



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ALEXANDRE RORIZ BLUMENSCHN

**ENXERTOS DE GORDURA ASSOCIADOS A PLASMA RICO
EM PLAQUETAS EM RATAS - ESTUDO EXPERIMENTAL**

**Goiânia
2013**



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS
TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL
DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do Material Bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: Alexandre Roriz Blumenschein

E-mail: ablumenschein@hotmail.com

Seu E-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo empregatício do Autor: Profissional liberal

Agência de Fomento: Não houve Sigla:

País: Brasil

UF:

CNPJ:

Título: ENXERTOS DE GORDURA ASSOCIADOS A PLASMA RICO EM
PLAQUETAS EM RATAS - ESTUDO EXPERIMENTAL

Palavras-Chave: enxerto, gordura, plasma rico em plaqueta,

Título em outra língua: FAT GRAFTS COMBINED WITH PLATELET RICH
PLASMA IN RATS – EXPERIMENTAL STUDY

Palavras-Chave em outra língua: fat, graft, platelet rich plasma

Área de Concentração: Dinâmica saúde-doença

Data Defesa: (25/07/2013)

Programa de Pós-Graduação: Ciências da saúde

Orientador: Ruffo de Freitas Junior

E-mail: ruffojr@terra.com.br

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização? 1 ☒ total ☐ parcial

1 Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

_____ Data: ____ / ____ / ____
Assinatura do autor

ALEXANDRE RORIZ BLUMENSCHIEIN

**ENXERTOS DE GORDURA ASSOCIADOS A PLASMA RICO
EM PLAQUETAS EM RATAS - ESTUDO EXPERIMENTAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde da Universidade Federal de
Goiás para obtenção do Título de
Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ruffo de Freitas
Júnior

**Goiânia
2013**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
UFG**

(anexar no verso da folha I)

I

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: Alexandre Roriz Blumenschein

Orientador: Prof. Dr. Ruffo de Freitas Júnior

Membros:

1. Prof. Dr. Ruffo de Freitas Junior

2. Prof. Dr. Carlos Augusto Carpaneda

3. Prof. Dr. Cícero de Andrade Urban

OU

4. Prof.^a Dr.^a Nilceana Maya Aires Freitas

Data: 25/07/2013

“Dedico este trabalho a todos meus professores pelos seus ensinamentos, à minha família que sempre me apóia incondicionalmente e a minha futura esposa que é minha companheira, minha mulher, meu amor.”

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que tornaram este trabalho possível:

À Dra. Ekaterina Rivera e todos os funcionários do biotério do Campus II da Universidade Federal de Goiás.

Ao Dr. Rafael Vieira, médico veterinário, que supervisionou o cuidado com os animais.

Ao Prof. Ruy Lino Junior que contribuiu e compartilhou técnica anestésica-cirúrgica dos animais.

Ao Dr. Mario Aprobato e Dr. Enio Chaves e todos os funcionários do biotério de reprodução humana do Hospital das Clínicas da UFG.

Aos funcionários Joyce e Vitorio da Patologia do Hospital das Clínicas da UFG, que me auxiliaram na confecção das lâminas histológicas.

À Dra. Marise Moreira, Dra. Maria Auxiliadora Cysneiros e toda equipe da Patologia do Hospital das Clínicas da UFG, que participaram da análise histológica do material obtido.

Aos médicos e funcionários do Laboratório Atalaia, seção de hematologia, que contribuíram na análise histológica do PRP obtido.

Às colegas Brunella Chinem e Carolina Gonzaga do programa de mastologia do Hospital das Clínicas da UFG, que sempre auxiliaram nas questões administrativas.

À Valdecina, funcionária da PRPPG da Faculdade de Medicina UFG.

Ao Prof. Edésio que auxiliou na análise estatística dos resultados.

À Roseana Neto Pereira, acadêmica de medicina e bolsista de iniciação científica que me auxiliou incondicionalmente em todas as etapas da pesquisa e confecção do trabalho.

Ao Prof. Dr. Ruffo de Freitas Junior, meu orientador, que sempre me guiou com serenidade e eficiência.

À minha família, meu pai Almiro Blumenschein sempre instigando o espírito científico e a ética, minha mãe Marilda Roriz de Paiva Blumenschein sempre apoiando e me passando seu otimismo e alegria contagiantes e minha irmã Danielle Isadora Blumenschein sempre me auxiliando em todas as etapas da pesquisa e da vida.

À minha futura esposa, Andréa Thomazine Tufanin, que além de mulher e companheira, me auxiliou em todas as etapas da pesquisa.

À Deus, por me abençoar com saúde e apoio familiar para concluir as tarefas diárias.

SUMÁRIO

Tabelas, Figuras e Gráficos.....	xviii
Símbolos, Siglas e Abreviaturas.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	5
3. Objetivos.....	10
3.1. Objetivo Geral.....	10
3.2. Objetivos específicos.....	10
4. Metodologia.....	11
4.1. Tipo e local da pesquisa.....	11
4.2. Tamanho amostral.....	11
4.3. Etapas do experimento.....	11
4.3.1. Manejo dos animais	12
4.3.2. Randomização.....	13

4.3.3. Obtenção do Plasma rico em plaquetas.....	13
4.3.4. Procedimento anestésico e cirúrgico/ primeira etapa....	15
4.3.5. Cuidado com animais e procedimento anestésico e cirúrgico/ segunda etapa.....	18
4.4. Definição das variáveis.....	20
4.5. Análise histológica do material enxertado.....	20
4.6. Análise estatística	21
5. Resultados.....	22
6. Discussão.....	29
7. Conclusões.....	36
8. Referências.....	37
9. Anexos.....	44
10. Apêndices.....	56

TABELAS, FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1	Acomodação dos animais no biotério de reprodução humana do HC/UFG.	12
Figura 2	Frações sanguíneas após primeira centrifugação	14
Figura 3	Frações sanguíneas após segunda centrifugação com PRP presente em parte inferior de seringa	15
Figura 4	Dissecção de enxerto em área doadora de região inguinal direita do animal	16
Figura 5	Síntese de área receptora (região craniana) do enxerto	18
Figura 6	Área que recebeu enxerto previamente, identificada e preparada para dissecção.	19
Figura 7	Células gordurosas morfolologicamente integras em enxerto que recebeu PRP. HE 100x.	25
Figura 8	Poucas células gordurosas morfolologicamente integras e grande infiltrado inflamatório em enxerto que não recebeu PRP. HE 40X	27
Figura 9	Volumoso cisto dermoide em enxerto de gordura que recebeu PRP. HE 25X	28
Gráfico 1	Demonstração de porcentagem de células gordurosas morfolologicamente integras segundo escores atribuídos nos dois grupos de análise histológica (escasso e abundante) do GCP e GSP	25
Gráfico 2	Demonstração de porcentagem de áreas de necrose e escores atribuídos nos dois grupos.	26
Gráfico 3	Demonstra porcentagem de áreas de inflamação nos enxertos e escores atribuídos nos dois grupos.	27

Tabela 1	Demonstração dos os valores de escore atribuídos na avaliação histológica do enxerto autólogo de gordura nos grupos com plasma rico em plaquetas (GCP) e sem plasma (GSP).	23
Tabela 2	Demonstração dos valores de escores atribuídos na análise histológica agrupada, segundo divisão dos grupos.	24

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

AV1	Avaliador 1
AV2	Avaliador 2
cm²	Centímetro quadrado
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
GCP	Grupo com plasma
GSP	Grupo sem plasma - controle
g	grama
HC	Hospital das Clínicas
kg	Quilograma (s)
mg	Miligrama(s)
n	Número de indivíduos da amostra
nº	Número
PDGF	<i>Platelet derived growth factor</i>
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
RM	Ressonância magnética
rpm	Rotações por minuto
TGF-β	<i>Transforming growth factor beta</i>
UFG	Universidade Federal de Goiás
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
%	Porcentagem

RESUMO

Enxertos de gordura autóloga têm sido usados há mais de um século para preenchimento de defeitos de tecidos moles. A gordura é considerada um material de preenchimento ideal, devido ao baixo custo de obtenção, abundância no corpo e baixa reação imunogênica e alérgica, por se tratar de material autólogo, tendo amplo uso na cirurgia plástica estética e reparadora. O plasma rico em plaquetas (PRP) consiste em uma fração de plasma sanguíneo com concentração de plaquetas acima do normal, obtida geralmente através de centrifugação do sangue autólogo que separa os componentes celulares de acordo com seu peso, concentrando as plaquetas de forma seletiva. Esta fração sanguínea (PRP) teoricamente melhora a regeneração de tecidos, por conter em grande quantidade citocinas e fatores de crescimento essenciais no processo de regeneração e neovascularização de tecidos. O objetivo deste estudo foi analisar se a associação de plasma rico em plaquetas a enxertos de gordura em ratas melhora a viabilidade destes enxertos. Trata-se de uma pesquisa de delineamento experimental com animais, cego e randomizado. Foram estudados 47 ratas, submetidas à enxerto de gordura autóloga proveniente da região inguinal para a região subcutânea craniana. Vinte e duas ratas foram submetidas a enxerto de gordura autóloga associado a PRP (GCP) e vinte e cinco ratas submetidos à enxerto de gordura sem plasma (GSP). Após 100 dias os animais foram sacrificados e as áreas de enxerto de gordura foram analisadas de forma independente e cega, por duas avaliadoras, de acordo com as seguintes variáveis: viabilidade da gordura enxertada, áreas de necrose, inflamação tecidual e áreas de fibrose, a partir de escores de avaliação histológica de 0 a 4 (ausente à abundante). Na avaliação da viabilidade das células gordurosas no enxerto, o GCP apresentou escore abundante em 63% dos casos e o GSP apresentou escore escasso em 72% destes ($p < 0,05$). O GCP apresentou escores de necrose gordurosa e inflamação tecidual menor quando comparado ao GSP ($p < 0,05$). A presença de fibrose tecidual foi

pouco observada em ambos os grupos. Como achado histológico, observou-se a presença de tumores (cistos dermoides) em três casos do grupo GCP. Conclui-se que o PRP melhora a viabilidade e integração de enxertos de gordura autóloga em ratas, porém novos estudos são necessários para entender completamente esse mecanismo e avaliar a segurança do método para uso em humanos.

PALAVRAS CHAVE: Enxerto, gordura, plasma rico em plaquetas.

ABSTRACT

Autologous fat grafts used for filling soft tissue defects have been used for more than a century. Fat is considered an ideal filler because of its low cost, ease of harvest, abundance in the human body and low immunogenic and allergic reaction due to its autologous nature, being largely used in aesthetic and reconstructive plastic surgery. Platelet rich plasma (PRP) is a plasma fraction, with platelet count above baseline, generally obtained via centrifugation of blood. PRP theoretically promotes tissue regeneration due to fact that it concentrates a greater amount of growth factors essential in the process of tissue regeneration and neovascularization. This paper aims to examine if the association of fat grafts and PRP improves graft viability in female rats, through an experimental, randomized and blinded study, which involved 47 animals. These animals underwent fat graft harvest from their inguinal fat deposits and fat grafting subcutaneously to their cranial region. In 22 animals the fat graft was mixed with PRP and in 25 the fat was grafted by itself. After a 100 day period, the animals were sacrificed and the fat grafts were analyzed using scores from 0 (absent) to 4 (abundant), in optical microscopy by two independent and blinded pathologists, by means of the following variables: fat graft cell viability, fat necrosis, tissue inflammation and fibrosis. Regarding fat graft cell viability, the PRP group scored moderate/abundant in 63% of the cases and the fat graft only group scored absent/slight in 72% of the cases ($p<0.05$). The PRP group presented lower fat necrosis scores and lower tissue inflammation scores when compared to the fat graft only group ($p<0.05$). The presence of tissue fibrosis was rarely observed in both groups. Tumors (dermoid cysts) within the fat grafts were observed in 3 animals in which the grafts were mixed with PRP. It is concluded that PRP improves the viability and integration of fat grafts in rats, but more studies are needed to fully understand the exact mechanisms that lead to this improvement and assess the safety of the method for use in humans.

