enxerto de gordura enriquecido com CTM de tecido adiposo tem maior durabilidade e expressivo aumento de enxerto, produzindo, também, colágeno. Casos de enriquecimento de enxertos de gordura logo após sua extração são necessários imunofenotipagem do material (SILVA, 2008).

Um trabalho descrito em literatura utilizou matrizes extracelulares produzidas por CT de tecido adiposo, sem nenhuma adição de material exógeno ou sintético, somente queratinócitos humanos. Foi observado um análogo de pele com duas camadas, junção dermo-epidérmica, colágeno tipo I, III e IV, fibronectina, o que não é possível com substitutos de pele sintéticos. CT de tecido adiposo isoladas e criopreservadas podem desenvolver morfologia idêntica ao fibroblasto. Devido ao ciclo celular lento, capacidade proliferativa, nicho protegido e por característica de reparação, alguns autores indicam a combinação entre pele e gordura. É possível obter mais CT em 1g de pele em comparação a tecido adiposo, porém a disponibilidade neste é maior. O material é retirado da papila dérmica do folículo piloso onde se encontram uma condensação de fibroblastos. Porém, o isolamento de CT na pele adulta é mais difícil do que em um neonato e, também, deve ser definido um volume mínimo para uma quantidade suficiente de CT, concluindo-se que ocorre uma diminuição de CT com a idade (GOMES, 2011).

Segundo Yarak, S. 2009, esse tipo de procedimento é contraindicado em casos de *Diabetes mellitus*, hipertensão arterial, nefropatas, hepatopatias, collagenoses, uso de coagulantes (YARAK, 2009).

4. Discussão

As CTA no tecido adiposo são mais viáveis e crescem com facilidade em cultura, quando comparado ao cordão umbilical e medula óssea, além de manterem a proporção entre quantidade de adipócitos e de CTA independente do índice de massa corporal (IMC) do paciente. Estudos mostram que a lipoenxertia enriquecida com CTA prolonga sua duração no paciente, aumenta o volume do material devido à multiplicação dos pré adipócitos e CTM, devido à formação de neoangiogênese e formação de colágeno tipo I, III e IV.

Enxerto de CTAD tem bons resultados quando combinados ao ácido hialurônico, com resultados imediatos e em longo prazo. Pela facilidade de manuseio, atualmente, a lipoenxertia é um dos procedimentos não-cirúrgicos mais realizados para rejuvenescimento facial, mas devido a rápida absorção, estão sendo realizados muitos estudos com as CTA da porção mesenquimal do tecido adiposo, pois foi observado que na presença destas células o enxerto tem maior durabilidade.

5. Referências

- Yarak, S. **Restauração do volume facial com enxerto de gordura autóloga**. Rev. Bras. Cir. Plást. v. 66. p.10-14. Brasil, 2009.
- HUSS, R. **Cells from various sources isolation of primary and immortalized CD34– hematopoietic and mesenchymal stem**. Stem Cells, v.18, n.1, p.1-9, 2000. Disponível em: Acesso em: 23 set. 2009.
- BOBIS, S. et al. **Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications**. Folia Histochemica et Cytobiologica, v.44, p.215-230, 2006.
- Yokomizo VMF, Benemond TMH, Kadunc BV. PO94- **Tratamento de cinco casos de lipodistrofia por transplante de gordura autóloga** An Bras Dermatol; 80(Supl 2):S148, 2005
- Coleman SR. **Long-term survival of fat transplant: controlled demonstrations**. Aesth Plast Surg.;19:421-5, 1995.

Silva CC, Baptista LS, Carias RB, Neto HC, Borojevic R. **Cultura autóloga de células-tronco mesenquimais de tecido adiposo para o tratamento de ríides faciais**. Rio de Janeiro;2008.

Yarak S, Okamoto OK. **Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas**. Vale do São Francisco; 2010.

International Society of Aesthetic Plastic Surgery. **Procedures performed in 2015**. Acesso em 2016 out 20. Disponível em: www.isaps.org.

Vidor SB. **Células tronco mesenquimais de origem adiposa associadas a enxertos livres de pele de espessura total em modelo murino**. Dissertação. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2015.

Harris, MINC. **Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento**. 3ª edição. São Paulo. Editora Senac São Paulo, 2009.

Costa JV, Duarte JS. **Tecido adiposo e adipocinas**. Acta Med Port; v. 19; p. 251-256; Portugal, 2006.

Medeiros, RVB, Resende RR. **Células tronco derivadas do tecido adiposo são aplicadas na cirurgia plástica**. Jor. Eletr. Inst. Nanocell. v. 1; Brasil,2014.

Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica. **Células tronco no lugar da prótese**. São Paulo. 2012. Acesso em 2016, out 9. Disponível em: www.cirurgioplastica.org.br.

Gomes RS. **Perspectivas do uso de células-tronco em cirurgia plástica**. Rev. Bras. Cir. Plást; v. 26. n.1, Brasil, 2011.

Tissiani LAL, Agüena M, Bueno MRP, Alonso N. **Efeitos de diferentes pressões de aspiração de tecido adiposo na obtenção**; v. 27.n. 4. Brasil, 2012.

Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica. **Células tronco no lugar da prótese**. São Paulo. 2012. Acesso em 2016, out 9. Disponível em: www.cirurgioplastica.org.br.