

Plasma rico em plaquetas autólogas na cicatrização do tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos

Plasma platelet-rich autogenous healing tendon of the gastrocnemius muscle in rabbits

Duvaldo EURIDES¹; Camila Pereira de Almeida GUIMARÃES¹; Marcelo Emílio BELETTI¹; Antônio Vicente MUNDIM¹; Luiz Augusto de SOUZA²; Gentil Ferreira GONÇALVES³; Gustavo Prudente EURIDES⁴

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Uberlândia – MG, Brasil

² Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil

³ Universidade Federal da Fronteira Sul, Realeza – PR, Brasil

⁴ Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Uberlândia – MG, Brasil

Resumo

As lesões tendíneas podem envolver a secção parcial ou total do tendão calcâneo comum e ocasionar alterações posturais do membro locomotor. O presente trabalho avaliou o efeito da aplicação tópica de concentrado de plaquetas autólogas na reparação do tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos, decorridos 45 e 90 dias de período pós-operatório (PO). Doze coelhos adultos foram separados em dois grupos (n = 6) e submetidos à punção cardíaca e colheita de 10 mL de sangue para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP). Nos animais de ambos os grupos, foi realizada a tenotomia transversal total no terço médio do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio e a sua aproximação com a sutura de Kessler modificada e fio de náilon. Nos animais do grupo tratado, foi aplicado sobre a síntese dos tendões em média 490.644 mil plaquetas/μL do PRP e notou-se maior quantidade de fibras colágenas em relação ao controle, sendo que aos 90 dias de PO a intensidade de colágeno observado foi maior que nos animais com 45 dias, com maior quantidade de fibroblastos nos controles em relação aos tratados. A administração de concentrado de plasma de plaquetas autógenas no reparo do tendão gastrocnêmio de coelhos estimula e organiza o processo de reparação e ocasiona produção precoce de fibras colágenas.

Palavras-chave: Reparação. Cirurgia. Células sanguíneas.

Abstract

Tendon lesions may involve the partial or total section of the common calcaneal tendon and cause postural changes of the member. This study evaluated, after 45 and 90 postoperative days (PO), the repair of the tendon of gastrocnemius muscle of rabbits with topical application of autologous platelet concentrate. Twelve adult rabbits were divided into two groups (n = 6) undergoing cardiac puncture and collection of 10 ml of blood to obtain platelet rich-plasma (PRP). Animals of both groups had a transverse tenotomy in the middle third of the lateral belly of the gastrocnemius tendon and muscle that was approximated with modified Kessler suture and nylon thread. In the animals of the treated group it was applied the average of 490.644 platelets / uL of PRP, per animal over the tendon synthesis. The treated group showed a higher amount of collagen fibers than the control one, and at 90 PO days the intensity of collagen was higher than at 45 days with more fibroblasts in the control than in treated one. The administration of plasma autogenous platelet concentrate in the repair of the gastrocnemius tendon of rabbits stimulates and organizes the repair process and causes early production of collagen fibers.

Keywords: Repair. Surgery. Blood cells.

Introdução

As lesões do tendão do músculo gastrocnêmio de pequenos animais são observadas em traumas provocados pela ação de objetos cortantes, que geralmente provocam a sua secção parcial ou total (KILLINGSWORTH, 1993). As rupturas do tendão músculo gastrocnêmio podem ocasionar alteração postural grave de difícil correção (VAUGHAN, 1980).

Correspondência para:

Duvaldo Eurides
Universidade Federal de Uberlândia
Av. Pará, 1720 – Campus Umuarama
CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil
e-mail: duvaldo@ufu.br

Recebido: 02/09/2014

Aprovado: 19/01/2015

Na perda expressiva de parte do tecido tendíneo, a substituição torna-se necessária por meio de enxerto ou com o emprego de próteses, que fornecem suporte e orientação para a migração de células e formação de fibras (VALDÉS-VAZQUEZ; McCLURE; OLIVER, 1996). Entretanto, apesar de serem disponíveis vários métodos de tratamento de lesões tendíneas, ainda é necessário o desenvolvimento e aprimoramento de métodos que permitam o retorno morfológico e funcional do tendão (GOODSHIP, 1993).

A cicatrização tendínea e o restabelecimento morfofuncional do tendão lesionado, dependem de fatores intrínsecos, como a vascularização, migração e adesão celular e do tipo de tensão lesionado, assim como de fatores extrínsecos referentes à imobilização do membro no pós-operatório (HATAKA, 1998). Diferente da maioria dos tecidos moles, para adquirir a resistência necessária para transmitir a força gerada por seu músculo homônimo, a cicatrização do tendão ocorre em torno de seis semanas (ENWEMEKA, 1989).