KEY WORDS: Fat, graft, platelet rich plasma

1 INTRODUÇÃO

Através dos tempos sempre foram buscados meios para esculpir corpos e rejuvenescer faces, utilizando-se principalmente de preenchimento de defeitos corporais com substâncias diversas, que assumissem a forma desejada pelo cirurgião e que satisfizesse o paciente, sem lhe trazer maiores prejuízos à saúde. Enxertos de gordura própria (autóloga) usados para preencher defeitos e esculpir formas, tiveram primeiro relato há mais de cem anos (CZERNY, 1895). Inicialmente a gordura concorreu com outras substâncias não autólogas como a parafina e o silicone, mas logo se tornou a substância de preenchimento mais utilizada devido às suas qualidades como material autólogo (COLEMAN, 1995).

A gordura é considerada um material de preenchimento ideal, devido ao baixo custo de obtenção, abundância no corpo e baixa reação imunogênica e alérgica (COLEMAN, 1995). Enxertos de gordura têm vasto uso na cirurgia plástica, sendo usados em procedimentos diversos, desde reconstrução de mama ou face, a procedimentos estéticos como aumento de região glútea, mamária e rejuvenescimento de face e mãos (COLEMAN, SABOEIRO, 2007).

Um enxerto pode ser definido como um fragmento de tecido que é retirado de seu local de origem (área doadora), sendo completamente devascularizado, e colocado em outro local (área receptora), necessitando que o leito receptor forneça adequada vascularização para que o enxerto sobreviva. Dessa forma, para haver uma boa viabilidade do enxerto empregado são necessários um bom leito receptor do enxerto, que forneça suprimento suficiente

de nutrientes por difusão nos primeiros dias após enxertia, e uma adequada capacidade de vascularização deste enxerto pelos vasos do leito receptor (THORNE, 2007). Diferentemente da pele humana em que existe um alto potencial de vascularização do enxerto pelo leito receptor, e cuja técnica de enxertia é bem conhecida, outros tecidos normalmente menos vascularizados, como o tecido ósseo e o tecido gorduroso, apresentam uma dificuldade maior de nutrição pelo leito receptor, tornando enxertos com estes tecidos menos previsíveis. O enxerto de gordura nem sempre é previsível e tem, em alguns casos, altos índices de reabsorção e de substituição por tecido cicatricial fibroso e cistos de óleo (GUTOWSKY, 2009) principalmente em sua região central (CARPANEDA, 1994). Isto faz com que cirurgiões busquem técnicas para melhorar a viabilidade e qualidade dos enxertos de gordura obtidos (COLEMAN, 2007). O plasma rico em plaquetas (PRP) é utilizado em uma destas técnicas. O PRP vem sendo estudado associado a enxertos nas áreas de odontologia, ortopedia, oftalmologia, cirurgia plástica e em outras situações que requerem um estímulo à reparação tecidual (CERVELLI *et al.*, 2009; GENTILLE *et al.*, 2010; TAKIKAWA *et al.*, 2011; SETTA *et al.*, 2011).

O plasma rico em plaquetas consiste em uma fração de plasma sanguíneo com concentração de plaquetas acima do normal. Esta fração é geralmente obtida através centrifugação do sangue, que ao separar os componentes celulares de acordo com seu peso, concentra as plaquetas de forma seletiva (MARX, 2004). As plaquetas são fragmentos de megacariócitos, que tem muitas outras funções além do início da cascata de coagulação sanguínea (LEI *et al.*, 2009). Estas células anucleadas são tidas como fundamentais no processo de reparação tecidual e coagulação após injúria

celular, sendo as células que normalmente dão início às cascatas de coagulação sanguínea e que liberam os primeiros mediadores de reação inflamatória no processo de reparação tecidual. Por este motivo, as plaquetas contêm em seu interior fatores de crescimento importantes na fase inicial da reparação tecidual. Dentre esses fatores podemos destacar o “transforming growth factor beta” (TGF- β), o “platelet derived growth factor” (PDGF) e o “vascular endotelial growth factor” (VEGF), todos importantes na reparação de tecidos lesados por promover aumento de duplicação celular, aumento da produção de colágeno, recrutamento de outras células para o local de injúria, estímulo a neoangiogenese e indução de diferenciação celular. Além de fatores de crescimento o PRP possui proteínas importantes na adesão celular, na osteocondução e na migração de células epiteliais, como a fibrina, fibronectina e vitronectina (ANITUA *et al.*, 2004; MARX, 2004; FREYMILLER, 2004).

No PRP as plaquetas são obtidas em estado anticoagulado, portanto inerte, e necessitam ativação (geralmente feita por cloreto de cálcio e/ou trombina) para que ocorra liberação dos fatores de crescimento. Uma vez ativadas, os grânulos alfa situados do interior das plaquetas, se unem à membrana celular e liberam fatores de crescimento, o que geralmente dá início à cascata de coagulação no processo de reparação tecidual. Cerca de 95% dos fatores de crescimento armazenados são liberados na primeira hora após ativação plaquetária, e nos sete dias subsequentes em que as plaquetas continuam viáveis são sintetizados e liberados fatores de crescimento adicionais. Neste processo macrófagos são atraídos ao local de injúria celular por quimiotaxia e neoangiogenese, sendo as células que dão continuidade ao processo de reparação tecidual na fase inflamatória da cicatrização, com a

síntese e liberação de novas substâncias (PALLUA *et al.*, 2010; CERVELLI *et al.*, 2009).

O fato de plaquetas ativadas secretarem fatores de crescimento e citocinas faz com que elas sejam aplicáveis em situações clínicas que requerem um estímulo à reparação tecidual e formação de novos vasos sanguíneos, ou neoangiogenese (ANITUA *et al.*, 2004). Sendo o PRP um concentrado de plaquetas, com potencial de liberar uma grande quantidade de fatores em um determinado local, em teoria sua aplicação potencializa a regeneração de tecidos lesados e estimula a neovascularização (SOMMELING *et al.*, 2013).

A associação de enxertos de gordura e PRP começou a ser estudada nos últimos anos (POR *et al.*, 2009). Esta associação pode ser justificada pela busca do PRP como técnica para melhorar a viabilidade e qualidade dos enxertos de gordura obtidos, principalmente através do estímulo a neovascularização dos enxertos (CERVELLI *et al.*, 2009). Outros estudos foram desenvolvidos, porém com resultados conflitantes e sem padronização de metodologia, ou com técnica muito elaborada para a obtenção de PRP (NAKAMURA *et al.*, 2010; PIRES *et al.*, 2010; RODRÍGUEZ-FLORES *et al.*, 2010; OH *et al.*, 2011) .

Diante disso, neste presente estudo foi avaliada a associação de PRP com enxertos de gordura em ratas, visando desenvolver técnica para obtenção de enxertos mais duradouros, com menores índices de necrose e com maior vascularização, através de metodologia de fácil execução, que poderá posteriormente ser reproduzida em humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A gordura autóloga tem sido usada como material de preenchimento por cirurgiões há muitos anos. Em um dos primeiros relatos desta técnica, Czerny (1895) obteve a gordura através da excisão direta (ressecou um lipoma no dorso da paciente) e transplantou este tecido em uma das mamas em local onde se verificava um defeito de preenchimento. Logo se observou que esse transplante direto de gordura, além de deixar uma sequela (cicatriz) na área doadora, apresentava resultados pobres na área receptora devido à grande reabsorção da gordura transplantada.

Com o desenvolvimento da técnica de lipoaspiração (ILLOUZ, 1980), a gordura pôde ser obtida por meio de mínimas incisões (puntiformes) na área doadora e enxertada pelas mesmas cânulas de aspiração em outras áreas. Dessa forma, essa técnica permite tirar a gordura em excesso de uma região e transplantá-la para outra área deficiente em preenchimento, com mínima sequela para área doadora e receptora. A técnica de coleta de enxerto de gordura através de lipoaspiração foi aprimorada posteriormente por Klein (1987) com o desenvolvimento da técnica tumescente, contudo não foram resolvidos os problemas de reabsorção da gordura enxertada e necrose parcial das células do enxerto. Esta necrose geralmente evolui com formação de cistos oleosos, fibrose e calcificações, que podem no caso de enxerto de gordura nas mamas, dificultar o rastreamento do câncer de mama (ASPRS, 1987; GUTOWSKY, 2009). A reabsorção do material enxertado leva alguns autores a superestimar o

volume a ser enxertado, ou seja, para se corrigir um defeito de um determinado volume, deve ser enxertado o dobro ou triplo deste volume, esperando uma reabsorção natural do enxerto (DELAY *et al.*, 2009). Essa problemática dificultou o uso de gordura como material de preenchimento devido à escassez de resultados, levando pesquisadores a procurar técnicas ou substâncias que melhorassem a viabilidade dos enxertos.

Coleman (1995) deu início a uma série de trabalhos que mostravam técnica diferente de coleta, preparação e enxertia de gordura, em que houvesse a menor lesão possível às células gordurosas e que colocava o enxerto em maior contato com os vasos do leito receptor. Atualmente esta técnica é a mais utilizada para a realização de enxertos de gordura, segundo revisão de Blumenschein *et al.* (2013). Esta técnica baseia-se nos seguintes princípios: a gordura deve ser coletada e purificada de maneira a causar o menor trauma possível ao material autólogo, sendo coletada através de lipoaspiração a baixa pressão, geralmente com seringas ou aparelhos à baixa pressão, evitando-se o contato prolongado da gordura com o ar, e purificada através de centrifugação a baixa rotação ou decantação. Os enxertos de gordura purificada são então realizados através de cânulas menores, e em pequenas parcelas ou quantias, de forma que o material enxertado fique em máximo contato com o tecido receptor e seus vasos, para sua adequada nutrição por difusão nos primeiros dias após o enxerto (CARPANEDA, 2004; COLEMAN, *et al.*, 2007).

Apesar de trabalhos subsequentes mostrarem bons resultados, poucos conseguem quantificar o percentual de gordura enxertada que não sofre reabsorção, degeneração ou necrose. Alguns autores preconizam hipercorreção, prevendo certa reabsorção (DELAY *et al.*, 2009, SINNA *et al.*, 2010). Del Vecchio

e Bucky (2011) avaliaram a quantidade de enxerto absorvida por meio da comparação entre ressonâncias magnéticas das mamas pré e pós-enxertos, mostrando que esta pode ser uma boa ferramenta para avaliar a absorção de enxertos de gordura. Por este motivo, novas técnicas que possibilitam a obtenção de enxertos com maior viabilidade e que mantêm seu volume inicial, são buscadas.

