

**AÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS E
SEUS FATORES DE CRESCIMENTO NA
CIRURGIA DOS MICROIMPLANTES CAPILARES**

Carlos Oscar Uebel

Porto Alegre
2006

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CIRURGIA

**AÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS E SEUS
FATORES DE CRESCIMENTO NA CIRURGIA DOS
MICROIMPLANTES CAPILARES**

Carlos Oscar Uebel

*Tese apresentada como requisito para a
obtenção do título de Doutor em Medicina.
Área de concentração Cirurgia.*

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Braga da Silva

Porto Alegre
2006

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

U22a **Uebel, Carlos Oscar**

Ação do plasma rico em plaquetas e seus fatores de crescimento na cirurgia dos microimplantes capilares / Carlos Oscar Uebel; orient. Jefferson Braga da Silva. Porto Alegre: PUCRS, 2006.
116f.: il. tab.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Cirurgia.

1. ALOPECIA. 2. CALVÍCIE/CIRURGIA. 3. CALVÍCIE PADRÃO MASCULINO 4. MICROIMPLANTES CAPILARES. 5. SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO. 6. PDGF. 7. FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS. 8. VEGF. 9. FATOR DE CRESCIMENTO VÁSCULO-ENDOTELIAL. 10. TGF-BETA. 11. FATOR TRANSFORMADOR DO CRESCIMENTO BETA. 12. PLASMA. 13. PLAQUETAS. 14. PLASMA RICO EM PLAQUETAS. 15. FATORES DE CRESCIMENTO PLAQUETÁRIOS. 16. ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES. 17. ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES COM EMPARELHAMENTO. 18. CONTROLE INTERNO-EXTERNO. 19. EPIDEMIOLOGIA EXPERIMENTAL. I. Silva, Jefferson Braga da. II. Título.

C.D.D. 616.546

C.D.U.616.594.1:617-089.843:(043.2)

N.L.M. WR 460

Nunca é tarde demais para começar....

Dedico esta Tese ,

Para minha querida esposa **Walderez**, pelo constante estímulo e por estar sempre ao meu lado.

Para meus filhos **Juliane** e **Paulo**, que são minha inspiração e felicidade maior.

Para meus pais **Nilo** e **Lilly** (*in memoriam*), que me deram a educação e o caráter para fazer a trajetória da minha vida.

Para meu irmão **Paulo Antonio** (*in memoriam*), exemplo de médico que me ensinou e mostrou os caminhos da profissão.

Agradecimentos

- Ao Prof. Dr. Jefferson Braga da Silva, Livre Docente e Professor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da PUCRS, grande incentivador e orientador desta tese.
- Ao Prof. Dr. Pedro Djacir Escobar Martins, Professor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da PUCRS e Chefe do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital São Lucas da PUCRS, colega de Serviço, pelo constante apoio profissional.
- À Profa. Dra. Denise Cantarelli, Professora do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da PUCRS, pelas pesquisas e quantificação dos fatores de crescimento plaquetários.
- Ao Prof. Dr. Mário Wagner, Professor e Orientador do Departamento de Bioestatística da Faculdade de Medicina da PUCRS, pela orientação dos estudos estatísticos desta tese.
- Ao Dr. Jorge Moojen da Silveira, Cirurgião Plástico Assistente e Colaborador de nosso Serviço, pelo eficiente trabalho e meritória contribuição na participação de nossas cirurgias experimentais.
- Aos Auxiliares de nosso Serviço: Enf. Miriam Terezinha Neumann, Enf. Inês Rossatto, Téc. Enf. Marli Machado, Técnico em Informática Guilherme Giardini Weber e Secretária Maria Augusta de Lima Mariano, pelo incansável trabalho de colaboração nas cirurgias, nas pesquisas, na computação gráfica e atendimento aos pacientes.
- À Profa. Maria do Horto Motta, pelo planejamento e criteriosa correção ortográfica desta tese.
- À Rosária Maria Lúcia Prena Geremia, bibliotecária da Faculdade de Medicina da PUCRS, pela organização das referências bibliográficas.
- Ao desenhista Jair Tambeiro, pela criação das ilustrações originais.
- Aos pacientes, que, com dignidade, colaboraram decisivamente para a elaboração desta tese.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVO	24
3	REFERENCIAL TEÓRICO	26
	3.1 Embriogênese e Anatomia da Unidade Capilar	26
	3.2 Células-Tronco Capilares	30
	3.3 Ciclo do Crescimento Capilar	33
	3.4 Plasma Rico em Plaquetas e seus Fatores de Crescimento	35
	3.5 Ciclo de Crescimento no Microimplante Capilar	40
4	PACIENTES E MÉTODOS	44
	4.1 Delineamento	44
	4.2 Critérios de Seleção	45
	4.3 Aspectos Éticos e Termo de Consentimento Informado	45
	4.4 Protocolo Cirúrgico	45
	4.4.1 Obtenção do Plasma Rico em Plaquetas	46
	4.4.2 Obtenção dos Microimplantes Capilares	52
	4.4.3 Implantação dos Microimplantes Capilares e Pós-Operatório	54
	4.5 Tamanho de Amostra	56
	4.6 Análise Estatística	56
5	RESULTADOS	58
6	DISCUSSÃO	66
7	CONCLUSÃO	72
8	REFERÊNCIAS	74
ANEXOS		
1.	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS	82
2.	Termo de Consentimento Informado	84
3.	Banco de Dados - Avaliação dos Pacientes	87
4.	Aprovação para Publicação do Artigo no <i>Plastic and Reconstructive Surgery Journal</i> – Novembro 2006	111
5.	Certificado de <i>Best Scientific Presentation</i> – ASAPS, New Orleans, maio, 2005	114

Lista de Abreviaturas

%	Percentual
≥	Maior ou igual
Δ%	Delta percentual
±	Mais ou menos
α	Alfa
ASAPS	Sociedade Americana de Cirurgia Plástica Estética
cm	Centímetro
EDTA-K3	Etilenodiaminotetracético – tripotássico
ELISA	<i>Enzyme linked imuno sorbent assay</i>
FC	Folículo capilar
FCP	Fatores de crescimento plaquetários
g/ml	Grama/mililitro
IC95%	Intervalo de confiança
KDA	Quilodalton (molecular weight)
mg	Miligrama
MIC	Microimplante capilar
n	Número
n ^o	Número
PDGF	Platelet-derived growth factor
pg/ml	Picograma/mililitro
PN	Plasma normal
PRP	Plasma rico em plaquetas
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
rpm	Rotações por minuto
TGF-beta	Transforming growth factor-beta
UC	Unidade capilar
UF	Unidade folicular
USA	United States of America
VEGF	Vascular endotelial growth factor
VPF	Vascular permeability factor

Lista de Tabelas

Tabela 1	Análise e quantificação dos FCPs utilizando teste de ELISA com limite de detecção de 7,8 pg/ml. PRP obtido com anticoagulante EDTA-K3.....	38
Tabela 2	Análise laboratorial da contagem de plaquetas do PN e do PRP dos 23 pacientes em estudo.....	49
Tabela 3	Quantificação dos fatores de crescimento PDGF, VEGF e TGF-beta a partir do PN e rico em plaquetas em 5 pacientes do presente estudo (teste de Elisa com limite de detecção 7,8 pg/ml).....	50
Tabela 4	Idade, número de microimplantes implantados no total e crescidos nas áreas controle e experimental com plasma rico em plaquetas (PRP) expressos por cm ² , e respectivas porcentagens de rendimento.	59

Lista de Figuras

- Figura 1** Embriogênese da UC pela interação de células mesenquimais e epidérmicas com a formação do broto capilar e individualização de todas suas estruturas histológicas27
- Figura 2** Anatomia da UC adulta, em sua fase anágena, mostrando o músculo-pêlo-erector, as glândulas sebáceas e o FC com seu bulbo e papila dérmica. Entre a inserção do músculo-pêlo-erector e do istmo das glândulas sebáceas encontra-se o *bulge* onde residem as células-tronco capilares28
- Figura 3** UC com dois folículos em fase adulta (anágena), um *vellus capilar* (anágena jovem), apêndices atróficos de apoptose capilar (catágena), 2 glândulas sebáceas, músculo-pelo-erector e o *perifoliculum* envolvendo toda a unidade29
- Figura 4** Vários cortes histológicos transversais realizados em couro cabeludo mostrando as UCs em suas várias formas. a) múltiplas UCs contendo FCs, glândulas sebáceas e envoltas pelo *perifoliculum* e com pouco tecido conjuntivo, o que demonstra boa densidade capilar (He x 50). b) UC bem estruturada mostrando FCs na fase anágena, *vellus* capilares e glândulas sebáceas (HE x 200). c) UC onde se evidencia o músculo-pêlo-erector envolvendo um FC (HE x 200). d) corte mostrando o espessamento da região do *bulge* onde se encontram as células-tronco e o istmo da glândula sebácea penetrando no FC (HE x 300)29
- Figura 5** A região do *bulge*, com suas células-tronco, permanece intacta durante as três fases do ciclo capilar, permitindo com isso a contínua regeneração do FC32
- Figura 6** Ciclo do crescimento capilar. Anágena - que é a fase adulta mais encontrada em pacientes não calvos, com duração de 2 a 8 anos. Catágena - onde ocorre a abrupta apoptose com interrupção das mitoses num período de 2 a 3 semanas, com involução e queda do FC. Telógena - fase latente onde ocorre o acoplamento das células matriciais com as células-tronco do *bulge*; duração de 3 a 4 meses. Anágena Jovem - surge o novo FC33

Figura 7	Os FCPs atuam nas células-tronco situadas na região do <i>bulge</i> , através do seus receptores, que vão interagir num processo biomolecular dentro do núcleo, iniciando com isto o processo de replicação celular.....	36
Figura 8	O gráfico mostra altas concentrações de TGF-beta, acima de 2.000 pg/ml, obtidos a partir de PRP com anticoagulante EDTA. Nestes picos de concentração o TGF-beta passa a ter ação inibitória no crescimento capilar.....	39
Figura 9	Paciente de 44 anos, portador de calvície do tipo padrão, onde se observa o efeito inibitório do TGF-beta sobre o crescimento capilar. A direita do paciente, onde se implantaram MICs com PRP em alta concentração de 1.340.000 plaquetas e TGF-beta – 2.295 pg/ml, houve rendimento de apenas 41%.....	39
Figura 10	Seqüência do ciclo de crescimento dos MICs. a) pós-operatório de 5 dias com formação de crostas e crescimento capilar de 1/2 cm. b) 21 dias após ocorre a apoptose com queda dos MICs, permanecendo alguns na fase anágena. c) 90 dias após inicia-se a nova fase anágena com crescimento lento e gradual dos MICs. d) 7 meses após, quando todos os MICs, considerados viáveis, já devam ter germinado.....	41
Figura 11	MICs embebidos em PRP sendo implantados na região calva. Os FCPs atuam nas células-tronco da região do <i>bulge</i> interagindo com seus receptores nucleares e também no aporte de novos fibroblastos e eosinófilos. Uma angiogênese com formação de um rico sistema microcirculatório permite o aporte de nutrientes e condições adequadas para a integração e crescimento da nova UC.....	42
Figura 12	Delineamento de duas áreas calvas de 2,5 cm X 2,5 cm. a) No lado direito do paciente, serão implantados os MICs com PRP. b) No lado esquerdo, os MICs denominados de controle.....	44
Figura 13	Coleta de sangue total no pré-operatório em 8 frascos de 10 ml contendo citrato de sódio a 3,2% como anticoagulante. Centrifugação a 1.000 rpm durante 10 minutos e obtenção de PN.....	47
Figura 14	Transferência do PN para 4 frascos e centrifugação a 5.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante, que é o plasma pobre em plaquetas, é eliminado, e 1 ml da parte profunda, considerado o PRP, é transferido, de cada frasco, para uma cuba esterilizada onde serão adicionados os MICs já individualizados. Observam-se algumas hemácias e uma porção esbranquiçada que são os leucócitos.....	47

Figura 15	Após 15 minutos em contato com o PRP e seus fatores de crescimento, adicionam-se 10 gotas de cloreto de cálcio a 10% para a formação da fibrina em forma de gel. Os MICs estão selados e prontos para serem implantados	48
Figura 16	O gráfico mostra a compilação dos dados com a curva das plaquetas do PN e das plaquetas do PRP obtidas a partir do sangue total de 23 pacientes utilizando-se anticoagulante citrato de sódio a 3,2%.....	50
Figura 17	Os gráficos mostram as concentrações dos três mais importantes FCPs que atuam no crescimento capilar. Observa-se que o PDGF tem uma grande expressão para o estímulo das mitoses e que o TGF-beta não atingiu seu pico inibitório de 2.000 pg/ml.....	51
Figura 18	Várias fases da identificação e quantificação dos fatores de crescimento PDGF, VEGF e TGF-beta, utilizando-se o teste de Elisa com limite de detecção de 7,8 pg/ml.....	51
Figura 19	Elipse de couro cabeludo sendo removida da região da nuca onde se situam as melhores unidades histológicas e genéticas de MICs. A quantidade de MICs a serem extraídos dependerá da extensão da área de calvície a ser tratada.....	52
Figura 20	A elipse de couro cabeludo é colocada sobre uma superfície de madeira ou acrílica e separada em tiras de 5 milímetros de espessura. De acordo com o protocolo cirúrgico, tomou-se a porção central da elipse de onde se prepararam os MICs sob visão estereoscópica em dois grupos iguais – os que irão ser embebidos no PRP e os que irão ser mantidos úmidos com soro fisiológico, considerados controle.....	53
Figura 21	Implantação dos MICs, selados pelo PRP, na área delineada à direita do paciente e dos MICs, considerados controle, no lado esquerdo. Ambas as áreas foram implantadas sempre com o mesmo número de MICs.....	54
Figura 22	Curativo cirúrgico - gases umedecidas em soro fisiológico são aplicadas, e uma bandagem elástica permanece por 24 horas.....	55
Figura 23	Método de aferição do número de MICs exteriorizados após 7 meses de pós-operatório, identificando-se a área de 2,5 cm x 2,5 cm demarcada com pontos de nanquim. São separados em fileiras e contados com auxílio de lente de aumento 3x	58

Figura 24	Gráfico de linhas mostrando o número total de MICs por cm ² , as contagens obtidas nos grupos experimental com PRP e controle na técnica convencional, seguido de tabela de resumo apresentando o efeito global do tratamento, intervalo de confiança (IC95%) e a significância estatística (P).....	60
Figura 25	Paciente nº 10 da tabela 4, de 48 anos, portador de calvície do tipo padrão, mostrando à sua direita uma densidade de 52,7% a mais do que no lado esquerdo	61
Figura 26	Paciente nº 6 da tabela 4, de 50 anos, mostrando uma eficiência de 14,2% no lado direito.....	62
Figura 27	Paciente nº 2 da tabela 4, de 45 anos, com eficiência de apenas 3,9% no crescimento capilar.....	62
Figura 28	Paciente nº 4 da tabela 4, de 39 anos, em que se observa, já a partir do 4º mês, uma maior densidade capilar no seu lado direito e, no sétimo mês, uma densidade de 29,3% a mais do que no lado esquerdo	63
Figura 29	Gráfico de dispersão de pontos entre a concentração do PRP e o aumento na densidade capilar relativa da comparação dos lados tratado (PRP) e controle.....	64
Figura 30	Paciente nº 5, de 31 anos, num estudo comparativo com imagem digital mostrando uma densidade de 29% maior no lado direito. No método de contagem direta verificou-se um aumento de 30,4% o que permite a semelhança entre ambos os métodos de aferição	70

RESUMO

RESUMO

Introdução e Objetivos:

A cirurgia com a utilização dos microimplantes capilares (MICs) tem sido adotada amplamente no tratamento da calvície masculina e feminina. A integração destes microenxertos pode variar entre 70% a 85% e, embora todos os cuidados sejam tomados desde sua obtenção na área doadora até sua preparação e implantação na área calva, é necessário levar em conta a apoptose e a necrose como fatores que interferem neste processo. Considerando esta perda como relevante na cirurgia da calvície, estabeleceu-se um trabalho experimental utilizando o plasma rico em plaquetas (PRP) e seus fatores de crescimento, obtido do próprio sangue do paciente, no intuito de estimular a integração e o crescimento dos MICs. A exemplo de outros trabalhos publicados com PRP e seus fatores plaquetários, sobretudo nas áreas da traumatologia, odontologia, maxilofacial e na cirurgia plástica, acreditou-se neste protocolo cirúrgico como uma nova contribuição para a cirurgia da calvície com a utilização dos MICs.

Material e Métodos

Foram selecionados 23 pacientes masculinos portadores de calvície do tipo padrão, na faixa etária de 22 a 55 anos, para um trabalho experimental de controle interno, emparelhado, em que cada paciente serviu como seu próprio controle. Delinearam-se duas áreas calvas de 2,5 cm x 2,5 cm em que, à direita do paciente, se implantaram os MICs embebidos em PRP com seus fatores de crescimento e, à esquerda, os MICs considerados controles. Ao final de 7 meses de pós-operatório realizou-se a contagem definitiva dos microimplantes desenvolvidos. Os dados quantitativos foram descritos com média e desvio padrão. A comparação do lado controle com o lado experimental foi realizada por teste *t* de *Student* para amostras emparelhadas. Foi também estimado o efeito do método experimental sobre o controle através da diferença média entre o número de MICs dos dois lados seguido

de seu intervalo de confiança de 95%. Os dados foram processados e analisados com o auxílio do programa SPSS versão 12.0.