O plasma rico em plaquetas (PRP) é derivado de sangue autólogo, cujo preparado visa a obtenção alta concentração de plaquetas em pequeno volume de plasma. Ambos, plasma e plaquetas, contêm fatores de crescimento plaquetário (FCP) que atuam na fase inicial da cicatrização (LENZA et al., 2013). Esses fatores possuem atividades específicas durante o processo de reparação tecidual e, de forma geral, os FCP provenientes dos α -grânulos são responsáveis pela promoção da quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular, neovascularização e formação de tecido conjuntivo (MALHOTRA et al., 2013). Para uso terapêutico, o PRP deve conter de três e cinco vezes mais plaquetas que os níveis fisiológicos (KEVY; JACOBSON, 2004). Concentrações superiores a 300.000 plaquetas μL^{-1} são suficientes para o preparo do PRP (ANITUA et al., 2004) que, quando em contato com seus receptores nucleares, estimula a angiogênese e a replicação dos tecidos e, como antiinflamatório, induz a cicatrização e o crescimento de novas estruturas orgânicas (LEME; ROSSI; VILLA, 2004). O PRP tem sido

utilizado no reparo de tendões (LYRAS et al., 2010), tecido ósseo (ANITUA et al., 2004), pele facial (BHANOT; ALEX, 2002), córnea (EURIDES et al., 2010) e enxerto cutâneo (VENDRAMIN et al., 2010).

O presente trabalho avaliou a eficácia do concentrado de plasma de plaquetas autógenas na cicatrização do tendão do músculo gastrocnêmio em coelhos submetidos à tenotomia e tenorrafia.

Material e Métodos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética, análise final nº 048/11, registro CEUA/UFU 108/101, para utilização de 12 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, machos, da raça Nova Zelândia, com peso entre 3,0 a 4,5 kg, que foram separados aleatoriamente em grupo controle e tratado (n = 6). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo dose única de ivermectina¹ (0,7 mg/kg, SC) e passaram por período de 12 dias de ambientação antes da experimentação, sob alimentação diária com ração específica e água clorada à vontade. Os coelhos apresentaram normalidade ao exame clínico geral e laboratorial de hemograma, leucograma, contagem de plaquetas e parasitológica.

Depois de submetidos a jejum alimentar de seis horas e hídrico de duas horas, cada animal recebeu a associação anestésica de cloridrato de cetamina² 5% (35,0 mg/kg, IM) e cloridrato de xilazina³ 2% (10,0 mg/kg, IM). No membro pélvico direito, foi realizada anestesia perineural do nervo isquiático e femoral com cloridrato de lidocaína com epinefrina⁴ (2,0 mg/kg) (SHIMIZU et al., 2002).

A antibioticoterapia profilática foi realizada com ceftiofur⁵ (5,0 mg/kg/dia, IM) e antiinflamatório flunixin meglumine⁶ (1,0 mg/kg, IM), administrados

¹ Ivomec injetável. Merial. Campinas, São Paulo, SP, Brasil.

² Cetamin. Syntec. Patrocínio Paulista, SP, Brasil.

³ Kensol. König. Santana de Parnaíba, SP, Brasil.

⁴ Anestésico L Pearson. Pearson Saúde Animal. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵ Ceftiofur. Pfizer Saúde Animal. Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁶ Banamine. Injetável. Schering-Plough Saúde Animal Indústria e Comércio. Cotia, SP, Brasil.

30 minutos antes da intervenção cirúrgica. Em cada animal do grupo tratado foram coletados 10,0 mL de sangue por punção cardíaca entre o 5º e 6º espaço intercostal esquerdo com agulha 21G (0,8 x 25 mm), que foram imediatamente depositados em frasco contendo 0,5 mL de EDTA a 10%. Em ambiente à temperatura entre 20º e 24ºC, o material foi centrifugado por 20 minutos à 1.200 rpm para separação celular por gradiente de concentração. A fração de plasma e plaquetas contida na parte superior do tubo foi pipetada e armazenada em recipiente sem coagulante. A porção coletada foi novamente centrifugada por 20 minutos a 2.000 rpm. O componente superior do soro foi removido e o restante no fundo do frasco foi considerado o plasma rico em plaquetas (PRP).

A quantificação do número de plaquetas foi realizada em analisador hematológico veterinário automático, obtendo-se, em média, 490.644 células. Para cada 0,5 mL do PRP foi adicionado 0,25 mL de cloreto de cálcio a 5%, que foi homogeneizado e mantido em repouso por 10 minutos em forma de gel (EURIDES et al., 2010). O material foi acondicionado em tubo de Eppendorf e deixado em banho-maria a 37ºC até apresentar a consistência gelatinosa de PRP.

