

Murillo Francisco Pires Fraga

**Integração do enxerto autólogo de tecido adiposo enriquecido com plasma rico em plaquetas - Estudo em coelhos.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.

São Paulo  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Murillo Francisco Pires Fraga

**Integração do enxerto autólogo de tecido adiposo enriquecido com plasma rico em plaquetas - Estudo em coelhos.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.

**Área de Concentração:** Cirurgia Geral

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Alberto Malheiros

São Paulo

2010

**FICHA CATALOGRÁFICA**

**Preparada pela Biblioteca Central da  
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Fraga, Murillo Francisco Pires

Integração do enxerto autólogo de tecido adiposo enriquecido com plasma rico em plaquetas - Estudo em coelhos. / Murillo Francisco Pires Fraga. São Paulo, 2010.

Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Medicina.

Área de Concentração: Cirurgia Geral

Orientador: Carlos Alberto Malheiros

1. Plasma rico em plaquetas
2. Tecido adiposo
3. Transplante autólogo
4. Modelos animais

BC-FCMSCSP/10-10

---

## DEDICATÓRIA

*Às pessoas que estiveram sempre ao meu lado, me incentivando e oferecendo apoio em todos os momentos da minha vida.*

*Aos meus pais, Francisco e Regina, que criaram a base e proporcionaram o meu desenvolvimento pessoal.*

*Aos meus irmãos, Raffael e Veridiana, e, à minha namorada, Loreny, que sempre me apoiaram e ajudaram na conquista de meus ideais.*

---

---

*A inspiração existe, porém tenho que encontrá-la trabalhando.*

***Pablo Picasso***

---

---

## AGRADECIMENTOS

*À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e à Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, por todos os ensinamentos médicos e humanos adquiridos desde o primeiro ano de faculdade.*

*Devo especial atenção e gratidão aos meus mestres: Dr. Douglas Jorge, Prof. Dr. Américo Helene Jr, Dr. Luis Antonio Demário, Dr. Luís Fernando Perin, Prof. Dr. Benjamin Golcman que contribuíram de forma inestimável para minha formação profissional e pessoal.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Alberto Malheiros, Diretor do Departamento de Cirurgia, que sempre me incentivou e viabilizou a realização deste trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Antonio José Gonçalves, Coordenador do curso de Pós-Graduação em Cirurgia Geral, pela excelente condução do programa e pelo apoio aos pós graduandos.*

*Aos colegas, André Perez Pontes, Monica Renesto, Cristina Hachul Moreno, Aline Rodrigues, Rute Fachini Lellis e Alessandra Marta pelos ensinamentos e companheirismo no decorrer desta fase.*

*Aos meus colegas de residência e àqueles que contribuíram para minha formação e execução desse projeto. Sem eles, este trabalho não se concretizaria.*

---

---

## ABREVIATURAS

<b><math>\beta</math> FGF</b>	Fator de crescimento do fibroblasto (beta).
<b>EGF</b>	Fator de crescimento epitelial.
<b>FCs</b>	Fatores de crescimento.
<b>IGF-1</b>	Fator de crescimento do tipo insulina 1
<b>PDGF</b>	Fator de crescimento plaquetário.
<b>PPP</b>	Plasma pobre em plaquetas.
<b>PRP</b>	Plasma rico em plaquetas.
<b>TGF</b>	Fatores de crescimento transformadores
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento do endotélio vascular.
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Package for Social Sciences.</i>
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetra-acético.
<b>HE</b>	Hematoxilina eosina

---



---

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b>	Coleta de 8 ml de sangue através de punção na face convexa da orelha do coelho.....	14
<b>FIGURA 2.</b>	Separação das células vermelhas e do plasma após a 1ª centrifugação. ....	15
<b>FIGURA 3.</b>	Obtenção da trombina autóloga (Tubo A) e pipetagem do plasma e zona de névoa no tubo B .....	16
<b>FIGURA 4.</b>	Obtenção do plasma rico em plaquetas após a 2ª centrifugação no tubo B... ..	17
<b>FIGURA 5.</b>	Dissecção das bolsas adiposas escapulares.....	18
<b>FIGURA 6.</b>	Adição do PRP gel ao fragmento de tecido adiposo obtido da região escapular direita.....	19
<b>FIGURA 7.</b>	Dissecção de um pequeno túnel entre a pele e a cartilagem.....	20
<b>FIGURA 8.</b>	Inclusão do fragmento de tecido adiposo na área receptora .....	20
<b>FIGURA 9.</b>	Esquema representativo da utilização do retículo de 100 pontos para contagem celular .....	22
<b>FIGURA 10.</b>	Comparação das médias de peso (gramas) dos enxertos autólogos de tecido adiposo com PRP e grupo Controle, no início, e ao final de seis meses. ....	25
<b>FIGURA 11.</b>	Comparação das médias de adipócitos íntegros dos grupos PRP e Controle ao final de seis meses .....	26
<b>FIGURA 12.</b>	Comparação das médias da presença de necrose dos grupos Controle e PRP ao final de seis meses .....	27
<b>FIGURA 13.</b>	Comparação das médias da presença de fibrose dos grupos Controle e PRP ao final de seis meses .....	27
<b>FIGURA 14.</b>	Comparação das médias da presença de vasos sanguíneos dos grupos PRP e Controle ao final de seis meses .....	28
<b>FIGURA 15.</b>	Aspecto macroscópico do tecido adiposo com PRP e Controle ao final de 6 meses. A seta amarela aponta para região central acastanhada, que corresponde a focos de necrose (grupo Controle) .....	29
<b>FIGURA 16.</b>	Aspecto macroscópico do enxerto de gordura com PRP e Controle. ....	30

---

- 
- FIGURA 17.** Corte histológico da amostra de tecido adiposo com PRP, corado pelo método HE e aumento de 20x. Observa-se grande quantidade de adipócitos íntegros (seta azul), entremeados por escassos feixes fibrosos (seta amarela) e vasos sanguíneos (círculo preto).....31
- FIGURA 18.** Corte histológico de amostra de tecido adiposo com PRP, corado pelo método HE, aumento de 20x. Notam-se adipócitos morfologicamente preservados, (seta azul) permeados por escassos feixes de tecido conjuntivo e vasos ectasiados (círculo preto) .....32
- FIGURA 19** Corte histológico de amostra do grupo Controle corado pelo método HE, aumento de 20x. Há substituição do tecido adiposo, por reação histiocitária (seta amarela), esteatonecrose e áreas císticas (seta preta) .....32
- FIGURA 20.** Corte histológico de amostra do grupo Controle corado pelo método HE, aumento de 40x. Observa-se a substituição dos adipócitos por reação linfocitária, com células gigantes multinucleadas (seta amarela), proliferação fibrosa e numerosas formações císticas irregulares. ....33
-

---

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO .....	12
3. MATERIAL E MÉTODO .....	14
4. RESULTADOS .....	25
5. DISCUSSÃO .....	35
6. CONCLUSÃO .....	43
7. ANEXOS.....	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	49
RESUMO .....	54
ABSTRACT .....	55
APÊNDICE .....	56

---

---

# INTRODUÇÃO

---

## 1. INTRODUÇÃO

O enxerto autólogo de tecido adiposo é aplicado, em cirurgia plástica, para aumento de volume e para substituição de tecidos moles. Exibe qualidades desejáveis para utilização como material de preenchimento.

É autólogo, biocompatível, está presente em quantidades suficientes como tecido doador, sendo de fácil obtenção e aplicação (Billings Jr, May Jr, 1989; Coleman, 2006). O procedimento tem baixo custo, é passível de repetição e quando necessário, existe a possibilidade de a gordura transplantada ser removida (Billings Jr, May Jr, 1989; Coleman, 2006).

Contudo, uma análise da evolução histórica dessa técnica mostra que a grande barreira para o seu maior desenvolvimento foram os resultados pouco previsíveis e o alto índice de absorção da gordura enxertada, ao longo do tempo.

Van der Meulen<sup>\*</sup>, em 1889, descreveu a utilização do enxerto autólogo de tecido adiposo, ao transferir um fragmento de omento livre para interposição entre o fígado e o diafragma (citado por Billings Jr, May Jr, 1989).

Na cirurgia plástica, Neuber<sup>\*\*</sup> (1893) foi o primeiro a publicar o uso da gordura autóloga como material de preenchimento, utilizando-a em pequenos fragmentos para correção de depressões faciais (citado por Billings Jr, May Jr, 1989).

No final do século XIX e começo do XX, a gordura foi utilizada para aumento do volume mamário e correção de depressões e deformidades faciais.

O primeiro relato do uso da gordura para preenchimento mamário foi feito por Czerny<sup>\*\*\*</sup> (1895) - fato que representou um marco - como a primeira tentativa de

---

\* Van der Meulen (1889) APUD Billings Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83:368-81.

\*\* Neuber GA. Fett Transplantation. *Chir Kongr Verhandl Deutsch Gesellsch Chir* 1893; 22:66 APUD Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83:368-81.

---

reconstrução mamária. Czerny<sup>\*\*\*</sup> utilizou um grande lipoma retirado da própria paciente para reparar o defeito torácico resultante da mastectomia (citado por Billings Jr, May, Jr, 1989).

Schorcher, em 1957, relata sua série de oito pacientes, nos quais fez uso do auto-enxerto de gordura para tratar hipomastia. O principal problema encontrado foi a grande perda de volume que ocorria ao longo do tempo, além das infecções crônicas.

Lexer<sup>\*\*\*\*</sup>, em 1910, citado por Billings Jr, May, Jr, em 1989, utilizou, pela primeira vez, um fragmento de gordura de 12cm<sup>2</sup> retirado do abdômen e o transferiu para a face, com o objetivo de reparar uma depressão na região malar.

May, em 1941, fez uso do enxerto fasciogorduroso, com o qual acreditava obter resultados mais duradouros e um índice maior de integração do tecido transplantado.

Peer, em 1950, definiu os conceitos do comportamento biológico do enxerto de gordura. Apresentou técnicas de manuseio, contra-indicações, resultados clínicos e observou um índice de 50% de absorção do tecido adiposo transplantado.

A fase atual do transplante autólogo de gordura teve início em 1970, com Fischer. Na década de 80, Illouz introduziu a técnica conhecida como lipoaspiração, utilizando a gordura aspirada como material de preenchimento (Fischer, Fischer, 1977; Illouz, 1983; Illouz, 1985; Illouz, 1986). Ellenbogen, em 1986, relata seu trabalho, através da utilização de pequenos fragmentos de gordura de 4 a 6 mm de diâmetro, denominados enxertos em “pérola”, para tratar os mais diversos tipos de depressões faciais.

---

\*\*\* Czerny A. Plastischer Ersatzder Brustdruse durch ein lipoma. Chir Kongr Vernhandl. 1895; 92:216. APUD Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. Plast Reconstr Surg. 1989; 83:368-81.

\*\*\*\* Lexer E. Freie fettransplantation. Dtsch. Med Wochenschr. 1910; 36:640. APUD Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. Plast Reconstr Surg. 1989; 83:368-81.

---

Klein, em 1987, introduziu a anestesia tumescente, propiciando melhores resultados e menores índices de morbidade, assim como uma melhor qualidade da gordura, como material de enxerto (Lillis, 1988; Hanke et al, 1995).

Há uma grande variedade de fatores que interferem na permanência, em longo prazo, do tecido transplantado, tais como: área doadora, área receptora, método de coleta e tratamento do tecido enxertado.

Hudson et al (1990) publicaram trabalho, mostrando que as células gordurosas da coxa são significativamente maiores na sua dimensão e apresentam atividade das enzimas lipogênicas, também aumentadas, em comparação com as do abdômen e as da região submandibular. Sugerem que a gordura da coxa seja a ideal para ser usada como enxerto.

Para a coleta da gordura, através da lipoaspiração, faz-se necessário produzir o vácuo, que pode ser obtido pelo aparelho de sucção ou pela seringa. A pressão de sucção adequada é, em tese, a menor pressão possível capaz de desprender a gordura da área doadora, com potencial para obtenção de um material altamente viável.

Har-Shai et al (1999), utilizando seringas de 60 ml, constataram, mediante utilização de barômetro, que esse método produzia uma pressão de vácuo de cerca de 200 a 300 mmHg e, por meio dele, foi possível coletar amostras de adipócitos com alto grau de viabilidade, comprovada por testes metabólicos.

A permanência da gordura, como tecido viável, está intimamente relacionada às condições de revascularização do enxerto gorduroso. A microcirculação diminuída, durante a primeira semana de pós-operatório é a principal responsável pela reabsorção, pois a isquemia prolongada provoca a necrose e ativa os mecanismos responsáveis pela apoptose (Nishimura et al, 2000).