Resultados

Na comparação da contagem de MICs entre o lado experimental tratado com PRP e seus FCs e o lado controle, foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$). O lado esquerdo, considerado controle, teve um crescimento médio de 16,7 MICs/cm² enquanto o lado direito, onde se utilizou o PRP, teve um crescimento de 18,9 MICs/cm². Isto representou uma diferença de 13,6% a maior na densidade capilar. Alguns pacientes tiveram diferenças menores do que 5% e outros foram considerados casos excepcionais, com 31% e 52% de aumento na densidade capilar. Esta variabilidade deve ser considerada com cautela e novos estudos deverão ser estabelecidos observando-se também idade, fumo, exercícios físicos e dieta alimentar.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, houve um rendimento considerável superior de 13,6% no lado direito onde se utilizaram os MICs embebidos no PRP e seus FCPs. Houve eficácia e integração melhores, resultando num maior número de folículos e numa maior densidade capilar, o que trouxe um resultado positivo na cirurgia da calvície masculina do tipo padrão com o uso do PRP e seus FCPs.

Palavras-Chave: Alopecia, calvície padrão masculino, calvície/cirurgia, controle interno-externo, epidemiologia experimental, estudos de casos e controles com emparelhamento, estudos de casos e controles, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento vaso-endotelial, fator transformador do crescimento beta, fatores de crescimento plaquetários, microimplantes capilares, PDGF, plaquetas, plasma, plasma rico em plaquetas, substâncias de crescimento, TGF-beta, VEGF.

ABSTRACT

ABSTRACT

Introduction and Objectives

Follicular Units are commonly used in baldness surgery, and they have become a global procedure for both male and female patients. The micrografts yield varies between 70 to 85% and even we handle carefully to harvest and prepare it from the donor area and doing the implantation procedure under strict protocol, we need to consider to *apoptosis* and *necrosis* the main subjects that can interfere in this procedure. In order to improve hair density and stimulate follicular unit growth, an experimental study has been designed using platelet rich plasma with their growth factors obtained from the patient's autologous blood. According to scientific papers published in this area, mainly in the areas as traumatology, odontology, maxilo-facial and plastic surgery we intended to bring a new contribution to the follicular units baldness surgery.

Material and Methods

The amount of twenty three patients was selected with male pattern baldness in between 22 to 55 years old and delineated a paired scientific protocol within subjects design. Experimental and control baldness areas of 2.5 cm x 2.5 cm have been compared and defined that at the right side of the patient they should be implanted follicular units imbided with platelet rich plasma and its growth factors and at the left side the follicular units considered controls. By the end of seven months when all the follicular units were grown it was done the counting of it.

The data was summarized using mean and standard deviation. To compare the two procedures involved we used the paired Student t-test, since data showed a Gaussian

distribution. Analyses were performed using SPSS version 12.0. Significance level was set to alpha 0.05.

Results

There was a statistically significant difference observed in the yield of follicular units when comparing the two groups ($P < 0.001$). The experimental group with the platelet rich plasma with the growth factors showed a density of 18.9 FU/ per cm^2 while the control group showed 16.7 FU/ per cm^2 represented a 13.6% increase in the capillary density. Some patients have experienced less than 5% while others, considered exceptionals, showed 31% and 52% increase of follicular units yields. These variabilities should be observed with caution and new researches should be established regarding age, smoking, exercises and food diet.

Conclusion

According the obtained results a considerable effect of 13.6% was observed in the right side where has been used follicular units embibed with platelet rich plasma with growth factors. It has been an efficiency and a better yield resulting in more follicles and in more hair density that brought a positive result for the male pattern baldness surgery with platelet rich plasma and their growth factors.

Key Words: Alopecia, male pattern baldness, alopecia/surgery, blood platelets, case-control studies, epidemiology, experimental, follicular units, growth substances, hair micrografts, internal-external control, PDGF, plasma, platelet derived growth factor, platelet rich plasma, TGF-beta, transforming growth factor beta, vascular endothelial growth, factor, VEGF.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A cirurgia com a utilização de microimplantes capilares (MIC) tem sido adotada amplamente no tratamento da calvície masculina e feminina. Os primeiros trabalhos surgiram na década de 1980 com as publicações de Nordström (1) e Marrit (2), que empregaram os MICs para correção de cicatrizes e seqüelas de queimaduras do couro cabeludo. Esses autores, a partir dos tufos de Orentreich (3), largamente empregados até então para correções de alopecias e que continham ao redor de 8 a 12 folículos capilares, os fracionaram em pequenos enxertos contendo de 2 a 4 folículos e os implantaram naquelas regiões afetadas, para melhorar o aspecto estético e evitar a aparência indesejável dos tufos. Posteriormente, Uebel apresentou pela primeira vez em 1989 e publicou em 1991 (4, 5) um trabalho sobre a utilização dos MICs no tratamento cirúrgico da calvície. Era mostrada à literatura médica mundial uma nova técnica que possibilitava captar e separar grandes quantidades de folículos capilares da região posterior da nuca e transplantá-las para a região calva através de microincisões puntiformes. Essas megassessões permitiram conferir ao paciente maior densidade capilar e resultado estético muito mais natural. A partir de então, a cirurgia da calvície adquiriu um novo impulso e foi adotada em vários centros mundiais como técnica de referência tanto para a calvície masculina como para a feminina (6 - 9).

O MIC leva consigo toda a qualidade genética da área doadora, transferindo à área calva implantada a mesma qualidade de crescimento e durabilidade, fator já estudado por Orentreich em 1959 (3) e Stenn em 1996 (10). Entretanto, alguns dos MICs não chegam a germinar, ocorrendo uma perda de 15% a 30% devido à necrose, à apoptose e a sua absorção pelo próprio couro cabeludo (11-13). Considerando esta perda de grande importância na cirurgia da calvície, procurou-se desenvolver um trabalho experimental com a utilização

do PRP e seus fatores de crescimento plaquetários (FCP) obtidos do próprio sangue do paciente, no intuito de estimular a integração e o crescimento dos MICs.

2 OBJETIVO

2 OBJETIVO

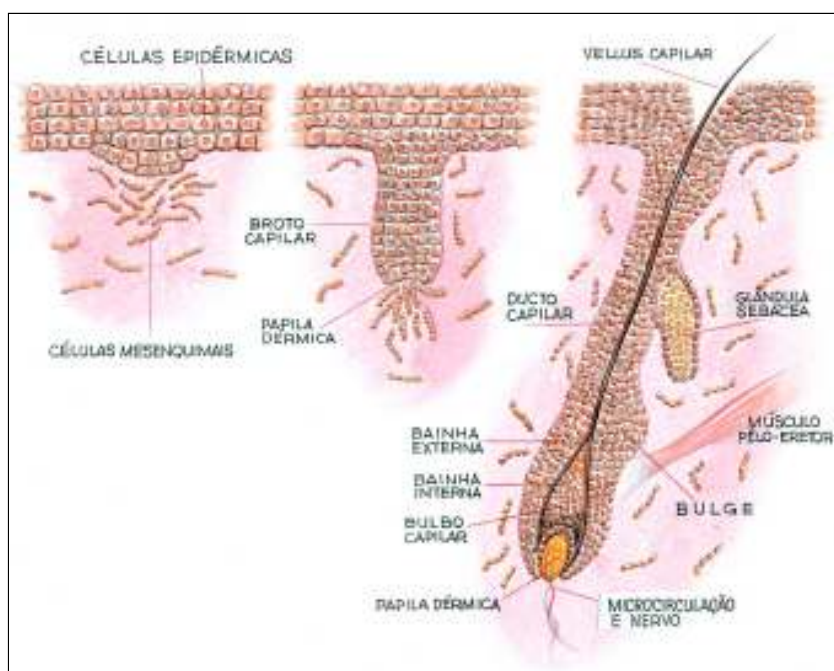
Verificar a eficácia do plasma rico em plaquetas e seus fatores de crescimento, obtido do sangue do próprio paciente, no aumento da integração e crescimento dos microimplantes capilares na cirurgia da calvície masculina do tipo padrão.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Embriogênese e Anatomia da Unidade Capilar

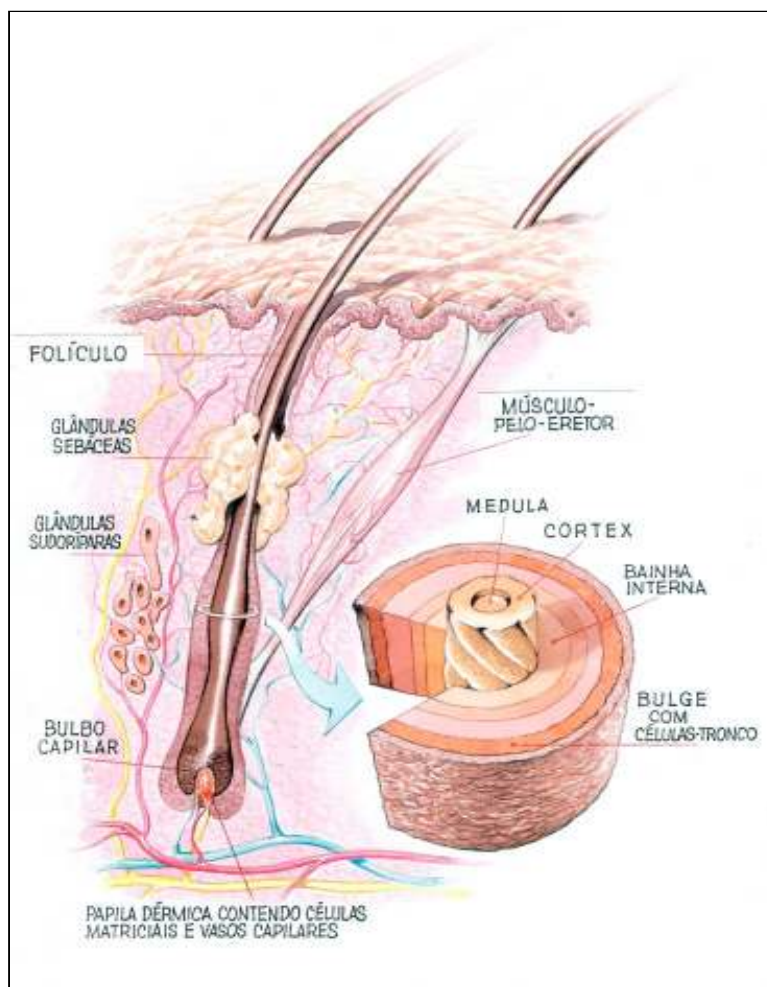
O ciclo do crescimento da unidade capilar (UC) ocorre já a partir da 6^a semana embrionária (14). Um grupo de células epiteliais se invaginam e, em contato com células mesenquimais, se diferenciam dando origem ao broto capilar. Vasos capilares e terminações nervosas se diferenciam e fornecem o suporte necessário para sua vitalidade. Sua expansão com células matriciais e melanoblastos forma o bulbo capilar que vai dar origem ao fio do cabelo, também denominado de folículo capilar (FC) como produto final da queratinização de suas células. Forma-se um canal delineado por duas bainhas – a externa e interna – que vão fornecer a estrutura necessária para a passagem do folículo e a implantação das glândulas sebáceas e do músculo-pêlo-erector que, como o nome indica, faz a ereção do pêlo (Figura 1).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 1 - Embriogênese da UC pela interação de células mesenquimais e epidérmicas com a formação do broto capilar e individualização de todas suas estruturas histológicas.

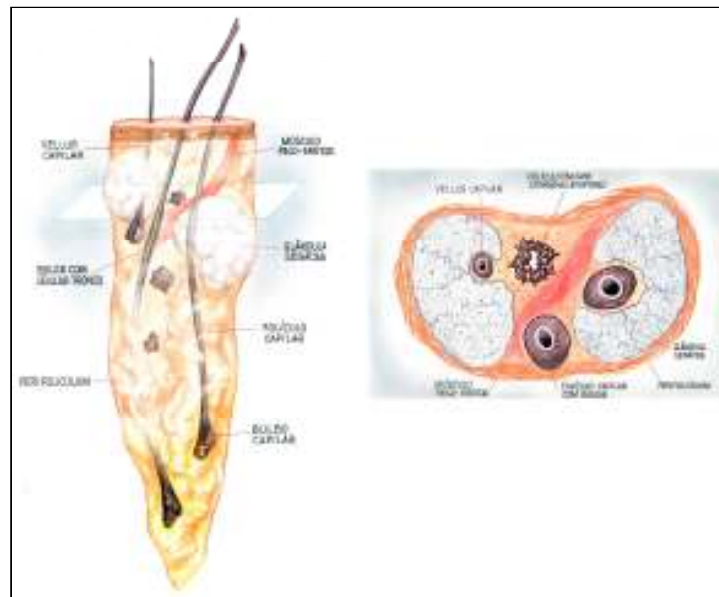
Os melanoblastos se transformam em melanócitos, que são responsáveis pela cor do cabelo, sendo as glândulas sebáceas responsáveis pela lubrificação do pêlo. A bainha externa abriga uma série de células de origem epitelial em um nicho denominado de *bulge*, descrito por Cotsarelis em 1990 (11), que se localiza abaixo das glândulas sebáceas próximo à inserção do músculo-pêlo-erector. É um reservatório rico em células-tronco, também denominadas de queratinócitos, de origem ectodérmica e responsáveis pela interação genética do ciclo capilar. Aí também há uma grande expressão de fatores de crescimento, também denominados de citocinas pelos imunologistas e hematologistas (15), e de células epiteliais que dão suporte à regeneração epidérmica da pele e das glândulas sebáceas (Figura 2).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 2 - Anatomia da UC adulta, em sua fase anágena, mostrando o músculo-pêlo-erector, as glândulas sebáceas e o FC com seu bulbo e papila dérmica. Entre a inserção do músculo-pêlo-erector e do istmo das glândulas sebáceas encontra-se o *bulge* onde residem as células-tronco capilares.

Ao conjunto de todas estas estruturas dá-se o nome de UC, de unidade pilossebácea ou simplesmente de unidade folicular (UF) (Figura 3). Descrita por Headginton em 1984 (16), através de cortes histológicos transversais de couro cabeludo, é uma unidade anatômica de origem ectodérmica e mesodérmica que contém de um a três folículos capilares, o *vellus* (forma jovem do folículo), a glândula sebácea (que pode ser mais de uma), o músculo-pêlo-erector e o *perifolliculum* – uma bainha de tecido conjuntivo – que lhe dá proteção e estrutura (Figura 4 a, b, c, d). São estas unidades que serão colhidas da região cervical posterior e utilizadas como MICs.



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 3 - UC com dois folículos em fase adulta (anágena), um *vellus capilar* (anágena jovem), apêndices atróficos de apoptose capilar (catágena), 2 glândulas sebáceas, músculo-pelo-erector e o *perifoliculum* envolvendo toda a unidade.

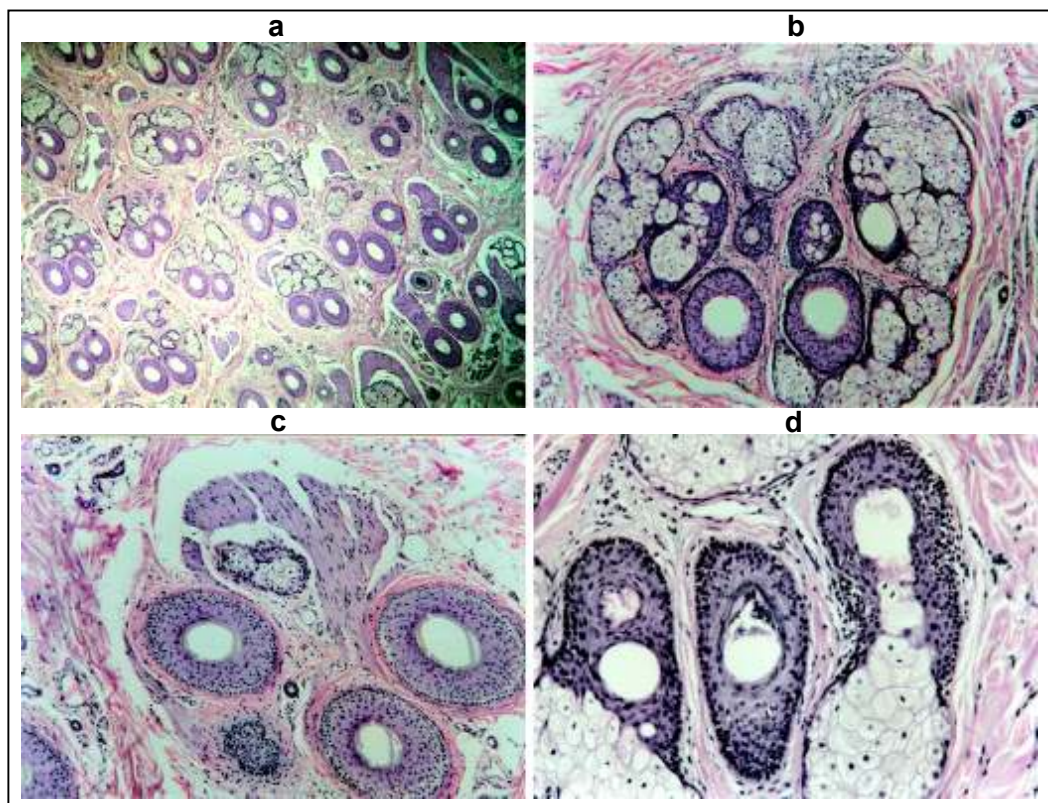


Figura 4 - Vários cortes histológicos transversais realizados em couro cabeludo mostrando as UCs em suas várias formas. a) múltiplas UCs contendo FCs, glândulas sebáceas e envoltas pelo *perifoliculum* e com pouco tecido conjuntivo, o que demonstra boa densidade capilar (He x 50). b) UC bem estruturada mostrando FCs na fase anágena, *vellus* capilares e glândulas sebáceas (HE x 200). c) UC onde se evidencia o músculo-pêlo-erector envolvendo um FC (HE x 200). d) corte mostrando o espessamento da região do *bulge* onde se encontram as células-tronco e o istmo da glândula sebácea penetrando no FC (HE x 300). (cortes histológicos realizados pelo autor).