Concentrados de plaquetas são usados em transfusões em casos de trombocitopenia, geralmente causada por aplasia medular, leucemia aguda ou perdas de sangue extensas, sendo o preparado de plaquetas usado na transfusão inicialmente denominado como PRP (KEYHAN *et al.*, 2013). O uso de derivados sanguíneos para selar feridas e estimular a cicatrização tiveram início há quarenta anos com o desenvolvimento de colas de fibrina, que são concentrados de fibrinogênio produzidos pela polimerização induzida por trombina e cálcio (MATRAS, 1970). Posteriormente o uso de concentrados de plaquetas (PRP), obtidos geralmente por centrifugação do sangue autólogo, com intuito de estimular a cicatrização e ter as mesmas propriedades selantes das colas de fibrina, foram estudadas (WHITMAN *et al.*, 1997).

Logo o plasma rico em plaquetas começou a ser amplamente estudado, principalmente por cirurgiões dentistas e ortopedistas, devido às propriedades de adesão e osteocondução da fibrina. Estes estudos mostraram que a melhora na integração de enxertos ósseos com o uso de PRP se devia também a liberação de fatores de crescimento e citocinas pelas plaquetas ativadas, em especial o “platelet derived growth factor” (PDGF), “vascular endothelial growth factor” (VEGF) e “transforming growth factor” (TGF- β) (ANITUA, 1999; ANITUA *et al.*, 2004) que ajudam na neovascularização dos enxertos pelo leito receptor.

São descritos vários métodos de obtenção de PRP, com protocolos e concentrações diferentes, mas a maioria das técnicas tem em comum alguns pontos. Para se produzir PRP, sangue autólogo é obtido através de punção de veia periférica com anticoagulante (geralmente citrato de sódio), antes de qualquer procedimento cirúrgico, sendo submetido posteriormente à centrifugação. Geralmente são utilizadas duas fases de centrifugação; um ciclo inicial que separa o sangue em três fases (hemácias, plaquetas-leucócitos e plasma) e outro ciclo que visa concentrar as plaquetas e cujo produto final gera duas fases, plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma pobre em plaquetas (PPP). Este PPP é geralmente usado como cola de fibrina autóloga (SOMMELING *et al.*, 2013; KEYHAN *et al.*, 2013). O concentrado de plaquetas obtido é ativado através da adição de trombina e/ou cloreto de cálcio, momentos antes de ser utilizado no paciente, para que haja liberação dos fatores de crescimento pelas plaquetas. Acredita-se que a trombina promova uma liberação mais rápida dos fatores de crescimento e que o cloreto de cálcio uma liberação mais lenta (GENTILLE *et al.*, 2012).

Apesar de existirem alguns pontos em comum na técnica de preparação do PRP em alguns estudos, não há consenso sobre qual é a concentração ideal de PRP a ser utilizada ou sobre qual a melhor metodologia para obtenção do mesmo, existindo vários estudos conflitantes sobre o assunto (MAZZUCCO *et al.*, 2009; MARX, 2004; LEI *et al.*, 2009; KAKUDO *et al.*, 2008).

A associação de PRP a outros tipos de enxertos foi estudada, visando uma maior integração dos enxertos aos leitos receptores, através da liberação de fatores de crescimento pelo PRP. Por *et al.* (2009) iniciou estudos em ratos com a associação de PRP e enxertos de gordura, visando solucionar a

problemática da reabsorção de enxertos e da pouca viabilidade dos mesmos, porém não obteve os resultados esperados. O grupo liderado por Cervelli também avaliou possíveis usos da associação enxerto de gordura e PRP, obtendo bons resultados na cicatrização de feridas crônicas (CERVELLI *et al.*, 2011), no preenchimento de defeitos de tecidos moles na face (CERVELLI *et al.*, 2012) e posteriormente na reconstrução de mamas (GENTILE *et al.*, 2012). Salgarello *et al.* (2011) contestaram estes resultados em humanos, enquanto outros autores estudam a associação de enxertos de gordura e PRP em animais, obtendo resultados conflitantes (NAKAMURA *et al.*, 2010; PIRES *et al.*, 2010; RODRÍGUEZ-FLORES *et al.*, 2010; OH *et al.*, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar enxertos de gordura autóloga associados a plasma rico em plaquetas em ratas.

3.2 Específicos

1. Avaliar, por análise histológica, se a adição de PRP (plasma rico em plaquetas) a enxertos de gordura aumenta a porcentagem de células gordurosas morfolologicamente integras no enxerto.
2. Comparar as áreas de necrose celular nos enxertos com e sem PRP em ratas.
3. Avaliar a presença de células inflamatórias, nas áreas de gordura enxertada, pelas duas técnicas com e sem PRP, em ratas.
4. Verificar achados histológicos que possam comprometer a segurança de enxertos de gordura associados a PRP.

4 MÉTODO(S)

4.1 Tipo e local da pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental com animais (ratas), cego e randomizado, realizado no biotério de reprodução humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG). A pesquisa foi realizada pelo Programa de Mastologia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina da UFG. A pesquisa foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFG, e sua execução supervisionada por veterinário, a fim de garantir o conceito ético de pesquisa em animais e de evitar qualquer prejuízo ou sofrimento aos mesmos.

4.2 Tamanho amostral

Por constar na literatura poucas descrições sobre cálculo de tamanho amostral em trabalhos experimentais sobre este tema (OH *et al.*, 2011; RODRIGUEZ-FLORES *et al.*, 2011; PIRES *et al.*, 2010; NAKAMURA *et al.*, 2010), tornou difícil estimar a diferença provável entre os métodos existentes e estipular o poder do teste a ser utilizado para novas pesquisas. Diante disto, foi adotada amostra de conveniência, levando-se em consideração o custo-benefício do aumento do número de casos e a preocupação ética de minimizar o uso de experimentação animal. Após essa análise, considerou-se cinquenta ratas como sendo um número satisfatório.

4.3 Etapas de experimento

4.3.1 Manejo dos animais

Foram utilizadas 50 ratas/fêmeas adultas (sendo duas doadoras de PRP) da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, de tamanhos semelhantes com média de peso de 400g e idade maior que 60 dias, seguindo as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal quanto aos princípios éticos na experimentação animal. As ratas foram obtidas do biotério do Campus II da Universidade Federal de Goiás e transportadas em gaiolas até o biotério da Reprodução Humana do HC/UFG, onde foram alojadas em gaiolas plásticas de 570 cm² previamente numeradas, autoclavadas e forradas com maravalha limpa (figura 1). As ratas não receberam qualquer tratamento específico prévio.



Figura 1: Gaiola de acomodação dos animais no biotério de reprodução humana do HC/UFG

As ratas passaram por um período de adaptação de 14 dias no biotério do HC/UFG antes do início do experimento, a fim de minimizar o estresse dos animais. Elas foram mantidas durante o experimento, em temperatura ambiente, sob iluminação artificial fluorescente por um período de 12 horas/dia (das 7 às 19h), tendo livre acesso à ração e água fresca. Os cuidados com as ratas foram diários e realizados no período vespertino em horário coincidente com o da experimentação; as gaiolas foram lavadas semanalmente com troca da maravalha a cada três dias. As ratas foram manuseadas cuidadosamente pelo mesmo pesquisador e um auxiliar, que realizava os cuidados diários dos animais, a fim de evitar ao máximo o seu estresse.

4.3.2 Randomização

Foi realizado sorteio por meio de envelopes lacrados e montado uma tabela de randomização dos grupos controle e experimental. O grupo controle foi submetido a enxerto de gordura sem plasma (GSP) e o grupo experimental foi submetido a enxerto de gordura com plasma rico em plaquetas (GCP). Esta tabela foi seguida durante o procedimento cirúrgico dos animais, e foi de conhecimento apenas do pesquisador que realizou as cirurgias.

4.3.3 Obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP)

O plasma rico em plaquetas foi obtido através de punção cardíaca (NAKAMURA *et al.*, 2010) com coleta de 10 ml de sangue cada de duas ratas. Após anestesia do animal, através de injeção via peritoneal conforme descrito no próximo item, o animal era posicionado em decúbito dorsal e realizado punção cardíaca com agulha 24 gauge, angulada a 45 graus em relação à parede

torácica, inserida no espaço intercostal entre a 5^a e a 6^a costela na região paraesternal esquerda. Em seringa previamente preparada com 1 ml de citrato de sódio a 3,2% (anticoagulante) eram coletados 10 ml do sangue do animal. O animal doador era então sacrificado, através de superdose de solução anestésica (dobro da dose adequada para o peso) por injeção intraperitoneal e intracardiaca.

A seringa com sangue coletado era colocada em centrífuga (EQUIPAR®) e centrifugada primeiramente em uma velocidade de 1.500 RPM por dez minutos, obtendo-se três frações de sangue (RODRIGUEZ-FLORES *et al.*, 2011; PIRES *et al.*, 2010; NAKAMURA *et al.*, 2010) . A fração superior (menos densa) correspondeu a plasma pobre em células; a fração intermediária ao plasma rico em plaquetas (PRP) e células sanguíneas brancas e a fração inferior (mais densa) correspondente as células sanguíneas vermelhas (figura 2).

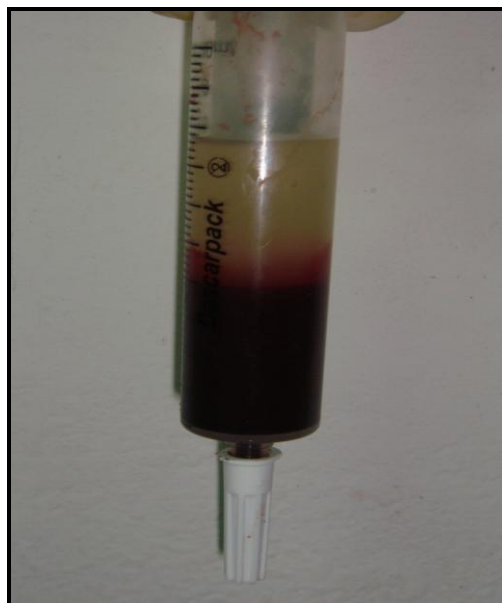


Figura 2: Frações sanguíneas após primeira centrifugação

Com auxílio de uma pipeta, era coletada a fração intermediária (PRP com células sanguíneas brancas) e parte da fração superior (plasma pobre em

células) e acondicionado em outra seringa estéril. Esta seringa era então centrifugada a uma velocidade de 3000 RPM por 5 minutos, obtendo duas frações (figura 3).



Figura 3: Frações sanguíneas após segunda centrifugação com PRP presente em parte inferior de seringa.

Nesta etapa a fração superior era composta de plasma pobre em células e a fração inferior composta por PRP (plasma com alta concentração de plaquetas). Este PRP era separado e era aplicado aos enxertos de gordura previamente randomizados para receber o plasma, conforme descrito anteriormente.

4.3.4 Procedimento anestésico e cirúrgico / primeira etapa

Na primeira etapa, animais foram anestesiados com solução de soro fisiológico (SF), cloridrato de cetamina e xilazina de uso veterinário, do laboratório Syntec®. Para preparação da solução realizou-se a associação de 8,5 ml de SF a 0,9% com 1ml de cetamina a 10% e 0,5ml de xilazina a 2% e

injetado via intraperitoneal com agulha de 26 gauge, na proporção de 0,1ml da solução para cada 10g de peso do animal (OLIVEIRA *et al*, 2012).

Após anestesia, o animal foi posicionado e realizado tricotomia manual com lâmina de bisturi nº 15 da área doadora (região inguinal) e área receptora (região craniana) dos enxertos de gordura.

A antissepsia foi feita com gaze estéril umedecida em solução alcoólica de clorexidine a 0,5% aplicada na região inguinal e craniana previamente tricotomizadas, seguida da colocação de campos fenestrados descartáveis estéreis nas áreas doadoras e receptoras de gordura.