Duas teorias foram propostas, procurando explicar a sobrevivência do enxerto de gordura: a teoria da substituição do hospedeiro e a teoria da sobrevivência celular. De acordo com a primeira (teoria da substituição do hospedeiro), ocorreria ruptura das células enxertadas e liberação do conteúdo lipídico que seria fagocitado pelos histiócitos. Estes se transformariam em novos adipócitos, em substituição

---

àqueles enxertados, sendo responsáveis pela formação do volume na área receptora (Chiu, Edgerton, 1990). A segunda hipótese, (teoria da sobrevivência celular) é a mais aceita atualmente. Por ela, os histiócitos apenas promoveriam a fagocitose dos lipídios e restos celulares e não se tornariam substitutos do enxerto de gordura. O sucesso do enxerto seria dependente do número de adipócitos viáveis. Após a realização do enxerto, os adipócitos transplantados sofrem uma isquemia inicial e podem seguir dois caminhos distintos: ou evoluem para necrose e rotura, ou sobrevivem, integram-se e voltam a acumular gordura (Billings Jr, May Jr, 1989).

Os pré-adipócitos apresentam um papel de destaque na compreensão do processo de integração do enxerto de gordura. Eles têm a capacidade de multiplicação e quando encontram um ambiente favorável, podem acumular gordura e se diferenciar em adipócitos maduros, fenômenos confirmados por estudos *in vitro* e *in vivo* (Tholpady et al, 2005).

Sabe-se da existência de uma quantidade de reserva de pré-adipócitos na fração de estroma conjuntivo do tecido adiposo. Assim, quando se realiza o transplante de tecido adiposo, pré-adipócitos também são transferidos, juntamente com o estroma conjuntivo (Billings Jr, May Jr, 1989).

A análise histológica da área enxertada, nos primeiros dias, demonstra a existência de alto índice de rotura dos adipócitos transplantados, evidenciando que os adipócitos maduros são bastante sensíveis à isquemia no período inicial (Carpaneda, Ribeiro, 1993).

Este fato induz a pensar que os pré-adipócitos, talvez mais resistentes à isquemia, sejam os principais responsáveis pela massa de adipócitos que permanecem, por longo prazo, no local do enxerto. Existem trabalhos, na literatura, que se baseiam na presença e nas peculiaridades do comportamento biológico dessas células precursoras especializadas para explicar o fenômeno de integração da gordura (Billings Jr, May Jr, 1989).

---



A tentativa de promover uma maior integração do tecido adiposo é tema de estudo recorrente na literatura. O intuito é o de desenvolver procedimentos que diminuam as taxas de reabsorção dos adipócitos, em longo prazo.

Em 1987, a American Society of Plastic and Reconstructive Surgery relatou o seu consenso sobre o tema, concluindo que somente 30% do tecido adiposo transferido permanecia viável, após um ano. Recomendou hipercorreção e salientou que resultados imprevisíveis eram inerentes a este procedimento.

Nguyen et al (1990) compararam, em coelhos, a sobrevida do transplante livre de 0,5 ml de tecido adiposo, obtido por sucção, em comparação com o dissecado a céu aberto. Mostraram que um número significativo de adipócitos romperam-se após a sucção.

Curi et al (1991) realizaram estudo experimental em 30 ratos, transferindo tecido adiposo da região inguinal para o dorso do animal e observaram uma taxa de reabsorção entre 30% e 50%, em relação ao peso inicialmente transferido, após um período de 360 dias. Notaram também, que os adipócitos viáveis mantiveram a estrutura celular preservada.

Marques, em 1993, estudou cinco diferentes formas de transplante livre de tecido adiposo autólogo, em coelhos. Concluiu que o tecido dissecado, colhido por bisturi e mergulhado em soro fisiológico resultava na maior sobrevida entre as modalidades estudadas.

Em 1994, Von Heimburg et al, estudaram, em ratos, a expansão do tecido adiposo, antes de sua transferência, como enxerto. Histologicamente, os adipócitos transformavam-se em células precursoras (pré-adipócitos). Ocorria a perda do conteúdo lipídico e a transformação morfológica, caracterizada por um contorno mais alongado com núcleo central. Uma semana após o transplante, os pré adipócitos recuperavam o volume e apresentavam poucos sinais de inflamação e necrose em relação ao grupo controle (sem expansão prévia). A conclusão é que os pré adipócitos são células mais resistentes ao trauma e a isquemia em relação aos adipócitos maduros, têm a capacidade de se rediferenciar, apresentando uma maior taxa de integração.

---

Golcman et al, em 1998, estudaram 16 pacientes portadores de atrofia facial, decorrentes da Síndrome de Romberg e de Lupus Eritematoso Sistêmico. Realizaram enxertos de gordura de pequenos volumes, divididos em sessões e notaram, através de medidas ultrassonográficas e confirmação histopatológica, um alto índice de integração dos adipócitos. Observaram que enxertos menores são mais bem revascularizados, apresentando menor grau de inflamação e conseqüentemente, melhor integração.

Baran et al, em 2002, realizaram estudos em coelhos e concluíram que áreas com aumento de vascularização, submetidas a enxerto de gordura, apresentavam índices menores de reabsorção.

Pu et al (2005), em um estudo comparativo sobre a viabilidade do tecido adiposo, após lipoaspiração convencional e dissecação do tecido, com bisturi, concluíram que a gordura aspirada mantém a estrutura semelhante a do tecido dissecado, mas com função celular reduzida. Isto levaria a uma menor integração.

Smith et al, (2006) realizaram um trabalho clínico comparando seis diferentes modalidades de preparação do tecido adiposo antes de sua transferência: (1-sem preparação, 2-centrifugação apenas, 3-lavagem com ringer lactato, 4-lavagem com soro fisiológico a 0,9%, 5-ringer lactato e centrifugação, 6-associação de soro fisiológico 0,9% com centrifugação) e não encontraram diferenças estatísticas entre as amostras.

Outros autores recomendam técnicas de preparação do tecido, como a lavagem com solução salina e a centrifugação, com o objetivo de separar o tecido viável dos debris, levando a uma menor resposta inflamatória e a um menor grau de reabsorção (Billings Jr, May Jr, 1989; Nguyen et al, 1990; Carpaneda, Ribeiro, 1993; Coleman, 2006).

Em 2005, Karacaoglu et al realizaram um estudo experimental para determinar a influência da área receptora na viabilidade do enxerto de gordura e concluíram haver uma melhor integração do enxerto quando realizado no plano supramuscular, seguido do subcutâneo e do submuscular.

---

Guerrerosantos, em 2005, relata em um estudo experimental em ratos, uma maior viabilidade do enxerto de gordura realizado no plano intramuscular.

Kaufman et al, em 2007, publicaram nos EUA, um consenso sobre a transferência de tecido adiposo autólogo, ressaltando as técnicas de coleta, preparação do tecido, suas aplicações e a percepção dos resultados em curto e em longo prazo. O questionário, aplicado aos membros da Sociedade Americana de Cirurgia Plástica, foi respondido por quinhentos e oito profissionais. Os resultados revelaram que 57% dos colegas realizavam o enxerto de gordura, com uma média de dez casos anuais. Poucos (23%) o utilizaram 30 ou mais vezes. As técnicas de coleta, preparação e injeção do tecido não diferiram dos métodos discutidos na literatura (microcânula, 54 %; centrifugação, 75%). Em relação aos locais mais comuns de preenchimento, houve predomínio do sulco nasolabial, seguido pelos lábios.

Dos médicos que responderam ao questionário, 93% acreditaram haver evidência clínica de alguma sobrevivência do enxerto. Os pacientes apresentaram, em curto prazo, resultados bons ou excelentes, em 84% dos casos, apesar de taxas de satisfação regular em longo prazo (80%) (Kaufman et al, 2007).

Uma das maneiras utilizadas para melhorar a vascularização de um tecido é submetê-lo à autonomização. Este é o processo que possibilita um maior fluxo circulatório ao tecido, podendo ser realizado mediante uso de drogas ou por meios mecânicos (cirurgia) (Ghali et al, 2007).

Fraga et al, em 2008, compararam a integração e viabilidade do enxerto autólogo de tecido adiposo autonomizado e não autonomizado, observando um maior número de adipócitos íntegros e menor índice de fibrose e necrose no enxerto previamente autonomizado.

Os efeitos observados nos tecidos submetidos ao processo de autonomização podem ser divididos em precoces e tardios. Os benefícios imediatos são originários das alterações do tônus simpático, decorrentes da transecção das fibras simpáticas durante o procedimento cirúrgico (Ghali et al, 2007). A simpatectomia inibe o efeito da ação simpática vasoconstritora nos esfíncteres pré-capilares e nos *shunts*

---

arteriovenosos, provocando uma vasodilatação e um aumento do fluxo sanguíneo na microcirculação capilar.

Essas mudanças ocorrem paralelamente às alterações metabólicas, caracterizadas pelo aumento dos níveis de prostaglandina  $E_2$  (vasodilatadora) em comparação com a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (vasoconstritora), permitindo um maior fluxo sanguíneo aos tecidos autonomizados. Os efeitos tardios são caracterizados pelo aumento da densidade de vasos sanguíneos no retalho, assim como pelas alterações do seu metabolismo. A neovascularização ocorre em virtude de dois mecanismos principais: angiogênese e vasculogênese. A angiogênese é o brotamento de microvasos derivados dos capilares pré-existentes, enquanto que a vasculogênese diz respeito à formação de vasos sanguíneos, a partir de células progenitoras endoteliais (Ghali et al, 2007).

Os níveis de citocinas angiogênicas e de fatores de crescimento, tais como os derivados dos fibroblastos ( $\beta$  FGF) e os endoteliais (VEGF) estão aumentados nos tecidos submetidos à autonomização. Isto propicia o aumento do número e do calibre dos vasos do retalho, melhorando a tolerância aos fenômenos isquêmicos (Ghali et al, 2007) .

A partir da observação dos fenômenos que levaram a um menor índice de absorção do enxerto autólogo de tecido adiposo, optou-se pela busca de um método que pudesse fornecer a maior quantidade de fatores de crescimento que contribuíssem para a melhor integração dos adipócitos. Utilizou-se o plasma rico em plaquetas (PRP).

O PRP vem sendo estudado como forma de melhorar a integração de enxertos em diversos procedimentos neurocirúrgicos, ortopédicos, odontológicos e de cirurgia plástica (Bhanot , Alex , 2002).

O PRP é uma concentração autóloga de plaquetas em um pequeno volume de plasma. Há nesse concentrado a presença de fatores de crescimento (FC) e proteínas osteocondutoras, que também servem de matriz para migração epitelial, formação óssea e de tecido conectivo (Marx, 2004; Eppley et al, 2004)

---

As plaquetas atuam no processo de hemostasia, cicatrização de feridas e re-epitelização.

A sua ativação, em resposta a um dano tissular, resultará na formação de um *plug* plaquetário e de um coágulo, que promoverão hemostasia e secreção de proteínas biológicas ativas. Estas darão início aos processos que resultarão na cicatrização tecidual, através da quimiotaxia celular, proliferação e diferenciação; remoção de debris; angiogenesis; formação da camada basal de matriz extracelular e regeneração apropriada do tecido lesado.

In vitro, existe uma relação de dose-resposta entre a concentração plaquetária e a proliferação de células humanas mesenquimais (*stem cells*), proliferação de fibroblastos e a formação de colágeno tipo I (Haynesworth et al, 2002). Estas propriedades das plaquetas tornam o PRP um produto com grande potencial de melhorar a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilaginosos ou de gordura, bem como estimular a cicatrização de feridas.

O gel de PRP é obtido através da adição de trombina e gluconato de cálcio ao PRP. Eles ativam o sistema de coagulação, resultando na formação de um gel que facilita sua aplicação em diversas cirurgias. Têm também a capacidade de ativar as plaquetas (Lindemann et al, 2001).

Inicialmente, o PRP era obtido através de máquinas de plasmaferese. Utilizava-se a trombina bovina para sua ativação. O interesse em facilitar sua obtenção e diminuir os custos propiciou o surgimento de algumas máquinas automatizadas e diversos protocolos, inclusive com a substituição da trombina bovina por trombina autóloga (Kevy, Jacobson, 2004).

As máquinas automatizadas com seus "kits" tornaram mais simples a obtenção do PRP, porém os custos ainda são elevados. Assim, alguns protocolos foram criados para se obter pequenas quantidades de PRP e trombina autólogos, utilizando-se centrífugas comuns e reduzindo muito os custos na preparação do produto (Efeoglu et al, 2004)

---

O enxerto de gordura tem algumas das qualidades ideais de um material de preenchimento, porém os resultados são técnico-dependentes, variáveis e imprevisíveis.

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar a eficácia da utilização do plasma rico em plaquetas na integração do enxerto autólogo de tecido adiposo.

---

---

**OBJETIVO**

---

## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho é o de comparar a integração do enxerto autólogo de tecido adiposo, com e sem a presença do plasma rico em plaquetas, em coelhos.

---



---

## MATERIAL E MÉTODO

---

### 3. MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, com seis meses de idade e peso médio de 2,5 kg.

Os procedimentos cirúrgicos e a manutenção pós-operatória foram realizados na unidade de técnica e cirurgia experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, após aprovação do comitê de ética em experimentação animal. O estudo baseou-se em duas formas distintas de transplante de tecido adiposo autólogo: com e sem adição de PRP.