A região do terço médio ao distal da face lateral da tibia foi submetida à antisepsia com iodo degermante a 1%, álcool 70º GL e iodopovidona⁷ a 1%. Foi realizada a incisão longitudinal da pele e subcutâneo na face lateral esquerda da tibia, próximo à tuberosidade do calcâneo, de aproximadamente 3,0 cm. O terço médio do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio foi individualizado, seccionado totalmente no sentido transversal, e aproximado com sutura de Kessler modificada com fio de náilon monofilamentoso 4-0.

Decorridos cinco minutos do preparo, foi aplicado sobre o local da tenorrafia 0,25 mL do concentrado plaquetário contendo em média 490.644 mil plaquetas/ μ L. Os tecidos adjacentes foram aproximados com sutura simples contínua, com fio vicryl 4-0 e a pele

com pontos simples separados e fio de náilon monofilamentoso 3-0.

No pós-operatório (PO) foi realizada a imobilização externa com canaletas acolchoadas e as feridas de pele foram higienizadas duas vezes ao dia com gazes embebidas em solução salina a 0,9%, seguida da aplicação tópica de rifamicina⁸ durante sete dias. Para analgesia foi administrado cloridrato de tramadol (2,0 mg/kg, SC) três vezes ao dia, durante três dias, e antiinflamatório flunixin meglumine (1,0 mg/kg, SC), uma vez ao dia, por três dias, e antibioticoterapia com ceftiofur (5,0 mg/kg/dia, IM), durante cinco dias consecutivos. Os animais foram mantidos com colar elisabetano até a retirada dos pontos da pele o que ocorreu aos dez dias de PO.

Decorridos os períodos preestabelecidos de 45 e 90 dias de PO, os animais de ambos os grupos foram submetidos ao mesmo protocolo anestésico para colheita de fragmento de 0,5 cm de comprimento do local da síntese para avaliação histológica. As amostras foram fixadas em solução de formol tamponado a 10% por 24 horas. O material foi desidratado com uma série crescente de álcool (soluções a 70%, 80%, 90%, 100%), diafanizados em xilol e emblocados em parafina. Posteriormente, as amostras foram seccionadas em cortes de 5,0 micrômetros de espessura em micrótomo rotativo, utilizando-se navalhas descartáveis. Os cortes foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE), para análise morfológica dos tecidos, e pela técnica de coloração com picrosirius para observação das fibras colágenas.

Para a avaliação histopatológica da reparação dos tendões, foram consideradas a quantidade e as características dos fibroblastos, presença e o tipo de infiltrado inflamatório, neovascularização, fibras colágenas, aparência da matriz extracelular, seu arranjo e o grau de desorganização tecidual. Para avaliação semi-quantitativa, as características foram consideradas até 25 núcleos de fibroblastos em 10.000 μ m² como pou-

⁷ Iodopovidona. Geyer Medicamentos. Porto Alegre, RS, Brasil.

⁸ Rifocina. Hoechst Marion Roussel. Suzano, SP, Brasil.

co, acima de 25 até 35 núcleos moderado e superior de 35 como intensos. Para os neovasos em 1,0 mm² até 15 como pouco, de 15 a 60 moderado e acima de 60 como intenso e em relação os polimorfonucleares, considerou-se como presente e ausente.

Para as variáveis não paramétricas foi aplicado o teste de Kruskal Wallis. As análises estatísticas foram efetuadas com o programa Bioestat. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

O período pré-operatório decorrido desde a colheita, manipulação laboratorial e administração foi de no máximo de 20 minutos, o que evitou maior período de exposição do material e do transoperatório. Com dupla centrifugação, Nagata et al. (2010) relataram a obtenção de maiores concentrações plaquetárias do que com uma única centrifugação e este procedimento foi o adotado no presente trabalho. Os animais apresentaram a concentração média de 232.284 plaquetas/ μ L no sangue total e média de 490.644 plaquetas/ μ L que foram quantificadas no PRP, com taxa de enriquecimento plaquetário de 110,73%, com aumento de 2,10 vezes a concentração total de plaquetas no PRP em relação ao sangue total. Os valores de plaquetas encontrados no PRP foram semelhantes aos obtidos por Zandim et al. (2012) em equinos, de 500.000 plaquetas/ μ L, e Andrade (2014) em coelhos, de 370.484 plaquetas/ μ L.