Ao nascer, temos aproximadamente 5 milhões destas estruturas distribuídas por quase toda a superfície do corpo. Este número não aumenta mais, entretanto pode se diferenciar ao longo da vida por estímulos hormonais, como os pêlos pubianos, os da barba e os do couro cabeludo.

O pêlo tem uma função sensorial, termorreguladora e imunológica em nosso organismo (17). O simples estímulo mecânico em sua superfície ativa o sistema neuro receptor transmitindo as informações aos sistema nervoso central, podendo-se com isto perceber a aproximação de objetos e vibrações. Os pêlos exercem uma função protetora aos estímulos térmicos do frio e do calor. As ondas ultravioletas têm mais dificuldade em atingir a pele provida com pelos. O cabelo protege e previne o aparecimento de lesões actínicas e cancerígenas em nossa superfície corporal.

Os receptores de fatores de crescimento, as células de Langerhans (18) e as células de Merkel (19), encontrados todos na bainha externa do folículo, são responsáveis pela defesa e ativação imunológica quando de uma lesão na pele quer de ordem traumática ou degenerativa. São estas células de origem ectodérmica, junto com os melanoblastos, que vão reepitelizar uma superfície cruenta e atuar como agentes protetores do complexo sistema imunológico da pele (17). E é no *bulge* também onde se encontra a fonte vital e germinativa de a toda UC capaz de perpetuar o crescimento do cabelo ao longo da vida. É aí que se identificam as células-tronco que são a fonte de todas as células responsáveis pela formação da estrutura capilar (20).

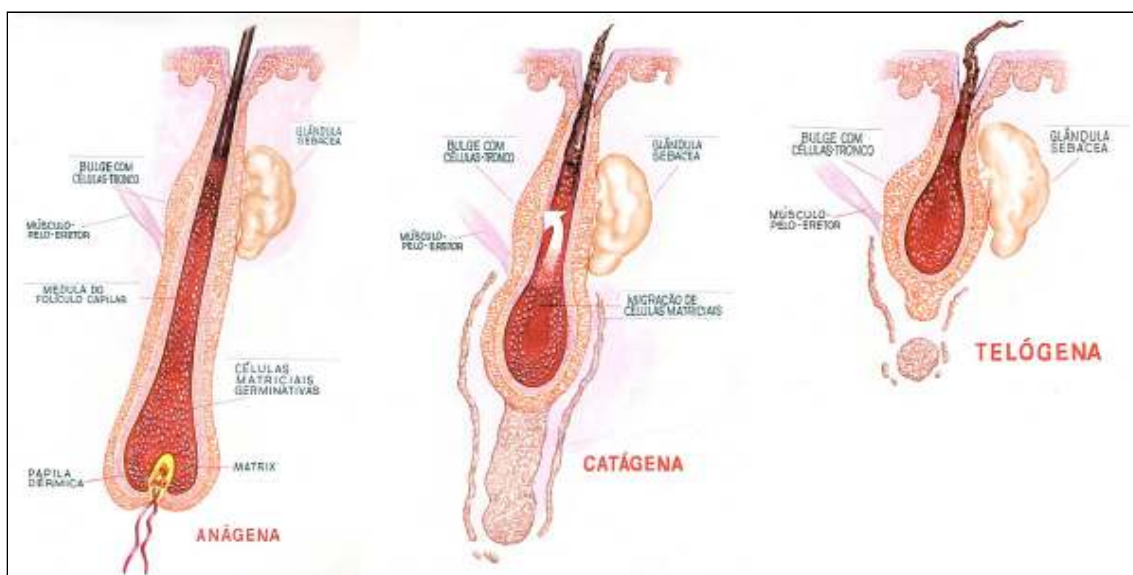
3.2 Células-Tronco Capilares

Toda a estrutura celular que periodicamente renova a si própria depende de células-tronco, células que detêm a habilidade de se dividir ao longo da vida e regenerar sua estrutura. São características destas células, seu lento ciclo de divisão e sua habilidade em gerar

células e tecidos em resposta a estímulos. São consideradas primitivas tanto sob o ponto de vista bioquímico como morfológico. Localizam-se em áreas bem protegidas, bem vascularizadas e bem definidas, com propriedades bem indiferenciadas (14).

No FC a idéia era de que as células-tronco sempre estivessem na região do bulbo onde estariam ocorrendo as divisões celulares. Entretanto, Chase, em seu trabalho de 1954 (21), já postulava que células da região da parte superior da bainha externa poderiam, na presença de células da papila dérmica, desenvolver o broto capilar e glândulas sebáceas. Estas células foram então localizadas entre a região do istmo da glândula sebácea e a inserção do músculo-pêlo-erector, formando um nicho que passou a ser chamado de *bulge* (11), uma área bem protegida e bem nutrida. Constatou-se que estas células são ricas em queratinas e fatores de crescimento, também denominados de citocinas pelos imunologistas e de polipeptídios pelos biólogos (20). Muito importante foi o achado dos receptores destes polipeptídios também no tecido conjuntivo que envolve esta estrutura – no *perifolliculum* com evidências maiores para o PDGF (*platelet-derived growth factor*), o VEGF (*vascular endothelial growth factor*) e o TGF-beta (*transforming growth factor-beta*) (22).

A região do *bulge* capilar foi por alguns anos negligenciada até que Cotsarelis *et al.* (11), em 1990, publicaram a existência de células-tronco nesta formação histológica. Estas células têm a capacidade de se autodividir durante a vida e permitir a contínua regeneração da UC e, o que é muito importante, – permanecem intactas em todas as fases do crescimento capilar (Figura 5).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 5 - A região do *bulge*, com suas células-tronco, permanece intacta durante as três fases do ciclo capilar, permitindo com isso a contínua regeneração do FC.

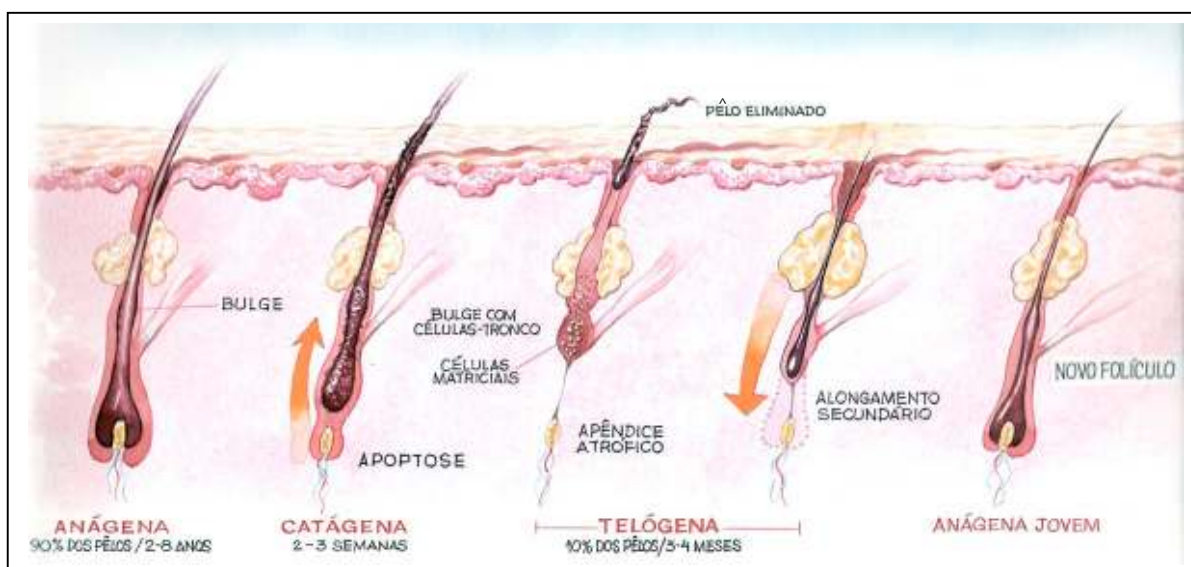
Em algumas alopecias cicatriciais e no líquen plano ocorre a destruição do *bulge* junto com suas células-tronco, acarretando com isso uma alopecia definitiva. Além disso, estas células-tronco são responsáveis pela reepitelização em feridas e traumas cutâneos através de suas intensas mitoses e reprodução celular. Esta função multipotente foi descrita por Lavker *et al.* (20) na regeneração da epiderme, das glândulas sebáceas e do próprio FC. Vários trabalhos sustentaram esta hipótese da interação das células-tronco e fatores de crescimento com as células matriciais da papila dérmica permitindo o contínuo ciclo capilar (23 - 25).

Commo *et al.* (22) publicaram em 2000 um trabalho sobre a identificação das células-tronco na região do *bulge* utilizando marcadores e exames imunoistoquímicos e, mais recentemente, foram detectadas por Ohyama *et al.* (26) através de microdissecções a laser em cortes transversais do couro cabeludo. Esses autores identificaram 21 genes responsáveis pela proliferação capilar e apresentaram um estudo mais completo desta região mostrando a importância dos seus marcadores genéticos nos processos degenerativos do câncer de pele

e do fator de crescimento plaquetário PDGF como um dos fatores mais importantes no crescimento do cabelo e que poderia ter eficácia no tratamento da calvície.

3.3 Ciclo do Crescimento Capilar

O FC é uma das poucas estruturas que pode ser regenerada ao longo da vida dentro de um ciclo único e próprio porque tem em sua estrutura suas próprias células-tronco e uma expressão genética e dinâmica bem definida. Este ciclo foi descrito em 1926 por Dry (27) e posteriormente, em 1954, detalhado por Chase (21) e, em 1959, por Kligman (28), ficando conhecido como as FASES DO CICLO CAPILAR (Figura 6).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 6 - Ciclo do crescimento capilar. Anágena - que é a fase adulta mais encontrada em pacientes não calvos, com duração de 2 a 8 anos. Catágena - onde ocorre a abrupta apoptose com interrupção das mitoses num período de 2 a 3 semanas, com involução e queda do FC. Telógena - fase latente onde ocorre o acoplamento das células matriciais com as células-tronco do *bulge*; duração de 3 a 4 meses. Anágena Jovem - surge o novo FC.

- **Fase anágena**

É a forma mais comum encontrada no couro cabeludo de pacientes não calvos. Aproximadamente 90% do cabelo desses indivíduos se encontra nesta fase. Em pacientes calvos esta fase está restrita à região occipital e temporoparietal. É destas áreas que colhemos as UCs a serem utilizadas como MICs (29). Esta fase adulta pode durar de 2 a 8 anos, com crescimento contínuo do FC, até que, por razões ainda não totalmente conhecidas, sabendo-se apenas sofrer forte influência hormonal e genética, entra abruptamente em exaustão, suspendendo suas mitoses e seus estímulos moleculares, quando ocorre a segunda fase, que é a catágena.

- **Fase catágena**

Esta fase dura ao redor de 2 a 3 semanas e é quando acontece a involução programada da UC – a apoptose (30 - 32). Diferentemente da necrose, onde ocorre a eliminação ou absorção completa da UC, aí se dá a regressão do terço inferior, a involução do FC e a permanência do *bulge* com suas células-tronco. A papila dérmica com suas células matriciais se retrai e se aproxima do *bulge* onde irá permanecer entre 3 a 4 meses em uma forma latente denominada fase telógena. Se não houver este acoplamento, como acontece em uma nave com sua estação espacial, o cabelo deixa de existir, sobrevivendo a CALVÍCIE, que se define como a diminuição progressiva e sucessiva das fases anágena e catágena com a miniaturização dos FCs devido à sua predisposição genética e hormonal (33). O mecanismo da calvície mais aceito ainda é o hormonal, descrito por Hamilton (34) que a denominou de “calvície masculina do tipo padrão (male pattern baldness) ou simplesmente calvície padrão”, com a transformação da testosterona em diidrotestosterona pela ação da enzima 5-alfa-redutase e das *caspases*, enzimas oriundas de células mortas (35), inibindo as células matriciais da papila dérmica e com isto fazendo a involução gradativa do FC até sua queda – o *effluvium* telógeno (36), ao contrário da queda do cabelo quando se utilizam drogas antineoplásicas que inibem as células matriciais da papila na fase anágena – denominado de *effluvium* anágeno. Esta última queda é temporária e o cabelo retorna quando

da interrupção da quimioterapia (17). Nas calvícies de origem cicatricial, como as originadas por lúpus eritematoso e líquen plano, ocorre a destruição da parte superior do folículo onde está o *bulge* com as células-tronco, sendo com isso irreversíveis. Nas calvícies de origem inflamatória ou idiopática, como a alopecia areata, a inflamação se dá na região da papila dérmica, podendo ser reversíveis.

- **Fase telógena**

Esta é a fase do repouso ou da latência e dura em torno de 3 a 4 meses. O FC já caiu ou está bastante fino e tênue. A papila dérmica, bastante diminuta, com suas células matriciais, encontra-se logo abaixo da região do *bulge*, preparando-se para reiniciar um lento e progressivo processo de interação com as células-tronco, receptores dos fatores de crescimento e citocinas para o crescimento de um jovem e incipiente folículo, entrando novamente na fase anágena. Por outro lado, os que não tiveram o acoplamento da papila dérmica com o *bulge* não irão se desenvolver, permanecendo atróficos e inertes e serão absorvidos mais tarde pelo próprio organismo, contribuindo assim para a natureza progressiva da calvície (37).

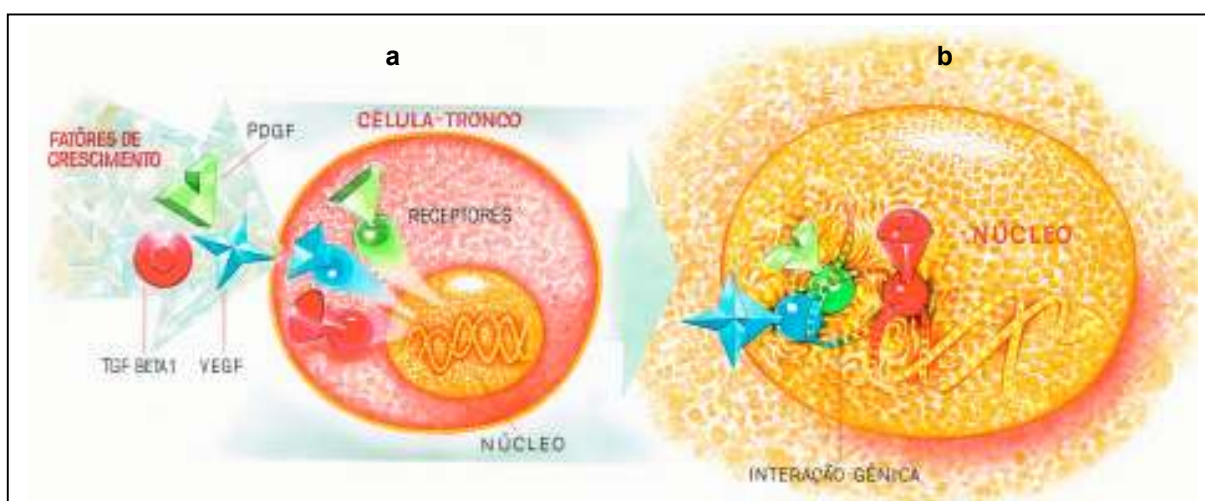
3.4 Plasma Rico em Plaquetas e seus Fatores de Crescimento

Os primeiros trabalhos sobre o PRP e os FCPs datam das décadas de 1970 e 1980 e foram largamente aplicados nos processos de cicatrização de úlceras de compressão e de grandes áreas descoladas (38 - 40). Além de serem usados na reparação e hemostasia de tecidos, os FCPs são também elementos importantes nas osteossínteses e na recomposição de enxertos ósseos utilizados em Traumatologia e Odontologia (41 - 44). Na Cirurgia Plástica Estética, Man *et al.* (45) em 2001, Rumalla e Borah (46) em 2001, Bhanot e Alex (47) em 2002, Chajchir *et al.* em 2005 (48) entre outros (49 - 52), descreveram novas aplicações do PRP e de seus fatores em áreas descoladas da face e cruentas do contorno

corporal. No Brasil, os trabalhos de Rossi e Souza Filho (53) e de Leme *et al.* (54) contribuíram grandemente para a preparação do PRP, principalmente na área da Cirurgia Maxilofacial e Traumatologia.