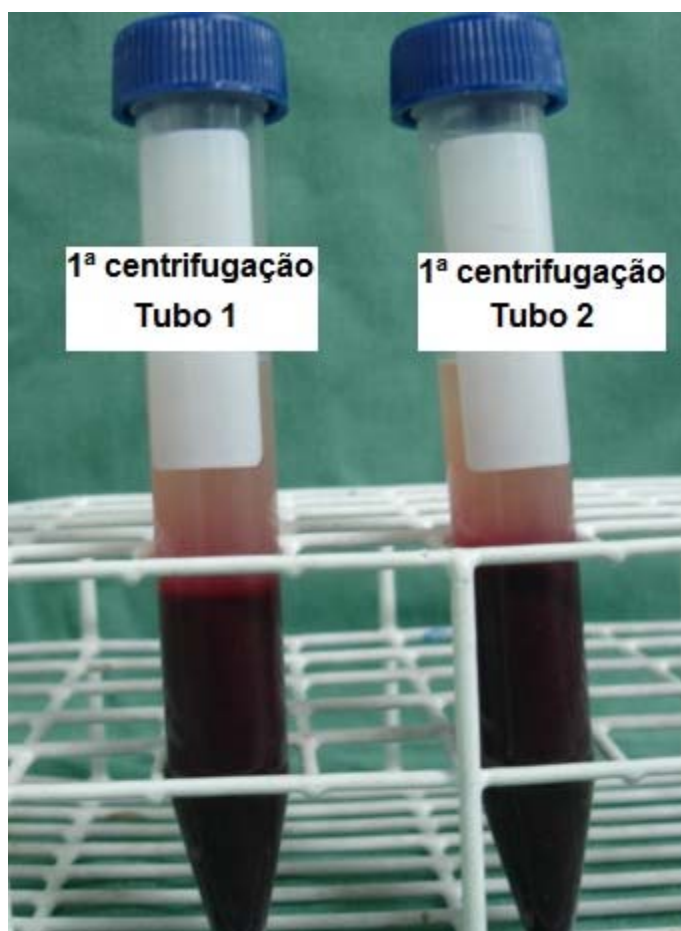
Os animais foram anestesiados através da aplicação de Ketamina e Xilasina pela via intramuscular, na dose de 0,5 ml/kg, sendo complementada, conforme a necessidade, durante o ato cirúrgico. Os animais foram mantidos em ventilação espontânea durante o procedimento. A equipe cirúrgica foi a mesma para todos os animais operados. Após a anestesia, utilizando um jelco 22, foram coletados 8ml de sangue da orelha do animal, divididos em dois tubos roxos com EDTA (Fig. 1).



**FIGURA 1.** Coleta de 8 ml de sangue através de punção na face convexa da orelha do coelho.

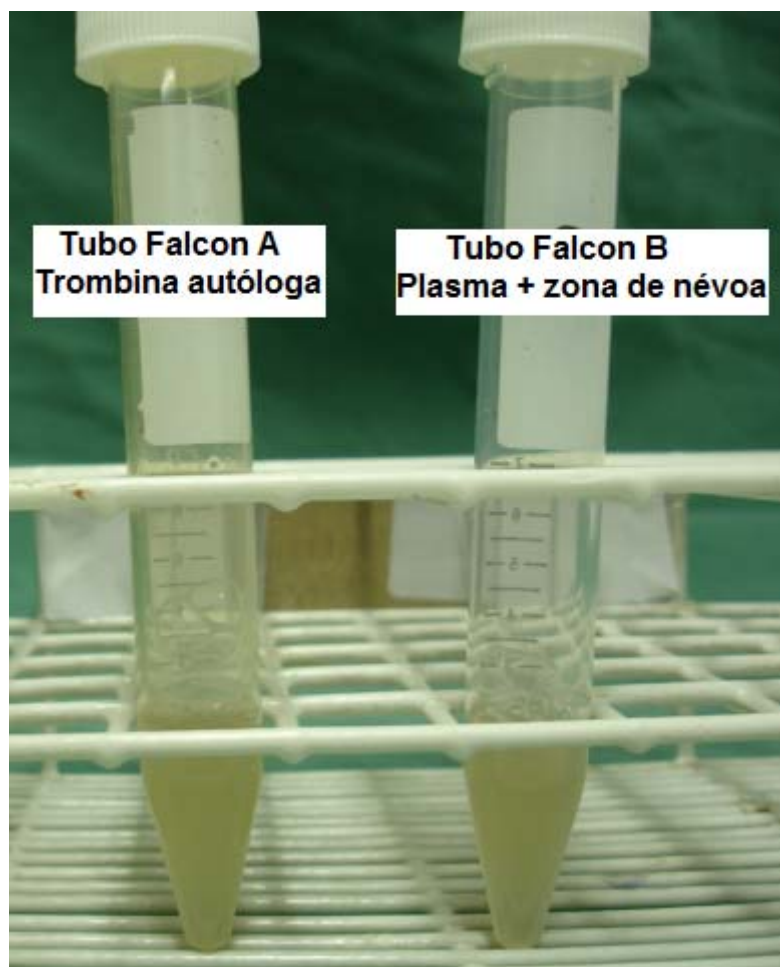
Esse material foi enviado para o laboratório de hematologia e através de um protocolo previamente estabelecido, obteve-se o plasma rico em plaquetas (Vendramin et al, 2006).

O protocolo para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) consistiu numa primeira centrifugação do sangue a 1450 rpm, por dez minutos (centrífuga JOUAN BR 4i Rotor A 4 X 100 – aceleração de 30f4000), promovendo a separação das células vermelhas que, por terem um peso específico maior, depositam-se na parte inferior do tubo. Na parte superior ficava o plasma com as plaquetas e, entre estas duas camadas, uma outra, fina e esbranquiçada, denominada de zona de névoa. Esta camada continha as células brancas, principalmente leucócitos, e as plaquetas maiores (Fig. 2).



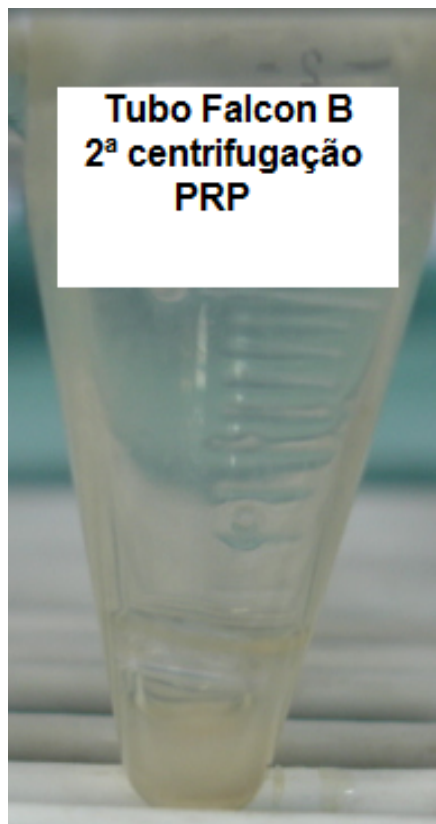
**FIGURA 2.** Separação das células vermelhas e do plasma após a 1ª centrifugação.

Com uma pipeta milimetrada foram colhidos 50 microlitros da porção superior do plasma de cada um dos tubos, totalizando 1,0 ml, colocado em um tubo tipo Falcon (Tubo A), para obtenção da trombina autóloga. Neste 1ml de plasma, adicionou-se 0,3 ml de gluconato de cálcio a 10% e o tubo foi colocado em banho – maria por 15 minutos. Durante este tempo, pipetou-se o restante do plasma e a zona de névoa que foram acondicionados em outro tubo Falcon (Tubo B) (Fig.3).



**FIGURA 3.** Obtenção da trombina autóloga (Tubo A) e pipetagem do plasma e zona de névoa no tubo B.

Os tubos A (após o banho-maria) e B foram submetidos à nova centrifugação a 2100 rpm, por dez minutos. Isto resultou na separação de um líquido rico em trombina no tubo A e na sedimentação das plaquetas (e algumas hemácias) no fundo do tubo B. Retirou-se a porção superior do plasma no tubo B, que consistia no plasma pobre em plaquetas (PPP), até a redução de 50% do volume total. O tubo B foi agitado para dispersar as plaquetas no plasma restante, obtendo-se assim o PRP (Fig.4).



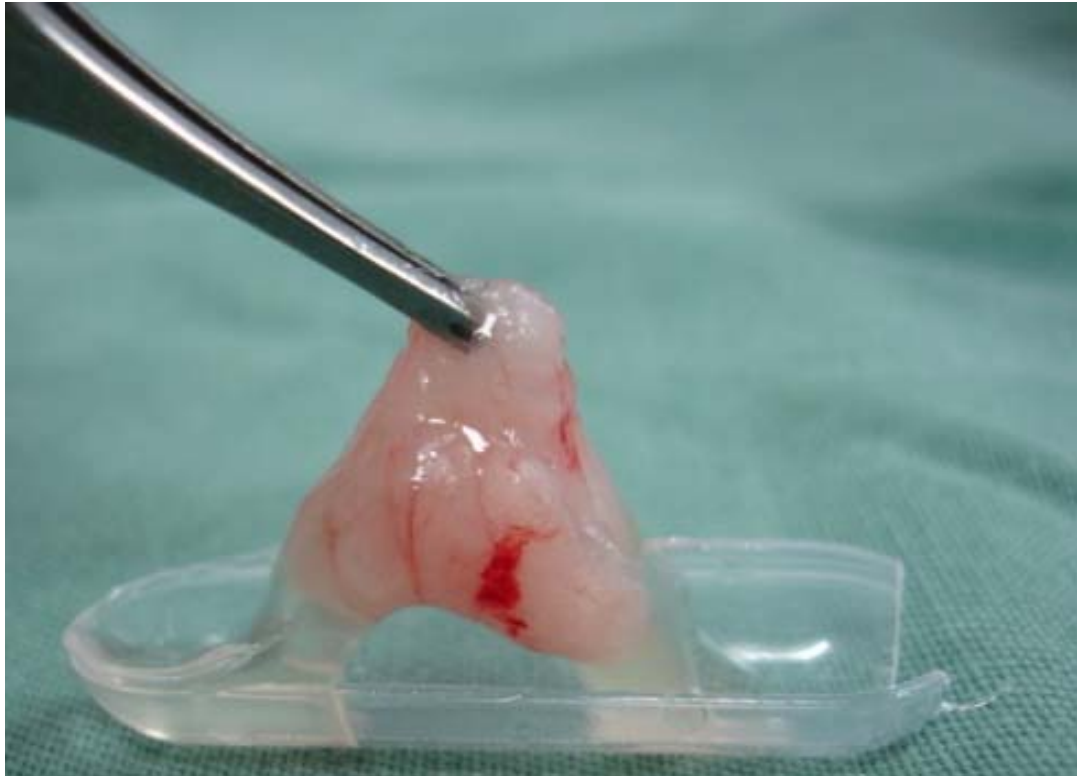
**FIGURA 4.** Obtenção do plasma rico em plaquetas após a 2ª centrifugação no tubo B.

O procedimento cirúrgico nos animais foi simultâneo à obtenção do PRP. Através de incisão cirúrgica sobre a linha médio dorsal dos coelhos, as bolsas adiposas foram acessadas (Fig.5). Dissecaram-se dois fragmentos de gordura de 0,8 gramas cada, que foram pesados numa balança de precisão previamente à enxertia.



**FIGURA 5.** Dissecção das bolsas adiposas escapulares.

Ao fragmento de tecido da região escapular direita, adicionou-se 1,0 ml de PRP e ao da esquerda, utilizado como grupo controle, 1,0 ml de soro fisiológico a 0,9%. O PRP foi ativado com gluconato de cálcio (0,3 ml) e trombina autóloga, formando um gel (Fig.6).



**FIGURA 6.** Adição do PRP gel ao fragmento de tecido adiposo obtido da região escapular direita.

O procedimento de transferência dos enxertos teve início com a infiltração de 5 ml de soro fisiológico a 0,9% na face convexa das orelhas, criando um plano de descolamento entre a pele e a cartilagem. Após esta etapa, realizou-se a incisão da pele da orelha e a dissecação de um pequeno túnel para a colocação do tecido (Figs. 7 e 8).