A adição do cloreto de cálcio a 5% e cloreto de sódio ao PRP permitiu que o concentrado permanecesse em torno da sutura do tendão, o que evitou a ocorrência de perdas durante a aplicação. Nas avaliações pós-operatórias realizadas durante sete dias consecutivos, não foi notada diferença clínica entre os dois grupos, sendo que o local da intervenção cirúrgica se encontrava hiperêmico, com aumento de volume durante os três primeiros dias, o que pode ser atribuído ao trauma cirúrgico e à reação inflamatória local (SLATTER, 1998).

Aos 45 e 90 dias de PO, nos animais de ambos os grupos, foram constatadas aderências dos tendões

com os tecidos adjacentes e o local da anastomose encontrava-se envolvido por tecido cicatricial de coloração esbranquiçada. Possivelmente, o traumatismo no local ocasionou as aderências entre os tecidos (COELHO, 2000), adicionadas a aplicação do PRP. A coloração da pele no local da ferida apresentava a coloração rósea e os tendões mostravam-se aparentemente normais.

Entre aos 45 e 90 dias de PO foi observada maior quantidade de fibroblastos nos animais do grupo controle, porém sem diferenças expressivas (Tabela 1). A migração e a adesão de fibroblastos verificadas na cicatrização dos tendões são responsáveis pelas sínteses de fibras colágenas e das glicoproteínas e proteoglicanas da matriz extracelular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). O PRP atua na modulação e aceleração dos processos cicatriciais decorrentes dos fatores de crescimento contidos nos grânulos plaquetários (ASPENBERG; VIRCHENKO, 2004). Entretanto, não foi notado aumento no número de fibroblastos nos coelhos do grupo tratado, decorrente ao efeito de quimiotaxia dos fatores de crescimento (Figuras 1 e 2). Tal constatação difere da observada por Vendramin et al. (2010) no reparo de enxertos cutâneos em coelhos.

Aos 90 dias de PO, a quantidade de colágeno dos dois grupos foi superior ao observado aos 45 dias, sendo que em ambos os grupos se encontravam células maduras e imaturas e desorganizadas. Entretanto, não houve diferença significativa entre os dois grupos (Tabelas 1 e 2). Os resultados obtidos no presente tra-

Tabela 1 – Fibras colágenas (%) e intensidade de fibroblastos observados em microscopia de luz do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio dos coelhos do grupo controle aos 45 e 90 dias de PO – Uberlândia – 2014

Animal	Dias de PO	Fibras colágenas	Fibroblastos
01	45	36,1	pouco
02	45	33,1	intenso
03	45	40,83	intenso
04	90	50,36	intenso
05	90	42,5	intenso
06	90	48,0	intenso

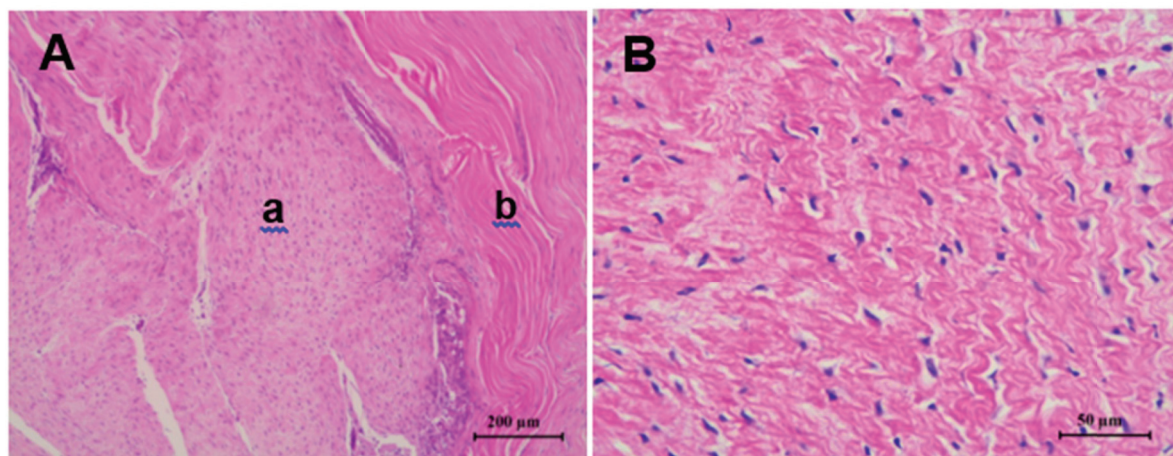


Figura 1 – Fotomicrografia do reparo cicatricial do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho. Observar no grupo controle aos 45 dias de PO (A), a presença de fibroblastos (a) e fibras colágenas desorganizadas (b), e aos 90 dias, grande intensidade de fibras colágenas (B), HE – Uberlândia – 2014
Fonte: (EURIDES, 2013)