Os fatores de crescimento, também denominados por alguns autores de citocinas (14) são membros de um grande grupo de polipeptídios secretados por várias moléculas reguladoras do nosso organismo. Atuam como mediadores na maturação celular e como responsáveis pelos processos de reparação de danos teciduais. Têm uma ação importante de angiogênese, aumentando o processo microcirculatório local e ativando vários grupos celulares na integração e vitalidade dos tecidos (55, 56).

São inúmeros os FCPs contidos no plasma sanguíneo, mas três são os que atuam basicamente no ciclo germinativo capilar: o PDGF, o TGF beta-1 e o VEGF. São moléculas protéicas que, em contato com seus respectivos receptores nucleares (Figura 7 a, b), estimulam a angiogênese e a replicação dos tecidos e, como antiinflamatórios, induzem a cicatrização e o crescimento de novas estruturas orgânicas (10, 57). Estes três fatores serão comentados a seguir.



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 7 - Os FCPs atuam nas células-tronco situadas na região do *bulge*, através do seus receptores, que vão interagir num processo biomolecular dentro do núcleo, iniciando com isto o processo de replicação celular.

- ***Platelet-Derived Growth Factor***

Este fator foi descrito em 1979 por Castor *et al.* (58) como um peptídeo plaquetário tendo uma ação mitogênica sobre as células do tecido conjuntivo e dos fibroblastos. É um importante regulador na proliferação e quimiotaxia de células mesenquimais (59). Proteína composta por dois genes distintos em duas correntes 28 e 31 KDA e liberado após a agregação plaquetária (60), estimula de imediato a migração de fibroblastos para a reparação de feridas e perdas de substância tecidual. Também é secretado por macrófagos e estimula a síntese de colágeno. No FC é um dos fatores de crescimento mais ativos – seus receptores estão localizados na região do *bulge* e é responsável pelas contínuas mitoses que fazem crescer o folículo piloso. Interage também durante o acoplamento das células matriciais da papila dérmica com o *bulge* e estimula a reepitelização da pele quando na presença de lesões e perdas de substância tecidual (61, 62).

- ***Vascular Endothelial Growth Factor***

Como o nome indica, este fator está vinculado ao sistema vascular-endotelial. Foi identificado em 1970 por Harold Dvorak (63) com o nome de VPF – *Vascular Permeability Factor*. Tem ação na permeabilidade vascular aumentando a angiogênese e, com isto, incrementando o aporte sanguíneo necessário para o processo de reparação tecidual. Atrai os fibroblastos para o sistema de produção de tecido conjuntivo e participa também na cascata da produção de fibrinogênio em fibrina cuja malha suporta o crescimento de células endoteliais e fibroblastos e na formação de um novo sistema microcirculatório local (64, 65).

- ***Transforming Growth Factor Beta***

Este fator é liberado por macrófagos e fibroblastos, mas é nas plaquetas plasmáticas que se encontra sua maior concentração. O amplo estudo realizado por Assoian *et al.* (66) comprova essa teoria e suporta a hipótese de que o TGF-beta, existente nas plaquetas, exerce ação reparadora e antiinflamatória de lesões e tecidos. Pertence a uma grande família, existindo nas três formas de isômeros: beta 1, beta 2 e beta 3. O TGF-beta 1

é o mais importante, sendo responsável pela maturação celular, migração fibroblástica e síntese de matriz extra-celular. Todos os três isômeros induzem a formação de tecido colágeno e estão presentes em grande quantidade em cicatrizes hipertróficas e queloidianas (14). Ao contrário, em ferimentos de fetos intra-útero onde se pode executar uma reparação sem cicatriz visível, não se identificam níveis de TGF-beta. Em doenças fibrocísticas, como escleroderma e doença pulmonar fibrocística, encontra-se o TGF-beta 1 em níveis mais elevados (14). No FC, o TGF-beta atua diferentemente – estimula o crescimento de células mesenquimais encontradas na papila dérmica, mas inibe a proliferação de células epiteliais e endoteliais quando em níveis elevados (67). Os achados de Soma *et al.* (68) mostram os antagonismos entre o TGF-beta e o PDGF: em certas concentrações, a ação inibitória de TGF-beta é maior do que a ação proliferativa do PDGF. Esta ação foi observada e comprovada pelo autor do presente trabalho ao estudar um grupo de 7 pacientes submetidos a MICs embebidos em altas concentrações de PRP obtidos da centrifugação de plasma com anticoagulante EDTA-K3[®] (etilenodiaminotetracético – tripotássico – Vacuette, USA) (69) (Tabela 1 e Figura 8).

Tabela 1 - Análise e quantificação dos FCPs utilizando teste de ELISA com limite de detecção de 7,8 pg/ml. PRP obtido com anticoagulante EDTA-K3

Nº	Plaquetas nº		PDGF g/ml		VEGF pg/ml		TGF pg/ml	
	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP
1	233.000	1.109.000	5.770,3	8.040,5	223,7	516,1	1.803	1.967
2	198.000	1.393.000	6.905,4	14.603,4	596,8	1.777,8	1.180	2.574
3	246.000	1.174.000	6.432,4	15.448,3	516,1	2642	1.623	2.754
4	178.000	1.340.000	8.040,5	16.775,9	564,5	2.765,4	1.409	2.295
5	216.000	1.246.000	13.275,9	21.844,8	3.209,9	5679	1.443	2.885
6	182.000	1.154.000	6.148,6	11.344,8	1.137,3	2.888,9	1.606	2.115
7	260.000	1.231.000	7.662,1	16.413,8	811,3	3.308,6	1.525	2.311

FCP – Fatores de crescimento plaquetários; PDGF – *platelet-derived growth factor*; VEGF – *vascular endothelial growth factor*; TGF – *transforming growth factor*; PRP – plasma rico em plaquetas; EDTA-K3 – etilenodiaminotetracético – tripotássico; pg/ml – picograma/mililitro.

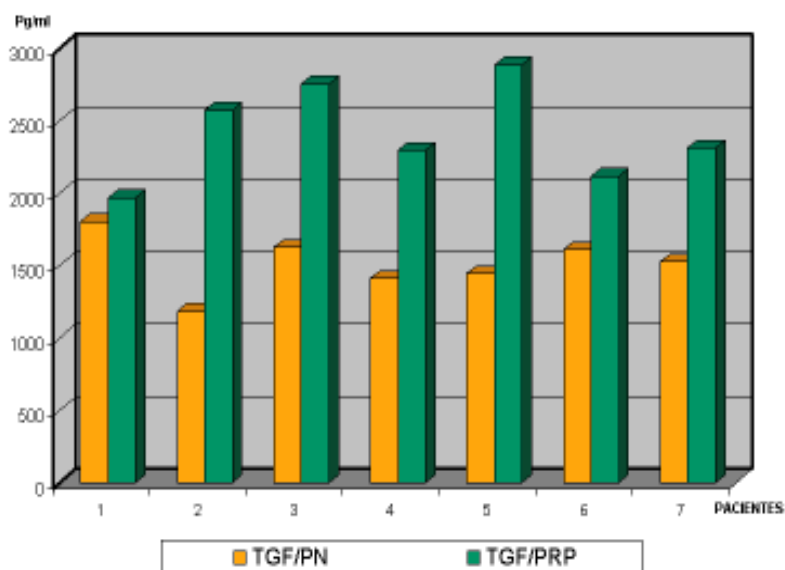


Figura 8 - O gráfico mostra altas concentrações de TGF-beta, acima de 2.000 pg/ml, obtidos a partir de PRP com anticoagulante EDTA. Nestes picos de concentração o TGF-beta passa a ter ação inibitória no crescimento capilar.

Foram atingidas concentrações de plaquetas 5 a 6 vezes maiores do que as obtidas com o anticoagulante citrato de sódio a 3,2%, objeto desse trabalho maior realizado com 23 pacientes. Os picos de TGF-beta acima de 2.000 pg/ml mostraram claramente a ação inibitória sobre o crescimento capilar (Figura 9).



Figura 9 - Paciente de 44 anos, portador de calvície do tipo padrão, onde se observa o efeito inibitório do TGF-beta sobre o crescimento capilar. A direita do paciente, onde se implantaram MICs com PRP em alta concentração de 1.340.000 plaquetas e TGF-beta – 2.295 pg/ml, houve rendimento de apenas 41% do total de implantados (paciente nº 4 da Tabela 1).

A natureza antagonista e inibitória do TGF-beta deve ser considerada quando aplicado como agente terapêutico em feridas operatórias, neoplásicas e talvez, no futuro, como importante elemento coadjuvante na eliminação de pêlos indesejáveis, como os das axilas, buço e região inguinal.

A ação dos fatores de crescimento no ciclo germinativo capilar já foi bastante estudada tanto na fase embriológica como na fase adulta (10, 57, 70). Tanto o PDGF como o TGF-beta e o VEGF atuam na embriogênese do folículo participando na formação do broto capilar pela associação das células epiteliais com as de origem mesenquimais, sendo que os dois últimos atuam mais na formação da papila dérmica, enquanto o primeiro age na formação das células do *bulge* (62). Na fase adulta estes fatores continuam atuando no crescimento do FC e na contínua maturação de toda a UC: o PDGF, na estimulação de mitoses que envolvem as células-tronco, o VEGF, na ativação da microcirculação e no aporte nutricional à UC, e o TGF-beta, na ativação celular da papila dérmica e como inibidor na abrupta apoptose do ciclo capilar.

3.5 Ciclo de Crescimento no Microimplante Capilar

Na cirurgia da calvície com a utilização dos MICs ocorre um fenômeno semelhante. Os MICs são colhidos na região occipital, onde se verifica a melhor histologia e genética do cabelo e onde se encontra a maior densidade de UCs em fase anágena. Eles são transplantados para a região calva e sofrem o mesmo processo de involução, latência e germinação. Nos primeiros 7 dias do pós-operatório ocorre um processo inflamatório com aporte de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos, e a formação de eritema e de edema no couro cabeludo. Há um crescimento aparente de mais ou menos meio centímetro nas primeiras três semanas, continuando a ocorrer a queratinização e o alongamento do FC. Após esse período, se verifica a abrupta involução dos MICs com a queda de praticamente todos os folículos e a eliminação das glândulas sebáceas. É a fase catágena com sua

apoptose, que dura alguns dias, para entrar na fase telógena de repouso que se estende por 3 a 4 meses (Figura10 a, b, c, d).

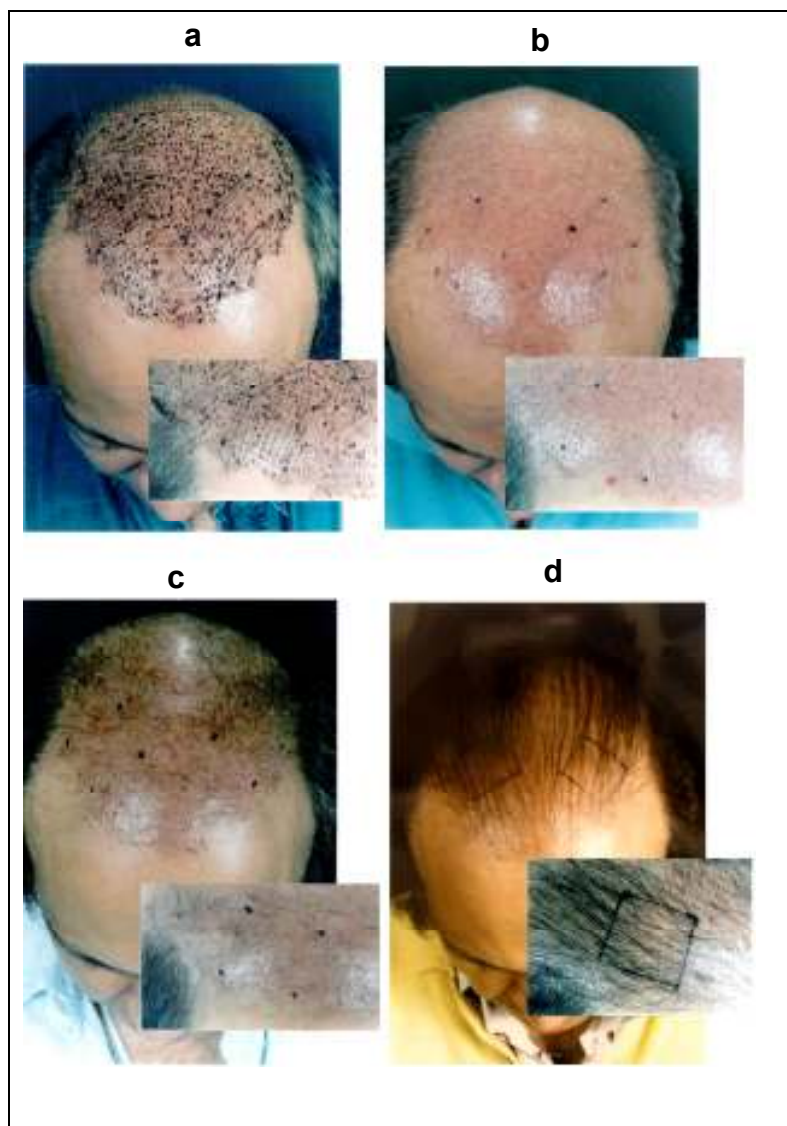
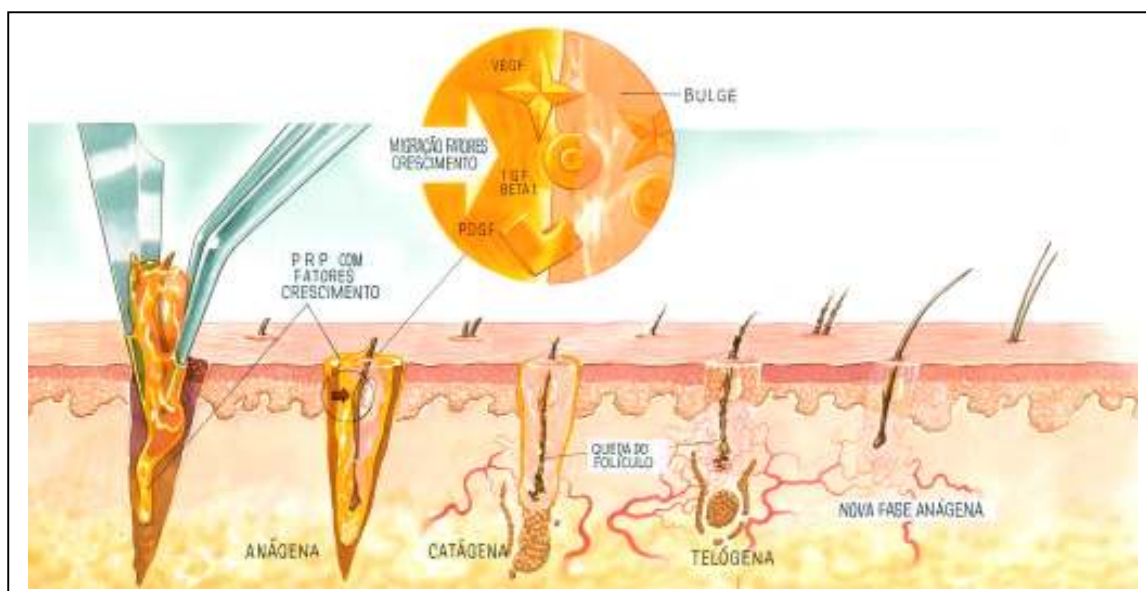


Figura 10 - Seqüência do ciclo de crescimento dos MICs. a) pós-operatório de 5 dias com formação de crostas e crescimento capilar de 1/2 cm. b) 21 dias após ocorre a apoptose com queda dos MICs, permanecendo alguns na fase anágena. c) 90 dias após inicia-se a nova fase anágena com crescimento lento e gradual dos MICs. d) 7 meses após, quando todos os MICs, considerados viáveis, já devam ter germinado.

O paciente deve ser muito bem orientado no pré-operatório e tomar conhecimento desta inevitável ocorrência. Findo este período inicia-se o ciclo de crescimento definitivo,

que é a fase anágena, quando a maioria dos MICs começa a germinar. Este processo normalmente se estende até o 7º mês, quando se acredita que todos já devam ter germinado. Este é o período em que se julga o resultado final (71).