**FIGURA 7.** Dissecção de um pequeno túnel entre a pele e a cartilagem.



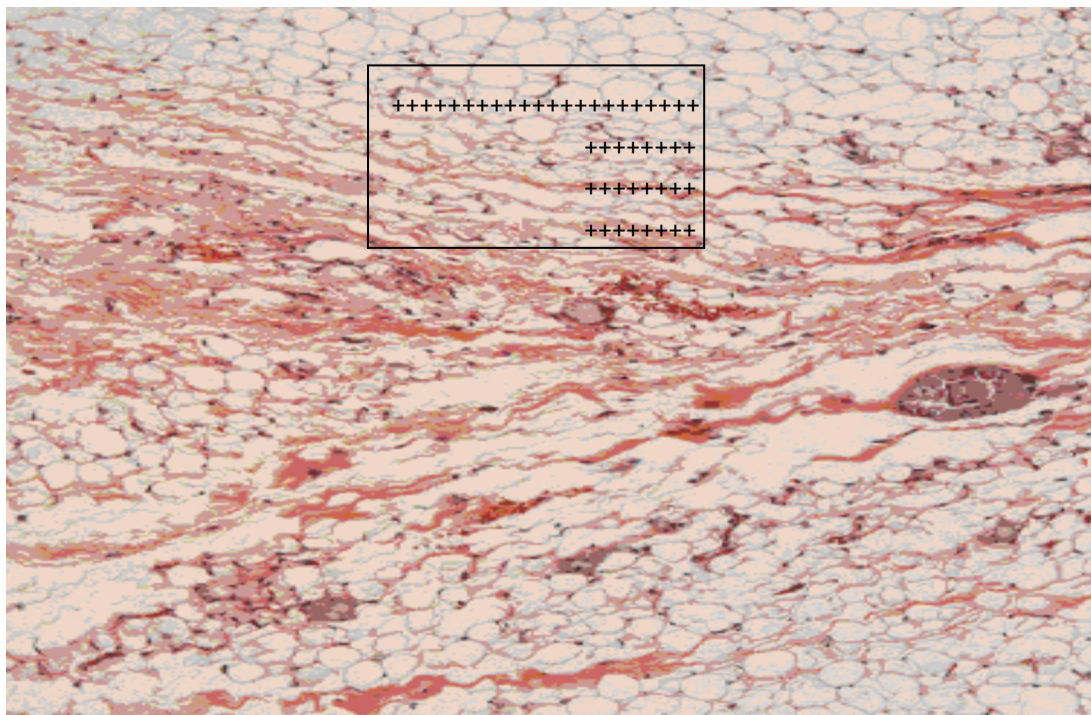
**FIGURA 8.** Inclusão do fragmento de tecido adiposo na área receptora.



O enxerto autólogo de tecido adiposo com PRP foi transplantado para a orelha direita, e o controle, para a esquerda.

Os animais permaneceram em observação por um período de seis meses, com oferta livre de alimentos e água. Ao final deste período foram mortos com a utilização de KCL 19,1% endovenoso. Os fragmentos de gordura foram dissecados de suas orelhas e enviados para estudo anátomo-patológico. A análise macroscópica foi realizada pela medida do peso do fragmento de tecido adiposo, na balança de precisão, comparando-se o peso inicial e final (após seis meses) para os dois grupos (PRP e Controle). Por meio de parâmetros microscópicos, comparou-se a taxa de absorção do tecido transplantado, assim como a sua integração. O material coletado foi fixado em solução de formalina a 10% e processado em blocos de parafina, submetidos a cortes histológicos e corados pelo método de hematoxilina-eosina. Para caracterizar as diferenças histológicas que pudessem contribuir para determinar diferentes aspectos macroscópicos nas amostras dos grupos PRP e Controle, consideraram-se quatro critérios: esteatonecrose, adipócitos íntegros, proliferação fibrosa e presença de vasos sanguíneos.

Nessa análise foi usada a técnica proposta por Gundersen et al (1988) chamada "point-counting", utilizando retículo de 100 pontos e 50 retas (Fig. 9).



**FIGURA 9.** Esquema representativo da utilização do retículo de 100 pontos para contagem celular.

Foram examinados 10 campos aleatórios e não coincidentes, totalizando 1000 pontos por lâmina, ao aumento de 400X, cobrindo uma área de 62500 $\mu\text{m}^2$ . Não foram considerados os pontos que não incidiam sobre áreas sólidas.

Os valores foram expressos em porcentagem de pontos positivos do total de pontos em áreas sólidas, de acordo com a fórmula:

$$P \text{ pontos} = (P_i \times 100) / P \text{ parênquima}$$

sendo que P pontos é a porcentagem corrigida de pontos marcados,  $P_i$  é o número de pontos que incidem sobre a positividade dos itens mensurados e P parênquima é o total de pontos que incidem sobre a área sólida.

### **Análise estatística**

Adotou-se o nível de significância de 5% ( $p = 0,050$ ) para a aplicação dos testes estatísticos deste estudo.

Foi utilizado o programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), em sua versão 13.0, para obtenção dos resultados e aplicou-se o Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon.

---

---

RESULTADOS

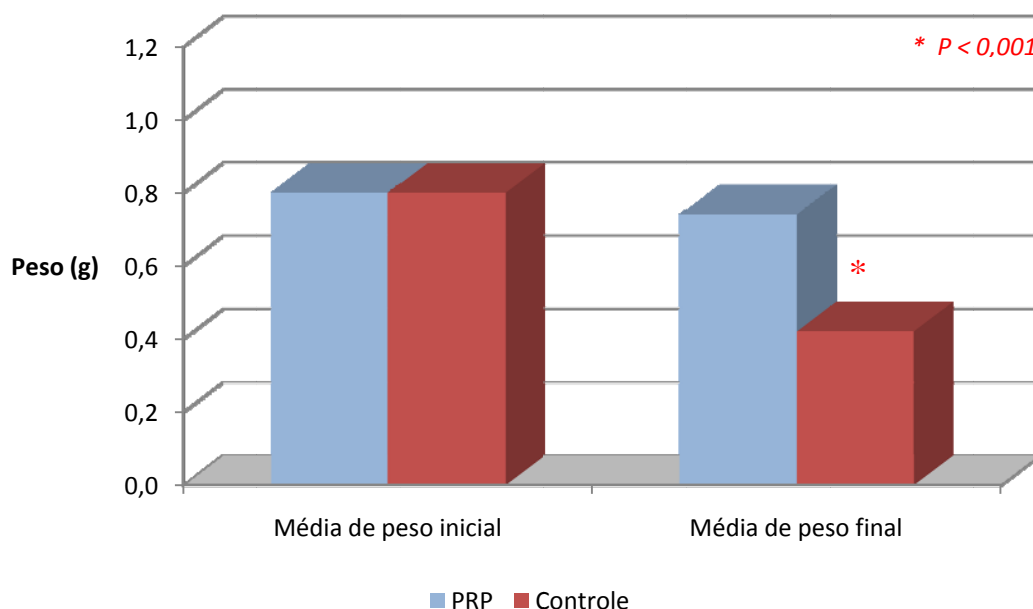
---

#### 4. RESULTADOS

Verificaram-se diferenças com significância estatística entre os dois grupos analisados (PRP e Controle), tanto nos aspectos macroscópicos, quanto nos microscópicos.

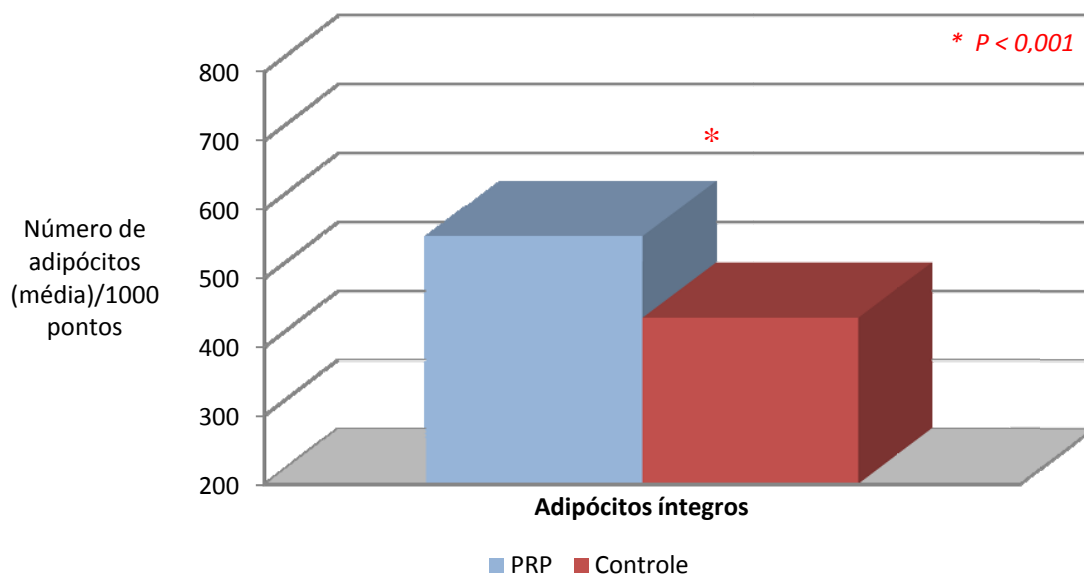
Após o período de observação de seis meses, a média do peso dos enxertos foi de 0,74g e 0,42g, respectivamente, para o grupo PRP e Controle, sendo que ambos os grupos receberam fragmentos com uma média de 0,8g.

A figura 10 mostra os valores relativos aos pesos iniciais e finais para os enxertos autólogos de tecido adiposo com PRP e grupo Controle. Esta diferença apresentou significância estatística.



**FIGURA 10.** Comparação das médias de peso (gramas) dos enxertos autólogos de tecido adiposo com PRP e grupo Controle, no início, e ao final de seis meses.

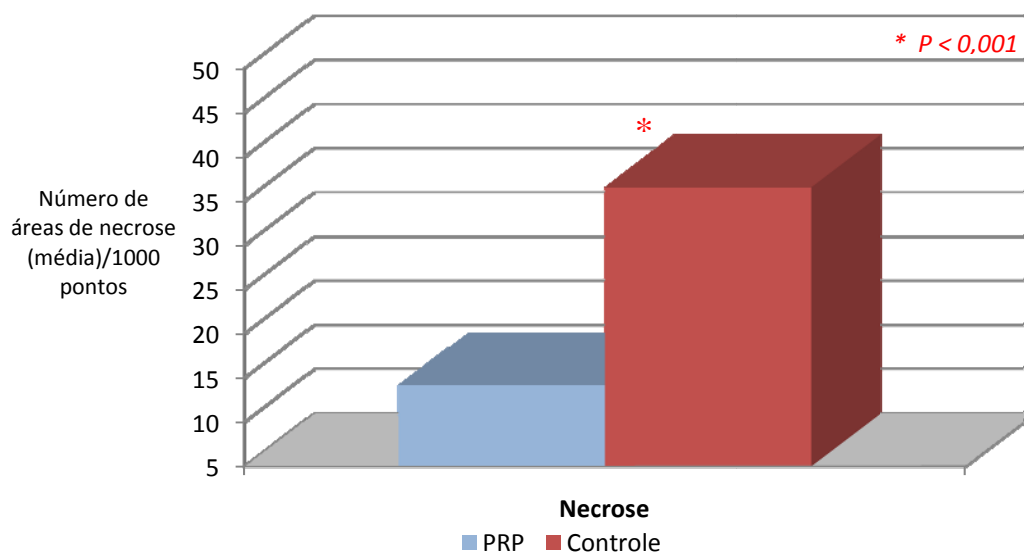
Observou-se o predomínio do número de adipócitos íntegros (559,90/1000) no grupo PRP versus Controle (441,13/1000). Esta diferença apresentou significância estatística e está representada na figura 11.



**FIGURA 11.** Comparação das médias de adipócitos íntegros dos grupos PRP e Controle, ao final de seis meses.

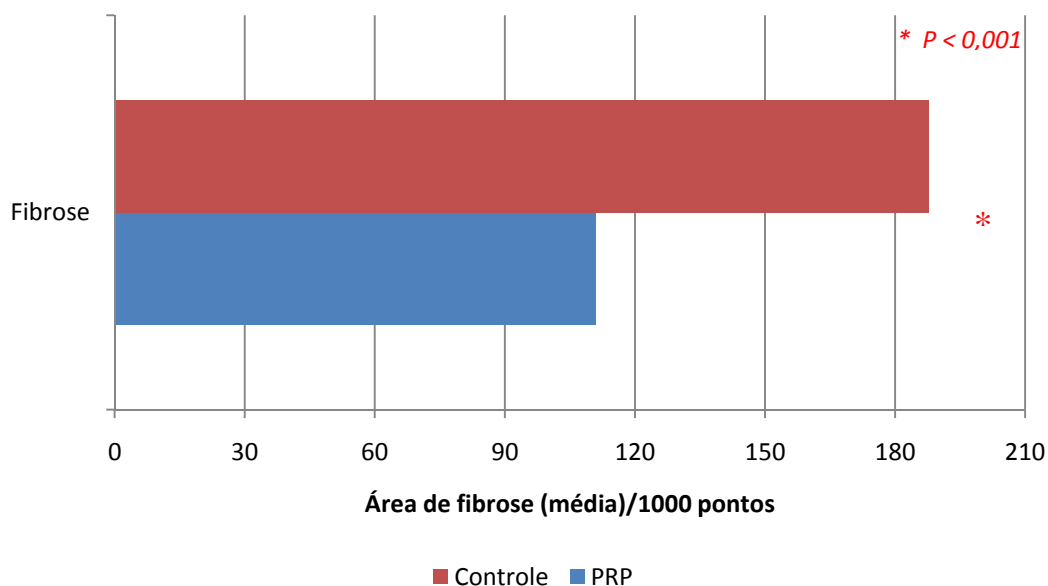
A figura 12 apresenta os dados referentes às diferenças encontradas nas áreas caracterizadas como necrose entre os grupos PRP e Controle.