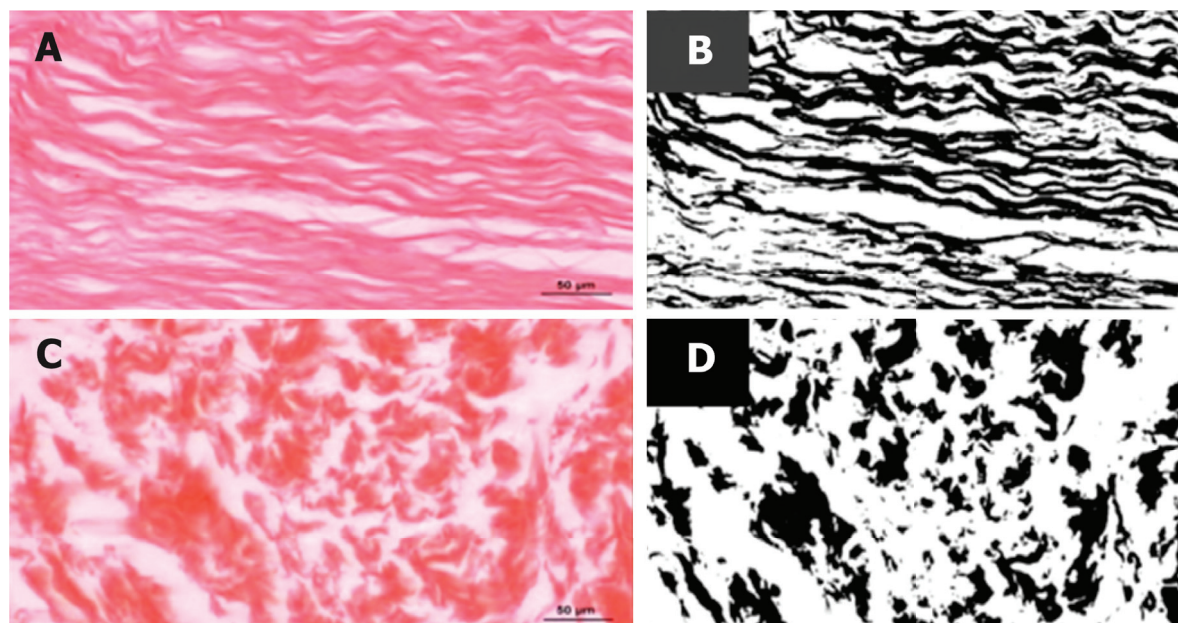


Figura 2 – Fotomicrografia do reparo cicatricial do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio. Observar em A, aos 45 dias de PO do grupo tratado, fibras colágenas coradas em vermelho (Picrosirius), e em B, com o sistema computadorizado de análise de imagens, as fibras colágenas em preto. Notar em C, aos 90 dias de PO, as fibras colágenas coradas em vermelho (Picrosirius), e em D, com o sistema computadorizado de análise de imagens, as fibras colágenas em preto – Uberlândia – 2014
Fonte: (EURIDES, 2013)

Tabela 2 – Fibras colágenas (%) e intensidade de fibroblastos (HE) observados em microscopia de luz do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio dos coelhos do grupo tratado aos 45 e 90 dias de PO – Uberlândia, 2013

Animal	Dias de PO	Fibras colágenas	Fibroblastos
01	90	51,6	pouco
02	90	52,3	pouco
03	90	37,9	pouco
04	45	47,33	pouco
05	45	46,16	pouco

balho concordam com Liu et al. (2002), que observaram aumento da proliferação de fibroblastos e da produção de colágeno proporcional ao aumento da concentração plaquetária no PRP.

Bhanot e Alex (2002) relataram que o PRP aumenta a produção de colágeno, além da proliferação de fibroblastos e da síntese de matriz extracelular e melhora a cicatrização. Entretanto, Raiser (2001) referiu que apesar de haver afastamento tendíneo, que é preenchido por tecido conjuntivo proliferante, há também uma orientação longitudinal mais precoce das fibras colágenas. No presente trabalho, apesar dos animais do grupo tratado terem apresentado maior concentração de fibras colágenas que ao controle, a diferença entre os grupos foi aos 45 dias de PO, sendo que aos 90 dias a diferença entre eles foi expressiva (Tabelas 1 e 2). Acredita-se que o tratamento com o concentrado de plaquetas não tenha aumentado a síntese de

colágeno, porém ocasionou a sua produção precoce (Tabelas 1 e 2).

