

## Osteoartrose: aspectos clínicos e novas perspectivas terapêuticas baseadas na terapia regenerativa

REVIEW  
ARTICLE

Esteban Osorio-Carmona<sup>1</sup>, Cleuza Maria de Faria Rezende<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

freosorio105@gmail.com

(Recibido: 22 de Enero de 2015 Aprobado: 23 de Abril de 2015 Actualizado: 25 de junio de 2015)

DOI: 10.17151/vetzo.2014.8.2.4

**RESUMO:** As doenças articulares em animais de pequeno porte representam uma alta porcentagem na rotina hospitalar. A alta frequência de lesões articulares decorrentes de diferentes fatores (fraturas intra-articulares, ruptura de ligamentos, doenças predisponentes, dentre outras) exige terapias mais efetivas. O objetivo do tratamento das doenças articulares após a correção das causas primárias é diminuir a dor e retardar o avanço da osteoartrose. O equilíbrio no metabolismo da cartilagem é de vital importância para a manutenção da integridade da matriz extracelular e das outras estruturas que formam a cartilagem. O desequilíbrio entre as citocinas e fatores de crescimento pode levar a alterações irreversíveis e incapacitantes na superfície articular das principais articulações. A osteoartrose caracteriza-se pela alteração da estrutura da cartilagem articular, diminuição dos movimentos articulares acompanhada de crepitação, formação de osteófitos, claudicação, dor e perda da função. Os tratamentos disponíveis na atualidade incluem os conservativos e cirúrgicos que visam estabilizar as articulações e aliviar a dor embora não previnam a progressão da doença articular degenerativa. O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma substância autóloga obtida a partir de sangue total submetido a processos de centrifugação e ativação que tem mostrado potencial terapêutico no tratamento de algumas doenças e em diversas áreas da medicina humana e veterinária. O objetivo deste levantamento bibliográfico é revisar os principais aspectos da osteoartrose, o papel das citocinas no desenvolvimento da mesma, as características do plasma rico em plaquetas, sua obtenção e seu emprego como nova alternativa terapêutica nas principais lesões articulares que acometem os animais domésticos.

**Palavras chave:** cães, fatores de crescimento, doença articular degenerativa, plasma rico em plaquetas

## **Osteoartritis: aspectos clínicos y nuevas perspectivas terapéuticas basadas en la terapia regenerativa**

**RESUMEN:** Las enfermedades articulares en animales de pequeño porte representan un alto porcentaje en la rutina de los hospitales veterinarios. La alta frecuencia de lesiones articulares derivadas de diferentes factores (fracturas intra-articulares, ruptura de ligamentos, enfermedades predisponentes, entre otras) exige terapias más efectivas. El objetivo del tratamiento de las enfermedades articulares después de la corrección de las causas primarias es disminuir el dolor y retardar el avance de la osteoartritis. El equilibrio en el metabolismo del cartílago es de vital importancia para el mantenimiento de la integridad de la matriz extracelular y de las otras estructuras que forman el cartílago. El desequilibrio entre las citocinas y los factores de crecimiento puede llevar a alteraciones irreversibles e incapacitantes en la superficie articular de las principales articulaciones. La osteoartritis se caracteriza por la alteración de la estructura del cartílago articular, disminución de los movimientos articulares acompañado de crepitación, formación de osteófitos, claudicación, dolor y pérdida de la función. Los tratamientos disponibles en la actualidad incluyen los conservativos y quirúrgicos que tratan de estabilizar las articulaciones y aliviar el dolor, pero no prevenir la progresión de la enfermedad articular degenerativa. El plasma rico en plaquetas (PRP) es una sustancia autóloga obtenida a partir de la sangre total sometida a procesos de centrifugación y activación que han mostrado potencial terapéutico en el tratamiento de algunas enfermedades y en diversas áreas de la medicina humana y veterinaria. El objetivo de esta presentación bibliográfica es revisar los principales aspectos de la osteoartritis, el papel de las citocinas en el desarrollo de esta, las características del plasma rico en plaquetas, procesos de obtención y su uso como nueva alternativa terapéutica en las principales lesiones articulares que afectan a los animales domésticos.

**Palabras clave:** canino, factores de crecimiento, enfermedad articular degenerativa, plasma rico en plaquetas.

## **Osteoarthritis: clinical aspects and new therapeutic perspectives based on regenerative therapy**

**ABSTRACT:** Joint diseases in small animals represent a high percentage in the routine of veterinary hospitals. The high frequency of joint injuries resulting from various factors (intra-articular fractures, ruptured ligaments, predisposing diseases, etc.) requires more effective therapies. The goal of treatment of joint diseases after correction of the primary causes is to decrease pain and delay the progression of osteoarthritis. Equilibrium in the cartilage metabolism is critical for maintaining the integrity of the extracellular matrix and the other structures that form the cartilage. The imbalance between cytokines and growth factors can lead to irreversible and disabling alterations in the joint surface of the major joints. Osteoarthritis is characterized by alteration of the structure of articular cartilage, decrease in joint movement accompanied by crackling, osteophyte formation, lameness, pain and loss of function. The currently available treatments include conservative and surgical ones trying to stabilize joints and relieve pain, but not to prevent the progression of the degenerative joint disease. Platelet rich plasma (PRP) is an autologous substance obtained from whole blood subjected to centrifugation and activation processes that have shown therapeutic potential in the treatment of certain diseases and in various areas of human

and veterinary medicine. The objective of this bibliographical presentation is to review the main aspects of osteoarthritis, the role of cytokines in its development, the characteristics of platelet-rich plasma, processes for its obtation and use as a new therapeutic alternative in the main joint injuries affecting domestic animals.

**Key words:** canine, growth factors, degenerative joint disease, platelet rich plasma

## Introdução

As doenças ortopédicas, especialmente as articulares, representam uma grande porcentagem de casos na rotina dos hospitais veterinários e podem acometer animais de qualquer idade ou sexo (Tatarunas, 2004). Essas afecções, decorrentes principalmente de lesões traumáticas significativas, podem afetar os ossos e ligamentos, comprometendo assim a estabilidade articular e a integridade da articulação.

Dentre as lesões articulares destacam-se as displasias, osteocondroses, luxações e lesões ligamentares associadas a rupturas completas ou não que acometem as articulações femoro-tibio-patelar (FTP), coxofemoral (CF), escápulo-umeral (EU) e úmero-rádio-ulnar (URU), principalmente. Alterações nestas articulações são as que causam maior comprometimento na deambulação do animal.

A estrutura mais freqüentemente acometida na articulação FTP é o ligamento cruzado cranial (LCCr), cuja ruptura, seja parcial ou completa, produz instabilidade articular que ocasiona o desenvolvimento da osteoartrose (OA) (Arnold et al., 1979; Innes et al., 2000; Johnson et al., 1994; Maletius & Messner, 1999; Wainer et al., 1998).

São relatadas na literatura diferentes modalidades terapêuticas para o tratamento da ruptura total ou parcial do LCCr, como protocolos conservativos e tratamentos cirúrgicos que incluem técnicas extra e intra-capsulares. As técnicas cirúrgicas têm como objetivos o restabelecimento da estabilidade articular e o retardamento do progresso da OA (Chang et al., 2003; Codesido et al., 2009; Dürselen et al., 1996; Huang et al., 2008; Meisterling et al., 2009; Muzzi et al., 2009).

Novas alternativas terapêuticas que se baseiam na aplicação intra-articular de diferentes tipos de células autógenas, obtidas de diferentes fontes, são propostas para favorecer a recuperação dos tecidos lesionados. Essas células possuem características intrínsecas tais como fatores de crescimento e pluri-potencialidade para proliferar e se diferenciar em diferentes tipos celulares que podem modular a regeneração tecidual. Estas novas terapias são conhecidas como terapia regenerativa e engenharia tecidual (Huang et al., 2008; Petrigliano et al., 2006; Silva, 2012). A terapia celular regenerativa inclui principalmente células tronco, células tronco mesenquimais, e concentrados autólogos de plaquetas, cuja literatura relata o efeito benéfico de seu uso na reparação e cicatrização de tecidos doentes ou lesionados. Os resultados mostram grande potencial terapêutico do plasma rico em plaquetas (PRP) quando empregado em humanos na reparação dental e maxilar (Oates et al., 1993; Rodriguez-Florez et al., 2012), em cavalos para o tratamento de lesões

musculoesqueléticas (Carmona, 2006) e em cães como terapia coadjuvante no tratamento da osteoartrose adquirida (Silva, 2012).

Estudos experimentais têm mostrado o efeito favorável do emprego de PRP no retorno das funções após lesões ligamentares, lesões traumáticas na cartilagem articular e em fraturas, mas ainda há controvérsia sobre sua ação nos tecidos articulares (Milano et al., 2010; Patel et al., 2013; Torres, 2006; Weibrich et al., 2004). Assim, o objetivo desta revisão é analisar aspectos como a homeostase da cartilagem, os fatores bioquímicos envolvidos no equilíbrio articular, a osteoartrose e seus fatores desencadeantes e o PRP, incluindo a função das plaquetas, princípios biológicos do PRP, seus componentes estruturais, substâncias empregadas para sua ativação, sua obtenção e seu uso na medicina humana e veterinária.