Houve um maior número de áreas de necrose no enxerto autólogo de tecido adiposo no grupo Controle, quando comparado com o do PRP (36,57/1000 versus 14,17/1000), sendo esta diferença, significativa.



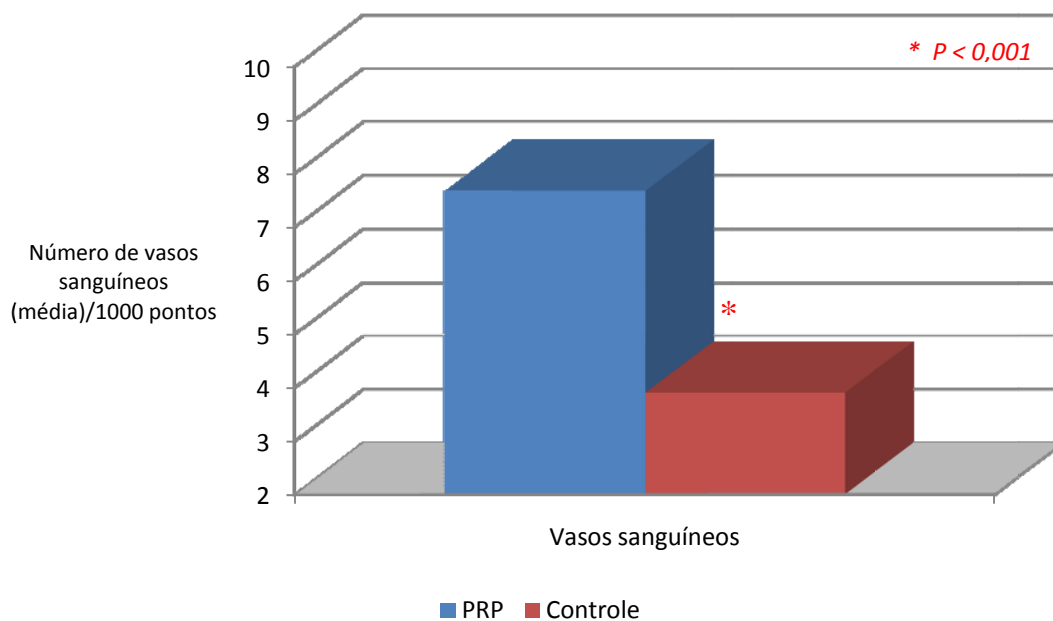
**FIGURA 12.** Comparação das médias da presença de necrose dos grupos Controle e PRP ao final de seis meses.

A figura 13 caracteriza o maior grau de fibrose encontrado no enxerto de tecido adiposo no grupo Controle, em comparação com o do PRP (187,70/1000 versus 110,93/1000) com diferença estatística significativa.



**FIGURA 13.** Comparação das médias da presença de fibrose dos grupos Controle e PRP ao final de seis meses.

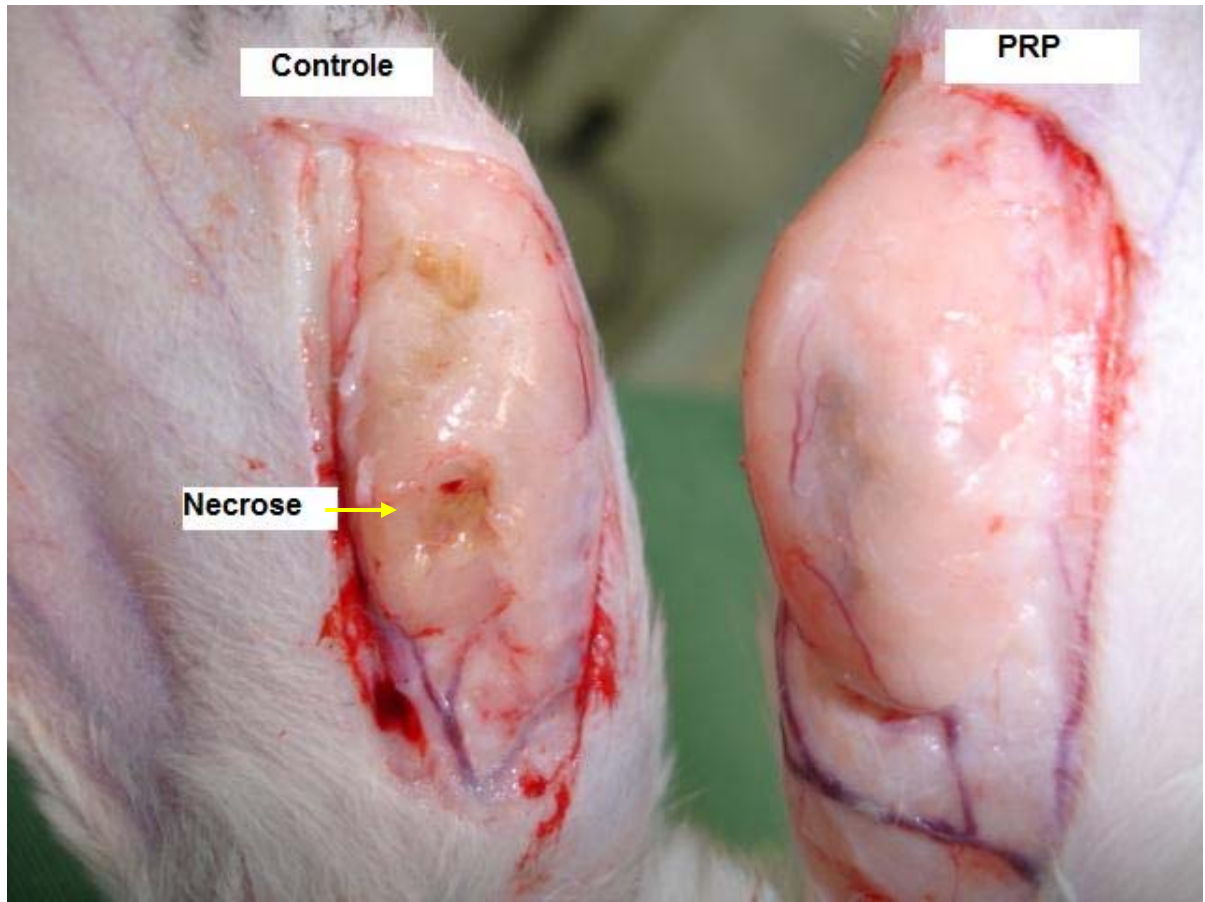
Houve ainda, um predomínio do número de vasos sanguíneos no grupo PRP em relação ao controle, (7,67/1000 versus 3,90/1000) com diferença estatística significativa (Fig.14).



**FIGURA 14.** Comparação das médias da presença de vasos sanguíneos dos grupos PRP e Controle, ao final de seis meses.

As figuras 15 e 16 ilustram as diferenças macroscópicas entre enxertos de tecido adiposo com PRP e Controle, notando-se um maior volume e comprimento nas amostras do grupo PRP. É possível caracterizar, também, uma área central de coloração acastanhada no grupo Controle, correspondente à região de necrose (Fig. 15).



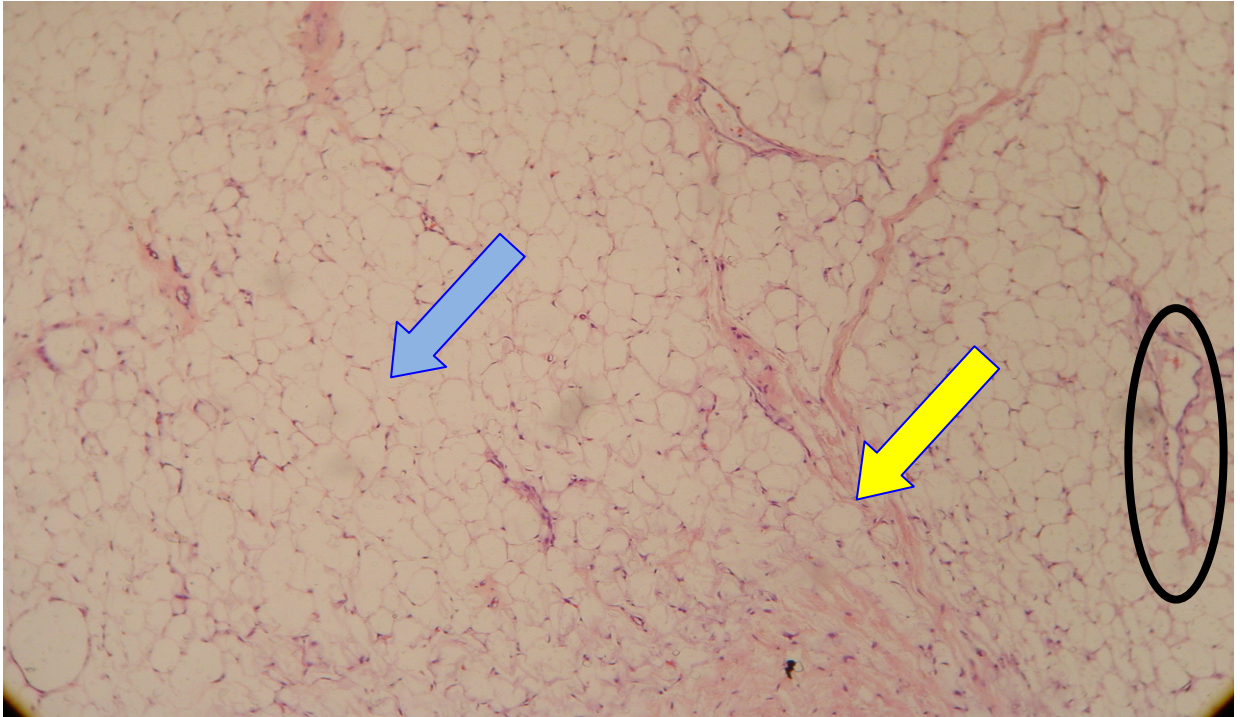


**FIGURA 15.** Aspecto macroscópico do tecido adiposo com PRP e o Controle, ao final de 6 meses. A seta amarela aponta para região central acastanhada, correspondente a focos de necrose (grupo Controle).



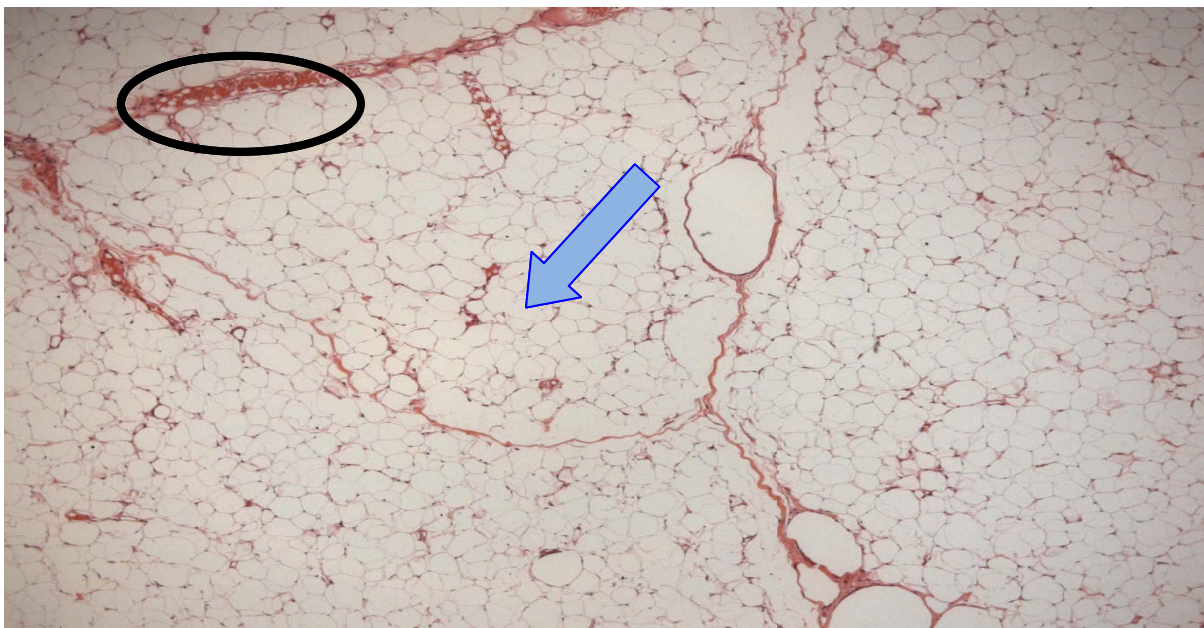
**FIGURA 16.** Aspecto macroscópico do enxerto de gordura com PRP e Controle.

As figuras 17 e 18 evidenciam aspectos microscópicos do enxerto autólogo de tecido adiposo com PRP, observando-se grande número de adipócitos íntegros, pequenas áreas de fibrose e necrose. Há presença de vasos sanguíneos ectasiados.