Com o animal em decúbito dorsal, foi realizado assepsia e antissepsia, colocação de campos e incisão da pele medindo cerca de 2,5 cm, em região inguinal direita com bisturi número 15. Esta região foi escolhida por ter depósito abundante de gordura nestes animais (figura 4).

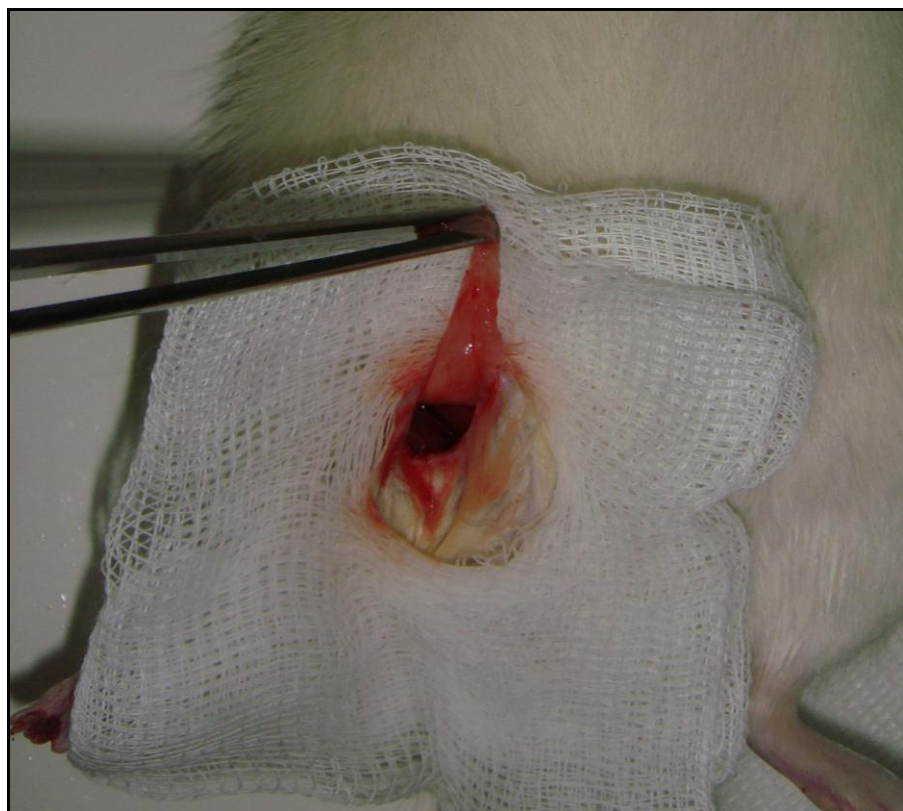


Figura 4: Dissecção de enxerto em área doadora de região inguinal direita do animal

Após diérese da pele, foi realizada dissecação cuidadosa de enxerto de gordura, com auxílio de pinça atraumática e tesoura delicada, previamente esterilizadas, obtendo enxerto de gordura de cerca de 0,5 cm de espessura e 1,5 cm de comprimento. Após obtenção do enxerto, foi feita revisão da hemostasia local e síntese de incisão inguinal com fio nylon 6-0, chuleio contínuo. Com o enxerto separado, o animal foi mudado para decúbito ventral, sendo realizada nova assepsia, antissepsia e colocação de campos estéreis na região craniana.

Neste momento, o enxerto era tratado com 0,1ml de solução fisiológica a 0,9% (grupo controle- GSP) ou 0,1ml de plasma rico em plaquetas, ativado com cloreto de cálcio a 10% (grupo experimental- GCP), conforme a tabela de randomização previamente estabelecida.

Com o animal em decúbito ventral e preparado, foi feita incisão da pele medindo cerca de 1 cm na região craniana, previamente tricotomizada, seguido por dissecação com tesoura delicada, da região receptora do enxerto, entre a pele e a musculatura da região craniana. Esta região foi escolhida por ser pobre em gordura subcutânea nestes animais. Após colocação do enxerto na região receptora previamente dissecada, era revisada a hemostasia local e realizada síntese da pele com fio nylon 6-0, em chuleio contínuo (figura 5).

O animal era então marcado e numerado com tinta atóxica em pelagem de região dorsal e deixado em gaiola separada com maravalha limpa para a recuperação pós-anestésica. Foi estipulado o uso de tramadol (3mg/kg), por via subcutânea no pós-operatório imediato e de 8/8h nas primeiras 24h para analgesia pós-operatória se necessário.

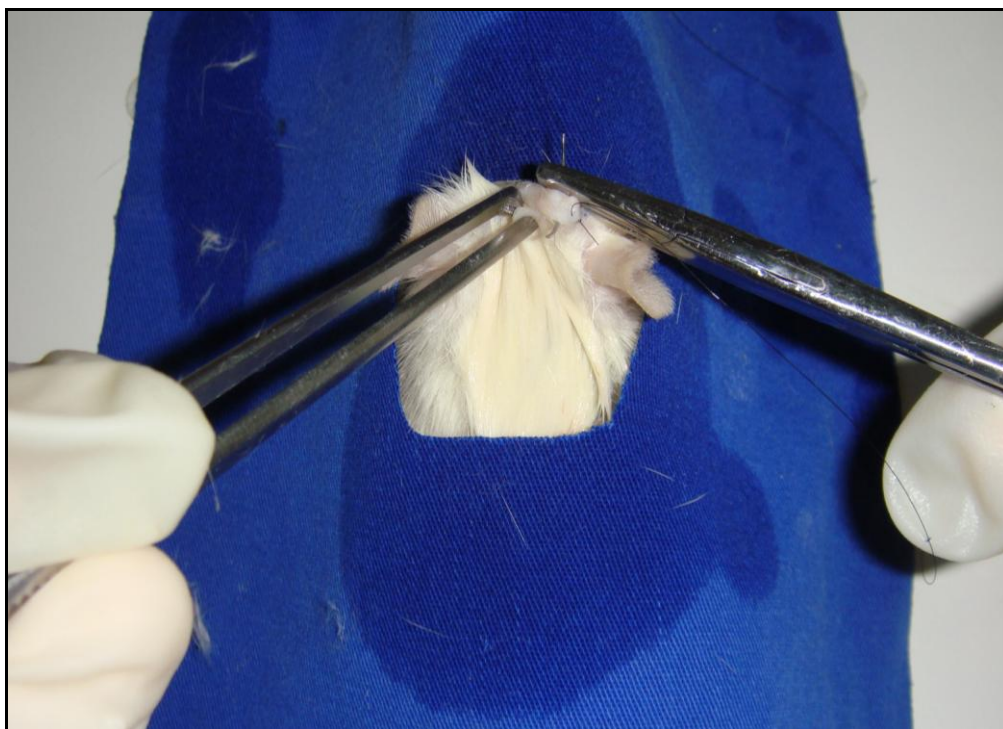


Figura 5: Síntese de área receptora (região craniana) do enxerto

4.3.5 Cuidado com os animais e procedimento anestésico e cirúrgico/ segunda etapa

As ratas operadas foram acondicionadas em gaiolas em grupos de cinco animais, recebendo cuidados diários (troca de água e ração) pelo mesmo pesquisador, com troca da maravalha a cada três dias. Permaneceram sob estes cuidados por 100 dias. Houve perda de um animal neste período, sem causa aparente após necropsia. Ocorreu deiscência parcial da ferida operatória da área doadora em cinco animais. Estas feridas foram deixadas para cicatrizar por segunda intenção, sendo realizada limpeza diária. Houve fechamento total das deiscências de todos os casos em sete dias.

Completados 100 dias da primeira cirurgia, as ratas foram anestesiadas conforme descrição anterior, colocadas em decúbito ventral e realizada coleta em bloco da pele suprajacente, do enxerto de gordura e do tecido muscular, na região craniana (figura 6). Após a coleta os animais eram sacrificados, através

de injeção intraperitoneal com superdose anestésica (dobro da dose recomendada para o peso do animal) associada à tramadol (10mg/kg). As carcaças dos animais foram acondicionadas em sacos plásticos brancos identificados como material infectante e eliminadas via biotério do HC/UFG.

As áreas de enxerto de gordura foram seccionadas em sentido transversal ao eixo ântero-posterior do animal, com bisturi lâmina 15, fixadas em solução de formalina tamponada a 10% por 24h e incluídas em blocos de parafina.



Figura 6: Área que recebeu enxerto previamente, identificada e preparada para dissecção.

Destes blocos foram obtidos cortes de cinco micra de espessura e corados com hematoxilina-eosina para análise em microscópio ótico pelas pesquisadoras encarregadas da análise histológica do material.

4.4 Definição das variáveis

As variáveis, com base na análise histológica, foram às seguintes (apêndice 1):

- Células gordurosas maduras (adipócitos) morfolologicamente integras e nucleadas
- Área de necrose gordurosa, presença de cistos e/ou vacúolos lipídicos
- Área de inflamação tecidual, presença de macrófagos e outras células inflamatórias.
- Área de fibrose tecidual, presença de áreas cicatriciais e fibras colágenas.

4.5 Análise histológica do material enxertado

A análise histológica do material obtido foi feito por duas pesquisadoras, médicas patologistas; que fizeram análises independentes de cada lâmina, atribuindo escores a cada variável analisada, conforme ficha de avaliação histológica (apêndice 1). Esta análise foi baseada em análises semelhantes de outros autores (NAKAMURA *et al.*, 2010; RODRIGUEZ-FLORES *et al.*, 2011). As lâminas foram avaliadas de acordo com as seguintes variáveis: viabilidade do enxerto (porcentagem de células gordurosas morfolologicamente integras), área de necrose (porcentagem de área com tecido necrótico /células mortas), área de inflamação (porcentagem de área com infiltrado de células inflamatórias) e área de fibrose (porcentagem de área com material fibroso / fibras colágenas). Para obter estes escores, em porcentagem, elas analisaram os enxertos em sua totalidade, em campo de 40x (quantos foram necessários), e obtiveram uma

porcentagem a partir da análise global de todos os campos. Estas duas pesquisadoras, não tinham conhecimento sobre a randomização dos animais, portanto não sabiam quais animais foram testados com enxerto com PRP (GCP) e quais foram testados com enxerto com soro fisiológico (GSP).

Os valores obtidos foram classificados com auxílio de um escore de avaliação histológica do enxerto, pontuadas 0 (ausente) a 4 (abundante) (apêndice 1), pela avaliação da patologista avaliadora 1 e patologista avaliadora 2. Para efeito de análise, os escores obtidos foram agrupados em grupo escasso (escores de 0 a 2) e grupo abundante (escores 3 e 4), para cada variável analisada.

4.6 Análise estatística

A amostra foi caracterizada por meio do cálculo das frequências absolutas e relativas para as variáveis em estudo. Posteriormente, efetuou-se a análise das medidas de tendências central e dispersão através das médias e desvio padrão para a variável idade. As análises para verificar a associação ou independência entre as variáveis foram realizadas pelo teste do qui-quadrado com o cálculo dos riscos relativos utilizando-se tabelas de contingência para verificar o risco médio entre as variáveis com um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 0,05.

5 RESULTADOS

Da amostra de cinquenta animais, dois foram utilizados como doadores de PRP e, um terceiro foi a óbito, não sendo incluídos na análise. Assim, foram estudados 47 animais de mesma raça, sexo, peso e idade. A amostra foi randomizada em dois grupos, sendo que cada animal recebeu um enxerto de gordura autóloga na porção subcutânea da região craniana. Após a randomização 22 ratas foram alocadas no GCP e outras 25 no GSP.