Muitos desses MICs, todavia, não germinam. Cerca de 15% a 30% não crescem, ficam atróficos e são absorvidos ou expelidos pelo organismo. A densidade fica prejudicada, havendo necessidade de um segundo microimplante ou de se criar um mecanismo de estímulo no processo germinativo dos MICs. Com base na experiência de longos anos e considerando a importância de encontrar novas perspectivas na recuperação cirúrgica da calvície, foi realizado este trabalho experimental com a utilização do PRP e de seus FCPs, obtidos do próprio paciente, para verificar sua eficiência no crescimento e na densidade capilares. A idéia foi a de implantar MICs embebidos em PRP para estimular sua integração e seu crescimento, através de seus fatores de crescimento, diminuindo a abrupta apoptose e permitindo, através da angiogênese, estimular novas e eficientes mitoses para o reinício da nova fase anágena (Figura 11).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 11 - MICs embebidos em PRP sendo implantados na região calva. Os FCPs atuam nas células-tronco da região do *bulge* interagindo com seus receptores nucleares e também no aporte de novos fibroblastos e eosinófilos. Uma angiogênese com formação de um rico sistema microcirculatório permite o aporte de nutrientes e condições adequadas para a integração e crescimento da nova UC.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Delineamento

Trata-se de um trabalho experimental de controle interno, estudo emparelhado ou *within subjects design* em que cada paciente serviu como seu próprio controle. Delinearam-se duas áreas calvas de 2,5 cm x 2,5 cm e estabeleceu-se que no lado direito do paciente seriam implantados os MICs embebidos com o PRP e no lado esquerdo os MICs considerados padrão (Figura 12 a, b). Ambas as áreas foram implantadas com igual número de MICs.

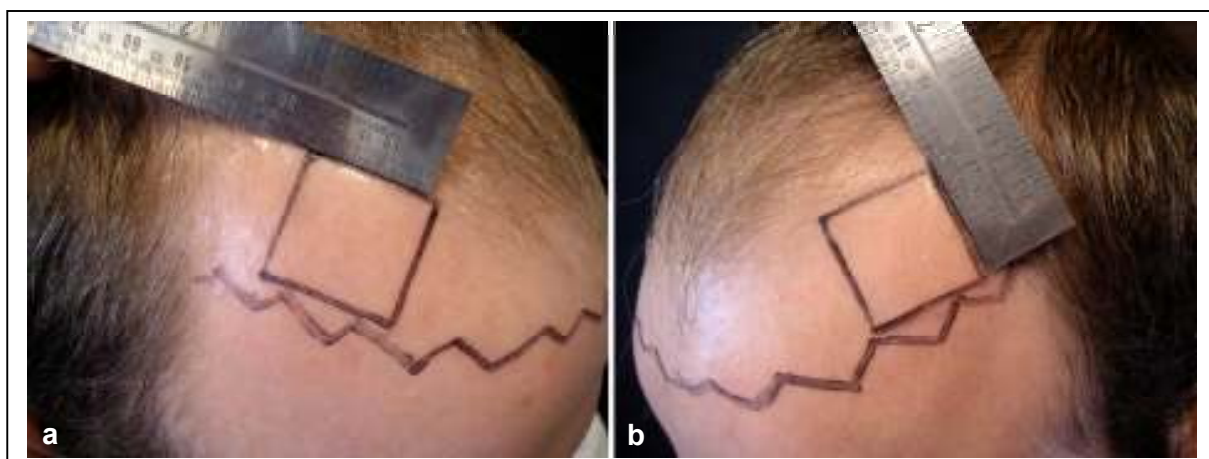


Figura 12 - Delineamento de duas áreas calvas de 2,5 cm X 2,5 cm. a) No lado direito do paciente, serão implantados os MICs com PRP. b) No lado esquerdo, os MICs denominados de controle.

4.2 Critérios de Seleção

Foram selecionados na clínica privada do autor 23 pacientes, adotando-se os critérios abaixo.

- **Critérios de inclusão:** pacientes do sexo masculino, na faixa etária 22 a 55 anos, oriundos da grande Porto Alegre, considerados clinicamente saudáveis e sem manifestações dermatológicas no couro cabeludo, portadores de calvície definida do tipo padrão androgenética das regiões frontal, parietal ou occipital.

- **Critérios de exclusão:** foram excluídos o sexo feminino por dificilmente apresentar áreas de calvície total, pacientes fora da faixa etária estabelecida e não residentes da grande área de Porto Alegre.

4.3 Aspectos Éticos e Termo de Consentimento Informado

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Anexo 1). Os pacientes receberam ampla e devida informação sobre o estudo experimental e sobre as implicações éticas, assinando o Termo de Consentimento Informado (Anexo 2).

4.4 Protocolo Cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo autor em sua clínica privada, respeitando todos os parâmetros do protocolo de pesquisa, dentro de um período de duração de 24 meses. As cirurgias foram de caráter ambulatorial, sob anestesia local assistida e com tempo de duração aproximado de 3 horas. No pré-operatório todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e exames laboratoriais de rotina. Os exames de pesquisa e

quantificação do PRP foram realizados sempre no mesmo Laboratório de Análises Clínicas e a quantificação dos FCPs foi efetuada no Laboratório do Instituto de Pesquisas Biológicas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, sob a supervisão da Prof. Dra. Denise Cantarelli. Todos os pacientes compareceram regularmente à inspeção e controle de pós-operatório, para tomadas de fotos e contagem de MICs (Anexo 3).

O trabalho foi aceito para publicação no *Plastic and Reconstructive Surgery Journal* em sua edição de novembro de 2006 (Anexo 4) e mereceu a qualificação do melhor trabalho científico e de pesquisa apresentado no Congresso Anual da Sociedade Americana de Cirurgia Plástica Estética (ASAPS) realizado em New Orleans, USA em maio de 2005 (Anexo 5).

4.4.1 Obtenção do Plasma Rico em Plaquetas

No centro cirúrgico, com o paciente em decúbito dorsal, antes de iniciar a cirurgia para evitar alterações na concentração e contagem de plaquetas devido à agressão cirúrgica, colheu-se ao redor de 60 ml de sangue total. A venóclise foi realizada no antebraço direito com cateter tipo BD-Vucatainer[®] 21G e o sangue distribuído em 8 frascos com vácuo de 10 ml, contendo 1 ml de citrato de sódio a 3,2% (Vacuonet – USA) como anticoagulante (72). A seguir, centrifugaram-se os 8 frascos a 1.000 rpm durante 10 minutos. A baixa rotação é fundamental para que as plaquetas não sejam rompidas ou lançadas para o fundo dos frascos (Figura 13 a, b, c, d). O preparo do PRP foi realizado no próprio centro cirúrgico da clínica do autor.

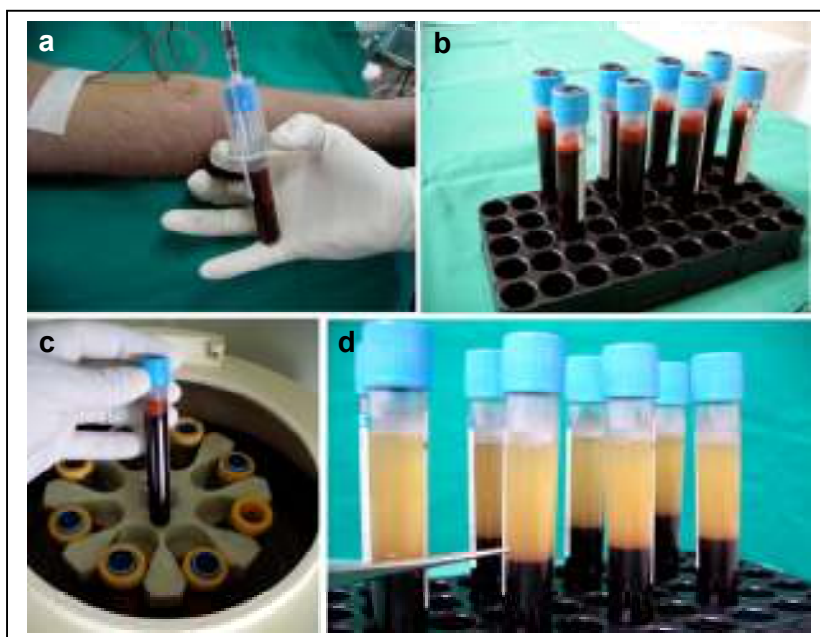


Figura 13 - Coleta de sangue total no pré-operatório em 8 frascos de 10 ml contendo citrato de sódio a 3,2% como anticoagulante. Centrifugação a 1.000 rpm durante 10 minutos e obtenção de PN.

Removeu-se então o plasma obtido, que foi redistribuído em outros 4 frascos para uma nova centrifugação a 5.000 rpm durante 10 minutos (Figura 14 a, b, c, d).

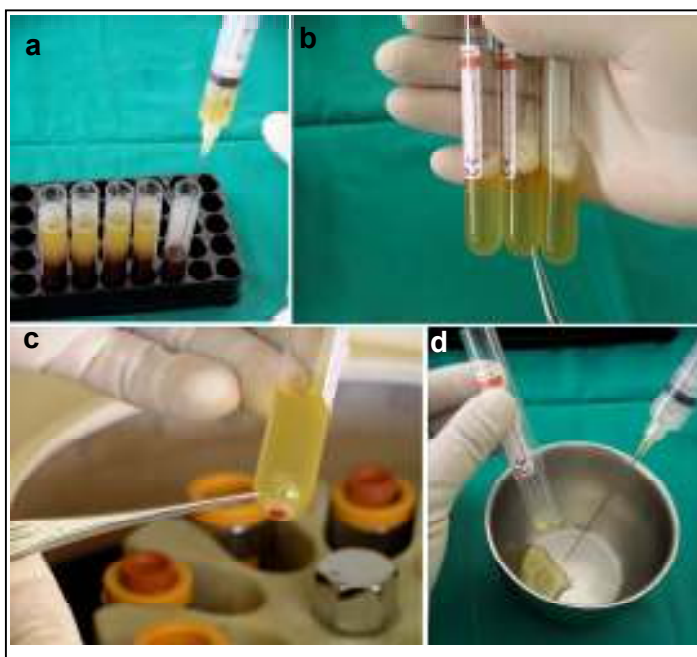


Figura 14 - Transferência do PN para 4 frascos e centrifugação a 5.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante, que é o plasma pobre em plaquetas, é eliminado, e 1 ml da parte profunda, considerado o PRP, é transferido, de cada frasco, para uma cuba esterilizada onde serão adicionados os MICs já individualizados. Observam-se algumas hemácias e uma porção esbranquiçada que são os leucócitos.

Removeu-se o plasma sobrenadante, deixando apenas 1 ml do concentrado na profundidade que vem a ser o produto a ser estudado neste trabalho – o PRP com seus fatores de crescimento. Neste total de 4 ml obtidos de PRP foram adicionados os MICs que permaneceram embebidos durante 15 minutos para sofrerem a adesão e absorção dos FCPs às suas células-tronco.

As moléculas dos FCPs encontram seus respectivos receptores no núcleo das células-tronco existentes no *bulge*, iniciando um processo lento e gradual de replicação celular (15). Ao término desse tempo, adicionaram-se 10 gotas de cloreto de cálcio a 10% para ativar o fibrinogênio em fibrina e, com isso, produzir o gel necessário para envolver e selar os MICs a serem implantados na área calva previamente delineada à direita (Figura 15 a, b, c, d).



(Ilustração: Jair Tambeiro)

Figura 15 - Após 15 minutos em contato com o PRP e seus fatores de crescimento, adicionam-se 10 gotas de cloreto de cálcio a 10% para a formação da fibrina em forma de gel. Os MICs estão selados e prontos para serem implantados.

Em todos os pacientes foram efetuadas provas laboratoriais (contagem eletrônica – ADVIA 120) para quantificar o plasma normal (PN) e o PRP (Tabela 2 e Figura 16). Em outra amostragem de 5 pacientes, realizada pelo Instituto de Pesquisas Biológicas da PUCRS, quantificamos os FCPs – PDGF, VEGF e TGF-beta – utilizando o método Elisa (*R&D Systems, Inc – USA*) cujos resultados comprovaram a relação direta com o aumento do número de plaquetas (Tabela 3, Figuras 17 a, b, c e 18).

Tabela 2 - Análise laboratorial da contagem de plaquetas do PN e PRP dos 23 pacientes em estudo

Nº	Idade	Plaquetas/ml Plasma normal	Plaquetas/ml PRP	Nº	Idade	Plaquetas/ml Plasma normal	Plaquetas PRP/ml
1	35	224.000	460.000	13	48	195.000	600.000
2	45	185.000	417.000	14	54	150.000	420.000
3	49	234.000	614.000	15	23	311.000	343.000
4	39	268.000	658.000	16	22	270.000	1.202.000
5	31	227.000	640.000	17	42	165.000	656.000
6	50	187.000	390.000	18	29	248.000	1.076.000
7	29	183.000	380.000	19	38	140.000	321.000
8	36	180.000	420.000	20	39	200.000	302.000
9	32	217.000	390.000	21	48	143.000	442.000
10	48	144.000	536.000	22	37	278.000	306.000
11	36	224.000	460.000	23	34	148.000	329.000
12	32	184.000	391.000				

Número e idade dos pacientes; número de plaquetas por mililitro; PN – plasma normal; PRP – plasma rico em plaquetas

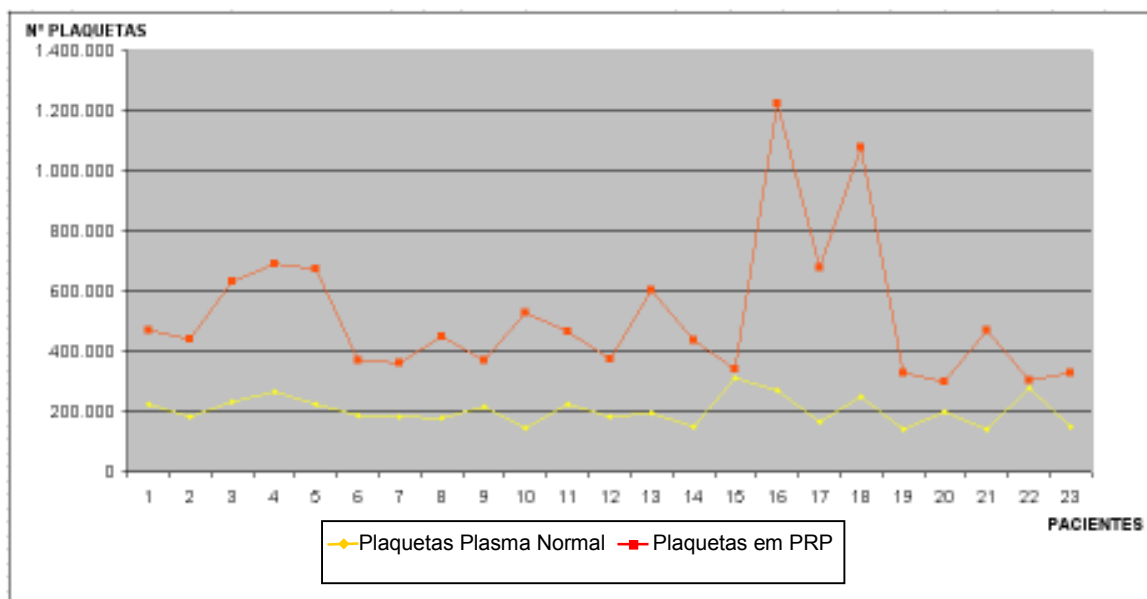


Figura 16 - O gráfico mostra a compilação dos dados com a curva das plaquetas do PN e das plaquetas do PRP obtidas a partir do sangue total de 23 pacientes utilizando-se anticoagulante citrato de sódio a 3,2%.

Tabela 3 - Quantificação dos fatores de crescimento PDGF, VEGF e TGF-beta a partir do PN e rico em plaquetas em 5 pacientes do presente estudo (teste de Elisa com limite de detecção 7,8 pg/ml)

	Plaquetas nº		PDGF pg/ml		VEGF pg/ml		TGF-beta pg/ml	
	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP	Plasma Normal	Plasma PRP
1	200.000	302.000	2.978,7	5.959,9	31,2	223,7	1.278	1.377
2	143.000	442.000	1.909,1	7.378,4	125	467,7	661	1.647
3	278.000	306.000	3.872,3	6.243,2	435,5	924,5	1.229	1.557
4	148.000	329.000	6.810,8	7.945,9	886,8	1.113,2	1.262	1.485
5	249.000	615.000	8.040,5	15.810,3	629	2.691,4	1.508	1.655

PRP – plasma rico em plaquetas; PN – plasma normal; pg/ml – picograma por mililitro; PDGF – *platelet-derived growth factor*; VEGF – *vascular endothelial growth factor*; TGF-beta – *transforming growth factor beta*.