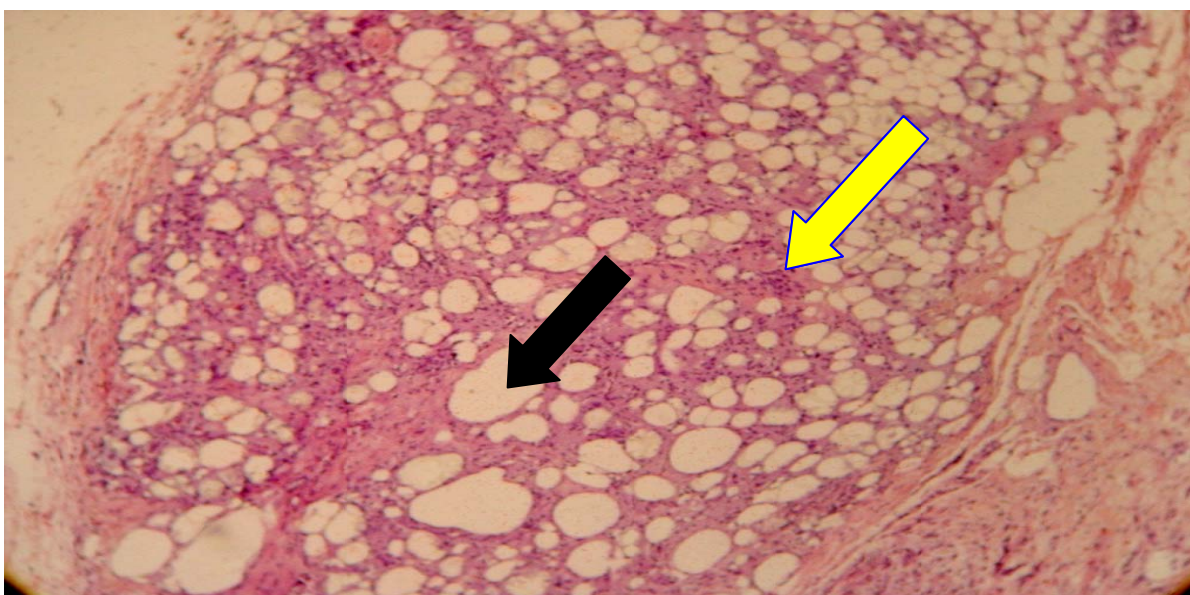
**FIGURA 17.** Corte histológico da amostra de tecido adiposo com PRP, corado pelo método HE e aumento de 20x. Observa-se grande quantidade de adipócitos íntegros (seta azul), entremeados por escassos feixes fibrosos (seta amarela) e vasos sanguíneos (círculo preto).





**FIGURA 18.** Corte histológico de amostra de tecido adiposo com PRP, corado pelo método HE, aumento de 20x. Notam-se adipócitos morfologicamente preservados, (seta azul) permeados por escassos feixes de tecido conjuntivo e vasos ectasiados (círculo preto).

As figuras 19 e 20 apresentam os cortes histológicos do grupo Controle, notando-se diminuição de adipócitos íntegros com predomínio de esteatonecrose e proliferação fibrosa.



**Figura 19.** Corte histológico de amostra do grupo Controle corado pelo método HE, aumento de 20x. Há substituição do tecido adiposo, por reação histiocitária (seta amarela), esteatonecrose e áreas císticas (seta preta).



**Figura 20.** Corte histológico de amostra do grupo Controle corado pelo método HE, aumento de 40x. Observa-se a substituição dos adipócitos por reação linfohistiocitária, com células gigantes multinucleadas (seta amarela), proliferação fibrosa e numerosas formações císticas irregulares.

---

DISCUSSÃO

---

## 5. DISCUSSÃO

A busca de uma solução para as alterações de relevo dos tecidos moles superficiais, bem como, o preenchimento de espaços mortos, ou mesmo, o aumento volumétrico de caráter estético ou reparador impulsionou o desenvolvimento do enxerto autólogo de tecido adiposo.

A pouca utilização da técnica de lipoenxertia, em alguns momentos, sobretudo no passado, deveu-se ao seu alto índice de absorção e ao aparecimento de novos materiais aloplásticos ou biológicos como substitutos de tecidos moles.

O advento da lipoaspiração e seu desenvolvimento, nos últimos anos, somados à pesquisa do metabolismo de lipídeos, impulsionaram novos campos da pesquisa clínica e experimental no manuseio do tecido adiposo.

Diferentes mecanismos são responsáveis pela perda de volume dos enxertos livres de gordura. Alguns adipócitos sofrem ruptura traumática e necrose isquêmica durante a captação e transferência do enxerto. Segue-se um processo inflamatório, resultante da morte celular que leva à fibrose e à contração do enxerto (Hausberger, 1955; Billings Jr, May Jr, 1989).

Um outro mecanismo de reabsorção do enxerto de gordura pode ocorrer em virtude de uma redução volumétrica não necrótica, secundária ao processo de desdiferenciação e deslipidação do adipócito. Este conceito é análogo ao processo de “atrofia adiposa” e está baseado em evidências experimentais (Green, Kehinde, 1975; Tavassoli, 1982; Sugihara et al, 1986; Sugihara et al, 1987; Sugihara et al, 1989).

Peer, em 1950, definiu conceitos do comportamento biológico e um índice de absorção de 50% desse transplante livre.

A escassez de artigos, na literatura, que analisam o transplante livre de tecido adiposo autólogo, sob o foco da quantificação dos componentes tissulares da sua

---

sobrevida, bem como, poucos trabalhos experimentais que comprovam a eficácia do PRP, associado ao enxerto de gordura, estimularam o presente estudo.

O coelho, como animal de experimentação, apresentou-se como um modelo de estudo interessante, em virtude de possuir um volume adequado de tecido adiposo localizado em região de fácil acesso (regiões escapulares).

Suas orelhas são áreas receptoras favoráveis, por permitirem visualização e palpação no seguimento pós-operatório. Acrescente-se a isto, o fato de a orelha ser uma área desprovida de gordura, o que evita confusão na interpretação do resultado do tecido adiposo transplantado.

Um dos aspectos que mais estimularam a escolha foi a possibilidade de realizar as duas formas de transplante de tecido adiposo no mesmo animal.

Esse detalhe eliminou os inconvenientes das variações do comportamento tecidual existente entre os animais, assim como, a variação de peso entre o início e o fim da pesquisa.

A utilização de ratos, como modelos experimentais para transplante de tecido adiposo foi aplicada por muitos autores. No entanto, a quantidade de tecido disponível para transferência é pequena e este fato dificulta a análise dos resultados (Marques, 1993).

O uso de fragmentos de tecido adiposo colhidos por dissecação, a céu aberto, deveu-se ao menor trauma sobre os adipócitos e melhor sobrevida, quando comparado ao tecido obtido pela lipoaspiração (Marques, 1993; Pu et al, 2005).

O tamanho do enxerto de gordura utilizado (10mm) baseia-se na melhor vascularização dos pequenos fragmentos em comparação com os de maiores dimensões, proporcionando uma melhor integração do tecido adiposo transferido (Ellenbogen, 1986; Golcman et al, 1998).

Com relação ao protocolo de obtenção do PRP, a escolha foi baseada num método que se mostrasse efetivo e de baixo custo. Quando são analisados os dados encontrados na literatura, constata-se a diversidade de informações relativas à melhor forma para a realização deste propósito. No entanto, a grande maioria dos

---



trabalhos sugere que a concentração ideal de plaquetas no concentrado (PRP) deva ser ao redor de um milhão. (Marx, 2004)

Um dado importante em relação ao uso clínico do PRP é o referente à necessidade de sua ativação através do uso de trombina e gluconato de cálcio. Isto corrobora para que o método seja efetivo. (Marx, 2004)

Após ativação do PRP, 70% dos fatores de crescimento armazenados são liberados. O ciclo se completa em torno de uma hora.

A síntese adicional de fatores de crescimento se estende até o oitavo dia, depletando-se após este tempo. (Marx, 2004)

Os Fatores de crescimento (FCs) são polipeptídeos específicos, presentes no plasma e em alguns tecidos, cuja função é a de regular a diferenciação e a proliferação celular e, portanto, a regeneração dos tecidos. (Wiltfang et al, 2004). Os Fatores de crescimento podem ter ação parácrina, endócrina ou autócrina, e seu estímulo é transmitido via receptores de superfície de membrana, responsáveis pela ativação de proteínas reguladoras no citoplasma, gerando respostas através da indução da expressão de genes (Marx, 2004).

O PRP é um produto que promove um forte estímulo para a cicatrização. Foram identificados, pelo menos, sete diferentes fatores de crescimento secretados, ativamente, pelas plaquetas e que atuam na fase inicial da cicatrização. São eles: Três isômeros do fator de crescimento plaquetário (PDGF)-PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\alpha\beta$ -, dois fatores de crescimento transformadores (TGF)- TGF $\beta$ 1 e TGF $\beta$ 2- o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento epitelial (EGF) (Green, Klink, 1998; Freymiller, Aghaloo, 2004; Marx, 2004).

Os TGF ativam os fibroblastos, conduzindo à formação de colágeno. O resultado é a deposição de colágeno e a cicatrização da ferida. Os PDGF, associados ou não com os TGF, aumentam a vascularização tissular, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam a produção de tecido de granulação e melhoram a osteogênese (Knox et al, 1986; Liu et al, 2002).

---

O VEGF estimula a angiogênese, a mitogênese e a permeabilidade vascular. O EGF induz o crescimento de tecido epitelial e promove também a angiogênese. Estas substâncias tornam a cicatrização mais rápida e eficiente, favorecendo a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilagosos ou adiposos.

A maior integração do tecido adiposo, associada ao PRP, nesse trabalho, provavelmente ocorreu em virtude da ação desses fatores de crescimento presentes no plasma. Isto proporcionou um maior número de adipócitos íntegros, bem como, de vasos sanguíneos e menor índice de fibrose e necrose, em relação ao grupo Controle.

No que se refere à metodologia utilizada para análise dos resultados, procurou-se fugir de interpretações subjetivas e descrições apenas histopatológicas.

Em virtude da diversidade de comportamento do transplante de tecido adiposo, qualquer método que não fosse quantificável, de forma segura e constante, poderia ser passível de interferência na interpretação de dados, por tendência prévia do autor.

O uso clínico do PRP tem sido reportado na literatura, com maior prevalência, para as feridas crônicas, na cirurgia craniofacial, na ortopedia e também na neurocirurgia. Coletivamente, esses estudos sugerem uma forte evidência para o uso terapêutico do PRP. No entanto, muitos relatos são anedóticos e poucos incluem controles para observar o real papel dos fatores de crescimento presentes no PRP. (Marx, 2001; Rigotti et al, 2009)

A falta de padronização na obtenção do PRP soma-se a este fato, dificultando a comparação dos diferentes estudos realizados.

O intuito do trabalho desenvolvido foi o de estabelecer o papel do PRP na integração do enxerto de gordura, comparando-o ao controle, para que não houvesse dúvida ou metodologia inadequada que pudesse conduzir a um resultado dúbio.

Os resultados obtidos nessa pesquisa encontram respaldo na literatura médica, apesar de alguns trabalhos não evidenciarem um efeito benéfico do PRP na

---

integração dos enxertos, sejam eles de tecido adiposo, ósseo ou de pele (Blanton et al, 2009).

Essa controvérsia é atribuída, em grande parte, a técnicas inadequadas de obtenção do PRP autólogo.

Em 2009, Por YC et al publicaram estudo experimental em ratos. A eficácia do PRP em enxertos de gordura foi avaliada, não ficando evidente a diferença estatística entre o grupo PRP e Controle. A discussão, em relação aos resultados obtidos por esses autores, gira em torno de uma metodologia inadequada. Eles utilizaram PRP mixado com tecido lipoaspirado. No entanto, a literatura evidencia uma ação mais efetiva, quando o PRP é utilizado na face externa do tecido a ser enxertado, o que estimularia uma angiogênese das áreas receptoras (Karaçal et al, 2007). Um outro ponto de controvérsia, com relação ao artigo é o que diz respeito à não utilização do gluconato de cálcio e da trombina para ativação dos fatores de crescimento, presentes no PRP.

Everts et al, em 2007, publicaram um artigo de revisão sobre o uso do gel de PRP e suas implicações no processo de cicatrização. Concluíram que o PRP (gel) é capaz de promover um incremento no processo fisiológico cicatricial, além de possuir propriedades antimicrobianas que previnem e melhoram os quadros infecciosos.

O autor ressalta a importância da padronização metodológica para obtenção do PRP, a fim de evitar dados conflitantes sobre o real benefício do gel de PRP (Everts et al, 2007).

Yi et al, em 2007, avaliaram o efeito da terapia gênica com VEGF em enxertos de gordura em ratos.

Concluíram que os animais que foram submetidos ao enxerto de gordura, associado ao fator de crescimento VEGF, apresentaram uma maior viabilidade dos adipócitos e um menor índice de fibrose e necrose, em comparação com o grupo Controle, que recebeu apenas soro fisiológico, associado ao enxerto (Yi et al, 2007).

---

Blanton et al, em 2009, demonstraram em um estudo experimental em porcos, que o tratamento tópico de feridas com PRP associado às células mesenquimais (*stem cells*), promovia um aumento do número de vasos sanguíneos, uma cicatrização mais rápida e de qualidade estética superior.