Hataka (1998) referiu que a cicatrização do tendão flexor digital profundo de cães apresenta intensa e gradativa neovascularização decorridos 60 dias de PO. No presente trabalho, não foram observadas diferenças significativas de neovascularização entre os grupos controle e tratado, assim como nos períodos de 45 e 90 dias de PO (Tabelas 3 e 4), sendo que os animais apresentaram poucos neovasos (Figura 3A).

Tabela 3 – Intensidade de vascularização e presença de polimorfonucleares (PMN) em microscopia de luz do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio dos coelhos do grupo controle aos 45 e 90 dias de PO – Uberlândia – 2014

Animal	Dias de PO	Neovasos	PMN
01	45	moderado	presente
02	45	moderado	presente
03	45	pouco	ausente
04	90	pouco	ausente
05	90	pouco	ausente
06	90	pouco	ausente

Tabela 4 – Intensidade e vascularização e presença de polimorfonucleares (PMN) em microscopia de luz do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio dos coelhos do grupo tratado aos 45 e 90 dias de PO – Uberlândia – 2014

Animal	Dias de PO	Neovasos	PMN
01	90	pouco	ausente
02	90	pouco	ausente
03	90	pouco	ausente
04	45	intenso	ausente
05	45	pouco	ausente

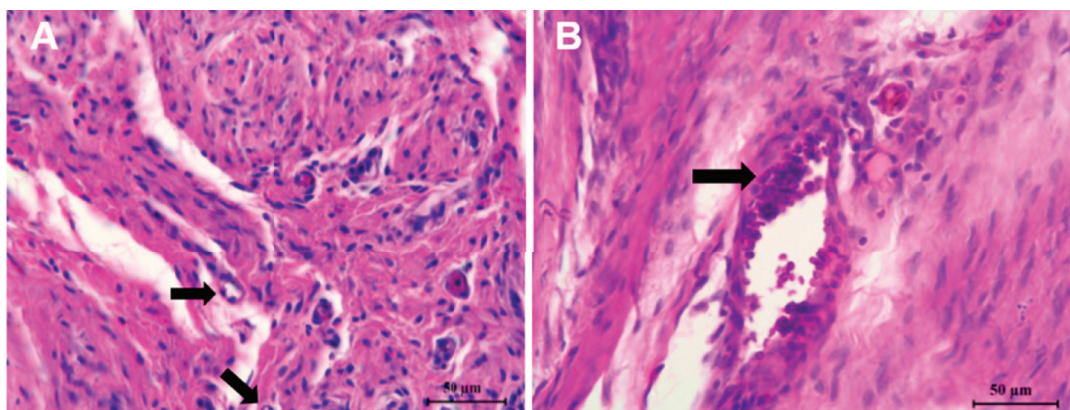


Figura 3 – Fotomicrografia do reparo cicatricial do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho do grupo tratado (A) e controle (B) aos 45 dias de PO. Observar a presença de fibroblasto e poucos neovasos (A – setas) e pouca quantidade de polimorfonucleares (B – seta), HE – Uberlândia – 2014

Fonte: (EURIDES, 2013)

Em apenas dois animais (18%) do grupo controle foi constatada a presença de polimorfonucleares (Tabelas 3 e 4), (Figura 3B), resultado coincidente ao encontrado por Hataka (1998) em cães. A existência de polimorfonucleares pode ser explicada pela infecção aguda e reação inflamatória (COELHO, 2000).

No grupo controle aos 45 dias de PO em um animal (33,3%) e aos 90 dias de PO em dois (66,6%), foi observado tecido cicatricial em avançado estágio de maturação com perfeita cooptação dos cotos. No grupo tratado, um coelho (33,3%) aos 45 dias de PO, apresentou expressivas áreas de necrose na região da síntese do tendão, porém com boa cicatrização (Figura 4). Recomenda-se o modelo Kessler modificado para reparo de tendão com fio monofilamentoso por oferecer adequada prensão nas fibras e minimizar o comprometimento da vascularização intrínseca (RAISER, 2001). Entretanto, no presente trabalho, a síntese com Kessler modificada pode ter ocasionado excessiva tensão e promovido ausência de irrigação local. A hipóxia de tecidos tendinosos é a alteração