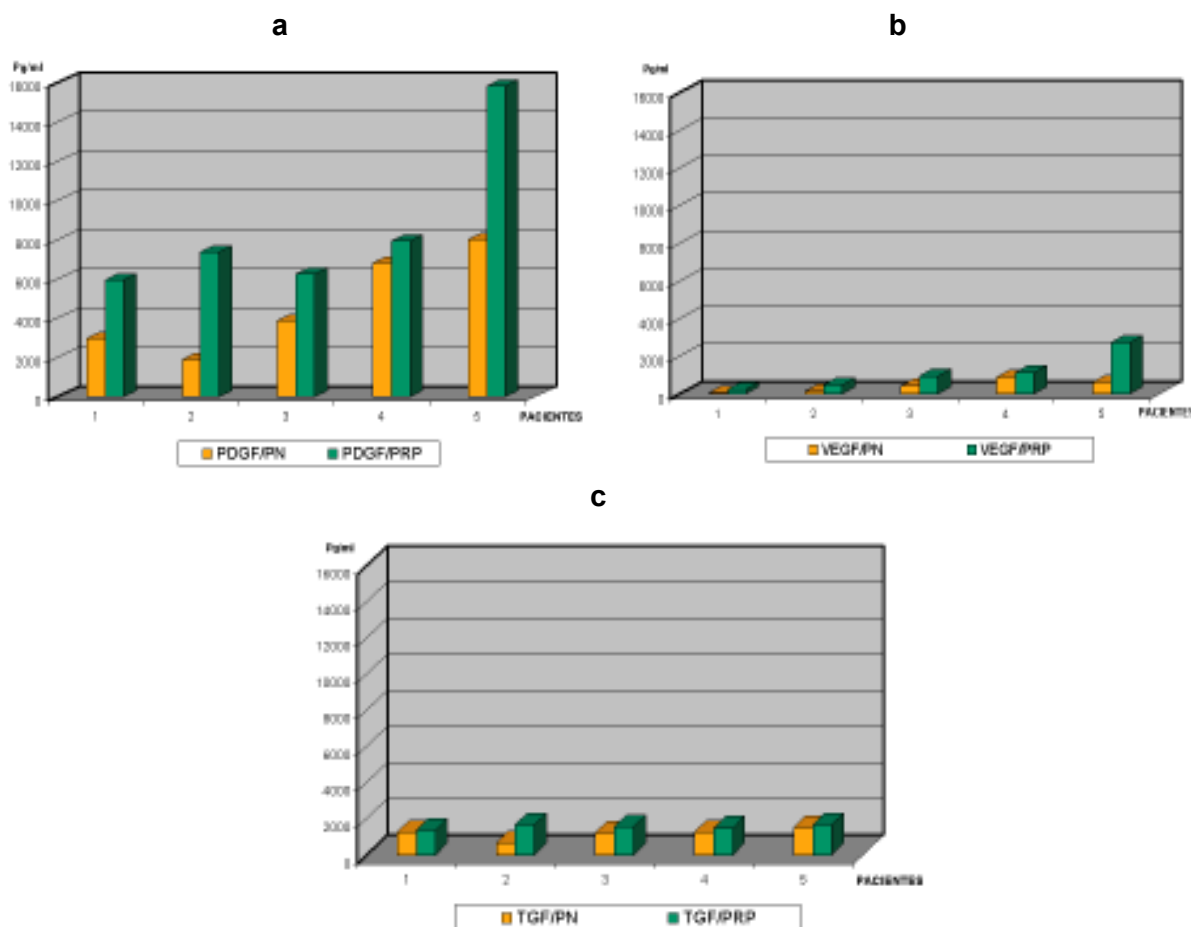


Figura 17 - Os gráficos mostram as concentrações dos três mais importantes FCPs que atuam no crescimento capilar. Observa-se que o PDGF tem uma grande expressão para o estímulo das mitoses e que o TGF-beta não atingiu seu pico inibitório de 2.000 pg/ml.



Figura 18 - Várias fases da identificação e quantificação dos fatores de crescimento PDGF, VEGF e TGF-beta, utilizando-se o teste de Elisa com limite de detecção de 7,8 pg/ml.

4.4.2 Obtenção dos Microimplantes Capilares

Os MICs foram obtidos da região occipital posterior, onde há melhor qualidade histológica e genética dos folículos e maior densidade anágena de cabelo. Via de regra, essa área situa-se de 6 a 8 cm da raiz da nuca e se estende horizontalmente às regiões retroauriculares. Foi delineada uma elipse de couro cabeludo, variando suas dimensões de acordo com a quantidade de MICs a serem preparados e implantados (Figura 19 a, b).



Figura 19 - Elipse de couro cabeludo sendo removida da região da nuca onde se situam as melhores unidades histológicas e genéticas de MICs. A quantidade de MICs a serem extraídos dependerá da extensão da área de calvície a ser tratada.

No couro cabeludo da região occipital em cada centímetro quadrado pode haver uma variabilidade de 30 a 60 UCs, dependendo de cada paciente. Alguns têm o cabelo muito fino, ralo, com grandes espaçamentos entre uma e outra UC; outros apresentam uma densidade maior e são considerados com boa área doadora. Após a sedação do paciente com 10 mg de maleato de midazolam (Dormonid[®] - Roche) e 2 ml de citrato de fentanila (Fentanest[®] - Cristália) por via intravenosa, realizou-se o bloqueio anestésico dos ramos supraorbitários e occipitais posteriores com cloridrato de levobupivacaína a 0,5% com epinefrina a 1:200.000 (Novabupi[®] - Cristália). Removeu-se a elipse de couro cabeludo com o cuidado de não lesionar as UCs, deixando uma fina camada de tecido adiposo ao seu redor e procurando não lesar

ramos sensitivos, vasos arteriais e venosos que se encontram junto à gálea aponeurótica. A área doadora foi descolada, aproximada e suturada com fio inabsorvível 4-0. Procurou-se não deixar tensão na sutura para se obter uma boa cicatrização e a possibilidade de uma nova excisão em um segundo tempo. Como padronização do protocolo cirúrgico, tomou-se a porção central da elipse como fonte doadora dos MICs. A elipse foi colocada sobre uma superfície de madeira e subdividida em várias porções com lâmina de bisturi nº 22, e os MICs foram individualizados, contendo de 1 a 3 FCs (Figura 20 a, b, c, d).



Figura 20 - A elipse de couro cabeludo é colocada sobre uma superfície de madeira ou acrílica e separada em tiras de 5 milímetros de espessura. De acordo com o protocolo cirúrgico, tomou-se a porção central da elipse de onde se prepararam os MICs sob visão estereoscópica em dois grupos iguais – os que irão ser embebidos no PRP e os que irão ser mantidos úmidos com soro fisiológico, considerados controle.

Esta preparação foi realizada com auxílio de lente estereoscópica de 3 a 6 x de aumento (*Mantis Instrumental* – USA). À medida em que estes MICs eram preparados, sempre pela mesma assistente, uma porção já era implantada na área à esquerda, considerada controle, e a outra era então embebida e submetida ao protocolo do PRP e seus fatores de crescimento.

4.4.3 Implantação dos Microimplantes Capilares e Pós-Operatório

Toda a área do couro cabeludo foi infiltrada maciçamente com soro fisiológico e epinefrina a 1:200.000. Essa tumescência, denominada *scalp ballooning* (4), e a vasoconstrição obtida evitam o sangramento e permitem a implantação dos MICs com maior facilidade. Na área delimitada à direita do paciente, foram implantados os MICs embebidos com o PRP e, no lado esquerdo, os MICs considerados do tipo padrão, preparados e umedecidos com soro fisiológico. Em ambos os lados foi implantado o mesmo número de MICs, o que permitiu um delineamento do tipo emparelhado do teste *t de Student* (74).

Para o procedimento foram utilizadas microlâminas (*BD Beaver*[®] – ref. 376500 – USA) e micropinças (*Ellis Surgical Instruments* - USA), e a técnica adotada foi a puntiforme, publicada pelo autor do presente trabalho, com tempo de duração aproximado de 3 horas (5, 37, 73) (Figura 21 a, b, c, d).



Figura 21 - Implantação dos MICs , selados pelo PRP, na área delimitada à direita do paciente e dos MICs, considerados controle, no lado esquerdo. Ambas as áreas foram implantadas sempre com o mesmo número de MICs.

Concluída essa etapa, implantou-se toda a área calva restante utilizando os MICs do tipo padrão. Foram aplicadas gases umedecidas em solução salina, e uma bandagem elástica foi mantida por 24 horas (Figura 22 a, b).

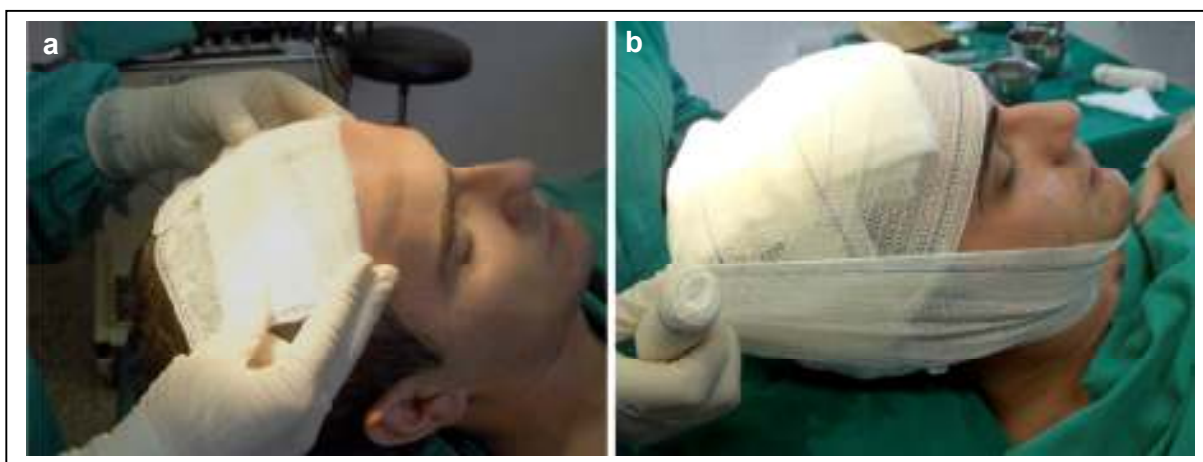


Figura 22 - Curativo cirúrgico – gases umedecidas em soro fisiológico são aplicadas, e uma bandagem elástica permanece por 24 horas.

Por ser uma cirurgia ambulatorial e realizada sob anestesia local assistida, os pacientes receberam alta no mesmo dia. Foi prescrito analgésico do tipo paracetamol com codeína (Tylex[®] 30 mg) até 4 vezes ao dia caso houvesse dor. Não foram prescritos antibióticos, antiinflamatórios ou corticóides a qualquer dos pacientes. Os pacientes foram orientados a retirar o curativo no dia seguinte e lavar todo o couro cabeludo com sabão líquido antisséptico. Os pontos da região doadora foram retirados após o 7^o dia pós-operatório. Não se observaram complicações pós-operatórias do tipo hematoma, infecção ou deiscências de sutura. Por serem enxertos capilares autólogos e também por ser plasma autólogo, não se observaram reações alérgicas ou imunológicas aparentes.

4.5 Tamanho da Amostra

Considerando um nível de significância $\alpha = 0,05$ e poder estatístico de 90%, foi estimado que, para detectar uma diferença no número de MICs entre as técnicas que atingisse uma magnitude (tamanho de efeito padronizado) $\geq 0,7$ unidades de desvio padrão, seria necessário um tamanho de amostra de pelo menos 22 pacientes.

4.6 Análise Estatística

Os dados quantitativos foram descritos com média e desvio padrão. A comparação do lado controle com o lado experimental foi realizada por teste *t* de *Student* para amostras emparelhadas (74). Foi também estimado o efeito do método experimental sobre o controle através da diferença média entre o número de MICs dos dois lados seguido de seu intervalo de confiança de 95%. Os dados foram processados e analisados com o auxílio do programa SPSS versão 12.0 (75).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Todos os pacientes foram avaliados 7 dias após a cirurgia e acompanhados mensalmente durante 7 meses, quando se considerou o período final da germinação de todo o cabelo implantado (37). Para o estudo foi considerado o número de MICs realmente exteriorizados e crescidos. Para a contagem dos MICs utilizou-se o método manual com lente de aumento de 3 vezes, contando todos os implantes existentes dentro da área de 2,5 cm x 2,5 cm, previamente delimitada com pontos tatuados com tinta nanquim (Figura 23 a, b, c).

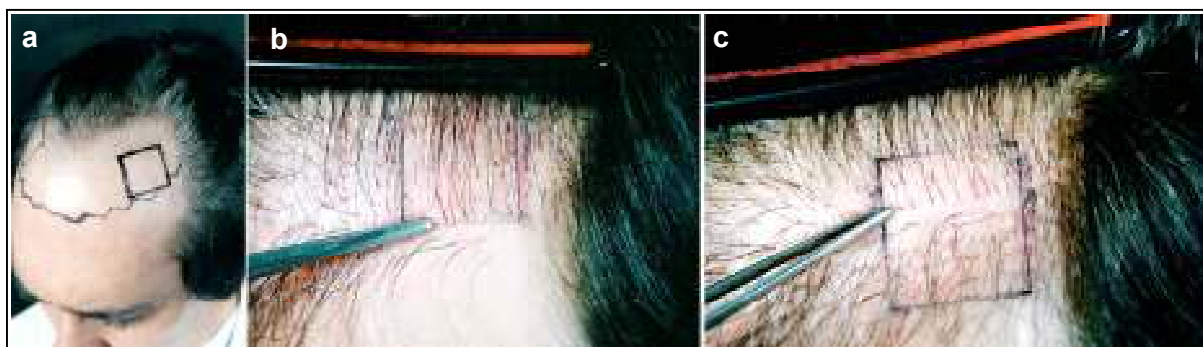


Figura 23 - Método de aferição do número de MICs exteriorizados após 7 meses de pós-operatório, identificando-se a área de 2,5 cm x 2,5 cm demarcada com pontos de nanquim. São separados em fileiras e contados com auxílio de lente de aumento 3x.

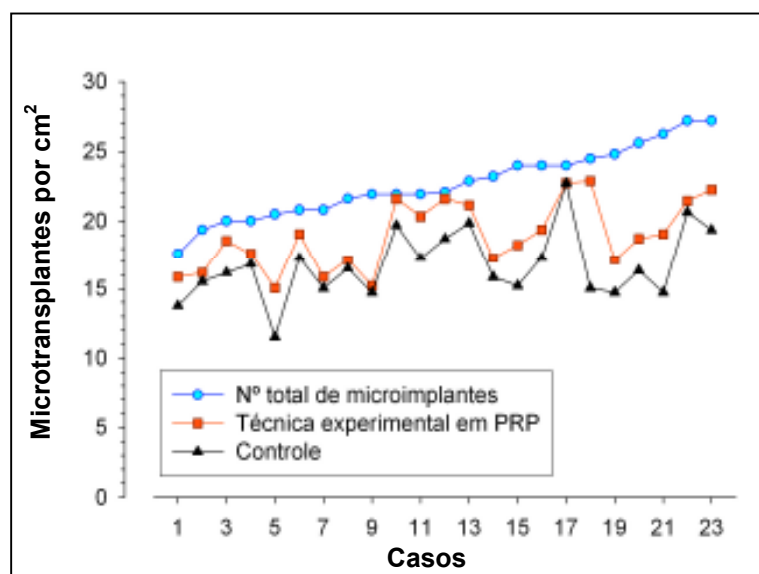
A aferição da contagem dos MICs foi feita pelo cirurgião e reconfirmada por duas assistentes. Os dados coletados foram inseridos em uma tabela e analisados estatisticamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Idade, número de microimplantes implantados no total e crescidos nas áreas controle e experimental com plasma rico em plaquetas (PRP), expressos por cm^2 , e respectivas porcentagens de rendimento

Nº	Idade	Microimplantes/ cm^2						Plaquetas	
		Total	Controle	%c/t	PRP	%p/t	$\Delta\%p/c$	Plasma Normal	PRP
1	35	22,1	18,7	84,6	21,6	97,7	15,5	224.000	460.000
2	45	27,2	20,6	75,7	21,4	78,7	3,9	185.000	417.000
3	49	24,8	14,7	59,3	17,1	69,0	16,3	234.000	614.000
4	39	26,2	14,7	56,1	19,0	72,5	29,3	268.000	658.000
5	31	20,5	11,5	56,1	15,0	73,2	30,4	227.000	640.000
6	50	27,2	19,4	71,3	22,2	81,6	14,4	187.000	390.000
7	29	25,6	16,3	63,7	18,7	73,0	14,7	183.000	380.000
8	36	24,0	15,2	63,3	18,2	75,8	19,7	180.000	420.000
9	32	23,2	15,8	68,1	17,3	74,6	9,5	217.000	390.000
10	48	24,5	15,0	61,2	22,9	93,5	52,7	144.000	536.000
11	36	17,6	13,8	78,4	15,8	89,8	14,5	224.000	460.000
12	32	21,9	14,7	67,1	15,2	69,4	3,4	184.000	391.000
13	48	24,0	17,3	72,1	19,4	80,8	12,1	195.000	600.000
14	54	21,9	19,7	90,0	21,6	98,6	9,6	150.000	420.000
15	23	19,4	15,5	79,9	16,2	83,5	4,5	311.000	343.000
16	22	20,0	16,2	81,0	18,6	93,0	14,8	270.000	1.202.000
17	42	21,6	16,5	76,4	17,1	79,2	3,6	165.000	656.000
18	29	21,9	17,3	79,0	20,3	92,7	17,3	248.000	1.076.000
19	38	20,8	17,3	83,2	19,0	91,3	9,8	140.000	321.000
20	39	20,0	16,8	84,0	17,6	88,0	4,8	200.000	302.000
21	48	20,8	15,0	72,1	15,8	76,0	5,3	143.000	442.000
22	37	22,9	19,8	86,5	21,1	92,1	6,6	278.000	306.000
23	34	24,0	22,7	94,6	22,7	94,6	0,0	148.000	329.000
m	38,1	22,7	16,7	73,6	18,9	83,4	13,6	204.565	511.000
DP	$\pm 8,8$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 10,9$	$\pm 2,5$	$\pm 9,5$	$\pm 11,5$	$\pm 48,080$	± 229.078

PRP: Plasma rico em plaquetas; $\Delta\%p/c$: delta percentual entre PRP e controle expressando o aumento na densidade capilar por cm^2 atingido pela técnica experimental em relação ao controle, sendo expresso por $((\text{MIC}[\text{PRP}] - \text{MIC}[\text{Controle}]) / \text{MIC}[\text{Controle}]) \times 100$; %c/t: porcentagem do rendimento do controle em relação ao total; %p/t: porcentagem do rendimento da técnica experimental (PRP) em relação ao total. Ao final são apresentados a média(m) e o desvio padrão (\pm DP) das medidas.