A tabela 1 mostra os valores de escore atribuídos pelas duas patologistas avaliadoras, sendo que a concordância entre a avaliadora 1 e a avaliadora 2 foi quase perfeita ($\kappa=94\%$).

Na tabela 2 estão apresentados os escores agrupados em grupo escasso (escores 0,1 e 2) que foi comparado ao grupo abundante (escores 3 e 4).

Tabela 1: Demonstração dos os valores de escore atribuídos na avaliação histológica do enxerto autólogo de gordura nos grupos com plasma rico em plaquetas (GCP) e sem plasma (GSP).

Avaliação	Avaliador 1				Avaliador 2			
	GCP		GSP		GCP		GSP	
Escore	n=22	%	n=25	%	n=22	%	n=25	%
Células gordurosas integras								
0	0	0,0	3	12,0	0	0,0	3	12,5
1	5	22,7	7	28,0	5	22,7	8	33,3
2	4	18,2	8	32,0	3	13,6	7	29,2
3	5	22,7	3	12,0	7	31,8	4	16,7
4	8	36,4	4	16,0	7	31,8	3	12,5
Área de necrose gordurosa								
0	2	9,1	1	4,0	2	9,1	1	4,0
1	6	27,3	3	12,0	5	22,7	2	8,0
2	5	22,7	3	12,0	7	31,8	4	16,0
3	4	18,2	8	32,0	4	18,2	7	28,0
4	5	22,7	10	40,0	4	18,2	11	44,0
Área de inflamação								
0	1	4,5	0	0,0	1	4,5	0	0,0
1	13	59,1	11	44,0	14	63,6	12	48,0
2	5	22,7	5	20,0	5	22,7	4	16,0
3	3	13,6	7	28,0	2	9,1	6	24,0
4	0	0,0	2	8,0	0	0,0	3	12,0
Área de fibrose								
0	3	13,6	2	8,0	3	13,6	2	8,0
1	18	81,8	20	80,0	18	81,8	21	84,0
2	1	4,5	3	12,0	1	4,5	2	8,0
Total	22	100	25	100	22	100,0	25	100

Tabela 2: Demonstração dos valores de escores atribuídos na análise histológica agrupadas, segundo divisão dos grupos.

Avaliação	Avaliador 1					Avaliador 2				
Escore agrupado	GCP		GSP			GCP		GSP		
Células gordurosas integras	n=22	%	n=25	%	p	n=22	%	n=25	%	p
Grupo escasso	9	40,9	18	72,0	0,03*	8	36,4	18	72,0	0,01*
Grupo abundante	13	59,1	7	28,0		14	63,6	7	28,0	
Área de necrose	n	%	n	%	p	n	%	n	%	p
Grupo escasso	13	59,1	7	28,0	0,03*	14	63,6	7	28,0	0,014*
Grupo abundante	9	40,9	18	72,0		8	36,4	18	72,0	
Área de inflamação	n	%	n	%	p	n	%	n	%	p
Grupo escasso	19	86,4	16	64,0	0,07	20	90,9	16	64,0	0,03*
Grupo abundante	3	13,6	9	36,0		2	9,1	9	36,0	

P<0,05

Legenda: Grupo escasso pontuação do escore 0,1 e 2; Grupo abundante pontuação do escore 3 e 4.

Observou-se que a viabilidade do enxerto, avaliada pela presença de células gordurosas morfolologicamente integras, com escores 3 e 4 (abundante), foi significativamente maior no grupo de enxerto de gordura autóloga associada ao PRP (GCP), quando comparado ao GSP ($p<0,05$ tabela 2). Estes resultados

estão apresentados de acordo com os agrupamentos de análises histológicas no gráfico 1.

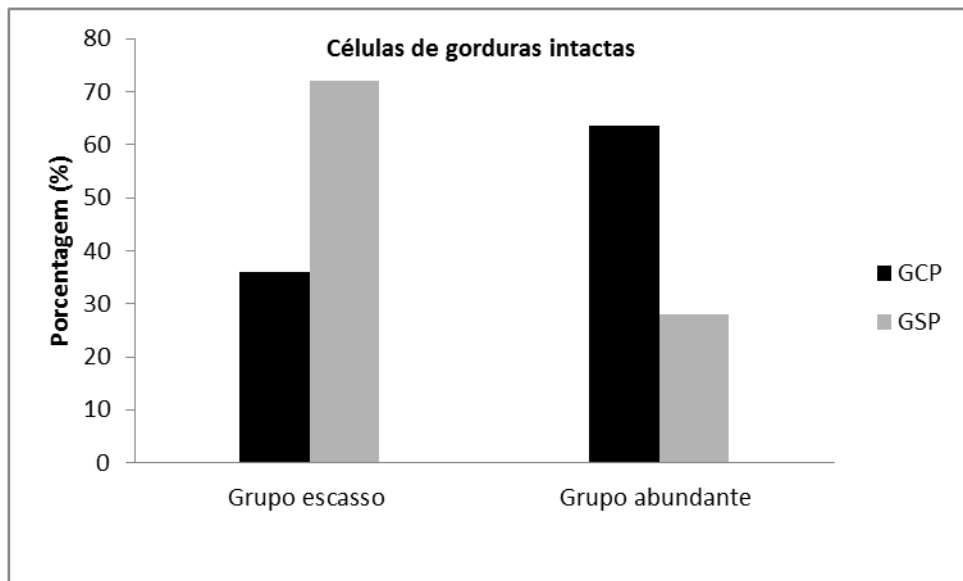


Gráfico 1: Demonstração de porcentagem de células gordurosas integras segundo escores atribuídos nos dois grupos de análise histológica (escasso e abundante) do GCP e GSP.

A figura 7 ilustra as células gordurosas morfologicamente integras com núcleo, em material histológico de enxerto de gordura autóloga que recebeu PRP (GCP), corado por hematoxilina-eosina, aumento de 100x.

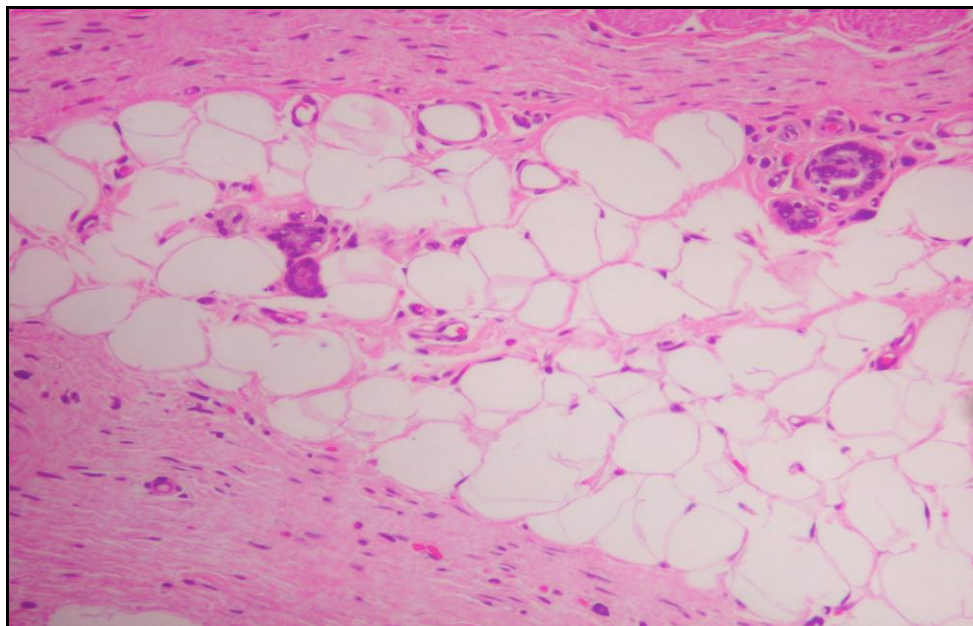


Figura 7: Células gordurosas morfologicamente integras e vasos sanguíneos em enxerto que recebeu PRP. HE 100x.

Quanto à área de necrose, que corrobora a análise da viabilidade dos enxertos, observamos no GCP (n=25), quinze enxertos (65,2%) com escore 0,1 ou 2 (grupo escasso) e oito enxertos (34,8%) com escore 3 ou 4 (grupo abundante). Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p<0,05$), mostrando um menor percentual de necrose de células gordurosas no GCP e, conseqüentemente, maior taxa percentual de células adiposas integras (tabela 2, gráfico 2).

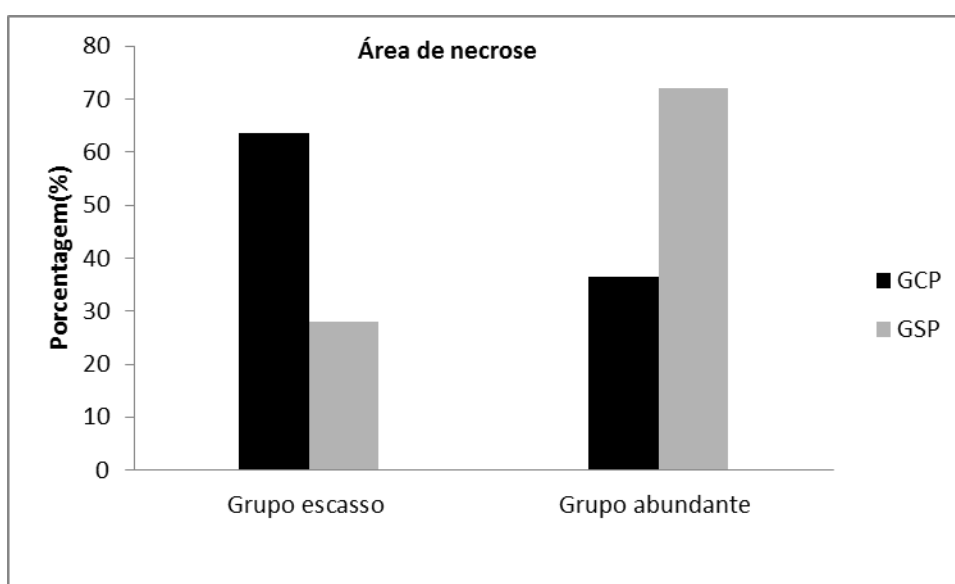


Gráfico 2: Demonstração da porcentagem de áreas de necrose e escores atribuídos nos dois grupos.