### ***Homeostase da cartilagem, citocinas e seu papel nas doenças articulares***

Nas articulações sinoviais, a cartilagem articular proporciona proteção ao osso subcondral contra as cargas mecânicas e as forças de corte. Esse tecido conjuntivo altamente especializado é composto principalmente por água, colágeno e proteoglicanos que formam uma fibra rígida reforçada com alta resistência e capacidade para absorver impactos (Stockwell, 1991).

A cartilagem articular é um tecido conectivo avascular, aneural e alinfático desenhado para distribuir as cargas mecânicas e proporcionar uma superfície de resistência ao desgaste para as estruturas articulares (Buckwalter & Mankin, 1998; Mobasher & Henrotin, 2010).

O tecido cartilaginoso é feito de matriz extracelular (MEC). Os condrócitos são as principais células na cartilagem articular normal e são muito ativos, eles são os principais responsáveis pela manutenção da MEC. Acredita-se que a integridade da matriz é mantida pelo equilíbrio entre as citocinas anabólicas (fatores de crescimento) tais como o Insulinic Growth Factor (IGF) e o Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) que induzem a produção das macromoléculas que formam a cartilagem articular e os efeitos catabólicos das citocinas interleucina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), as quais induzem a produção de metaloproteínas específicas degradadoras da matriz (Shinmei et al., 1990; Westacott & Sharif, 1996).

O papel e o mecanismo de ação das citocinas na progressão da OA têm recebido especial atenção nas pesquisas recentes devido à particular interação entre a cartilagem articular e a sinovia na fisiopatologia da doença (Pelletier et al., 1991; Westacott & Sharif, 1996).

A manutenção da homeostase da matriz da cartilagem articular requer renovação dos componentes da matriz, principalmente do colágeno e dos proteoglicanos. Acredita-se que os condrócitos e os sinoviócitos são estimulados, através de receptores de membrana específicos, pelas citocinas, tais como a IL-1 e o FNT- $\alpha$  para produzir proteases da matriz cartilaginosa e para suprimir a síntese de colágeno e proteoglicanos (Pelletier et al., 1991). Assim as citocinas não só favorecem a destruição do tecido, mas também inibem a reparação do mesmo (Pelletier et al., 1991).

Muitos fatores de crescimento tais como o TGF- $\beta$ , podem neutralizar o efeito das citocinas pela estimulação da síntese dos componentes da matriz ou atuando como inibidores naturais das enzimas degradadoras da cartilagem (Pelletier et al., 1991).

As citocinas são liberadas por algumas células em resposta a um sinal específico e influenciam a função das células, exercendo um efeito positivo ou negativo na expressão genética (Arend & Dayer, 1993). Estas moléculas têm uma vida média relativamente curta, fazendo com que usualmente exerçam sua função nas células do local onde são liberadas (Arend & Dayer, 1993).

As citocinas são sintetizadas por células como monócitos, macrófagos, sinoviócitos e fibroblastos, os quais se encontram aumentados na sinovia inflamada, podendo assim modular o metabolismo dos tecidos conjuntivos (Larrick & Kunkel, 1988).

Os tecidos conjuntivos são caracterizados pela abundância da sua MEC. Para o funcionamento dos tecidos, requer-se uma arquitetura normal dessa matriz cuja homeostase é controlada principalmente pelas células do tecido conectivo através da regulação dos eventos de síntese e degradação estimuladas pelas citocinas que atuam como mensageiros intracelulares (Pelletier et al., 1991; Westacott & Sharif, 1996). As células da MEC além de sintetizar os componentes estruturais essenciais da matriz como o colágeno e os proteoglicanos, produzem as proteases responsáveis pela renovação desses componentes (Pelletier et al., 1991; Westacott & Sharif, 1996).

Acredita-se que a super-regulação ou um excesso das citocinas tem um papel determinante na fisiopatologia de muitas doenças articulares, principalmente na OA, embora esse papel ainda não seja bem estabelecido (Westacott & Sharif, 1996).

Em tecidos normais, a homeostase da matriz pode ser considerada balanceada quando a taxa da nova síntese de matriz é igual à taxa de degradação da mesma, sendo que não há nem perda nem ganho neto de tecido. Um desequilíbrio na síntese e degradação é comumente associado com estados patológicos (Pelletier et al., 1991).

Os processos degradativos e de síntese são controlados por proteínas extracelulares denominadas fatores de crescimento ou citocinas. Os fatores de crescimento tais como o IGF e o TGF-  $\beta$  são associados principalmente com a estimulação da formação de tecido conectivo, enquanto as citocinas, tais como a IL-1 e o FNT- $\alpha$  são principalmente associados com a estimulação da degradação da MEC (Gupta, 1988; Pelletier et al., 1991). É sabido que algumas citocinas antagonizam os efeitos de outras como, por exemplo, a atividade da IL-1 é diminuída na presença do TGF-  $\beta$  e do IGF, possivelmente devido à sub-regulação do receptor da IL-1 (Harvey et al., 1991; Tyler, 1989; Westacott & Sharif, 1996). Esses mecanismos de controle são essenciais para manter a integridade dos tecidos. Alterações no equilíbrio dos mecanismos de ação das citocinas podem contribuir ou desencadear processos destrutivos e degradativos das articulações (Westacott & Sharif, 1996).

### ***Osteoartrose***

A OA é uma doença multifatorial e com diferentes fatores predisponentes (Stockwell, 1991) que pode acometer qualquer articulação, incluindo a articulação coxo-femoral

(CF), a úmero-rádio-ulnar (URU) e a fêmoro-tíbio-patelar (FTP) (Franklin et al., 2009; Rychel, 2010). Esta doença é a mais comum das afecções articulares nos animais domésticos, afetando a integridade da cartilagem articular e causando dor e disfunção. As alterações no osso subcondral e a perda da cartilagem resultam em inflamação, claudicação, diminuição na amplitude dos movimentos, dor e incapacidade física (Johnston et al., 2007; Liu et al., 2003; Westacott & Sharif, 1996).

O diagnóstico da OA está baseado principalmente nos exames clínicos e imagenológicos. Na maioria dos casos, entretanto, há discrepância entre os sinais clínicos e o surgimento das alterações articulares (Henrotin et al., 2012).

Animais de médio e grande porte são os mais acometidos, desenvolvendo sinais clínicos mais graves ou iniciando o processo degenerativo precocemente, embora animais de todos os tamanhos, sexos e raças de cães e gatos possam ser acometidos pela doença (Rychel, 2010).

Instabilidade, incongruência e injúria articular são fatores que predispõem à OA devido ao estresse anormal na cartilagem articular e à inflamação crônica (Ray & Ray, 2008). Dentre os principais fatores predisponentes pode se citar a displasia URU e CF, cirurgias ortopédicas, ruptura do ligamento cruzado cranial (RLCCr), fraturas articulares e incongruências resultantes de traumas ou de deformidades angulares dos membros (Rychel, 2010).

Independente da causa que originou o processo degenerativo, a cartilagem acometida é usualmente mais fina e mais hidratada que a cartilagem das articulações normais (Liu et al., 2003; McDevitt & Muir, 1976). Os níveis das macromoléculas que compõem a MEC encontram-se aumentados nas cartilagens afetadas pela OA, indicando que os condrocitos dessas cartilagens sintetizam agreganos imaturos e maiores, confirmando a formação de cartilagem imatura (Adams & Grant, 1987; Liu et al., 2003).

Quando ocorre a RLCCr com o subsequente desenvolvimento da OA, pode-se observar o rompimento e remodelamento da rede de colágeno na zona superficial da cartilagem articular (Guilak et al., 1994) com aumento nos níveis de mRNA de colágeno tipo II e sua expressão na cartilagem (Matyas et al., 2002; Matyas et al., 1997a; Matyas et al., 1997b).

A OA resulta de uma complexa interação entre fatores bioquímicos ou inflamatórios e biomecânicos (De Rezende et al., 2013). As alterações associadas com o processo degenerativo envolvem todos os tecidos articulares, incluindo a cápsula articular, osso subcondral, ligamentos e músculos, resultando em dano e destruição da cartilagem articular (Innes et al., 2000; Johnston, 1997; Pond & Nuki, 1973; Rayward et al., 2004).

### ***Fatores bioquímicos***

Alguns estudos recentes postulam a OA como uma doença inflamatória que se perpetua, causada por respostas mediadas por condrocitos e sinoviócitos (Bonnet & Walsh, 2005; Konttinen et al., 2012; Pincus, 2001; De Rezende et al., 2013), na qual os níveis séricos e sinoviais de citocinas inflamatórias são maiores em pacientes com OA (Pearle et al., 2007; De Rezende et al., 2013; Sohn et al., 2012).

As mudanças bioquímicas na cartilagem acometida por OA afetam os dois principais componentes da MEC: o colágeno e os proteoglicanos, sendo que os últimos são as primeiras macromoléculas da matriz a ser acometidas. Durante o processo patológico há uma diminuição dos proteoglicanos da cartilagem articular, que indica a gravidade da doença (Liu et al., 2003; Mankin, et al., 1974; Pelletier et al., 1991). Em estádios avançados os condrócitos são incapazes de compensar a diminuição dos proteoglicanos, resultando assim em perda da MEC (Pelletier et al., 1991).

As citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1, a IL-6 e o FNT- $\alpha$  e as quimiocinas têm sido encontradas em quantidades elevadas em articulações de humanos com artrite reumatóide, assim como citocinas antiinflamatórias tais como a IL-10. A IL-1 e o FNT- $\alpha$  estão entre as primeiras citocinas liberadas pelos monócitos ativados e pelos macrófagos na resposta imune. Uma vez liberadas elas agem nas células do sistema não imune como as células endoteliais, condrócitos e osteoblastos para produzir mais IL-1 e FNT- $\alpha$  aumentando a concentração de citocinas que resulta em inflamação acentuada (Cartier et al., 1999).

Blom et al. (2007) realizaram um estudo no qual foram empregados dois grupos, no primeiro grupo, foi realizada a depleção dos macrófagos e no segundo grupo não foi feita a depleção dos macrófagos e induziram a OA através da collagenase. O grupo no qual houve a depleção dos macrófagos sinoviais antes da indução da OA não apresentou degradação da cartilagem, o que significa que os macrófagos têm papel fundamental na patogênese da OA e não é apenas consequência dela. A IL-1 e o FNT- $\alpha$  induzem outras interleucinas como a IL-6, as quais promovem a infiltração celular, a hematopoiese e a angiogênese através da proliferação das células endoteliais. Por meio destes mecanismos, as citocinas pró-inflamatórias liberadas pelos macrófagos poderiam ser responsáveis por algumas das mudanças inflamatórias em determinadas doenças articulares e podem estimular os sinoviócitos e os condrócitos para produzir e ativar as metaloproteinases, que tem um papel fundamental no processo destrutivo da cartilagem articular (Carter et al., 1999; Coughlan et al., 1998a; Coughlan et al., 1998b). A IL-1 e o FNT- $\alpha$  atuam sinergicamente para induzir e manter a inflamação e a erosão articular nas artrites (Brennan et al., 1998).

Um dos sinais clínicos observados em pacientes com OA é o aumento de volume articular, causado pelo derrame articular ou espessamento articular, demonstrando assim a presença de sinovite (De Rezende et al., 2013). A sinovite e o derrame articular são considerados fatores que induzem a perda da cartilagem na articulação inicialmente sem OA (Roemer et al., 2011). Tem-se encontrado uma associação direta entre o grau de sinovite e o deterioramento da articulação (Ayril et al., 2005).

Aproximadamente 50% dos casos de OA em caninos apresentam sinovite de moderada, a acentuada em biopsias sinoviais (Baines, 1994). Esta sinovite é caracterizada por hipertrofia e hiperplasia das células da intima sinovial, proliferação das vilosidades e infiltração moderada de linfócitos, células plasmáticas e monócitos (Cartier et al., 1999; May et al., 1992).

Num estudo em ratos, pesquisou-se o efeito da IL-1 e do FNT- $\alpha$  no desenvolvimento da artrite aguda injetando estas substâncias na articulação FTP na dose de 3, 10 ou 30 $\mu$ g. Observou-se dois dias após que a IL-1 induziu significativamente e dose-dependente, um aumento na inflamação (de moderada a acentuada), na reabsorção

óssea (de mínima a moderada) e na formação de osteoclastos (de mínima a moderada). Em contraste, o FNT-  $\alpha$  induziu mínima a moderada inflamação, mas teve pouco efeito na reabsorção óssea e na proliferação de osteoclastos. Tanto a IL-1 quanto o FNT-  $\alpha$  induziram discreta degeneração na cartilagem articular (Bolon et al., 2004). Os autores concluíram que ambas as citocinas estimulam o processo inflamatório, mas que a IL-1 é a citocina que leva à destruição do osso subcondral (Bolon et al., 2004).

É Indiscutível o papel fundamental que desempenham as citocinas no processo fisiopatológico da OA ao promover degradação da cartilagem articular e dos componentes da MEC através de enzimas liberadas por condrócitos e sinoviócitos estimulados por estas moléculas, ao mesmo tempo em que aumentam a resposta inflamatória do tecido local, favorecendo e perpetuando o processo inflamatório.

### ***Fatores biomecânicos***

Os fatores biomecânicos na OA estão relacionados com alterações no movimento e as forças físicas que agem sobre pontos localizados da articulação (De Rezende et al., 2013). A OA é uma resposta patofisiológica de uma articulação a um insulto mecânico e representa a tentativa da articulação de corrigir um estresse mecânico anormal e de reparar a lesão resultante (Brandt et al., 2009; De Rezende et al., 2013).

O estresse mecânico ao qual são submetidos às articulações com OA, atua também como desencadeador da resposta inflamatória (Kawakita et al., 2012). O estresse é captado e interpretado pelos mecanorreceptores, que ativam as cascatas inflamatórias exatamente como ocorre na ativação pelas citocinas (Piscoya et al., 2005).

Existem diferentes fatores que podem levar a um aumento anormal das forças que agem em áreas localizadas da articulação, dentre os quais se destacam os defeitos anatômicos congênitos, lesões adquiridas que promovem instabilidade articular, sobrepeso e combinação destes fatores (De Rezende et al., 2013). Embora os fatores biomecânicos não sejam a causa da OA, eles têm um papel fundamental no desenvolvimento dessa lesão devido à concentração do estresse intra-articular que estimula a resposta inflamatória (De Rezende et al., 2013).

Outros estudos em humanos tem encontrado também que as lesões em estruturas como os meniscos aumentam o risco do desenvolvimento de OA (Englund et al., 2009), pois estas lesões precedem a perda da cartilagem articular. Cirurgias para remoção de lesões nos meniscos, mesmo remoções parciais, aumentam o estresse focal na cartilagem e causam altas taxas de OA (Papalia et al., 2011).

As displasias congênitas aumentam o risco de desenvolvimento da OA (Lane et al., 2000). Joelhos em varus ou valgus sofrem lesões no compartimento articular medial e lateral, respectivamente, causada pelo aumento das cargas fisiológicas que atuam sobre a articulação FTP (Felson et al., 2003).

Injúria repetitiva parece ser um fator importante para a síntese de citocinas e qualquer alteração no equilíbrio entre as citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias que pode contribuir para o desenvolvimento do processo degenerativo. A produção insuficiente de fatores de crescimento e o desequilíbrio entre a inibição e a produção de metaloproteinases podem contribuir para o catabolismo da cartilagem (Johnston,

1997). Os fatores biomecânicos agem então, como predisponentes para o surgimento dos fatores bioquímicos, ao produzir uma resposta inflamatória localizada causada pela distribuição inadequada das cargas e forças que agem sobre os componentes articulares.

Após o desencadeamento do processo degenerativo, seu desenvolvimento e progressão são inevitáveis mesmo que a causa primária biomecânica ou bioquímica tenham recebido o tratamento adequado. A OA é um processo doloroso e incapacitante e o objetivo primário do tratamento é o alívio da dor. Geralmente empregam-se agentes modificadores da osteoartrose, para diminuir a dor e manter ou melhorar a função articular. É necessário, entretanto, tratar a causa primária do problema (Rezende & Gobi, 2009).

Os principais agentes empregados são os glicosaminoglicanos polissulfatados, o sulfato de condroitin e o ácido hialurônico intra-articular, que podem diminuir a dor, a inflamação e restabelecer o ambiente articular. Eles possuem substâncias como glicolipídeos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos, proteoglicanos dentre outros, que desenvolvem um papel fundamental na formação das superfícies articulares, tendões, tecido sinovial, ossos e têm participação no metabolismo da cartilagem articular (Anvisa, 2012; Canapp, 2013). Embora estas substâncias sejam empregadas com frequência na rotina, elas nem sempre têm os efeitos desejados e não oferecem um controle satisfatório no desenvolvimento da OA.

Tem sido relatado também, o uso de antiinflamatórios não esteroidais na tentativa de diminuir a inflamação e a dor causadas pelo processo degenerativo. Em muitos casos, estes medicamentos oferecem poucos benefícios sobre o controle da doença e muitas vezes podem ter efeitos deletérios sobre a articulação e sobre outros sistemas corporais (Clark, 2006; Filho & Rahal, 2008; Lees et al., 2004).

Devido à ausência de um tratamento satisfatório para prevenir o desenvolvimento da OA e suas conseqüências, tem se realizado pesquisas empregando a terapia celular. Neste contexto surgem os estudos de avaliação do efeito do PRP em diferentes tecidos orgânicos (Carmona et al., 2011; Choi et al., 2005; Froum et al., 2002; Gobbi & Vitale, 2012; Hakimi et al., 2010; Silva, 2012; Silva et al., 2012a). Os resultados mostram a eficiência desta substância para acelerar o processo de cicatrização, na redução da inflamação e da dor, além de disponibilizar os fatores de crescimento essenciais para direcionar a reparação do tecido lesado.

## **Plasma rico em plaquetas: obtenção e emprego**

### ***Fisiologia das plaquetas***

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos derivados dos megacariócitos da medula óssea, cujo diâmetro varia de um a três  $\mu\text{m}$  nos cães e de dois a seis  $\mu\text{m}$  nos gatos, com uma vida média entre seis a dez dias. Estas células são multifuncionais e atuam em vários processos fisiológicos como a homeostase, manutenção e regulação do tônus vascular, formação e retração do coágulo (Boudreaux et al., 2010; Harrison, 2005; Wilkerson et al., 2001).