Estudos clínicos também observaram um efeito benéfico do PRP em retalhos cutâneos, feridas crônicas e nas cirurgias estéticas .

Man et al, em 2001, avaliaram o uso do PRP nas cirurgias cosméticas faciais e de mama e observaram um índice menor de dor e edema pós-operatório, menor tempo cirúrgico e menor necessidade do uso de drenos.

Azzena et al, 2008 descreveram o uso do gel de PRP como base (*scaffold*) para a manutenção da integridade e viabilidade dos adipócitos, abrindo uma grande vertente de estudo relacionada à engenharia de tecidos.

Ganio et al, em 1993, avaliaram 171 pacientes portadores de feridas crônicas com mais de 6 anos de evolução, em média, tratados com PDGF. Verificaram 100% de epitelização, com uma média de 10 semanas de tratamento.

Uebel et al, em 2006, utilizaram o PRP (gel) para o transplante capilar e concluíram que houve um aumento na densidade folicular de 15,1% na área que recebeu os fatores de crescimento, juntamente com os enxertos em comparação com o grupo Controle, nos quais os enxertos haviam sido conservados com Soro fisiológico a 0,9%.

O futuro do enxerto autólogo de gordura estará pautado pelas pesquisas que envolvem as células tronco ("*Stem-cells*"), especificamente as células adiposas estromais que se encontram no tecido adiposo maduro. Essas células precursoras são mais resilientes, tornando-se resistentes ao trauma e à isquemia, quando comparada ao adipócito maduro. Além disso, têm a capacidade de se diferenciar. O desenvolvimento de tecnologia para expansão de clones celulares, a partir das células adiposas estromais, proverá material de preenchimento para pacientes que não dispõem de tecido adiposo suficiente. Outras linhas de pesquisa que devem ser aprimoradas estão relacionadas ao uso dos fatores de crescimento presentes no

---

plasma, associados às células mesenquimais, à manipulação hormonal e ao transplante de pré-adipócitos.

Essas técnicas de culturas celulares e engenharia de tecidos ainda necessitam de comprovação e aperfeiçoamento científico para que tenham aplicabilidade na prática clínica (Entenmann, Hauner, 1996).

O estudo que foi apresentado nesse trabalho pode servir como uma forma de padronização do uso do plasma rico em plaquetas associado ao enxerto de gordura, uma vez que estabeleceu, de maneira comparativa, o benefício dos fatores de crescimento na integração do adipócito.

Os resultados obtidos em modelo experimental servem de estímulo para realização de pesquisa em seres humanos.

A técnica é relativamente simples, tem baixo custo e pode ser adicionada à prática clínica dos profissionais que lidam com o enxerto de gordura.

Acrescenta-se mais uma alternativa terapêutica para minimizar o grande desafio que é a redução nos índices de absorção, em longo prazo, dos enxertos autólogos de tecido adiposo.

---

---

CONCLUSÃO

---

## **6. CONCLUSÃO**

A utilização do plasma rico em plaquetas em enxertos autólogos de tecido adiposo, em coelhos, observados por 6 meses, é capaz de promover uma menor taxa de absorção e uma maior integração do tecido transplantado.

---

---

ANEXOS

---



## 7. ANEXOS

### RELATÓRIO ESTATÍSTICO

#### (1) - Descrição e comparação entre os dois momentos de observação

(Pré e pós procedimento) para as variáveis: peso dos animais e dos enxertos.

#### PRP (orelha direita - OD)

#### Controle (orelha esquerda – OE)

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Peso_Animal_Pré	30	2501,72	379,96	1800,00	3000,00	< 0,001
Peso_Animal_Pós	30	3072,41	547,66	2000,00	4100,00	
Peso_Enx_Pre_OE	30	0,80	0,00	0,80	0,80	< 0,001
Peso_Enx_Pos_OE	30	0,42	0,20	0,20	0,90	
Peso_Enx_Pre_OD	30	0,80	0,00	0,80	0,80	0,194
Peso_Enx_Pos_OD	30	0,74	0,21	0,40	1,20	

#### (2) Descrição e comparação das variáveis: peso dos enxertos, vasos, fibrose, adipócitos íntegros e necrose dos grupos PRP (OD) e Controle (OE).

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Peso_Enx_Pos_OE	30	0,42	0,20	0,20	0,90	< 0,001
Peso_Enx_Pos_OD	30	0,74	0,21	0,40	1,20	
_Vasos_OD	30	7,67	1,75	4,00	11,00	< 0,001
Vasos_OE	30	3,90	1,45	1,00	7,00	
Tec_conjuntivo_fibroso_OD	30	110,93	93,22	15,00	412,00	< 0,001
_Tec_conjuntivo_fibroso_OE	30	187,70	114,14	31,00	401,00	
_Tec_Adiposo_OD	30	559,90	115,24	364,00	779,00	< 0,001
_Tec_Adiposo_OE	30	441,13	160,19	20,00	694,00	
_Necrose_Hemorragia_OD	30	14,17	22,07	0,00	103,00	< 0,001
_Necrose_Hemorragia_OE	30	36,57	43,34	0,00	230,00	

#### (2) Descrição e comparação entre PRP (OD) e Controle (OE) para as variáveis microscópicas: vasos, fibrose, adipócitos e necrose. Foram avaliados 10 campos aleatórios por lâmina.

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Vasos_OD_01	30	1,41	0,87	0,00	2,90	0,007
Vasos_OE_01	30	0,71	0,81	0,00	2,22	
Vasos_OD_02	30	1,40	1,49	0,00	5,77	0,021
Vasos_OE_02	30	0,68	0,77	0,00	1,96	
Vasos_OD_03	30	1,38	1,09	0,00	4,00	< 0,001
Vasos_OE_03	30	0,27	0,56	0,00	1,61	

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Vasos_OD_04	30	1,03	1,17	0,00	3,51	0,179
Vasos_OE_04	30	0,58	0,85	0,00	2,13	
Vasos_OD_05	30	0,98	0,83	0,00	2,99	0,399
Vasos_OE_05	30	0,77	0,95	0,00	3,03	
Vasos_OD_06	30	1,04	1,02	0,00	2,94	0,021
Vasos_OE_06	30	0,60	0,76	0,00	1,96	
Vasos_OD_07	30	1,17	0,87	0,00	2,86	0,016
Vasos_OE_07	30	0,61	0,90	0,00	2,90	
Vasos_OD_08	30	1,10	0,93	0,00	2,63	0,004
Vasos_OE_08	30	0,36	0,69	0,00	2,41	
Vasos_OD_09	30	1,30	1,45	0,00	6,02	0,011
Vasos_OE_09	30	0,56	0,85	0,00	2,63	
Vasos_OD_10	30	0,58	0,74	0,00	2,08	0,224
Vasos_OE_10	30	0,76	0,90	0,00	3,33	

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
T_c_fibr_OD_01	30	13,28	12,16	0,00	44,32	0,001
T_c_fibr_OE_01	30	24,80	22,69	0,00	97,78	
T_c_fibr_OD_02	30	14,70	13,68	0,00	47,37	< 0,001
T_c_fibr_OE_02	30	26,74	22,16	0,00	98,04	
T_c_fibr_OD_03	30	14,02	10,35	0,00	36,46	0,001
T_c_fibr_OE_03	30	28,62	23,81	0,00	100,00	
T_c_fibr_OD_04	30	16,59	14,49	0,00	46,03	< 0,001
T_c_fibr_OE_04	30	31,20	22,87	4,71	80,00	
T_c_fibr_OD_05	30	18,00	17,03	0,00	57,14	< 0,001
T_c_fibr_OE_05	30	32,79	21,83	0,00	75,47	
T_c_fibr_OD_06	30	16,21	14,98	0,00	48,39	0,002
T_c_fibr_OE_06	30	28,65	26,17	0,00	100,00	
T_c_fibr_OD_07	30	17,35	17,17	0,00	54,84	< 0,001
T_c_fibr_OE_07	30	35,17	24,27	0,00	97,44	
T_c_fibr_OD_08	30	19,22	15,81	0,00	47,67	< 0,001
T_c_fibr_OE_08	30	30,66	21,08	7,58	100,00	
T_c_fibr_OD_09	30	13,53	14,29	0,00	57,47	< 0,001
T_c_fibr_OE_09	30	27,96	22,53	0,00	87,50	
T_c_fibr_OD_10	30	15,08	15,84	0,00	60,00	0,002
T_c_fibr_OE_10	30	27,22	25,33	0,00	96,67	

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
T_adip_OD_01	30	83,20	14,22	46,59	100,00	0,001
T_adip_OE_01	30	69,96	23,72	0,00	100,00	
T_adip_OD_02	30	82,36	14,00	42,11	100,00	< 0,001
T_adip_OE_02	30	66,78	23,52	0,00	100,00	
T_adip_OD_03	30	81,13	13,30	39,58	100,00	0,002
T_adip_OE_03	30	64,76	26,71	0,00	100,00	

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
T_adip_OD_04	30	79,64	17,05	28,57	100,00	< 0,001
T_adip_OE_04	30	63,09	24,37	17,14	93,98	
T_adip_OD_05	30	79,22	17,22	35,71	100,00	< 0,001
T_adip_OE_05	30	60,74	21,99	18,87	100,00	
T_adip_OD_06	30	80,89	16,02	44,90	100,00	0,001
T_adip_OE_06	30	65,41	27,99	0,00	100,00	
T_adip_OD_07	30	79,28	18,42	43,04	100,00	< 0,001
T_adip_OE_07	30	59,18	24,93	0,00	100,00	
T_adip_OD_08	30	77,81	16,19	50,00	100,00	< 0,001
T_adip_OE_08	30	65,18	22,44	0,00	90,36	
T_adip_OD_09	30	84,10	15,16	37,93	100,00	< 0,001
T_adip_OE_09	30	66,08	24,10	7,14	100,00	
T_adip_OD_10	30	84,17	15,88	40,00	100,00	< 0,001
T_adip_OE_10	30	68,90	25,97	0,00	100,00	

Par de Variáveis	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Significância (p)
Necr_Hem_OD_01	30	2,11	5,38	0,00	22,22	0,102
Necr_Hem_OE_01	30	4,53	7,23	0,00	22,89	
Necr_Hem_OD_02	30	1,54	2,88	0,00	10,53	0,003
Necr_Hem_OE_02	30	5,79	7,68	0,00	32,35	
Necr_Hem_OD_03	30	3,48	6,32	0,00	22,92	0,001
Necr_Hem_OE_03	30	6,35	7,98	0,00	30,91	
Necr_Hem_OD_04	30	2,73	5,24	0,00	25,40	0,040
Necr_Hem_OE_04	30	5,13	6,32	0,00	24,69	
Necr_Hem_OD_05	30	1,80	3,88	0,00	19,57	0,008
Necr_Hem_OE_05	30	5,71	8,73	0,00	34,88	
Necr_Hem_OD_06	30	1,86	5,13	0,00	21,43	0,040
Necr_Hem_OE_06	30	5,35	6,81	0,00	23,46	
Necr_Hem_OD_07	30	2,20	3,74	0,00	12,50	0,005
Necr_Hem_OE_07	30	5,04	5,06	0,00	15,52	
Necr_Hem_OD_08	30	1,87	6,51	0,00	34,15	0,007
Necr_Hem_OE_08	30	3,80	6,09	0,00	28,74	
Necr_Hem_OD_09	30	1,06	2,54	0,00	12,20	0,004
Necr_Hem_OE_09	30	5,39	8,22	0,00	33,75	
Necr_Hem_OD_10	30	0,19	1,02	0,00	5,56	0,004
Necr_Hem_OE_10	30	3,11	5,83	0,00	23,60	

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons. Report on autologous fat transplantation by the ASPRS ad hoc committee on new procedures. Chicago: American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons; 1987. 174p.

Azzena B, Mazzoleni F, Abatangelo G, Zavan B, Vindigni V. Autologous platelet-rich plasma as an adipocyte in vivo delivery system: case report. *Aesthetic Plast Surg.* 2008 Jan;32(1):155-8; discussion 159-61.

Baran CN, Celebioglu S, Sensoz O, Ulusoy G, Civelek B, Ortak T. The behavior of fat grafts in recipient areas with enhanced vascularity. *Plast Reconstr Surg.* 2002; 109:1646-51.

Blanton MW, Hadad I, Johnstone BH, Mund JA, Rogers PI, Eppley BL, March KL. Adipose stromal cells and platelet-rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Feb;123(2 Suppl):56S-64S.

Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg.* 2002;18:27-33.

Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83:368-81.

Carpaneda CA, Ribeiro MT. Study of the histologic alterations and viability of the adipose graft in humans. *Aesthetic Plast Surg.* 1993; 17:43-7.

Chiu DW, Edgerton BW. Repair and grafting of dermis, fat and fascia. In: McCarthy JG, editor. *Plastic surgery: general principles.* Philadelphia: WB Saunders; 1990. v.1, p 515-22.

Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 118(3 Suppl):108S-120S.