Na análise de inflamação local, foi observado no GCP que 91% dos enxertos tiveram escores baixos (0,1 ou 2), comparado a 64% no GSP, mostrando que os enxertos misturados com PRP tiveram uma preservação melhor das células adiposas, um menor número de células mortas e conseqüentemente um quantidade menor de inflamação tecidual (tabela 2, gráfico 3)

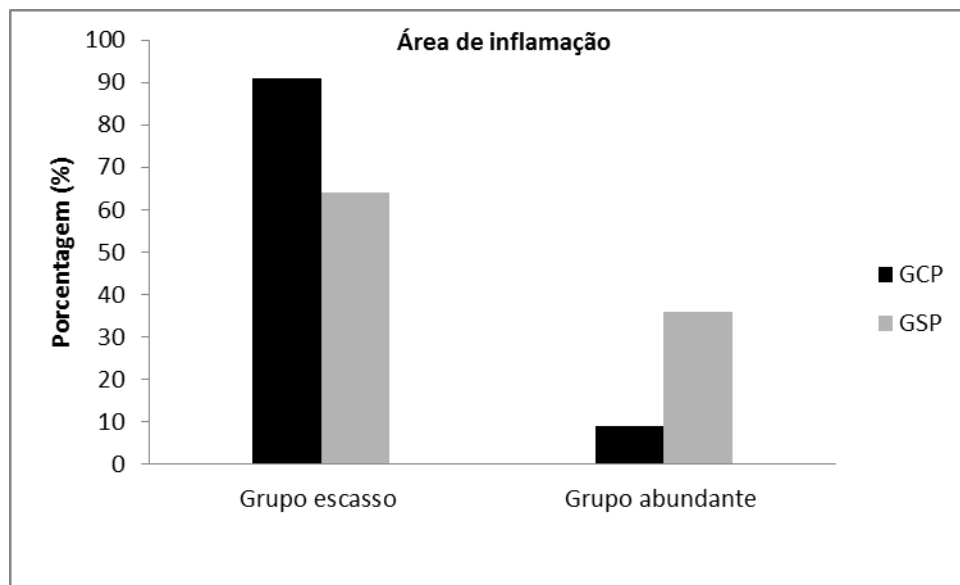


Gráfico 3: Demonstra porcentagem áreas de inflamação nos enxertos e escores atribuídos nos dois grupos.

A figura 8 ilustra a escassez de células gordurosas morfologicamente integras e infiltrado inflamatório abundante em enxerto do GSP, corado por HE, aumento de 40x.

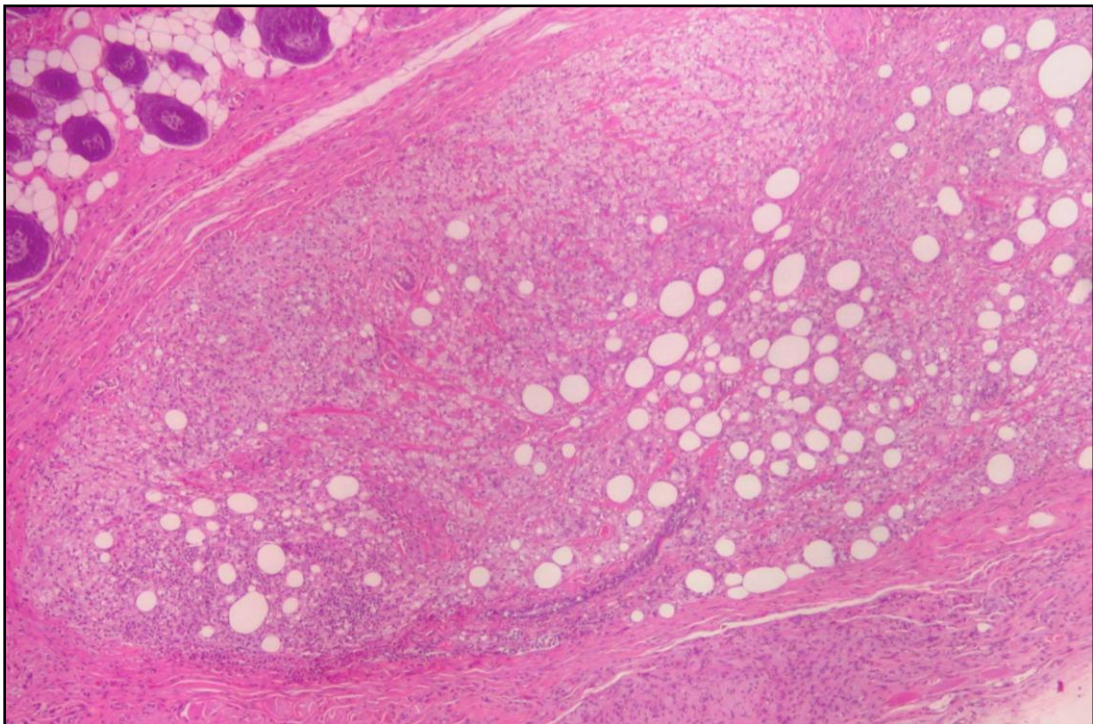


Figura 8: Poucas células gordurosas morfologicamente integras com núcleo e grande infiltrado inflamatório em enxerto que não recebeu PRP. HE 40X

Quanto à análise de presença de fibrose tecidual, observou-se que ambos os grupos apresentaram baixos índices de fibrose (o escore 4 não foi dado a nenhum enxerto por nenhuma das duas avaliadoras), não sendo observada diferença estatística entre os dois grupos (tabela 1).

Como achado incidental, foram vistos a presença de cistos dermóides nos enxertos de três animais, todos alocados no GCP (figura 9).

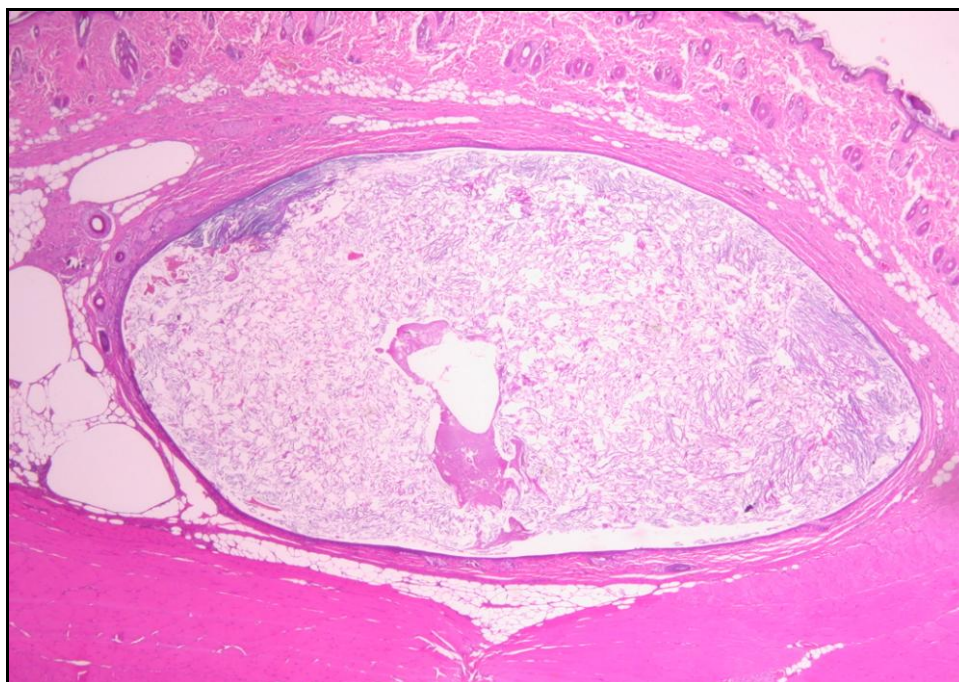


Figura 9: Volumoso cisto dermoide em enxerto de gordura que recebeu PRP. HE 25X

6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos vem crescendo o número de estudos sobre enxertos de gordura autóloga (BLUMENSCHNEIN *et al.*, 2013), e a procura por novas técnicas para se obter enxertos com menor reabsorção e maior viabilidade. Crescem também, em grande número, estudos que investigam o plasma rico em plaquetas (PRP) como mecanismo de liberação de fatores que auxiliam na reparação de tecidos lesados e no estímulo a regeneração tecidual (SOMMELING *et al.*, 2013).

Nos estudos levantados observou-se que não existe consenso sobre a forma de preparo de PRP. São descritos vários métodos de obtenção de PRP, com protocolos e concentrações diferentes, mas a maioria das técnicas tem em comum alguns pontos. Para se produzir PRP, sangue autólogo é obtido através de punção de veia periférica com anticoagulante (geralmente citrato de sódio), antes de qualquer procedimento cirúrgico. Este sangue ao ser submetido à centrifugação produz duas fases sanguíneas, plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma pobre em plaquetas (PPP). Em recente artigo de revisão, Sommeling *et al.* (2013) observou que dos quarenta estudos levantados sobre o uso de PRP em cirurgia plástica, nove utilizaram uma etapa única de centrifugação, dezoito usaram duas etapas de centrifugação e, em treze estudos, o número de centrifugações não era mencionado.

No presente estudo utilizou a dupla centrifugação para obter o PRP, com comprovação da concentração de plaquetas observada à microscopia ótica, apesar de não quantificado o grau de aumento desta concentração plaquetária, em números absolutos, em decorrência do método utilizado não ter sido automatizado. Optou-se pelo método manual, técnica facilmente executável em

ambiente de centro cirúrgico comum, com uso de centrifuga simples e com baixo custo, sendo facilmente reproduzível.

O PRP geralmente é ativado através da adição de trombina e/ou cloreto de cálcio, momentos antes de ser utilizado no paciente, para que haja liberação dos fatores de crescimento pelas plaquetas. Porém, acredita-se que a trombina, geralmente de origem bovina, possa causar reações alérgicas quando utilizada, apesar de ser uma forma mais “eficaz” de ativação plaquetária, levando a uma liberação mais rápida dos fatores de crescimento do que o cloreto de cálcio (ANITUA, 1999; MAZZUCCO *et al.*, 2009; VENDRAMIN *et al.*, 2009; GENTILE *et al.*, 2012). Em nosso estudo, optamos por utilizar o cloreto de cálcio, visando evitar possíveis reações causadas pela adição de trombina exógena e devido ao baixo custo e a facilidade de obtenção de cloreto de cálcio. Julgou-se que a suposta liberação mais lenta de fatores de crescimento seria benéfica para a integração dos enxertos de gordura nas primeiras 48 horas após a realização de enxertia.

Quanto à forma de administração, geralmente o PRP é administrado em forma de gel, visto que uma vez ativado adquire consistência gelatinosa, devido às propriedades agregantes de plaquetas e fibrina. Isto dificulta muitas vezes a administração de PRP associado à gordura através de cânulas. No presente estudo, não houve coleta de gordura através de micro-cânulas de lipoaspiração, conforme descrito em outros trabalhos (PIASECKI *et al.*, 2007). Por este motivo, foi realizado enxerto de gordura livre, obtida através de excisão direta. O PRP ativado era adicionado à gordura segundos antes desta ser enxertada na região craniana dos animais, não tendo dificuldade de enxertia por não utilizar cânulas. Talvez para enxertia em humanos, onde a obtenção de gordura e realização do

enxerto é feita principalmente através de pequenas cânulas (BLUMENSCHNEIN *et al.*, 2013), fosse interessante trabalhar com cânulas de duplo lúmen, em que o PRP fosse ativado e adicionado simultaneamente à realização de enxertia de gordura pela cânula.

A associação de enxertos de gordura com PRP foi avaliada por poucos estudos, muitos com desenho científico inadequado para a obtenção de conclusões expressivas acerca desta relação (RONG, *et al.*, 2013). Em estudos com animais, (OH *et al.*, 2011; RODRIGUEZ-FLORES *et al.*, 2011; PIRES *et al.*, 2010; NAKAMURA *et al.*, 2010) observa-se relação favorável de associação de enxertos de gordura com PRP, enquanto que Por *et al.* (2009) observaram que esta relação não é benéfica para o aumento da viabilidade dos enxertos. Neste último estudo, não há menção sobre a ativação do PRP, fato este que pode ter contribuído para ausência de benefícios do PRP na viabilidade do enxerto.