Na comparação da contagem de MICs entre o lado experimental tratado com PRP e o lado controle, foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$). A Figura 24 representa de forma gráfica os achados deste estudo.



Grupo	MICs/cm ²	Efeito/cm ²	IC95%	P (t de Student)
Experimental	18,9 ± 2,5	2,1	1,4 a 2,9	< 0,001
Controle	16,7 ± 2,5	–	–	–

Figura 24 - Gráfico de linhas mostrando o número total de MICs por cm², as contagens obtidas nos grupos experimental com PRP e controle na técnica convencional, seguido de tabela de resumo apresentando o efeito global do tratamento, intervalo de confiança (IC95%) e a significância estatística (P).

Pode-se ver que ambas as técnicas (PRP e controle) apresentam uma contagem de MICs abaixo daquela originalmente implantada. No entanto, o lado experimental tratado com PRP apresentou sistematicamente maiores contagens de MICs. Obtivemos no lado direito 83,4% de rendimento, ao passo que no lado esquerdo, dito controle, o rendimento foi de 73,4%. Esta diferença, a favor do lado tratado com PRP, atingiu um aumento relativo de 13,6% na densidade capilar por cm².

É importante salientar que, de todos os pacientes tratados, 25% apresentaram um aumento da densidade capilar menor do que 5%. Um grupo intermediário (também composto de 25% dos pacientes) mostrou um aumento da densidade capilar entre 5% e 14%. Já um outro grupo superior (constituído de 50% dos pacientes) mostrou um aumento de densidade capilar acima de 14%. Neste grupo superior pode-se destacar dois casos excepcionais que revelaram 31% e 52% de aumento na densidade capilar (Figuras 25, 26, 27 e 28).



Figura 25 - Paciente nº 10 da tabela 4, de 48 anos, portador de calvície do tipo padrão, mostrando à sua direita uma densidade de 52,7% a mais do que no lado esquerdo.



Figura 26 - Paciente nº 6 da tabela 4, de 50 anos, mostrando uma eficiência de 14,2% no lado direito.



Figura 27 - Paciente nº 2 da tabela 4, de 45 anos, com eficiência de apenas 3,9% no crescimento capilar.

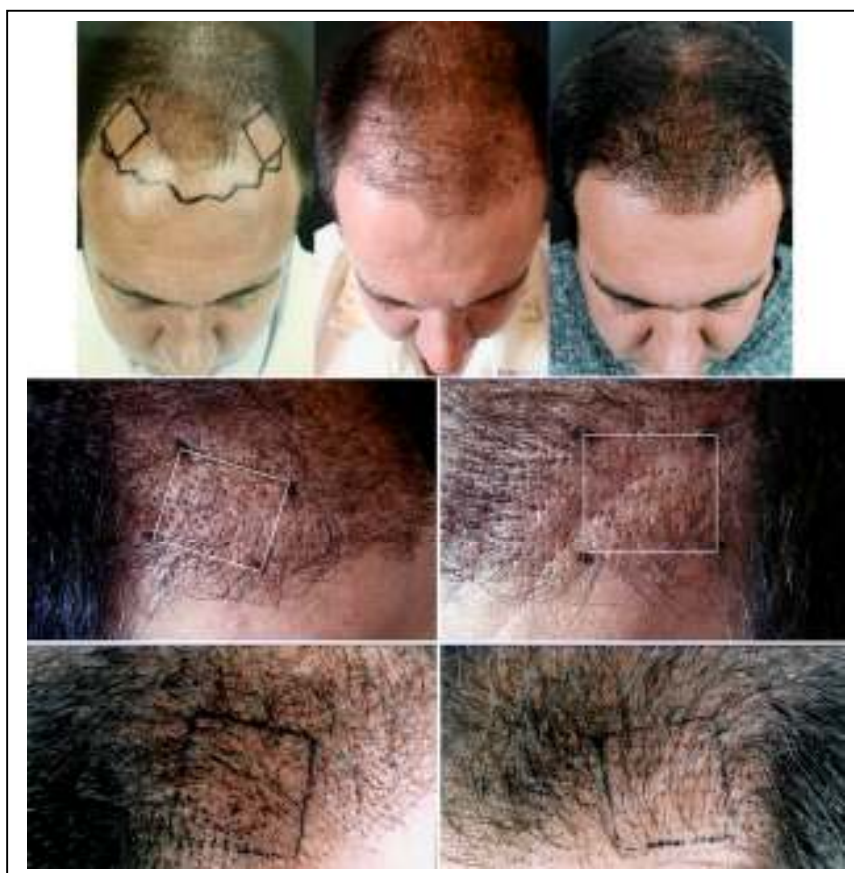


Figura 28 - Paciente nº 4 da tabela 4, de 39 anos, em que se observa, já a partir do 4º mês, uma maior densidade capilar no seu lado direito e, no sétimo mês, uma densidade de 29,3% a mais do que no lado esquerdo.

Em termos da quantidade absoluta de MICs, observou-se que a densidade capilar média no lado controle atingiu $16,7 \pm 2,5$ MICs/cm², representando 73,6% de rendimento do total de MICs implantados, e no lado tratado com PRP chegou a $18,9 \pm 2,5$ MICs/cm², com um rendimento de 83,4%. Isso representou 2,1 MICs a mais por cm², com um intervalo de confiança de 95% para esta estimativa de 1,4 a 2,9 MICs/cm².

A Figura 29 representa o estudo da relação entre a concentração do PRP e os resultados obtidos no aumento da densidade capilar quando foram comparados aos lados experimental (PRP) e controle. Aparentemente até níveis de 600.000 plaquetas há uma tendência para o aumento na densidade capilar. Depois deste nível o benefício se desfaz, surgindo o que parece ser um efeito inibitório.

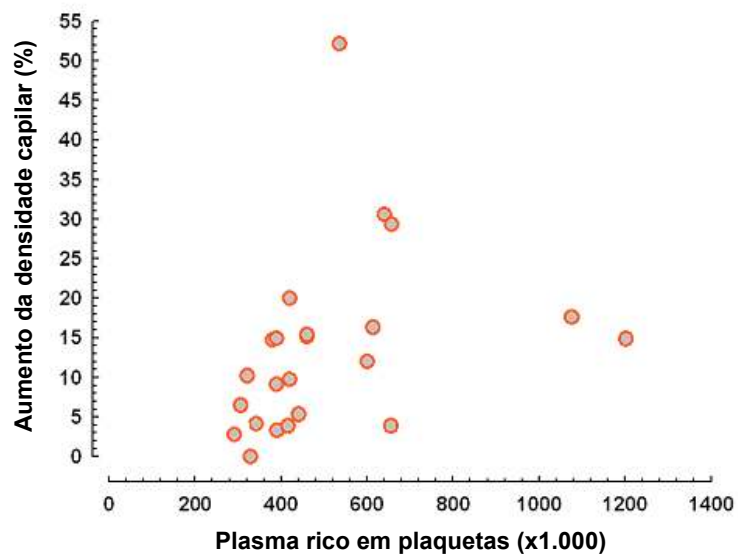


Figura 29 - Gráfico de dispersão de pontos entre a concentração do PRP e o aumento na densidade capilar relativa da comparação dos lados tratado (PRP) e controle.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A técnica dos MICs trouxe uma grande contribuição para o tratamento cirúrgico da calvície do tipo padrão. Sem dúvida muitos pacientes se beneficiam com este procedimento com resultados estéticos bastante satisfatórios, entretanto alguns casos deixam a desejar quando ocorre uma integração abaixo de 65%, o que equivale a dizer que somente dois terços dos MICs implantados nasceram e se desenvolveram.

No presente trabalho com 23 pacientes, observou-se uma integração de 73,6% com os enxertos considerados controle. Isto vem ao encontro dos resultados obtidos por outros autores de experiência na cirurgia dos MICs que obtiveram resultados semelhantes. Martinick (76) realizou um estudo bastante interessante com os MICs considerados intactos e os traumatizados com pequenas falhas cometidas pela cirurgia. Concluiu que, após o 7^o mês, a integração dos MICs intactos foi ao redor de 74% e que a obtida com os que estavam traumatizados foi de apenas 62%. Mayer (77) efetuou um trabalho semelhante verificando que, ao cabo de 8 meses, o índice de integração foi de 72,5%. Outra pesquisa apresentada por Reed (78) mostrou um índice de 73% de integração após o 5^o mês da implantação. Esses trabalhos mostram praticamente resultados semelhantes.

Ainda não temos uma razão específica para este baixo rendimento e o porquê da necrose e da apoptose dos MICs acontecerem com maior ou menor intensidade, mas já sabemos pela nossa experiência que pacientes com área doadora de pouca densidade, com cabelo muito fino e tênue são candidatos que devem ser avaliados com cautela uma vez que os resultados podem trazer insatisfação tanto para eles como para o cirurgião. Beehner (79), no trabalho em que analisa estes resultados, recomenda alguns tópicos importantes a serem observados: manter o *perifoliculum* com seu tecido conjuntivo ao redor do FC;

implantar o mais precocemente possível os MICs retirados da área doadora; evitar os minienxertos contendo de 4 a 6 folículos que se integram melhor mas oferecem um resultado menos estético. Em pacientes com mais idade, acima dos 65 anos, é comum haver área doadora bastante comprometida com cabelo fino e ralo, tendo de ser indicado um segundo microimplante para aumentar a densidade capilar. Também em pacientes jovens que têm a natureza progressiva da calvície, é freqüente indicarmos um segundo ou terceiro implante para atingir a densidade ideal – ao redor de 20 a 25 UC/cm² (37). Entretanto, há casos em que não conseguimos justificar o baixo rendimento de integração do implante; mesmo utilizando uma rotina cirúrgica bastante elaborada e tomando o cuidado de seguir o rígido protocolo da cirurgia, não alcançamos o resultado proposto. Por esta razão devemos ser suficientemente honestos com o paciente, orientando-o quanto às suas expectativas, quanto às limitações da técnica e esclarecendo sobre a eventual necessidade de um segundo tempo cirúrgico.

São de pouca eficácia as drogas encontradas em nosso arsenal terapêutico que tenham contribuído para a área da cirurgia da calvície. Tanto o minoxidil (80) como a finasterida (81) deram pouco estímulo ao crescimento dos MICs. Em nosso Serviço, deixamos de utilizar minoxidil ou finasterida no pós-operatório por não encontrar resultados positivos no crescimento dos MICs. Temos indicado finasterida somente a pacientes jovens, com menos de 30 anos, portadores de calvície incipiente, com *effluvium* telógeno e que não tenham se submetido ao microimplante. Realizando uma extensa revisão na literatura médica não localizamos trabalhos sobre a ação do PRP e seus fatores de crescimento na cirurgia da calvície ou na cirurgia dos microimplantes, mas encontramos resultados bastante promissores nas áreas da traumatologia, maxilofacial, odontologia e cirurgia plástica. Isto nos levou a estabelecer este protocolo reunindo 23 pacientes portadores de calvície masculina do tipo padrão para verificar a eficácia do PRP na cirurgia dos MICS.

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa (Tabela 4), houve maior crescimento no lado direito onde foram implantados os MICs com PRP. Observou-se um sucesso de 83,4% na integração dos MICs embebidos em PRP e de 73,6% com os MICs ditos controles, o que representa um aumento de 13,6% na densidade em relação à área implantada com MICs dito controles. Isto significa que, se houver uma área calva de 100 cm² (10 cm x 10 cm) onde se pode ter uma integração em média de 16,7 MICs/cm², poder-se-á obter uma quantidade de 2,2 MICs/cm² a mais com o uso do PRP, ou seja, 440 folículos a mais, considerando-se uma média de 2 folículos por MIC. Isto é um rendimento considerável para a cirurgia da calvície com os MICs. Contudo, os resultados também devem ser encarados com cautela uma vez que 25% dos pacientes tiveram rendimento abaixo de 5% e outros três surpreenderam, atingindo 29,3%, 30,4% e 52,7% a mais de folículos capilares. Isto nos leva a acreditar que novos trabalhos nesta área deverão ser realizados.

A ação do PRP autólogo e seus FCPs mostrou eficiência na integração dos enxertos. O VEGF trouxe o estímulo necessário para a angiogênese e a criação do novo sistema microcirculatório; o PDGF, pela intensa atividade mitogênica junto à região do *bulge*, agiu na formação do colágeno; o TGF-beta, como antiinflamatório, atuou na maturação celular e migração das células matriciais na papila dérmica. Todos deram condições para uma maior adesão e integração dos MICS na área de implantação e fizeram este sinergismo junto às células-tronco da UC, diminuindo a necrose e a apoptose, criando novas mitoses e com isto permitindo a continuidade do ciclo capilar (82, 83). Caso se fizesse uma comparação com a natureza, seria como o uso de fertilizantes no transplante de mudas de plantas.

Observou-se que as melhores concentrações de PRP foram entre 400.000 e 600.000 plaquetas, de 2 a 3 vezes às encontradas no PN (Figura 29). Por outro lado, observou-se que em altas concentrações de PRP, acima de 1.200.000 plaquetas, acusando concentrações de TGF-beta acima de 200.000 pg/ml, houve uma inibição no crescimento dos folículos capilares. Isto ocorreu devido à ação inibitória do TGF-beta, quando em altos

picos de concentração plasmática, impedindo o acoplamento das células matriciais da papila dérmica com as células tronco da região do *bulge*. Ações inibitórias semelhantes do TGF-beta também ocorrem em áreas da oncologia onde trabalhos publicados mostram ações antineoplásicas e de involução de metástases (84 - 88).

O uso do PRP e seus fatores de crescimento abre uma nova perspectiva para aqueles pacientes com pouca densidade capilar na área doadora, para pacientes de mais idade, com cabelo muito fino e ralo, e também para aqueles que deverão se submeter a uma segunda cirurgia após um resultado de pouca densidade capilar. E o que é muito importante, de baixo custo e baixa morbidade.

Embora a aferição por contagem direta e com lupa seja extremamente fácil e simples, poder-se-á também usar, no futuro, a imagem digital como uma ferramenta comparativa importante para a análise da densidade capilar. Em um paciente, utilizou-se uma câmera de 5,0 megapixels com 25 *bits* de cor e foram tomadas as imagens à mesma distância no pré e no pós-operatório. Essas imagens foram transportadas para o *software* Image Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Springs. Maryland, USA), onde foi feita a análise morfométrica das cores obtidas das áreas implantadas dos lados direito e esquerdo. Um nível padrão (*threshold*) foi selecionado interativamente e aplicado em ambas as imagens de cada paciente. A escala usada foi de 40 pixels/cm (89). A área pilosa foi dividida pela área total medida em toda a imagem.

Esse paciente (Figura 30) mostrou uma densidade de cor 29% maior no lado direito do que no esquerdo. No método de contagem direta com lente de aumento, observou-se uma diferença a mais de 30,4% no lado direito, o que mostra que os métodos se aproximam. Entretanto, o custo-benefício do método digital comparado com a praticidade e a simplicidade do método da contagem visual não permitiu introduzi-lo nesta pesquisa.



Figura 30 - Paciente nº 5, de 31 anos, num estudo comparativo com imagem digital mostrando uma densidade de 29% maior no lado direito. No método de contagem direta verificou-se um aumento de 30,4% o que permite a semelhança entre ambos os métodos de aferição.

Embora os resultados sejam significativos e promissores, considera-se que novos delineamentos e estudos se farão necessários para pesquisar outros fatores, como fumo, exercícios físicos, dieta, hormônios e idade, que certamente também terão sua expressão de influência no crescimento capilar. Novas pesquisas relacionadas com a preparação do PRP e seus fatores de crescimento certamente trarão no futuro novas perspectivas e recursos a serem introduzidos no protocolo da cirurgia dos MICs.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho científico, os microimplantes capilares embebidos com plasma rico em plaquetas e seus fatores de crescimento plaquetários resultaram na integração de um número maior de folículos e, como consequência, maior densidade capilar com rendimento médio de 13,6% superior, quando comparados com os microimplantes do tipo padrão.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Nordström REA. "Micrografts" for the improvement of the frontal hairline after hair transplantation. *Aesthetic Plast Surg.* 1981;5:97-101.
2. Marritt E. Single-hair transplantation for hairline refinement: a practical solution. *J Dermatol Surg Oncol.* 1984;10:962-6.
3. Orentreich N. Autografts in alopecias and other selected dermatological conditions. *Ann N Y Acad Sci.* 1959;83:463-79.
4. Uebel CO. Micrograft: a new approach for pattern baldness surgery. In: *Transactions of the Xth International Congress of the International Society of Aesthetic Plastic Surgery; 1989 Sep 11-14; Zurich, Switzerland.*
5. Uebel CO. Micrografts and minigrafts: a new approach for baldness surgery. *Ann Plast Surg.* 1991;27:476-87.
6. Barrera A. Micrograft and minigraft megasession hair transplantation results after a single session. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100:1524-30.
7. Fisher J. Revision of the unfavorable result in hair transplantation. *Semin Plast Surg.* 2005;19:167-78.
8. Limmer BL. Elliptical donor stereoscopically assisted micrografting as an approach to further refinement in hair transplantation. *J Dermatol Surg Oncol.* 1994;20:789-93.
9. Shiell RC. Modern hair restoration surgery. *Clin Dermatol.* 2001;19:179-87.
10. Stenn KS, Combates NJ, Eilertsen KJ, Gordon JS, Pardinias JR, Parimoo S. Hair follicle growth controls. *Dermatol Clin.* 1996;14:543-58.
11. Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell.* 1990;61:1329-37.
12. Yano K, Brown LF, Lawler J, Miyakawa T, Detmar M. Thrombospondin-1 plays a critical role in the induction of hair follicle involution and vascular regression during the catagen phase. *J Invest Dermatol.* 2003;120:14-9.