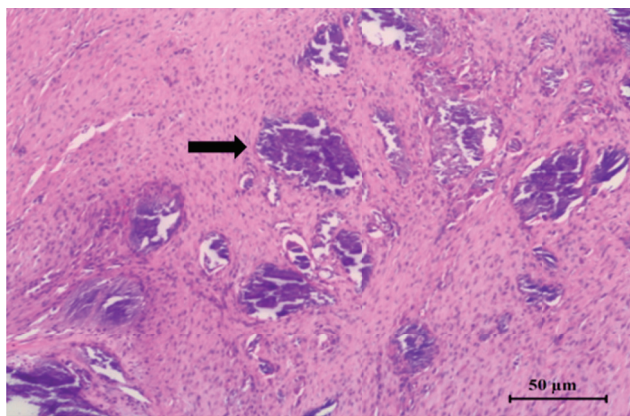


Figura 4 – Fotomicrografia do reparo cicatricial do ventre lateral do tendão do músculo gastrocnêmio de coelho do grupo tratado aos 45 dias PO. Notar grandes áreas de necrose na região do fio de sutura (seta), HE – Uberlândia – 2014

Fonte: (EURIDES, 2013)

patológica frequentemente verificada na ruptura de tendões, induzindo degeneração de fibras colágenas e alterações dos elementos celulares (FRIEDRICH et al., 2001). Aos 90 dias, em dois animais (66,6%) foi observado tecido cicatricial em avançado estágio de maturação, com boa união entre a cicatriz e o tendão.

Na reparação do ligamento patelar de coelhos com concentrado de plaquetas, Lyras et al. (2010) observaram aceleração do processo de cicatrização com maior síntese de colágeno. No presente trabalho, não houve diferença significativa entre o grupo controle e o tratado aos 45 dias de PO, em relação à porcentagem de fibras colágenas, quantidade de fibroblastos, neovasos e polimorfonucleares. Entretanto, foi registrada uma melhora significativa nos animais do grupo tratado. Notou-se maior quantidade de fibras colágenas em relação aos do grupo controle, sendo que aos 90 dias de PO a quantidade de colágeno foi maior que nos animais com 45 dias. Essa estrutura organizada permite que os tendões resistam e transmitam grandes forças entre músculos e ossos (LIN; CARDENAS; SOSLOWSKY, 2004).

A preparação do PRP na forma de gel foi simples e a administração sobre o local da tenorrafia foi rápida e uniforme, como utilizado por Croveti et al. (2004) no reparo de úlceras cutâneas crônicas de humanos e por Eurides et al. (2010) na cicatrização das lesões corneanas de coelhos.

Conclusão

A administração de concentrado de plasma de plaquetas autógenas, sob a forma de gel, no reparo do tendão gastrocnêmio de coelhos, estimula e organiza o processo de reparação com produção precoce de fibras colágenas.