Curi M, Singer MJ, Iaconelli LM, Naccache FA, Alonso N, Vianna MR. Autologous fat transplantation in rats. *Rev Paul Med.* 1991; 109:24-6.

Efeoglu C, Akçay YD, Ertürk S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:1403-7.

Ellenbogen R. Free autogenous pearl fat grafts in the face--a preliminary report of a rediscovered technique. *Ann Plast Surg.* 1986; 16:179-94.

---

Entenmann G, Hauner H. Relationship between replication and differentiation in cultured human adipocyte precursor cells. *Am J Physiol.* 1996; 270:C1011-6.

Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2004; 114:1502-8.

Everts PA, Overdevest EP, Jakimowicz JJ, Oosterbos CJ, Schönberger JP, Knape JT, et al. The use of autologous platelet-leukocyte gels to enhance the healing process in surgery, a review. *Surg Endosc.* 2007; 21:2063-8.

Fischer A, Fischer GM. Revised techniques for cellulites fat: reduction in riding breeches deformity. *Bull Int Acas Cosmet Surg.* 1977; 2:40-6.

Fraga MF, Helene A Jr, Nakamura F, Lellis RF, Kikuchi W, Esteban D. Comparative study of the integration and viability of autonomised and nonautonomised autologous fat tissue grafts--experimental model in rabbits. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008; 61:1044-8.

Freymler EG, Aghaloo TL. Platelet-rich plasma: ready or not? *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:484-8.

Ganio C, Tenewitz FE, Wilson RC, Moyles BG. The treatment of chronic nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. *J Foot Ankle Surg.* 1993; 32:263-8.

Ghali S, Butler PE, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular delay revisited. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 119:1735-44.

Golcman R, Golcman B, Camargo CP. Fat transplantation and facial contour. *Am J Cosmetic Surg.* 1998; 15:93-6.

Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101:1161-2.

Green H, Kehinde O. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell.* 1975; 5:19-27.

Guerrerosantos J. The fate of intramuscularly injected fat autografts: an experimental study. *Aesthetic Plast Surg.* 2005; 29:62.

Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS.* 1988; 96:379-94.

---

Hanke CW, Bernstein G, Bullock S. Safety of tumescent liposuction in 15,336 patients. National survey results. *Dermatol Surg.* 1995; 21:459-62.

Har-Shai Y, Lindenbaum ES, Gamliel-Lazarovich A, Beach D, Hirshowitz B. An integrated approach for increasing the survival of autologous fat grafts in the treatment of contour defects. *Plast Reconstr Surg.* 1999; 104:945-54.

Hausberger FX. Quantitative studies on the development of autotransplants of immature adipose tissue of rats. *Anat Rec.* 1955; 122:507-15.

Haynesworth SE, Kadiyala S, Liang LN, Thomas T, Bruder SP. Chemotactic and mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet rich plasma suggests a mechanism for enhancement of bone repair. In: 48<sup>th</sup> Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. Dallas, TX, 2002.

Hudson DA, Lambert EV, Bloch CE. Site selection for fat autotransplantation: some observations. *Aesthetic Plast Surg.* 1990; 14:195-197.

Illouz YG. Body contouring by lipolysis: a 5-year experience with over 3000 cases. *Plast Reconstr Surg.* 1983; 72:591-7.

Illouz YG. De l'utilisation de la graisse aspirée pour combler les defects cutanés. *Rev Chir Esth Lang Fr.* 1985; 10:13-20.

Illouz YG. The fat cell "graft": a new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg.* 1986; 78:122-3.

Karaçal N, Cobanoğlu U, Ambarcioğlu O, Kutlu N. The effect of fibrin glue on fat graft survival. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2007; 60:300-3.

Karacaoglu E, Kizilkaya E, Cermik H, Zienowicz R. The role of recipient sites in fat graft survival: experimental study. *Ann Plast Surg.* 2005; 55:63-8.

Kaufman MR, Bradley JP, Dickinson B, Heller JB, Wasson K, O'Hara C, et al. Autologous fat transfer national consensus survey: trends in techniques for harvest, preparation, and application, and perception of short- and long-term results. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 119:323-31.

Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol.* 2004;36:28-35.

Klein JA. The tumescent technique for liposuction surgery. *Am J Cosmet Surg* 1987;4:263-7.

Knox P, Crooks S, Rimmer CS. Role of fibronectin in the migration of fibroblasts into plasma clots. *J Cell Biol.* 1986; 102:2318- 23.

---

Lillis PJ. Liposuction surgery under local anesthesia: limited blood loss and minimal lidocaine absorption. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988; 14:1145-8.

Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA, et al. Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1beta synthesis. *J Cell Biol*. 2001;154:485-90.

Liu Y, Kalén A, Risto O, Wahistrom O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. *Wound Repair Regen*. 2002; 10:336-40.

Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 107:229-37; discussion 238-9.

Marques AF. Transplante livre de tecido adiposo autólogo em coelhos: análise quantitativa da sobrevida e morfometria. Tese [Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo; 1993.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and What is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.

Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004; 62:489-96.

May H. Transplantation and regeneration of tissue. *Pa Med J* 1941; 45:130.

Nguyen A, Pasyk KA, Bouvier TN, Hassett CA, Argenta LC. Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg*. 1990; 85:378-86, discussion 387-389.

Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts. *Laryngoscope*. 2000; 110:1333-8.

Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts. *Plast Reconstr Surg*. 1950; 5:217-30.

Por YC, Yeow VK, Louri N, Lim TK, Kee I, Song IC. Platelet-rich plasma has no effect on increasing free fat graft survival in the nude mouse. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 62:1030-4.

Pu LL, Cui X, Fink BF, Cibull ML, Gao D. The viability of fatty tissues within adipose aspirates after conventional liposuction: a comprehensive study. *Ann Plast Surg*. 2005; 54:288-92.



Rigotti G, Marchi A, Sbarbati A. Adipose-derived mesenchymal stem cells: past, present, and future. *Aesthetic Plast Surg*. 2009 May;33(3):271-3.

Schorcher F. Fettgewebsverpflanzung bei zu kleiner. *Brust Munchen Med Wochenschr* 1957; 99:489.

Smith P, Adams WP, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, et al. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117:1836-44.

Sugihara H, Yonemitsu N, Miyabara S, Yun K. Primary cultures of unilocular fat cells: characteristics of growth in vitro and changes in differentiation properties. *Differentiation*. 1986; 31:42-9.

Sugihara H, Yonemitsu N, Miyabara S, Toda S. Proliferation of unilocular fat cells in the primary culture. *J Lipid Res*. 1987; 28:1038-45.

Sugihara H, Funatsumaru S, Yonemitsu N, Miyabara S, Toda S, Hikichi Y. A simple culture method of fat cells from mature fat tissue fragments. *J Lipid Res*. 1989; 30:1987-95

Tavassoli M. In vivo development of adipose tissue following implantation of lipiddepleted cultured adipocyte. *Exp Cell Res*. 1982; 137:55-62.

Tholpady SS, Aojanepong C, Llull R, Jeong JH, Mason AC, Futrell JW, et al. The cellular plasticity of human adipocytes. *Ann Plast Surg*. 2005; 54:651-6.

Uebel CO, da Silva JB, Cantarelli D, Martins P. The role of platelet plasma growth factors in male pattern baldness surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 118:1458-66; discussion 1467.

Vendramin FS, Franco D, Nogueira CM, Pereira MS, Franco TR. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. *Rev. Col. Bras. Cir*. 2006;33: 24-28.

Von Heimburg D, Lemperle G, Dippe B, Kruger S. Free transplantation of fat autografts expanded by tissue expanders in rats. *Br J Plast Surg*. 1994; 47:470-6.

Yi CG, Xia W, Zhang LX, Zhen Y, Shu MG, Han Y, Guo SZ. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007;60:272-8.

Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Zimmermann R, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clin Oral Implants Res*. 2004; 15:187-93.

---

## RESUMO

O plasma rico em plaquetas (PRP) vem sendo estudado como forma de melhorar a integração de enxertos. O objetivo deste trabalho é o de avaliar a integração do enxerto autólogo de tecido adiposo enriquecido com plasma rico em plaquetas, em coelhos. Após aprovação do comitê de ética em pesquisa animal da Santa Casa de São Paulo, 30 coelhos da raça Nova Zelândia foram estudados. Realizaram-se duas formas de enxerto de gordura (com e sem PRP) em cada animal. Verificaram-se diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos analisados (PRP e Controle), tanto nos aspectos macroscópicos, quanto nos microscópicos. Após um período de observação de 6 meses, a média de peso dos enxertos foi de 0,74g e 0,42g, respectivamente, para o grupo PRP e Controle. Ambos os grupos receberam um fragmento de enxerto de 0,8g. Houve um predomínio do número de adipócitos íntegros, bem como o de vasos sanguíneos no grupo PRP, em comparação com o grupo Controle. Observou-se também, um maior grau de fibrose e necrose no grupo Controle, quando comparado ao grupo PRP. Todas as diferenças apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ). Diferentes mecanismos são responsáveis pela perda de volume dos enxertos de gordura. A escassez de artigos que comprovam a eficácia do uso do PRP associado ao enxerto de gordura incentivou o presente estudo. O PRP é uma substância que promove um forte estímulo para a cicatrização. O seu uso clínico tem sido reportado na literatura médica, embora alguns estudos não evidenciem um benefício na integração dos enxertos. Essa controvérsia é atribuída, em grande parte, à forma de obtenção do PRP, algumas vezes considerada inadequada. Este estudo demonstra uma padronização na forma de se preparar e utilizar o PRP associado ao enxerto de gordura. A utilização do plasma rico em plaquetas em enxertos autólogos de tecido adiposo, em coelhos, observados por 6 meses, é capaz de promover uma menor taxa de absorção e possibilita uma maior integração do tecido transplantado.

**Palavras-chave:** 1. Plasma rico em plaquetas; 2. Tecido adiposo; 3. Transplante autólogo; 4. Modelos animais

---

## ABSTRACT

The platelet-rich plasma (PRP) has been studied as a form of improving the integration of grafts. The objective of this study was to evaluate the integration of the autologous fat graft with addition of platelet-rich plasma in rabbits. With the approval of Santa Casa of São Paulo Animal Research Committee, thirty New Zealand male rabbits were studied. The study was based on two distinct forms of transplantation of the autologous adipose tissue: with and without the addition of PRP. Statistically significant differences were found between the two analyzed groups (PRP and Control) both in macroscopic and microscopic aspects. After a six-month observation period, the average weight of the grafts was 0.74g and 0.42g respectively for the PRP and the Control groups, having both groups received a fragment of 0.8g. There was a predominance in the number of adipocytes as well as the number of blood vessels in the PRP versus the Control group. There was a greater number of necrotic areas and fibrosis in the autologous fat graft in the Control group as compared to the PRP; All the differences were statistically significant ( $p < 0.05$ ). Different mechanisms are responsible for the loss of volume of free fat grafts. The scarcity of published articles proving the efficacy of the PRP associated with fat graft motivated this study. The PRP is a substance that promotes a strong stimulus for wound healing. The clinical usage of PRP has been reported in medical literature, however, some studies do not show a beneficial effect of the PRP in the integration of grafts. This controversy is greatly attributed to the fact that the techniques used for obtaining the PRP are still very inadequate. This study may serve as a form of standardization of the usage of the platelet-rich plasma associated to fat graft. The usage of the platelet-rich plasma in autologous grafts of the adipose tissue, in rabbits, observed for 6 months, can promote a lower rate of absorption and greater integration of the transplanted tissue.

**Key words:** 1. Platelet rich plasma; 2. Adipose tissue;  
3. Transplantation, autologous; 4. Models, animal

---

## APÊNDICE



FUNDAÇÃO ARNALDO VIEIRA DE CARVALHO - C.N.P.J.: 62.327.663/0001-72  
Utilidade Pública Federal: Decreto nº 62.088 de 09/01/68 - DOU 11/01/68  
Utilidade Pública Estadual: Lei nº 3.974 de 20/12/83 - DOE 21/12/83  
Utilidade Pública Municipal: Decreto nº 19.725 de 16/05/84 - DOM 24/05/84  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA SANTA CASA DE SÃO PAULO  
Reconhecimento: Decreto Federal nº 62.044 de 04/01/68 - DOU 08/01/68

### COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

#### PARECER

Ilmo (a). Senhor (a)

Murilo F. P. Fraga

Orientador (a) do projeto – Protocolo nº. 152

Prezado (a) Senhor (a):

Informamos que o projeto “**Estudo da viabilidade e integração do enxerto autólogo de gordura com adição do plasma rico em plaquetas. Modelo experimental em coelhos.**”, sob sua orientação, se encontra de acordo com as normas de ética para experimentação animal.

Não foram realizadas avaliações técnicas e/ou orçamentárias.

São Paulo, 29 de Maio de 2007.

Profa. Dra. Antonia Gladys Nasello  
Presidente da CEEA

Rua Dr. Cesário Motta Jr., 61- CEP: 01221-020 - São Paulo - SP.  
Telefones: (011) 223-9922 - Tronco Chave  
(011) 222-8649 - Diretoria da Fundação  
(011) 223-2265 - Diretoria da Faculdade

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)