Essas células também atuam na reparação de feridas e no início da cicatrização tecidual, uma vez que elas contêm fatores de crescimento, citocinas e mediadores inflamatórios que agem produzindo quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular, neovascularização, angiogênese e deposição de MEC, além de atuar na resposta imune (Carmona, 2006; Carrasco et al., 2009; Sanchez et al., 2003; Silva et al., 2013; Silva et al., 2012b).

Após a injúria tecidual as plaquetas chegam ao local e entram em contato com o colágeno e o fator de Von Willebrand expostos dentro da MEC, produzindo-se assim a ativação das mesmas com conseqüente liberação de citocinas, fatores de crescimento e diferentes mediadores pro-inflamatórios que aumentam a agregação plaquetária e a ativação das vias da coagulação para a formação do coágulo de fibrina, exercendo assim, suas funções na coagulação, inflamação, formação de tecido de granulação, epitelialização e remodelação do tecido de cicatrização (Blair & Flaumenhaft, 2009; Boswell et al., 2012; Iacopetti et al., 2012; Mishra et al., 2009; Silva, 2012; Verhamme & Hoylaerts, 2009).

As plaquetas contêm no seu interior uma variedade de grânulos encarregados de secretar diferentes substâncias depois de ativadas. Os principais grânulos são os grânulos  $\alpha$ , os grânulos densos e os grânulos lisosomais, os quais exercem uma função diferente durante o período de reparação das feridas. As principais substâncias secretadas pelos grânulos após a ativação são os fatores de crescimento (PDGF, TGF- $\beta$ , IGF, FGF, EGF, VEGF), citocinas, fator de Von Willebrand, serotonina, fator V, XI e XIII, fibrinogênio, ATP, fibronectina, dentre outros que exercem diferentes funções no processo de cicatrização (Gobbi & Vitale, 2012; Intini, 2009).

Após a injúria do tecido, a membrana celular libera tromboxanos e prostaglandinas  $2\alpha$ , levando a uma vasoconstrição inicial (Broughton et al., 2006a). Posteriormente, as plaquetas são ativadas pela exposição às proteínas da MEC como colágeno, o fator de Von Willebrand e fibronectinas dentre outras (Smith & Roukis, 2009), fazendo com que inicie a agregação plaquetária e a formação inicial de um trombo (Broughton et al., 2006b; Witte & Barbul, 1997). Esse processo chamado ativação inclui mudanças na morfologia da plaqueta e a liberação do conteúdo dos grânulos (Behnke & Forer, 1998; Diegelmann & Evans, 2004). As substâncias liberadas pelos grânulos densos potencializam a ativação plaquetária.

Durante a fase de ativação, os grânulos  $\alpha$  unem-se à membrana da plaqueta para liberar os fatores de crescimento, as citocinas e quimiocinas que auxiliam na migração e crescimento celular. Este processo se inicia nos primeiros dez minutos após a ativação e termina aproximadamente uma hora depois (Behnke & Forer, 1998; Diegelmann & Evans, 2004; Marx, 2004).

A liberação das substâncias contidas nos grânulos das plaquetas ocorre durante a vida útil das mesmas (Froum et al., 2002; Marx, 2004).

### ***Plasma Rico em Plaquetas***

O PRP, também conhecido como concentrado autólogo de plaquetas, é utilizado para favorecer o processo de reparação de feridas e lesões em diferentes tecidos como o cutâneo, musculoesquelético, intestinal, dentre outros (Boswell et al., 2012;

Yamaguchi et al., 2012) e para proporcionar uma MEC com capacidade para permitir o desempenho mecânico e funcional dos tecidos saudáveis (Wasterlain et al., 2012).

O PRP é uma fração de plasma obtida de sangue autólogo que possui uma concentração de plaquetas três a cinco vezes superiores aos níveis basais do sangue total e é considerada uma fonte natural de fatores de crescimento (Carrasco et al., 2009; Gonzalez, 2006; Jo et al., 2012; Kon et al., 2012; Marx et al., 1998; Rodriguez-Florez et al., 2012).

O mecanismo de ação do PRP está fundamentado na quantidade de plaquetas concentradas que são aplicadas diretamente sobre os tecidos lesados (Choi et al., 2005; Silva, 2012; Wasterlain et al., 2012; Yamaguchi et al., 2012), e na modulação dos processos cicatriciais através dos fatores de crescimento e de outras substâncias, presentes nos grânulos  $\alpha$  das plaquetas, que após sua liberação, iniciam e mantêm o processo de regeneração tecidual (Beca et al., 2007; Mishra et al., 2009; Textor, 2011).

Os fatores de crescimento, mediadores pro-inflamatórios, fibrina e outras substâncias são capazes de influenciar o meio onde são aplicadas para produzirem mitose celular, recrutamento de outras células, proliferação e diferenciação celular, síntese de proteínas da MEC como colágeno e substâncias que promovem a angiogênese e neovascularização (Anitua et al., 2012; Freymiller & Aghaloo, 2004; Iacopetti et al., 2012; Lee et al., 2012; Mishra et al., 2009; Silva et al., 2012a).

Dentre os principais fatores de crescimento liberados dos grânulos encontram-se o TGF- $\beta$ , o Platelet Derived Growth Factor (PDGF), o Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF), o Fibroblast Growth Factor (FGF), o Insulinic Growth Factor (IGF), o Epidermic Growth Factor (EGF) dentre outros (Beca et al., 2007; Gonzalez, 2006; Iacopetti et al., 2012; Lee et al., 2012; Rodriguez-Florez et al., 2012; Silva, 2012a; Silva et al., 2011a). Esses fatores de crescimento têm várias funções e atuam em conjunto com as citocinas e as outras substâncias pro-inflamatórias para regenerar os tecidos. Dentre as principais funções dos diferentes fatores de crescimento pode-se citar:

- PDGF: é o primeiro fator de crescimento presente na ferida, inicia a reparação do tecido conectivo e suas principais funções incluem a mitogênese de células como os neutrófilos, monócitos e fibroblastos que agem na reparação tecidual, angiogênese das células endoteliais dos capilares e ativação dos macrófagos (Bennett & Schultz, 1993; Hakimi et al., 2010; Marx et al., 1998; Smith & Roukis, 2009);
- TGF- $\beta$ : promove a proliferação, migração celular e síntese de proteínas da MEC como o colágeno (Anitua et al., 2005; Bennett & Schultz, 1993; Hakimi et al., 2010; Sanchez et al., 2003), além de produzir mitogênese e quimiotaxia de osteoblastos e inibe a atividade dos osteoclastos (Bennett & Schultz, 1993). Induz a osteogênese e a condrogênese (Joyce et al., 1990);
- IGF: produz proliferação celular que estimula a síntese de proteínas da MEC, tem efeitos quimiotáticos e mitogênicos (Bennett & Schultz, 1993; Goh et al., 2003), aumenta a síntese de colágeno tipo I e III;

- VEGF, FGF: producen quimiotaxia e estimulam a mitogênese de células endoteliais e vasculares, promovendo a angiogênese e a vascularização (Anitua et al., 2005; Bennett & Schultz, 1993; Intini, 2009; Smith & Roukis, 2009). O VEGF estimula a angiogênese (Intini, 2009);
- EGF: estimula a migração quimiotática de células epiteliais ao tempo que estimula a mitose dessas células (Bennett & Schultz, 1993), estimula a proliferação celular (Goh et al., 2003) e a síntese da MEC (Kang & Kang, 1999).

Para que essas substâncias possam ter efeito terapêutico devem ser concentradas em níveis adequados para proporcionar os fatores de crescimento e outras moléculas numa quantidade suficiente para estimular a neovascularização, o incremento no aporte sanguíneo e de nutrientes necessários para a regeneração do tecido lesado (Boswell et al., 2012; Gobbi & Vitale, 2012; Tiwari & Bhargava, 2013; Xie et al., 2013b). A concentração celular pode aumentar ou diminuir segundo o método empregado na obtenção do PRP.

### ***Ativação do PRP***

Além da concentração das plaquetas é necessária a ativação das mesmas para que seja liberado o conteúdo dos grânulos e, dependendo da substância empregada pode-se obter um gel ou um líquido de consistência viscosa que permite a ativação das plaquetas mediante diferentes vias.

**Batroxobina:** induz a ativação das plaquetas pela formação e polimerização da fibrina a partir do fibrinogênio e interação da fibrina com sais de cálcio. A ativação e liberação dos grânulos são lentas (Mazzuco et al., 2008; Silva, 2012b; Wang et al., 2001).

**Trombina:** media a agregação das plaquetas, a liberação do ADP, tromboxano A<sub>2</sub>, serotonina, e epinefrina, além da produção de fibrina a partir do fibrinogênio (Jennings et al., 2009; Silva et al., 2012a).