Outra crítica feita por alguns autores é o fato do PRP obtido em animais de pequeno porte não ser exatamente autólogo, e sim proveniente de um animal doador que produz PRP em quantidade suficiente para o restante do experimento (MARX, 2004), visto que é impossível obter PRP em quantidade suficiente para uso sem ter que sacrificar o animal, devido ao grande volume de sangue necessário para produzir o PRP. No presente estudo, conseguimos mostrar resultados positivos da associação do PRP aos enxertos de gordura autóloga, mesmo sendo este PRP de origem homóloga e não autóloga, assim como outros autores observaram em estudos animais (OH *et al.*, 2011; RODRIGUEZ-FLORES *et al.*, 2011; PIRES *et al.*, 2010; NAKAMURA *et al.*, 2010).

Em estudos de PRP associados a enxertos de gordura em humanos também existem dados conflitantes. Enquanto o grupo liderado por Cervelli em sucessivos estudos (Cervelli *et al.*, 2009, Cervelli *et al.*, 2011, Cervelli *et al.*, 2012) apresentou resultados que indicam uma melhora da viabilidade dos enxertos com a associação, o trabalho de Salgarello *et al.* (2011) não mostrou benefícios na associação. Neste ultimo estudo, Salgarello *et al.* (2011) obtiveram PRP através de método automatizado, o que pode implicar em uma concentração insuficiente de PRP, fato este analisado por outros autores que demonstraram diferenças na concentração de fatores de crescimento disponíveis dependentes do aparelho ou técnica de obtenção de PRP utilizados (MAZZUCCO *et al.*, 2009; PALLUA *et al.*, 2010). No estudo de Salgarello *et al.* (2009), a avaliação da viabilidade do enxerto é feita por métodos subjetivos, como análise fotográfica e análise ultrassonográfica (método de imagem avaliador-dependente). Alguns autores em trabalhos recentes propõem a ressonância magnética como método mais eficaz para avaliar os enxertos de gordura em humanos (DEL VECHIO & BUCKY, 2011; GENTILLE *et al.*, 2012). Entendemos que a melhor forma para analisar a viabilidade dos enxertos seria através da análise histológica, facilmente realizada em estudos com animais, porém de grande dificuldade em estudos em humanos. Gentile *et al.*, (2012) apresentam resultados favoráveis da associação PRP e gordura, com avaliação dos resultados através de ressonância magnética. Apesar de não mencionar se todos os pacientes foram submetidos à avaliação por RM, este estudo apresenta bons resultados quanto à viabilidade de enxertos, documentados por meio da menor perda de volume de enxertos associados a PRP pelas imagens pós-operatórias com RM, mostrando que esta pode ser uma alternativa para avaliar

enxertos de gordura em humanos, e que a adição de PRP a gordura pode melhorar a viabilidade de enxertos de gordura.

Com o aumento do uso da gordura para preenchimento de defeitos corporais, principalmente nas mamas, alguns autores investigaram uma possível associação entre neoplasia e lipoenxertia (RIGOTTI *et al.*, 2010; LOHSIRIWAT *et al.*, 2011; PETIT *et al.*, 2011). Apesar de não haver comprovação científica desta relação, existe o temor que o microambiente criado por reações químicas nas áreas de enxerto, associado aos fatores pró-inflamatórios secretados que levam a duplicação celular, possam estimular o desenvolvimento de neoplasias em pacientes predispostos (LOHSIRIWAT *et al.*, 2011). Até o momento, os relatos de aparecimento de neoplasias após enxertos de gordura nas mamas são apenas em casos em que o tumor inicial era *in situ* (PETIT *et al.*, 2012; BERTOLINI *et al.*, 2012). Estes autores mostram a incidência ou recorrência de câncer mamário após eventos de lipoenxertia, sem aparente associação causal comprovada por estatística, acreditando que a maioria dos casos observados possa, na verdade, ocorrer devido a eventos de “subdiagnóstico” do câncer inicial, que aconteceriam independente da lipoenxertia (RIETJENS *et al.*, 2011). No entanto estes autores concordam que um número maior de ensaios controlados, com número adequado de indivíduos, é necessário para comprovar a segurança de enxertos de gordura nas mamas (BERTOLINI *et al.*, 2012; BLUMENSCHNEIN *et al.*, 2013).

O PRP, após ser ativado, libera grande quantidade de fatores de crescimento e citocinas, estimulando aumento de duplicação celular, aumento da produção de colágeno, recrutamento de outras células para o local de injúria, estímulo a neoangiogenese e indução de diferenciação celular (MARX, 2004).

Apesar de todas estas ações, o PRP não é considerado carcinogênico, pois os fatores de crescimento liberados “[...] não entram nas células ou interagem com o núcleo celular, apenas levam a uma cicatrização mais rápida, e não à indução de tumores.” (MARX, 2004, v.62 p.491). Entretanto, é conhecido que a gênese tumoral pode ser causada por alterações no DNA celular durante replicação celular aumentada e que a formação de novos vasos sanguíneos é um importante fator para o desenvolvimento dos tumores (RUBIN *et al.*, 2010), exatamente fatores comprovadamente estimulados pelo PRP (ANITUA *et al.*, 2004).

Cistos dermóides podem ser descritos como tumores císticos revestidos com epitélio e apêndices cutâneos, sendo encontrados em várias espécies, considerados como resultantes de encarceramento de epiderme e estruturas anexiais da derme durante o desenvolvimento embrionário, apresentando baixo potencial de malignidade (WOBESER *et al.*, 2009; GOLDEN *et al.*, 2012). Em humanos estes cistos são predominantemente observados na pele, sistema nervoso central, mamas e ovários, devido principalmente à forma de desenvolvimento embrionário destas estruturas. No presente estudo observou-se a presença de cistos dermóides dentro do enxerto gorduroso em três animais dos 47 avaliados (figura 9), coincidentemente todos tratados com enxerto associado ao PRP. Em um grande número de enxertos de gordura, observamos fragmentos de tecido mamário, provavelmente incluídos durante a dissecação dos enxertos de gordura na região inguinal. Não se pode concluir que enxertos de gordura associados ao PRP tiveram relação causal na formação destes tumores, mas, considerar a hipótese de que estes tumores estavam anteriormente presentes na gordura da região inguinal ou no tecido mamário incluído junto ao

enxerto. Chama a atenção o fato de que esses tumores se mantiveram viáveis junto com o enxerto e possivelmente desenvolveram após a enxertia, visto que não foram observados macroscopicamente durante a etapa cirúrgica de realização dos enxertos.

7 CONCLUSÕES

1. Houve melhora da viabilidade dos enxertos de gordura associados ao PRP, demonstrada por meio do maior número de células gordurosas morfolologicamente íntegras e nucleadas nestes enxertos.
2. Houve menor taxa percentual de necrose nos enxertos gordurosos associados ao PRP.
3. Houve menor taxa percentual de células inflamatórias presentes em enxertos de gordura associados ao PRP.
4. Quanto à segurança do método, o achado incidental de cistos dermóides indica que a continuação de estudos experimentais em animais é necessária, pela possibilidade de desenvolvimento ou manutenção de tumores em indivíduos predispostos.

8 REFERÊNCIAS

ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**. V.14, n.4, p. 529-35, 1999.

ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. **Thromb Haemost**. V.91, n.1, p. 4-15, 2004.

ASPRS. Report on autologous fat transplantation. ASPRS Ad-Hoc Committee on New Procedures. **Plast Surg Nurs**. V. 7, n.4, p. 140-1, 1987.

BERTOLINI, F.; LOHSIRIWAT, V.; PETIT, J.Y.; et al. Adipose tissue cells, lipotransfer and cancer: an urgent challenge for scientists, oncologists and surgeons. **BBA. Biochim Biophys Acta**. V.1826, n.1,p. 209-14, 2012.

BLUMENSCHN, A.R.; FREITAS-JUNIOR, R.; TUFFANIN, A. T.; et al. Lipoenxertia nas mamas: procedimento consagrado ou experimental? **Rev Bras Cir Plást**. V.27, n. 4, p. 616-22, 2013.

CARPANEDA, C.A.; RIBEIRO, M.T. Percentage of graft viability versus injected volume in adipose autotransplants. **Aesthetic Plast Surg**.V.18, n.1, p. 17-9, 1994.

CERVELLI, V.; GENTILE, P.; DE ANGELIS, B. et al. Application of enhanced stromal vascular fraction and fat grafting mixed with PRP in post-traumatic lower extremity ulcers. **Stem Cell Res**. V.6, n.2, p. 103-11, 2011.

CERVELLI, V.; GENTILE, P.; SCIOLI, M.G.; et al. Application of platelet rich plasma in plastic surgery: clinical and in vitro evaluation. **Tissue Eng Part C Methods**. V.15, n.4, p. 625-34, 2009.

CERVELLI, V.; SCIOLI, M.G.; GENTILE, P.; et al. Platelet-rich plasma greatly potentiates insulin-induced adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells through a serine/threonine kinase Akt-dependent mechanism and promotes clinical fat graft maintenance. **Stem Cells Transl. Med.** V.1, n.3, p.206-20, 2012.

COLEMAN, S.R. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. **Aesthetic Plast. Surg.** V.19, n.5, p. 421-5, 1995.

COLEMAN, S.R.; SABOEIRO, A.P. Fat grafting to the breast revisited: safety and efficacy. **Plast Reconstr Surg**. V.119, n.3, p. 775-85; discussion 786-7, 2007.

CZERNY, V. Plastischer Ersatz der Brustdruse durch ein Lipom. **Zentralbl Chir.** p. 27-72, 1895.

DEL VECCHIO, D.A.; BUCKY, L.P. Breast augmentation using preexpansion and autologous fat transplantation: a clinical radiographic study. **Plast Reconstr Surg**. V. 127, n.6, p. 2441-50, 2011.

DELAY, E.; GARSON, S.; TOUSSON, G.; SINNA, R. Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years. **Aesthet Surg J**. V 29, n.5, p.360-76, 2009.

FREYMLER, E.G.; AGHALOO, T.L. Platelet-Rich Plasma: Ready or Not? **J Oral Maxillofac Surg**. V.62, p. 484-88, 2004.

GENTILE, P.; ORLANDI, A.; SCIOLI, M. G.; et al. Comparative translational study: The combined use of enhanced stromal vascular fraction and platelet-rich plasma improves fat grafting maintenance in

breast reconstruction. **Stem Cells Transl Med.** V.1, n. 4, p. 341–351, 2012.

GENTILE, P.; BOTTINI, D.J.; SPALLONE, D.; et al. Application of platelet-rich plasma in maxillofacial surgery: Clinical evaluation. **J Craniofac Surg.** V.21, n.3, p. 900-4, 2010.

GOLDEN, B.A.; JASKOLKA, M.S.; RUIZ, R.L. Craniofacial and orbital dermoids in children. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am.** V.24, n. 3, p. 417-25, 2012.

GUTOWSKY, K.A. Current applications and safety of fat grafts: A report of ASPS fat graft task force. **Plast Reconstr Surg** V. 124, n.1, p. 272-280, 2009.

ILLOUZ, G. Y. A new method for localized lipodystrophies. **Rev Chir Esthet.** V.4, p.19, 1980.

KAKUDO, N.; MINAKATA.; T.; MITSU, T.; et al. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose–derived stem cells and human dermal fibroblasts. **Plast Reconstr Surg.** V. 122, n.5, p. 1352-60, 2008.

KEYHAN, S. O.; HEMMAT S.; BADRI, A. A.; et al. Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial lipostructure? **J Oral Maxillofac Surg.** V.71, n.3, p.610-21, 2013.

KLEIN, A. J. The tumescent technique for liposuction surgery. **Am J Cosmetic Surg.** V.4, p. 263-7, 1987.