Referências

- ANDRADE, M. G. M. G. **Obtenção de plasma rico em plaquetas autólogo de coelhos com poucos leucócitos e hemácias**. 2014. 33 f. Dissertação (Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.
- ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; NURDEN, A. T. Autologous platelet source of proteins for healing and tissue regeneration. **Thrombosis Haemostasis**, v. 91, n. 1, p. 4-15, 2004. Disponível em: <<http://th.schattauer.de/en/contents/archive/issue/773/manuscript/3625.html>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1160/TH03-07-0440>.
- ASPENBERG, P.; VIRCHENKO, O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 75, n. 1, p. 93-99, 2004.
- BHANOT, S.; ALEX, J. C. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. **Facial Plastic Surgery**, v. 18, n. 1, p. 27-33, 2002.
- COELHO, H. E. **Patologia geral veterinária**. 2. ed. Uberlândia: Impresso, 2000. 143 p.
- CROVETTI, G.; MARTINELLI, G.; ISSI, M.; BARONE, M.; GUIZZARDI, M.; CAMPANATI, B. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. **Transfusion Apheresis Science**, v. 30, n. 2, p. 145-151, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050204000278>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2004.01.004>.
- ENWEMEKA, C. S. Inflammation, cellularity, and fibrillogenesis in regenerating tendon implications for tendon rehabilitation. **Physical Therapy**, v. 69, n. 10, p. 816-821, 1989.
- EURIDES, D.; MANTOVANI, M. M.; MENEZES, G. F.; SILVA, L. A. F.; SOUZA, L. A.; OLIVEIRA, B. J. N. A.; BAUNGARTEN, L. B. Efeito do concentrado de plaquetas xenólogo na cicatrização da córnea em coelhos. **Revista Portuguesa Ciência Veterinária**, v. 109, n. 573-576, p. 39-43, 2010.
- FRIEDRICH, T.; SCHMIDT, W.; JUNGMICHEL, D.; HORN, L. C.; JOSTEN, C. Histopathology in rabbit Achilles tendon after operative tenolysis (longitudinal fiber incisions). **Scandinavian Journal Medicine Science Sports**, v. 11, n. 1, p. 4-8, 2001. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0838.2001.011001004.x/pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi:<http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0838.2001.011001004.x>.
- GOODSHIP, A. E. The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. **Equine Veterinary Education**, v. 5, p. 23-29, 1993. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3292.1993.tb00985.x/pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3292.1993.tb00985.x>.
- HATAKA, A. **Cinética vascular e celular na cicatrização tendínea experimental em cães (*Canis familiaris*)**. 1998. 65 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 250 p.
- KEYV, S. V.; JACOBSON, M. S. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. **Journal Extracorporeal Technology**, v. 36, n. 1, p. 28-35, 2004.
- KILLINGSWORTH, C. R. Repair of injured peripheral nerves, tendons and muscles. In: HARARI, J. **Surgical complications and wound healing in the small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1993. cap. 7, p. 169-202.
- LEME, J. J.; ROSSI, J. R. R.; VILLA, N. Análise do potencial osteogênico do plasma rico em plaquetas no reparo de cavidades ósseas: estudo histológico em cães. **Revista Paulista Odontologia**, v. 26, n. 3, p. 4-15, 2004.
- LENZA, M.; FERRAZ, S. B.; VIOLA, D. C. M.; SANTOS, O. F. P.; NETO, M. C. FERRETTI, M. Plasma rico em plaquetas para consolidação de ossos longos. Platelet-rich plasma for long bone healing. **Einstein**, v. 11, n. 1, p. 122-127, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082013000100023&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082013000100023>.
- LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair. **Journal of Biomechanics**, v. 37, p. 865-877, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021929003004068>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2003.11.005>.
- LIU, Y.; KALÉN, A.; RISTO, O.; WAHLSTRÖM, O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. **Wound Repair Regeneration**, v. 10, n. 5, p. 336-340, 2002. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1524-475X.2002.10510.x/full>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1524-475X.2002.10510.x>.
- LYRAS, D. N.; KAZALOS, K.; AGROGIANNIS, G.; VERETTAS, D.; KOKKA, A.; KIZIRIDIS, G.; CHRONOPOULOS, E.; TRYFONIDIS, M. Experimental study of tendon healing early phase: is IGF-1 expression influenced by platelet rich plasma gel? **Orthopaedics Traumatology Surgery Research**, v. 96, n. 4, p. 381-387, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877056810000642>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.otsr.2010.03.010>.
- MALHOTRA, A.; PELLETIER, M. H.; YU, Y.; WALSH, W. R. Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, v. 133, p. 153-165, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00402-012-1641-1>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00402-012-1641-1>.
- NAGATA, M. J. H.; MESSORA, M. R.; FURLANETO, F. A. C.; FUCINI, S. E.; BOSCO, A. F.; GARCIA, V. G.; DELIBERADOR, T. M.; MELO, L. G. N. Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits. **European Journal of Dentistry**, v. 4, n. 4, p. 395-402, 2010.
- RAISER, A. G. Reparação do tendão calcâneo em cães. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 351-359, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000200027&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782001000200027>.
- SHIMIZU, B. J.; EURIDES, D.; MOTA, F. C. D.; MASTRANTONIO, E. C.; COLETO, P. M. F.; OZANAM, C. S.; FIORAVANTI, M. C.; SILVA, L. A. F. Anestesia perineural do membro pélvico de gatos (*Felis doméstica*). **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 8-11, 2002.
- SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. 2830 p.
- VALDÉS-VAZQUEZ, M. A.; McCLURE, J. R.; OLIVER, J. L.; RAMIREZ, S.; SEAHORN, T. L.; HAYNES, P. F. Evaluation of an autologous tendon graft repair method for gap healing of the deep digital flexor tendon in horses. **Veterinary Surgery**, v. 25, n. 4, p. 342-350, 1996. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1532-950X.1996.tb01423.x/pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-950X.1996.tb01423.x>.

VAUGHAN, L. C. **Tendon injuries in dogs**. California Veterinary, v. 1, p. 15-19, 1980.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; SCHAMALL, R. F.; FRANCO, T. R. Utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) autólogo em enxertos cutâneos em coelhos. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 25, n. 1, p. 4-10, 2010.

ZANDIM, B. M.; SOUZA, M. V.; MAGALHAES, P. C.; BENJAMIN, L. A.; MAIA, L.; OLIVEIRA, A. C.; PINTO, J. O.; JUNIOR, J. I. R. Platelet activation: ultrastructure and morphometry in platelet-rich plasma of horses. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 83-92, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2012000100014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000100014>.