**Gluconato de cálcio:** o cálcio é um importante segundo mensageiro na cascata de ativação das plaquetas, pois, media as respostas características da ativação plaquetária tais como mudanças na forma da plaqueta, secreção dos grânulos e agregação. Ativar as plaquetas com gluconato de cálcio leva a um aumento deste no citosol e conseqüentemente a um aumento da resposta das funções das plaquetas que são diretamente dependentes do cálcio. Essas respostas são ativação da integrina, liberação de uma segunda onda de mediadores, ADP e tromboxano A<sub>2</sub> e a expressão da atividade procoagulante das plaquetas, principalmente pela geração de trombina (Bergmeier & Stefanini, 2009; Roberts et al., 2004).

Após a adição dos diferentes produtos para a ativação das plaquetas, o PRP ativado e pronto para ser empregado, deve ser imediatamente aplicado no local lesado para evitar que a de granulação e os fatores de crescimento liberados sejam depositados fora do local de interesse (Mazzuco et al., 2008).

É importante considerar que diferentes fatores extrínsecos podem influenciar na qualidade do PRP e na quantidade de plaquetas concentradas mediante os diferentes

métodos. Dentre esses fatores tem-se: a fração colhida após a centrifugação, a força de centrifugação, o tempo de centrifugação, a substância empregada para ativar as plaquetas e o conteúdo de leucócitos (Ehrenfest et al., 2008; Silva et al., 2013; Tiwari & Bhargava, 2013).

Giraldo et al. (2013) demonstraram na sua pesquisa que há outros fatores adicionais que também influenciam a qualidade e o conteúdo celular do PRP. Fatores intrínsecos como a raça, a idade e o sexo afetam diretamente os resultados hematológicos, a quantidade de plaquetas, a concentração dos fatores de crescimento e das proteínas entre outros aspectos. Esses fatores intrínsecos interagem com os fatores extrínsecos influenciando a apresentação celular e molecular do PRP.

### ***Obtenção do PRP***

OPRP, fonte natural de fatores de crescimento e substâncias pró-inflamatória pode ser obtido mediante diferentes métodos (Argüelles et al., 2006). Na medicina veterinária são descritos três métodos empregados com sucesso para este fim, que são o método manual ou método do tubo com única centrifugação (Silva et al., 2011b; Silva, 2012), o método manual com dupla centrifugação (Virchenko & Aspenberg, 2006; Xie et al., 2013a) e o método semi-automatizado (Ehrenfest et al., 2008; Textor, 2011). A concentração de plaquetas depende do tempo e da força da centrifugação empregada e da quantidade de sangue total para a produção do PRP (Anitua et al., 2009; Baksh et al., 2013; Jo et al., 2012).

### ***Método do tubo com centrifugação única***

Neste método é coletada uma quantidade determinada de sangue total, que varia de acordo com a espécie, em tubos com solução ACD-A. Esta solução contém citrato de trisódio (22 g/L), ácido cítrico (8 g/L) e dextrose (24,5 g/L) (Argüelles et al., 2006; Silva, 2012) e age como anticoagulante. Posteriormente, as amostras são centrifugadas a velocidades que variam de 85 a 1220 g (Argüelles et al., 2006; Silva et al., 2011a; Silva et al., 2011b; Virchenko & Aspenberg, 2006) durante 5 a 20 minutos. Com este método, são obtidas duas frações diferentes de concentrados de plaquetas, sendo que a primeira corresponde aos 50% imediatamente acima da capa leucocitária (PRP) e a segunda aos 50% localizados acima da primeira fração que é denominada plasma pobre em plaquetas (PPP).

Posteriormente, com auxílio de uma micropipeta de volume fixo, ambas as frações são separadas e depositadas em tubos de polipropileno para a avaliação, mediante impedância volumétrica do hematócrito, plaquetas, leucócitos, valores relativos e absolutos de linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos (Argüelles et al., 2006; Silva et al., 2011a).

Esta mesma avaliação é feita também em amostras de sangue total para se obter os valores de referência para posterior comparação com os valores do PRP (Jo et al., 2012; Virchenko & Aspenberg, 2006).

### ***Método do tubo com centrifugação dupla***

Este método segue os princípios básicos do método do tubo com centrifugação única, mas após a primeira centrifugação, a fração correspondente aos primeiros 50% imediatamente acima da capa leucocitária é coletada em tubos de polipropileno e é novamente centrifugada a velocidades que variam de 240 a 3600 g durante períodos de tempo que variam de 5 a 20 minutos (Argüelles et al., 2006; Choi et al., 2005; Lee et al., 2012; Virchenko & Aspenberg, 2006; Xie et al., 2013a). Após a centrifugação o produto obtido pode ser dividido em duas frações (A e B), onde a primeira corresponde a 25% da fração mais baixa no tubo (PRP) e a segunda aos 75% da fração restante (PPP). Posteriormente, as plaquetas obtidas após a segunda centrifugação são suspensas em plasma, ficando o produto disponível para seu uso (Argüelles et al., 2006).

### ***Método semi-automatizado***

Este método é caracterizado pelo emprego de aparelhos de alta tecnologia para concentrar as plaquetas mediante o processo de centrifugação. Durante este procedimento pretende-se separar o plasma pobre em plaquetas e a fração sanguínea do PRP (Froum et al., 2002; Hakimi et al., 2010).

Para obter o PRP com este método é colhida uma determinada quantidade de sangue total que varia de acordo com a espécie (entre cinco até 50 ml), que posteriormente é depositada em tubos de PRP para ser centrifugada a uma velocidade que varia de 3200 a 5600g durante 15 a 20 minutos. Após este procedimento o sangue é separado em PPP e PRP, descartando o PPP. O PRP é submetido à análise celular para avaliar seu conteúdo e realiza-se a contagem celular no sangue total para comparar com o PRP e avaliar sua qualidade e, portanto, a eficiência do método (Tiwari & Bhargava, 2013).

Independente do método empregado para se obter o PRP, é importante avaliar se foi eficiente para concentrar as plaquetas. Devem ser consideradas também a força empregada na centrifugação e a duração do processo, pois a quantidade de plaquetas concentradas e a viabilidade das mesmas são altamente dependentes desses pontos críticos (Choi et al., 2005; Ehrenfest et al., 2008; Weibrich et al., 2004).

### ***Usos do PRP***

Muitas pesquisas têm sido realizadas para avaliar os efeitos terapêuticos dos concentrados de plaquetas, em medicina humana e em veterinária envolvendo cirurgias maxilo-faciais, ortopedia e tratamentos periodontais (Marx et al., 1998; Rodriguez-Florez et al., 2012; Torres, 2006), recuperação de lesões musculoesqueléticas em cavalos (Carmona et al., 2011; Carmona, 2006; Iacopetti et al., 2012), como terapia para a osteoartrose adquirida em cães (Silva, 2012) e após tratamento da ruptura do ligamento cruzado cranial (Xie et al., 2013b).

Os resultados obtidos mostraram grande potencial de regeneração, fato que tem estimulado ainda mais as pesquisas para o melhor entendimento da ação do PRP.

Em estudos realizados em pacientes humanos o PRP foi empregado para estimular a proliferação celular de tenócitos e melhorar a expressão gênica de MEC em tendões.

Os resultados mostraram um aumento significativo da proliferação e densidade celular aos sete e 14 dias dependendo da dose aplicada, e estímulo significativo da expressão gênica de colágeno tipo I e tipo III durante os mesmos períodos de tempo (Jo et al., 2012; Tohidnezhad et al., 2011). Outros estudos avaliaram o efeito do PRP sobre a osteoartrose em humanos com significativa redução da dor, redução da rigidez articular, da função física e do score total da doença quando foi comparado com um tratamento placebo (Patel et al., 2013). Na medicina veterinária, o PRP tem sido avaliado em cavalos para determinar seu efeito na recuperação de feridas cutâneas e musculares de difícil cicatrização, mostrando uma melhora clínica significativa com estímulo da formação de tecido de granulação e diminuição da produção de fibrina e de secreções serosas nas primeiras três semanas após o tratamento, diminuição da inflamação e melhora da cicatrização da ferida e da aparência cosmética da mesma (Iacopetti et al., 2012). Outro estudo num equino com lesão traumática da articulação escápulo-umeral mostrou efeito favorável do tratamento com PRP, logo após o terceiro dia da aplicação, com redução do aumento do volume articular e início de apoio no membro. Melhora gradativa foi verificada ao longo do tratamento (Carmona & López, 2011).

Em pequenos animais, também tem sido avaliados os efeitos do PRP, principalmente em cães. Num dos estudos avaliou-se seu efeito na expressão gênica em modelo canino de tratamento do ligamento cruzado cranial, encontrando-se um aumento nos níveis de mRNA de substâncias como colágeno tipo I e III, metaloproteinases da matriz 1 e 13 e TGF- $\beta$  às duas, seis e 12 semanas após a cirurgia de substituição do ligamento. O PRP pode alterar a expressão de alguns genes específicos, especialmente durante os estágios precoces da remodelação do enxerto, fato que pode explicar seu efeito benéfico no processo de maturação dos enxertos empregados na reparação do ligamento cruzado cranial (Xie et al., 2013a). Outro estudo em cães avaliou o efeito do PRP na revascularização e reinervação de autoenxertos empregados na reparação do ligamento cruzado cranial, onde foi observado um incremento na expressão do mRNA de moléculas como o VEGF, trombospondina 1, neurotropina 3 e fator de crescimento neural (Xie et al., 2013b).