LEI, H.; GUI L.; XIAO H. The effect of anticoagulants on the quality and biological efficacy of platelet-rich plasma. **Clinical Biochemistry.** V.42, n.13-4, p. 1452–60, 2009.

LOHSIRIWAT, V.; CURIGLIANO, G.; RIETJENS, M.; et al. Autologous fat transplantation in patients with breast cancer: "silencing" or "fueling" cancer recurrence? **Breast**. V. 20, n.4, p.351-7, 2011.

MARX, R.E. Platelet rich plasma: evidence to support its use. **J Oral Maxillofac Surg**. V.62, n.4, p. 489-96, 2004.

MATRAS, H. Effect of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skin. **Osterr Z Stomatol**. V.67, n.9, p.338-59, 1970.

MAZZUCCO, L.; BALBO, V.; CATTANA, E.; et al. Not every PRP-gel is born equal. Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet®, RegenPRP-Kit®, Plateltex® and one manual procedure. **Vox Sanguinis**. V. 97, n.2, p.110-8, 2009.

NAKAMURA, S.; ISHIHARA, M.; TAKIKAWA, M.; et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat grafts in rats. **Ann. Plast. Surg**. V. 65, n.1, p. 101-6, 2010.

OH, D.S.; CHEON, Y.W.; JEON, Y.R.; et al. Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study. **Dermatol. Surg**. V. 37, n. 5, p. 619-25, 2011.

OLIVEIRA, H. P. ; ALVES, G.E S ; REZENDE, C. M. F. Eutanásia em Medicina Veterinária - <https://www.ufmg.br/coep/eutanasia.pdf>. Acessado em 05/10/2012 (Artigo em PDF).

PALLUA, N.; WOLTER, T.; MARKOWICZ, M. Platelet-rich plasma in burns. **Burns**. V. 36, n.1, p. 4-8, 2010.

PETIT, J.Y.; BOTTERI, E.; LOHSIRIWAT, V.; et al. Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients. **Ann Oncol**. V. 23, n. 3, p. 23:582–8, 2012.

PETIT, J.Y.; LOHSIRIWAT, V.; CLOUGH, K.B.; et al. The oncologic outcome and immediate surgical complications of lipofilling in breast cancer patients: a multicenter study--Milan-Paris-Lyon experience of 646 lipofilling procedures. **Plast Reconstr Surg.** V.128, n.2, p.341-6, 2011.

PIASECKI, J.H.;GUTOWSKI, K.A.;LAHVIS, G.P. et al. An experimental model for improving fat graft viability and purity. **Plast Reconstr Surg.**; V.119, n.5, p.1571-83, 2007.

PIRES, F.M.; NISHIO, R.T.; ISHIKAWA, R.S.; et al. Increased survival of free fat grafts with platelet-rich plasma in rabbits. **J Plast Reconstr. Aesthet Surg.** V 63, n.12, p. e818-22, 2010.

POR, Y.C.; YEOW, V.K.; LOURI, N. Platelet-rich plasma has no effect on increasing free fat graft survival in the nude mouse. **J Plast Reconstr Aesthet Surg.** V. 62, n.8, p. 1030-4, 2009.

RIETJENS, M.; DE LORENZI, F.; ROSSETTO, F.; et al. Safety of fat grafting in secondary breast reconstruction after cancer. **J Plast. Reconstr Aesthet Surg.** V. 64, n.4, p. 477-83, 2011.

RIGOTTI, G.; MARCHI, A.; STRINGHINI, P.; et al. Determining the oncological risk of autologous lipoaspirate grafting for post-mastectomy breast reconstruction. **Aesthetic Plast Surg.** V.34, n.4, p.475-80, 2010.

RODRIGUEZ-FLORES, J.; PALOMAR-GALLEGO, M.A.; ENGUITA-VALLS, A.B.; et al. Influence of platelet-rich plasma on the histologic characteristics of the autologous fat graft to the upper lip of rabbits. **Aesthetic Plast Surg.** V.35, n.4, p. 480-6, 2011.

RONG, J.; LU, Z.; YU-GUANG, Z .Does platelet-rich plasma enhance the survival of grafted fat? An update. **Int J Clin Exp Med.** V. 6, n.4, p. 252–8, 2013.

RUBIN, P.; WILLIAMS, J.P.; DEVESA, S. S .Cancer genesis across the age spectrum: associations with tissue development, maintenance, and senescence. **Semin Radiat Oncol**. V. 20, n.1, p. 3-11, 2010.

SALGARELLO, M.; VISCONTI, G.; RUSCIANI, A. Breast fat grafting with platelet-rich plasma: a comparative clinical study and current state of the art. **Plast Reconstr Surg**. V.127, n.6, p. 2176-85, 2011.

SETTA, H.S.; ELSHAHAT, A.; ELSHERBINY, K. et al. Platelet-rich plasma versus platelet-poor plasma in the management of chronic diabetic foot ulcers: a comparative study. **Int Wound J**. V.8, n.3, p. 307–12, 2011.

SINNA, R.; DELAY, E.; GARSON. S.; DELAPORTE, T. Breast fat grafting (lipomodelling) after extended latissimus dorsi flap breast reconstruction: a preliminary report of 200 consecutive cases. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. V.63, n.11, p. 1769-77, 2010.

SOMMELING, C.E.; HEYNEMAN, A.; HOEKSEMA, H; et al. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: A systematic review. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. V.66, n.3, p. 301-311, 2013.

TAKIKAWA, M.; NAKAMURA, S.; NAKAMURA, S.; et al. Enhancement of vascularization and granulation tissue formation by growth factors in human platelet-rich plasma-containing fragmin/protamine microparticles. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**. V.97 , n. 2, p.373-80, 2011.

THORNE, C. H.; BEASLEY, R. W.; ASTON, S. J.eds. Grabb and Smith's Plastic Surgery, Cap.6 p. 54 , 2007.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; FRANCO T. R. Método de obtenção do gel de plasma rico em plaquetas autólogo. **Rev Bras Cir Plást**. V.24, n2, p. 212-8, 2009.

WHITMAN, D.H., BERRY, R.L.; GREEN, D.M. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. **J Oral Maxillofac Surg.** V. 55, n.11, p.1294-9, 1997.

WOBESER, G.; BOLLINGER, T.; NEIMANIS, A.; et al. Dermoid Cysts in Caribou. **J Wildl Dis.** V.45, n.2, p. 505-9, 2009.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética.

Anexo 2 – Comprovantes de submissão dos artigos/ aceite para publicação para artigos ainda não publicados/ um dos artigos publicados

Anexo1- Parecer do Comitê de Ética.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
HOSPITAL DAS CLÍNICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PROTOCOLO CEP/HC/UFG Nº 070/2011

Goiânia, 04/07/2011

INVESTIGADOR RESPONSÁVEL: Dr. Alexandre Roriz Blumenschein
ORIENTADOR: Prof. Ruffo de Freitas Junior
ACADÊMICO PESQUISADOR: Roseana Netto Peretra
PESQUISADORES PARTICIPANTES: Martje Amaral Rebouças Moreira, Sylverson Porto Rossi,
Maria Auxiliadora de Paula Carneiro Cysneiros e Brunella Mendonça Chinem

TÍTULO: "Estudo comparativo entre técnicas de preparação de gordura e o uso de plasma rico em plaquetas em enxertos de gordura em ratos"

Área Temática: Grupo III

Área de Conhecimento: Ciências da Saúde/Medicina

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás

Local de Realização: Programa de Mastologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa - HC/UFG **analisou e aprovou** o projeto de Pesquisa acima referido, juntamente com os documentos apresentados, o estes foram considerados em acordo com os princípios éticos vigentes.

Informamos que não há necessidade aguardar o parecer da CONEP-Comissão nacional de Ética em Pesquisa, para iniciar a pesquisa.

O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, relatórios semestrais do andamento da pesquisa, data de encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).

O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (*Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa - Item 13*)


Farm. José Mário Coelho Moraes
Coordenador do CEP/HC/UFG

Anexo 1- Parecer do Comitê de Ética.



CEP/HC/UFG - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

Goiânia, 05 de agosto de 2012

EMENDA AO PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA, PROTOCOLADO NESTE COMITÊ SOB O Nº: 070/2011

Pesquisador Responsável (Folha de Rosto): ALEXANDRE RORIZ BLUMENSCHIN

-Instituição onde será realizado o estudo: HC/UFG

-Submetido para análise ao CEP/HC/UFG em: 23 de maio de 2012

DOCUMENTOS RECEBIDOS:

Carta ao CEP

Emenda completa sobre a nova metodologia

COMENTÁRIOS:

Esta emenda solicita a aprovação deste Comitê para emenda ao protocolo original. O protocolo foi modificado com o intuito de melhor se adequar às exigências solicitadas por este Comitê. Foram melhorados o manejo e o alojamento dos animais, bem como os procedimentos cirúrgicos supervisionados por médico veterinário.

Condições do pesquisador para a condução da pesquisa (análise curricular): Condizente com o trabalho proposto

Do local de realização: Adequado.

O cronograma proposto foi cumprido e, apesar de ter chegado ao meu conhecimento para análise quando o experimento já tinha acabado, ocorreu dentro do tempo previsto. O que aconteceu foi que ficou em análise com outro parecerista por um tempo muito longo.

Anexo 1- Parecer do Comitê de Ética.



CONCLUSÃO:

Assim que não levaremos em conta a questão do cronograma e consideramos que a emenda não tinha **nenhum óbice ético** que pudesse inviabilizar o estudo, e somos pela aprovação da mesma.


Coordenador do CEP/HCUFG

Anexo 1- Parecer do Comitê de Ética.



PROTOCOLO CEP/HC/UFG N° 070/2011

Goiânia, 05/09/2012

INVESTIGADOR RESPONSÁVEL: Dr. Alexandre Roriz Blumenschein

TÍTULO: Estudo comparativo entre técnicas de preparação de gordura e o uso de plasma rico em plaquetas em enxertos de gordura em ratos

Área Temática: Grupo III

Área de Conhecimento: Ciências da Saúde/Medicina

DOCUMENTO(S) ANALISADO(S):

1. Emenda n° 01 com proposta de modificações na metodologia e cronograma do estudo.

Comunico-lhes que o Comitê de Ética em Pesquisa HC/UFG, analisou os documentos acima referidos. A modificação veio com o intuito de melhor se adequar à exigências, houve melhora no manejo e alojamento dos animais, bem como nos procedimentos cirúrgicos. Não foram observados óbices éticos nas propostas apresentadas e julgamos as justificativas aceitáveis. Estando, portanto, autorizadas as referidas solicitações.


Farm. José Mário Coelho Moraes
Coordenador do CEP/HC/UFG

**Anexo 2- Comprovantes de submissão dos artigos/ aceite para publicação
para artigos ainda não publicados/ um dos artigos publicados**

APÊNDICE 1: (AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA)

Nº do estudo: |_|_|

Avaliação da viabilidade dos enxertos - Escore de pontuação histológica por campo de 400x

Legenda:

Ausente = 0

Mínimo (0 a 25% do campo) = 1

Mínimo a moderado (25% a 50% do campo) = 2

Moderado (50 a 75% do campo) = 3

Abundante (mais que 75% do campo) = 4

- Células gordurosas (adipócitos) intactas e nucleadas - Escore _____

- Área de necrose gordurosa, presença de cistos e/ou vacúolos lipídicos –
Escore ____

- Área de inflamação tecidual, macrófagos e outras células inflamatórias –
Escore ____

- Área de fibrose tecidual – Escore _____