13. Paus R, Stenn KS, Link RE. Telogen skin contains an inhibitor of hair growth. *Br J Dermatol*. 1990;122:777-84.
14. Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiol Rev*. 2001;81:449-94.
15. Peus D, Pittelkow MR. Growth factors in hair organ development and the hair growth cycle. *Dermatol Clin*. 1996;14:559-72.
16. Headington JT. Transverse microscopic anatomy of the human scalp. A basis for a morphometric approach to disorders of the hair follicle. *Arch Dermatol*. 1984;120:449-56.
17. Paus R, Cotsarelis G. The biology of hair follicles. *N Engl J Med*. 1999;341:491-7.
18. Gilliam AC, Kremer IB, Yoshida Y, Stevens SR, Tootell E, Teunissen MB, et al. The human hair follicle: a reservoir of CD40+ B7-deficient Langerhans cells that repopulate epidermis after UVB exposure. *J Invest Dermatol*. 1998;110:422-7.
19. Kim DK, Holbrook KA. The appearance, density, and distribution of Merkel Cells in human embryonic and fetal skin: their relation to sweat gland and hair follicle development. *J Invest Dermatol*. 1995;104:411-6.
20. Lavker RM, Sun TT, Oshima H, Barrandon Y, Akiyama M, Ferraris C, et al. Hair follicle stem cells. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2003;8:28-38.
21. Chase HB. Growth of the hair. *Physiol Rev*. 1954;34:113-26.
22. Commo S, Gaillard O, Bernard BA. The human hair follicle contains two distinct K19 positive compartments in the outer root sheath: a unifying hypothesis for stem cell reservoir? *Differentiation*. 2000;66:157-64.
23. Akiyama M, Smith LT, Shimizu H. Changing patterns of localization of putative stem cells in developing human hair follicles. *J Invest Dermatol*. 2000;114:321-7.
24. Akiyama M, Dale BA, Sun TT, Holbrook KA. Characterization of hair follicle bulge in human fetal skin: the human fetal bulge is a pool of undifferentiated keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 1995;105:844-50.
25. Oshima H, Rochat A, Kedzia C, Kobayashi K, Barrandon Y. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell*. 2001;104:233-45.
26. Ohyama M, Terunuma A, Tock CL, Radonovich MF, Pise-Masison CA, Hopping SB, et al. Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells. *J Clin Invest*. 2006;116:249-60.
27. Dry FW. The coat of the mouse (*Mus musculus*). *J Genet*. 1926;16:287-340.
28. Kligman AM. The human hair cycle. *J Invest Dermatol*. 1959;33:307-16.

29. Uebel CO. The punctiform technique with 1000 micro – and minigrafts in one stage. *Am J Cosm Surg.* 1994;11:293-303.
30. Cotsarelis G, Millar SE. Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol Med.* 2001;7:293-301.
31. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol.* 2000;157:1415-30.
32. Soma T, Ogo M, Suzuki J, Takahashi T, Hibino T. Analysis of apoptotic cell death in human hair follicle in vivo and in vitro. *J Invest Dermatol.* 1998;111:948-54.
33. Cormia FE, Ernyey A. Circulatory changes in alopecia. Preliminary report, with a summary of the cutaneous circulation of the normal scalp. *Arch Dermatol.* 1961;84:772-89.
34. Hamilton JB. Male hormone is a prerequisite and an incitant in common baldness. *Am J Anat.* 1942;71:451-80.
35. Hibino T, Nishiyama T. Role of TGF-beta2 in the human hair cycle. *J Dermatol Sci.* 2004;35:9-18.
36. Headington JT. Telogen effluvium. New concepts and review. *Arch Dermatol.* 1993;129:356-63.
37. Uebel CO. Hair restoration: micrografts and flaps. São Paulo: OESP; 2001.
38. Converse JM, Uhlschmid GK, Ballantyne DL Jr. "Plasmatic circulation" in skin grafts. The phase of serum imbibition. *Plast Reconstr Surg.* 1969;43:495-9.
39. Pierce GF, Mustoe TA, Altmann BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J. Cell Biochem.* 1991;45:319-26.
40. Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101:1161-2.
41. Tischler M. Platelet rich plasma. The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts. *NY State Dent J.* 2002;68:22-4.
42. Haynesworth SE, Kadiyala S, Liang L. Chemotactic and mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet rich plasma suggests a mechanism for enhancement of bone repair. In: Proceedings of the 48th. Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society; 2002 Feb 9-3; Dallas, TX; 2002.
43. Jensen TB, Rahbek O, Overgaard S, Soballe K. No effect of platelet-rich plasma with frozen or processed bone allograft around noncemented Implants. *Int Orthop.* 2005;29:67-72.

44. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clin Oral Implants Res.* 2005;16:349-56.
45. 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;107:229-39.
46. Rumalla VK, Borah GL. Cytokines, growth factors, and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108:719-33.
47. Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg.* 2002;18:27-33.
48. Chajchir A, Fabrizio D, Chajchir G, Celi E. Growth factors in plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg.* 2005;29:295-9.
49. Anderson KW, Baker S. Advances in facial rejuvenation surgery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;11:256-60.
50. Powell DM, Chang E, Farnior EH. Recovery from deep-plane rhytidectomy following unilateral wound treatment with autologous platelet gel: a pilot study. *Arch Facial Plast Surg.* 2001;3:245-50.
51. Oliver DW, Hamilton SA, Fogle AA, Wood SH, Lamberty BG. A prospective, randomized, double-blind trial of the use of fibrin sealant for face lifts. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108:2101-7.
52. Fezza JP, Cartwright M, Mack W, Flaharty P. The use of aerosolized fibrin glue in face-lift surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110:658-66.
53. Rossi Jr R, Souza Filho MAP. Obtenção de trombina autógena proposta de um protocolo simplificado e de fácil reprodução clínica. *Rev Paul Odontol.* 2004;26(5):4-9.
54. Leme JJ, Rossi Jr R, Villa N. Análise do potencial osteogênico do plasma rico em plaquetas no reparo de cavidades ósseas: estudo histológico em cães. *Rev Paul Odontol.* 2004;26(3):4-15.
55. Weinberg WC, Brown PD, Stetler-Stevenson WG, Yuspa SH. Growth factors specifically alter hair follicle cell proliferation and collagenolytic activity alone or in combination. *Differentiation.* 1990;45:168-78.
56. Vick VL, Holds JB, Hartstein ME, Rich RM, Davidson BR. Use of autologous platelet concentrate in blepharoplasty surgery. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2006;22:102-4.
57. McElwee K, Hoffmann R. Growth factors in early hair follicle morphogenesis. *Eur J Dermatol.* 2000;10:341-50.

58. Castor CW, Ritchie JC, Williams CH Jr, Scott ME, Whitney SL, Myers SL, et al. Connective tissue activation. XIV. Composition and actions of a human platelet autacoid mediator. *Arthritis Rheum.* 1979;22:260-72.
59. Graves DT, Cochran DL. Mesenchymal cell growth factors. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1990;1:17-36.
60. Soma Y, Grotendorst GR. TGF-beta stimulates primary human skin fibroblast DNA synthesis via an autocrine production of PDGF-related peptides. *J Cell Physiol.* 1989;140:246-53.
61. Karlsson L, Bondjers C, Betsholtz C. Roles for PDGF-A and sonic hedgehog in development of mesenchymal components of the hair follicle. *Development.* 1999;126:2611-21.
62. Kamp H, Geilen CC, Sommer C, Blume-Peytavi U. Regulation of PDGF and PDGF receptor in cultured dermal papilla cells and follicular keratinocytes of the human hair follicle. *Exp Dermatol.* 2003;12:662-72.
63. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol.* 1995;146:1029-39.
64. Iruela-Arispe ML, Dvorak HF. Angiogenesis: a dynamic balance of stimulators and inhibitors. *Thromb Haemost.* 1997;78:672-7.
65. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest.* 1987;57:673-86.
66. Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller DM, Sporn MB. Transforming growth factor-beta in human platelets: identification of a major storage site, purification, and characterization. *J Biol Chem.* 1983;258:7155-60.
67. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB. Type beta transforming growth factor: a bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82:119-23.
68. Soma Y, Mizoguchi M, Yamane K, Yazawa N, Kubo M, Ihn H, et al. Specific inhibition of human skin fibroblast chemotaxis to platelet-derived growth factor A-chain homodimer by transforming growth factor-beta1. *Arch Dermatol Res.* 2002;293:609-13.
69. Goossens W, Van Duppen V, Verwilghen RL. K2- or K3-EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology? *Clin Lab Haematol.* 1991;13:291-5.
70. Perez-Meza D. Wound healing and revascularization of the hair transplant graft: the role of growth factors. In: Unger WP, Shapiro R, editors. *Hair Transplantation.* 4th.ed. NewYork: Marcel Decker; 2004. p.287-98.

71. Uebel CO. The use of micrograft and minigraft megasessions in hair transplantation. In: Nahai F. The art of aesthetic surgery: principles of techniques. St. Louis: Quality Medical Publishing; 2005. p.1725-64.
72. Slockbower JM. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: approved standard. Washington: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991. [NCCLS document H3-A3]
73. Uebel CO. The punctiform technique in hair transplantation. *Semin Plast Surg.* 2005;19:109-27.
74. Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Chapman & Hall; 1991.
75. Field A. Discovering statistics using SPSS. 2nd.ed. London: Sage; 2005.
76. Martinick, J. Study of intact FU vs vertically and horizontally cut grafts. In: Unger WP, Shapiro R, editors. Hair transplantation. 4th.ed. NewYork: Marcel Decker; 2004. p.268-70.
77. Mayer MA. Study comparing FU growth with different planting densisties. In: Unger WP, Shapiro R, editors. Hair transplantation. 4th.ed. NewYork: Marcel Decker; 2004. p.267-8.
78. Reed W. Study of FU vs one to three-hair micro-minigrafts. In: Unger WP, Shapiro R, editors. Hair transplantation. 4th.ed. NewYork: Marcel Decker; 2004. p.270-1.
79. Beehner M. Studies of hair survival in grafts of different sizes. In: Unger WP, Shapiro R, editors. Hair transplantation. 4th.ed. NewYork: Marcel Decker; 2004. p. 261-7.
80. Whiting D. Current views on pathogenesis and medical treatment of male pattern baldness. In: Unger WP, Shapiro R, editors. Hair transplantation. 4th.ed. New York: Marcel Decker; 2004. p.60-6.
81. Van Neste D, Fuh V, Sanchez-Pedreno P, Lopez-Bran E, Wolff H, Whiting D, et al. Finasteride increases anagen hair in men with androgenetic alopecia. *Br J Dermatol.* 2000;143:804-10.
82. Akiyama M, Smith LT, Holbrook KA. Growth factor and growth factor receptor localization in the hair follicle bulge and associated tissue in human fetus. *J Invest Dermatol.* 1996;106:391-6.
83. Yano K, Brown LF, Detmar M. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest.* 2001;107:409-17.
84. Werner S, Munz B. Suppression of keratin 15 expression by transforming growth factor beta in vitro and by cutaneous injury in vivo. *Exp Cell Res.* 2000;254:80-90.
85. Laiho M, DeCaprio JA, Ludlow JW, Livingston DM, Massague J. Growth inhibition by TGF-beta linked to suppression of retinoblastoma protein phosphorylation. *Cell.* 1990;62:175-85.

86. Fynan TM, Reiss M. Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit Rev Oncog.* 1993;4:493-540.
87. Boyd FT, Massague J. Transforming growth factor-beta inhibition of epithelial cell proliferation linked to the expression of a 53-kDa membrane receptor. *J Biol Chem.* 1989;264:2272-8.
88. Tsuji Y, Denda S, Soma T, Raftery L, Momoi T, Hibino T. A potential supressor of TGF-beta delays catagen progression in hair follicles. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2003; 8:65-8.
89. Duval da Silva V. Digital video microscopy in pathology. *Pathologica.* 1999;91:124-7.

NOTA: As referências foram organizadas pelo sistema numérico, regidas pelas normas de Vancouver:

National Library of Medicine. Bibliographic Service Division. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: sample references. [atualizada 2006 may 16; citado ago 20 2006].

Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

ANEXOS

ANEXO 1 _____

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS

ANEXO 2

Termo de Consentimento Informado

Pesquisa: Ação do Plasma Rico em Plaquetas e seus Fatores de Crescimento nos Microimplantes Capilares

Pesquisador: Dr. Carlos Oscar Uebel

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Braga da Silva

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

A cirurgia da calvície com a utilização dos microimplantes capilares é hoje um procedimento mundialmente utilizado que visa transplantar da região cervical posterior grandes quantidades de unidades capilares (raízes capilares) para as regiões calvas situadas nas áreas frontais, parietais superiores e occipitais da cabeça.

O objetivo deste trabalho é verificar a eficácia do plasma rico em plaquetas e seus fatores de crescimento, obtido do próprio plasma do paciente, no crescimento e aumento da densidade dos microimplantes capilares. O plasma rico em plaquetas é obtido através de 80 ml de sangue do próprio paciente, que, depois de centrifugados e devidamente preparados, serão utilizados, em parte, para embeber os microimplantes capilares, antes de sua implantação, e, em parte, para análise laboratorial.

Ressaltamos que os riscos deste procedimento são mínimos e iguais aos da cirurgia tradicional da calvície, com a única diferença que, na tradicional, os microimplantes são embebidos em solução fisiológica e, na área experimental de 2,5 cm x 2,5 cm, serão embebidos em plasma rico em plaquetas.

Cabe ressaltar que a concordância em participar deste estudo é espontânea e o paciente é livre para tomar sua decisão após ouvir todas as informações claras e detalhadas do trabalho. A qualquer momento poderá obter novas informações, se assim o desejar.

O paciente terá direito a todo tratamento e acompanhamento relativo a este procedimento sem nenhum gasto adicional. Caso o paciente sinta-se prejudicado com o resultado estético nas áreas demarcadas para a pesquisa, poderá receber uma complementação cirúrgica de microimplantes sem custo adicional.

Se tiver dúvidas ou desejar formular novas perguntas sobre o estudo, o paciente pode fazer contato com o pesquisador, Dr. Carlos Oscar Uebel, fone (51) 3330 1177, ou com o Professor-Orientador, Dr. Jefferson Braga da Silva, fone (51) 3315 6277.

AUTORIZAÇÃO

De modo a colaborar com a evolução e tratamento médico deste estudo experimental sobre microimplante capilar com a utilização de plasma rico em plaquetas e seus fatores de crescimento, conforme acima detalhado, por meio deste, autorizo o Dr. CARLOS OSCAR UEBEL, médico cirurgião, CREMERS nº 5379, de quem tenho informações como cirurgião plástico devidamente qualificado, a realizar a cirurgia proposta, a retirar sangue para produção do plasma rico em plaquetas e outras condutas médicas que venham ao encontro das necessidades clínico-cirúrgicas do estudo, e a examinar periodicamente os seus resultados, documentando-os com estudo fotográfico para avaliação e publicação científica na área médica. Da mesma forma, dou ciência de informações sobre a capacidade técnica, profissional e moral do médico assistente, comprometendo-me a respeitar as instruções que me forem fornecidas por esse profissional, inclusive quanto aos imprevistos oriundos da eventualidade ou da observância das orientações médicas recomendadas. Assim, além de concordar em participar do estudo, declaro estar ciente de que meu nome não será revelado nem usado de qualquer forma com ele relacionado.

Nome do Paciente: _____

Assinatura: _____

Data: _/_____/____

Nome do Pesquisador: Carlos Oscar Uebel

Assinatura do Pesquisador: _____

Data: _/_____/____

Nome da Testemunha: _____

Assinatura da Testemunha: _____

Data: _/_____/____

ANEXO 3

Banco de Dados - Avaliação dos Pacientes

ANEXO 4

Aprovação para Publicação do Artigo no *Plastic and Reconstructive Surgery Journal* – Novembro 2006

ANEXO 5

**Certificado de *Best Scientific Presentation* – ASAPS,
New Orleans, maio, 2005**