O PRP foi utilizado na cicatrização de anastomose intestinal em ratos, cujo resultado mostrou que os grupos de animais tratados com PRP tiveram um aumento significativo nos valores da pressão de ruptura anastomótica e na concentração de hidroxiprolina, enquanto as concentrações altas de PRP ocasionaram diminuição significativa nesses mesmos valores e concentrações baixas não tiveram nenhum efeito nos parâmetros avaliados. As concentrações do PRP interferem na eficácia dessa terapia. (Yamaguchi et al., 2010).

Outro estudo no qual foram utilizados cães que sofreram ruptura do ligamento cruzado cranial espontânea e que foram submetidos a tratamento cirúrgico acompanhado de terapia com PRP ou com agentes modificadores da OA e que foram submetidos a avaliações radiográficas e em plataforma de força, encontrou que no grupo tratado com PRP os valores de apoio na plataforma de força do membro acometido e tratado com PRP foram aumentando até igualar os valores do membro contralateral ao longo do estudo, fato que não ocorreu no grupo que não recebeu esse tratamento. Isso sugere que a injeção intra-articular dessa substância foi favorável nas alterações degenerativas articulares pelo menos durante o tempo do estudo (Silva, 2012).

## Considerações finais

A área da terapia regenerativa constitui-se numa nova modalidade terapêutica que vem ganhando espaço no tratamento de diferentes doenças tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária. O emprego de substâncias autólogas e principalmente de células obtidas a partir de diferentes fontes biológicas representa uma excelente alternativa terapêutica para abordar o tratamento de algumas afecções que até agora não tem nenhum tratamento satisfatório.

Como foi descrito acima, o PRP é relativamente fácil de coletar, seguro para seu uso em diversos pacientes, é um importante modulador das respostas inflamatórias desatadas após que acontece alguma injúria tecidual, sendo fundamental no controle e resolução da fase inflamatória, regulando a migração de diferentes tipos de células como os neutrófilos e os macrófagos responsáveis pela fagocitose e limpeza do local afetado.

Adicionalmente, o alto conteúdo de fatores de crescimento liberado através das plaquetas e de outras fontes estimula a fase de proliferação, durante a qual tem lugar a síntese da matriz extracelular e a vascularização do local, fatores que propiciam um melhor ambiente para a chegada dos fatores de crescimento e das células que influem na regeneração do tecido lesado e aperfeiçoam a formação de um tecido novo com propriedades mecânicas e biológicas similares aos tecidos saudáveis.

Para obter um efeito positivo empregando o PRP é necessária a associação de diversos fatores durante sua obtenção. Os pontos críticos a considerar e que podem interferir nos resultados obtidos são o método de coleta do sangue, o tempo e a força de centrifugação, a fração de plasma colida após a centrifugação, a substância empregada para ativar o PRP e a aplicação no local afetado. Falhas em algum desses pontos podem conduzir a erros terapêuticos que podem não ter nenhum efeito benéfico e até causar efeitos deletérios como atraso e alteração no processo de cicatrização.

O PRP tem mostrado resultados importantes e promissores em diversas áreas da medicina e cirurgia veterinárias, demonstrando seu potencial quando foi empregado em diferentes pesquisas e como tratamento em alguns casos clínicos. Seus resultados benéficos foram demonstrados em diferentes tecidos tratados, principalmente no musculoesquelético, onde foram obtidos resultados significativamente melhores quando se empregou o PRP e se comparou com os tratamentos convencionais. Os concentrados autólogos de plaquetas também foram empregados em cirurgias abdominais, como coadjuvante na reparação de feridas cutâneas infectadas e de difícil cicatrização, em fraturas, no tratamento de doenças articulares como a osteoartrose, lesões da cartilagem, tendões e ligamentos e em todos os casos comprovou-se a sua contribuição positiva no processo de reparação tecidual.

## Referências

- Anitua, E.; Andia, I.; Sanchez, M. et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. **Journal of Orthopaedic Research**, v.23, p.281-286, 2005.
- Anitua, E.; Prado, R.; Sanchez, M. et al. Platelet-rich plasma: Preparation and formulation. **Operative techniques in orthopaedics**, v.22, p.25-32, 2012.
- Anitua, E.; Sanchez, M.; Zaldueno, M.M. et al. Fibroblastic response to PRGF treatment fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. **Cell proliferation**, v.42,p.162-170, 2009.
- ANVISA. **Nota técnica**,n.34, Brasília:Agencia nacional de vigilância sanitária,2012. 5p.
- Arend, W.P.; Dayer, J.M. **Cytokines and growth factors**. In: Kelley, W.N.; Harris, E.D.; Ruddy, S. et al (Ed).Textbook of Rheumatology. Philadelphia: Saunders, 1993.p. 227-247.
- Argüelles, D.; Carmona, J.U.; Pastor, J. et al. Evaluation of single and double centrifugation tube methodsfor concentrating equine platelets. **Research in Veterinary Science**, v.81, p.237-245, 2006.
- Arnold, J.A.; Coker, T.P.; Heaton, L.M. et al. Natural history of anterior cruciatetears. **American Journal of Sports Medicine**, v.7, p.305-313, 1979.
- Ayral,X.; Pickering, E.H.; Woodworth, T.G. et al. Synovitis: Apotential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis. Results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 13, p. 361-367, 2005.
- Baksh, N.; Hannon, C.; Murawski, C. et al. Platelet-rich plasma in tendon models: A systematic review of basic science literature. **The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.29, n.3, p.596-607, 2013.
- Beca, T.; Hernandez, G.; Morante, S. et al. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. **Avances en Periodoncia e Implantología Oral**, v.19, n.1, p.39-52, 2007.
- Behnke,O.;Forer, A. From megakaryocytes to platelets: Platelet morphogenesis takes place in the bloodstream. **European Journal of Haematology**, v.60,p.3-24, 1998.
- Bennett, N.T.; Schultz, G.S. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. **The American Journal of Surgery**, v.166, n.1, p.74-81, 1993.
- Bergmeier, W.; Stefanini, L. Novel molecules in calcium signaling in platelets. **Journal of Thrombosis e Haemostasia**, v.7, p.E187-E190, 2009 (suppl.1).
- Blair, P.; Flaumenhaft, R. Platelet  $\alpha$ -granules: Basic biology and clinical correlates. **Blood Reviews**, v.23,p. 177-189, 2009.
- Blom, A.B.; Van Lent, P.L.; Libregts, S. et al. Crucial role of macrophages in matrix metalloproteinase-mediated cartilage destruction during experimental osteoarthritis: involvement of matrix metalloproteinase 3. **Arthritis & Rheumatism**, v. 56, p.147-157, 2007.
- Bolon, B.; Campagnuolo, G.; Zhu, L. et al. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha produce distinct, time-dependent patterns of acute arthritis in the rat knee. **Veterinary Pathology**, v.41, n.3, p.235-243, 2004.
- Boswell, S.G.; Cole, B.J.; Sundman, E.A. et al. Platelet-rich plasma: A milieu of bioactive factors. **The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.28, n.3, p.429-439, 2012.
- Boudreaux, M.; Osborne, C.D.; Herre, A.C. et al. Unique structure of the M loop region of b1-tubulin may contribute to size variability of platelets in the family Felidae. **Veterinary Clinical Pathology**, v.39, n.4, p.417-423, 2010.
- Brandt, K.D.; Dieppe, P.; Radin, E.L. Commentary: Is it useful to subset “primary” osteoarthritis? A critique based on evidence regarding the etiopathogenesis of osteoarthritis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v.39, p.81-95, 2009.

- Brennan, F.M.; Maini, R.N.; Feldmann, M. Role of pro-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. **Springer Seminars in Immunopathology**, v.20, p.133-147, 1998.
- Broughton II, G.; Janis, J.E.; Attinger, C.E. Wound healing: An overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.117, p.E1-E32, 2006 (suppl.7).
- Broughton II, G.; Janis, J.E.; Attinger, C.E. The Basic Science of Wound Healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.117, p.E12-34S, 2006 (suppl.7).
- Buckwalter, J.A.; Mankin, H.J. Articular cartilage: Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. **Instructional Course Lectures**, v.47, p.487-504, 1998.
- Canapp, D. Canine osteoarthritis. **Clinician's brief**, p. 21-23, 2013.
- Carmona, J.U. **Use of autologous platelet concentrates for the treatment of musculoskeletal injuries in the horse. Preliminary clinical studies and cellular and molecular evaluation of equine platelet concentrates obtained by single and double centrifugation tube methods**. Bellaterra, Espanha: Universitat Autònoma de Barcelona, 2006. 100p. Tese (Doutorado em medicina veterinaria).
- Carmona, J.U.; Lopez, C. Autologous platelet concentrates as a treatment for shoulder injury in a horse. Case report. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.31, p.506-510, 2011.
- Carrasco, J.; Bonete, D.; Gomar, F. Plasma rico en plaquetas vs. Plasma rico en factores de crecimiento. **Revista Española de Cirugía Osteoarticular**, v.46, n.239, p.127-140, 2009.
- Carter, S.D.; Barnes, A.; Gilmore, W.H. Canine rheumatoid arthritis and inflammatory cytokines. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.69, p.201-214, 1999.
- Chang, S.K.; Egami, D.K.; Shaieb, M.D. et al. Anterior cruciate ligament reconstruction: Allograft versus autograft. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.19, p.453-462, 2003.
- Choi, B.H.; Zhu, S.J.; Kim, B.Y. et al. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: An in vitro study. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.34, p.420-424, 2005.
- Clark, T.P. The clinical pharmacology of cyclooxygenase-2-selective and dual inhibitors. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 36, p. 1061-1085. 2006.
- Codesido, P.; Leyes, M.; Forriol, F. Relationship between mechanism of injury and associated lesions in anterior cruciate ligament tears. **Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología**, v.53, n.4, p.231-236, 2009.
- Coughlan, A.R.; Robertson, D.H.L.; Bennett, D. et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in canine rheumatoid arthritis. **Veterinary Record**, v.143, p.219-223, 1998a.
- Coughlan, A.R.; Robertson, D.H.L.; Burke, R. et al. Isolation and Identification of canine Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2). **Veterinary Record**, v.155, p.231-237, 1998b.
- De Rezende, M.U.; De Campos, G.C. A osteoartrite é uma doença mecânica ou inflamatória? **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.48, n.6, p. 471-474, 2013.
- Diegelmann, R.F.; Evans, M.C. Wound healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v.9, p.283-289, 2004.
- Dürselen, L.; Claes, L.; Ignatius, A. et al. Comparative animal study of three ligament prostheses for the replacement of the anterior cruciate and medial collateral ligament. **Biomaterials**, v.17, p.977-982, 1996.
- Englund, M.; Guermazi, A.; Roemer, F.W. et al. Meniscal tear in knees without surgery and the development of radiographic osteoarthritis among middle-aged and elderly persons: The Multicenter Osteoarthritis Study. **Arthritis & Rheumatology**, v.60, p.831-839, 2009.
- Ehrenfest, D.M.D.; Rasmusson, L.; Albrektsson, T. Classification of platelet concentrates: From pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). **Trends in Biotechnology**, v.27, n.3, p.158-167, 2008.

- Felson, D.T.; Mclaughlin, S.; Goggins, J. et al. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. **Annals of Internal Medicine**, v.139, n.5, p.330-336, 2003 (part.1).
- Filho, M.M.; Rahal, S.C. O uso de anti-inflamatórios inibidores Cox-2 seletivos na osteoartrite canina. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, p. 407-415, 2008.
- Franklin, S.P.; Park, R.D.; Egger, E.L. Metacarpophalangeal and metatarsophalangeal osteoarthritis in 49 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.45, p. 112-117, 2009.
- Freymiller, E.G.; Aghaloo, T.L. Platelet-rich plasma: Ready or not? **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.62, p.484-488, 2004.
- Froum, S.J.; Wallace, S.S.; Tarnow, D.O. et al. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: Three bilateral case reports. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v.22, n.1, p.41-54, 2002.
- Giraldo, C.E.; López, C.; Alvarez, M.E. et al. Effects of the breed, sex and age on cellular content and growth factor release from equine pure-platelet rich plasma and pure-platelet rich gel. **BMC Veterinary Research**, v. 9, p. 29-39, 2013.
- Gobbi, G.; Vitale, M. Platelet-rich plasma preparations for biological therapy: Applications and limits. **Operative Techniques in Orthopaedics**, v.22, p.10-15, 2012.
- Goh, J.C.; Ouyang, H.W.; Teoh, S.H. et al. Tissue-engineering approach to the repair and regeneration of tendons and ligaments. **Tissue Engineering**, v.9, n.1, p.E31-E44, 2003 (suppl.1).
- Guilak, F.; Ratcliffe, A.; Lane, N. et al. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**, v.12, n.4, p.474-484, 1994.
- Hakimi, M.; Jungbluth, P.; Sager, G. et al. Combined use of platelet-rich plasma and autologous bone grafts in the treatment of long bone defects in mini-pigs. **Injury**, v.41, p.717-723, 2010.
- Harrison, P. Platelet function analysis. **Blood Reviews**, v.19, p.111-123, 2005.
- Harvey, A.K.; Hrubey, P.S.; Chandrasekhar, S. Transforming growth factor-beta inhibition of interleukin-1 activity involves down-regulation of interleukin-1 receptors on chondrocytes. **Experimental Cell Research**, v.195, p.376-385, 1991.
- Henrotin, Y.; Martel-Pelletier, J.; Msika, P. et al. Usefulness of specific OA biomarkers, Coll2-1 and Coll2-1NO2, in the anterior cruciate ligament OA canine model. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.20, p.787-790, 2012.
- Huang, T.F.; Chen, Y.T.; Yang, T.H. et al. Isolation and characterization of mesenchymal stromal cells from human anterior cruciate ligament. **International Society of Cellular Therapy**, v.10, n.8, p.806-814, 2008.
- Iacopetti, I.; Perazzi, A.; Ferrari, V. et al. Application of platelet-rich gel to enhance wound healing in the horse: A case report. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.32, p.123-128, 2012.
- Innes, J.F.; Bacon, D.; Lynch, C. et al. Long-term outcome of surgery for dogs with cranial cruciate ligament deficiency. **Veterinary Record**, v.147, p.325-328, 2000.
- Intini, G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. **Biomaterials**, v.30, p.4956-4966, 2009.
- Jennings, L.K. Mechanisms of platelet activation: Need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. **Thrombosis and Haemostasis**, v.102, p.248-257, 2009.
- Jo, C.H.; Kim, J.E.; Yoon, K.S. et al. Platelet-rich plasma stimulates cell proliferation and enhances matrix gene expression and synthesis in tenocytes from human rotator cuff tendons with degenerative tears. **The American Journal of Sports Medicine**, v.40, n.5, p.1035-1045, 2012.

- Johnson, J.A.; Austin, C.; Breur, G.J. Incidence of canine appendicular musculoskeletal disorders in 16 veterinary teaching hospitals from 1980 through 1989. **Veterinary Compendium Orthopedic Traumatology**, v.7, p.56-59, 1994.
- Johnston, S.A. Osteoarthritis: Joint anatomy, physiology, and pathobiology. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v.27, n.4, p.699-723, 1997.
- Joyce, M.E.; Roberts, A.B.; Sporn, M.B. et al. Transforming growth factor-b and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. **The Journal of Cell Biology**, v.110, p.2195-2207, 1990.
- Kawakita, K.; Nishiyama, T.; Fujishiro, T. et al. Akt phosphorylation in human chondrocytes is regulated by p53R2 in response to mechanical stress. **Osteoarthritis Cartilage**, v.20, p.1603-1609, 2012.
- Konttinen, Y.T.; Sillat, T.; Barreto, G. et al. Osteoarthritis as an autoinflammatory disease caused by chondrocyte-mediated inflammatory responses. **Arthritis & Rheumatology**, v.64, p.613-616, 2012.
- Kang, H.J.; Kang, E.S. Ideal concentration of growth factors in rabbit's flexor tendon culture. **Yonsei Medical Journal**, v.40, n.1, p.26-29, 1999.
- Kon, E.; Filardo, G.; DiMatteo, B. et al. Platelet-rich plasma in sports medicine: New treatment for tendon and cartilage lesions. **Operative Techniques in Orthopaedics**, v.22, p.78-85, 2012.
- Lane, N.E.; Lin, P.; Christiansen, L. et al. Association of mild acetabular dysplasia with an increased risk of incident hip osteoarthritis in elderly white women: the study of osteoporotic fractures. **Arthritis & Rheumatism**, v.43, p.400-404, 2000.
- Lee, A.J.; Chung, W.H.; Kim, D.H. et al. Anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model using canine small intestinal submucosa and autologous platelet-rich plasma. **Journal of Surgical Research**, v.178, p.206-215, 2012.
- Lees, P.; Landoni, M.F.; Giraudel, J. et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, p. 479-490. 2004.
- Maletius, W.; Messner, K. Eighteen to twenty-four year follow-up after complete rupture. **American Journal of Sports Medicine**, v.27, p.711-717, 1999.
- Marx, R.E. Platelet-Rich Plasma: Evidence to support its use. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.62, p.489-496, 2004.
- Marx, R.E.; Carlson, E.R.; Eichstaedt, R.M. Platelet-rich plasma growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v.85, n.6, p.638-646, 1998.
- Matyas, J.R.; Adams, M.E.; Huang, D. et al. Major role of collagen IIB in the elevation of total type II procollagen messenger RNA in the hypertrophic phase of experimental osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v.40, p.1046-1049, 1997a.
- Matyas, J.R.; Huang, D.; Chung, M. et al. Regional quantification of cartilage type II collagen and aggrecan messenger RNA in joints with early experimental osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v.46 p.1536-1543, 2002.
- Matyas, J.R.; Sandell, L.J.; Adams, M.E. Gene expression of type II collagens in chondrocytes in experimental osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, v.5, p.99-105, 1997b.
- Mazzuco, L.; Balbo, V.; Borzini, P. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex®. **Voxsanguinis**, v.94, p.202-208, 2008.
- McDevitt, C.A.; Muir, H. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. **Journal of Bone and Joint Surgery**, v.58, p.94-101, 1976.
- Meisterling, S.; Schoderbek, J.R.; Andrews, J.A. Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. **Operative Techniques in Sports Medicine**, v.17, p.2-10, 2009.

- Milano, G.; Sanna-Passino, E.; Deriu, L. et al. The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: An experimental study in a sheep model. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.18, p.971-980, 2010.
- Mishra, A.; Woodall, J.; Vieira, A. Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. **Clinics in Sports Medicine**, v.28, p. 113-125, 2009.
- Mobasher, A.; Henrotin, Y. Identification, validation and qualification of biomarkers for osteoarthritis in humans and companion animals: Mission for the next decade. **The Veterinary Journal**, v.185, p.95-97, 2010.
- Muzzi, L.A.L.; Rezende, C.M.F.; Muzzi, R.A.L. Fisioterapia após substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial em cães. I - avaliação clínica, radiográfica e ultrassonográfica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.805-814, 2009.
- Oates, T.W.; Rouse, C.A.; Cochran, D.L. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. **Journal of Periodontology**, v.64, n.2, p.142-148, 1993.
- Papalia, R.; Del Buono, A. Osti, L. et al. Meniscectomy as a risk factor for knee osteoarthritis: A systematic review. **British Medical Bulletin**, v.99, p.89-106, 2011.
- Patel, S.; Dhillon, M.S.; Aggarwal, S. et al. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: A prospective, double-blind, randomized trial. **The American Journal of Sports Medicine**, v.41, n.2, p.356-364, 2013.
- Petrigliano, F.A.; McAllister, D.R.; Wu, B. Tissue Engineering for Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Review of Current Strategies. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.22, n.4, p.441-451, 2006.
- Pincus, T. Clinical evidence for osteoarthritis as an inflammatory disease. **Current Rheumatology Reports**, v.3, p.524-534, 2001.
- Piscoya, J.L.; Fermor, B.; Kraus, V.B. et al. The influence of mechanical compression on the induction of osteoarthritis-related biomarkers in articular cartilage explants. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.13, p.1092-1099, 2005.
- Ray, A.; Ray, B.K. An inflammation-responsive transcription factor in the pathophysiology of osteoarthritis. **Biorheology**, v.45, p.399-409, 2008.
- Rezende, U.M.; Gobbi, R.G. Tratamento medicamentoso da osteoartrose do joelho: drogas modificadoras da doença. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.44, p.14-19. 2009.
- Roberts, D.E.; Archibald, M.N.; Ratna, B. Mechanism of collagen activation in human platelets. **Journal of Biology and Chemistry**, v.279, n.9, p.19421-19430, 2004.
- Rodriguez-Flores, J.; Palomar, M.A.; Torres, J. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. **Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial**, v.34, n.1, p.8-17, 2012.
- Roemer, F.W.; Guermazi, A.; Felson, D.T. et al. Presence of MRI-detected joint effusion and synovitis increases the risk of cartilage loss in knees without osteoarthritis at 30-month follow-up: The MOST study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.70, p.1804-1809, 2011.
- Rychel, J.K. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. **Topics in Companion Animal Medicine**, v.25, n.1, p.20-25, 2010.
- Sanchez, M.; Azofra, J.; Anitua, E. et al. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: A case report. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.35, n.10, p.1648-1652, 2003.
- Shinmei, M.; Okada, Y.; Masuda, K. et al. The Mechanism of Cartilage Degradation in Osteoarthritic Joints. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v.19, n.4, p.16-20, 1990.
- Silva, R.F. **Caracterizações celular e ultra-estrutural do concentrado de plaquetas em cães e gatos e avaliação do seu efeito na osteoartrose em cães**. Belo Horizonte, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. 88p. Tese (Doutorado em ciência animal).

- Silva, R.F.; Alvarez, M.E.; Rios, D.L. Et al. Evaluation of the effect of calcium gluconate and bovine thrombin on the temporal release of transforming growth factor beta 1 and platelet-derived growth factor isoform BB from feline platelet concentrates. **Veterinary Research**, v.8, n.212, 2012a.
- Silva, R.F.; Carmona, J.U.; Rezende, C.M.F. Comparison of the effect of calcium gluconate and batroxobin on the release of transforming growth factor beta 1 in canine platelet concentrates. **Veterinary Research**, v.8, p.121-127, 2012b.
- Silva, R.F.; Carmona, J.U.; Rezende, C.M.F. Ultrastructural characteristics of fibrin clots from canine and feline platelet concentrates activated with calcium gluconate or calcium gluconate plus batroxobin. **Veterinary Research**, v.9, p.77-82, 2013.
- Silva, R.F.; Rezende, C.M.F; Paes-Leme, F.O. et al. Evaluación del método del tubo para concentrar plaquetas caninas: estudio celular. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.43, p.95-98, 2011a.
- Silva, R.F; Rezende, C.M.F; Paes-Leme, F.O. et al. Evaluación del método del tubo para concentrar plaquetas felinas: estudio celular. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.43, p.187-190, 2011b.
- Smith, S.E.; Roukis, T.S. Bone and wound healing augmentation with platelet-rich plasma. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v.26, p.559-588, 2009.
- Sohn, D.H.; Sokolove, J.; Sharpe, O. et al. Plasma proteins present in osteoarthritic synovial fluid can stimulate cytokine production via Toll-like receptor4. **Arthritis Research & Therapy**, v.14, n.1, 2012.
- Stockwell, R.A. Cartilage failure in osteoarthritis: Relevance of normal structure and function: A review. **Clinical Anatomy**, v.4, n.3, p.161-191, 1991.
- Tatarunas, A.C. **Estudo artroscópico das articulações do ombro e do joelho no cão**. São Paulo, Brasil: Universidad de São Paulo, 2004. 150f. Dissertação (Doutorado em medicina veterinária).
- Textor, J. Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: Platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein. **The Veterinary Clinics of North America Equine practice**, v.27, n.2, p.275-298, 2011.
- Tiwari, M.; Bhargava, R. Platelet rich plasma therapy: A comparative effective therapy with promising results in plantar fasciitis. **Clinical Orthopaedic and Trauma**, v.4, p.31-35, 2013.
- Tohidnezhad, M.; Varoga, D.; Wruck, C.J. et al. Platelet-released growth factors can accelerate tenocyte proliferation and activate the anti-oxidant response element. **Histochemistry and Cell Biology**, v.135, p.453-460, 2011.
- Tyler, J.A. Insulin-like growth factor-1 can decrease degradation and promote synthesis of proteoglycan in cartilage exposed to cytokines. **Biochemical Journal**, v.260, p.543-548, 1989.
- Verhamme, P.; Hoylaerts, M.F. Hemostasis and inflammation: Two of a kind? **Thrombosis Journal**, v.7, n.15, 2009.
- Virchenko, O.; Aspenberg, P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. **Acta Orthopædica**, v.77, n.5, p.806-812, 2006.
- Wainer, R.A.; Clarke, T.J.; Poehling, G.G. Arthroscopic Reconstruction of the Anterior Ligament Using Allograft Tendon Cruciate. **The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.4, n.3, p.99-205, 1998.
- Wang, D.S.; Hanamoto, M.; Fang, F. et al. Defibrinogenating effect of batroxobin (Defibrase<sup>®</sup>) in rats and inhibition of migration of human vascular smooth muscle cells by the plasma of batroxobin-treated rats in vitro. **Atherosclerosis**, v.156, p.73-80, 2001.
- Wasterlain, A.S.; Braun, H.J.; Dragoo, J.L. Contents and formulations of platelet-rich plasma. **Operative Techniques in Orthopaedics**, v.22, p.33-42, 2012.

- Weibrich, G.; Hansen, T.; Kleis, W. et al. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. **Bone**, v.34, p.665-671, 2004.
- Wilkerson, M.J.; Shuman, W.; Swist, S. et al. Platelet size, platelet surface-associated IgG, and reticulated platelets in dogs with immune-mediated thrombocytopenia. **Veterinary Clinical Pathology**, v.30, n.3, p.141-149, 2001.
- Witte, M.B.; Barbul, A. General principles of wound healing. **Surgical Clinics of North America**, v.77, n.3, p.509-528, 1997.
- Xie, X.; Wu, H.; Zhao, S. The effect of platelet-rich plasma on patterns of gene expression in a dog model of anterior cruciate ligament reconstruction. **Journal of Surgical Research**, v.180, p.80-88, 2013a.
- Xie, X.; Zhao, S.; Wu, H. et al. Platelet-rich plasma enhances autograft revascularization and reinnervation in a dog model of anterior cruciate ligament reconstruction. **Journal of Surgical Research**, v.183, n.1, p.214-222, 2013b.
- Yamaguchi, R.; Tereshima, H.; Yoneyama, S. et al. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. **Journal of Surgical Research**, v.173, p.258-266, 2012.

---

Osorio-Carmona; de Faria Rezende. Osteoartrose: aspectos clínicos e novas perspectivas terapêuticas baseadas na terapia regenerativa. **Veterinaria y Zootecnia**, v.8, n.2, p.49-71, 2014. Disponible en:

<[http://vetzootec.ucaldas.edu.co/index.php?option=com\\_content&task=view&id=167](http://vetzootec.ucaldas.edu.co/index.php?option=com_content&task=view&id=167)>