

PLASMA RICO EM PLAQUETAS: UMA NOVA PERSPECTIVA TERAPÊUTICA PARA MEDICINA EQUINA*

Cynthia do Prado Vendruscolo^{1**}
Marcos Jun Watanabe²
Leandro Maia³
Armando Mattos de Carvalho⁴
Ana Liz Garcia Alves⁵

RESUMO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é um preparado do sangue total que contém diversos fatores de crescimento importantes na proliferação e diferenciação celular, angiogênese, além de síntese e deposição da matriz extracelular. Há na literatura diversos estudos sobre a ação do PRP na reparação de lesões musculoesqueléticas e cutâneas em várias espécies, com resultados promissores. Nesse sentido, o objetivo dessa revisão é relatar as propriedades do PRP, bem como a sua aplicação terapêutica em tecidos musculoesqueléticos e cutâneo, com enfoque particular na espécie equina.

Palavras-chave: cavalo, fatores de crescimento, terapia regenerativa, equino, PRP

PLATELET-RICH PLASMA: A NEW THERAPEUTIC APPROACH FOR EQUINE MEDICINE

ABSTRACT

Platelet Rich Plasma (PRP) is a preparation of whole blood that contains several important growth factors in cell proliferation and differentiation, angiogenesis, and synthesis and deposition of extracellular matrix. There are several studies in the literature about the action of PRP in the repair of musculoskeletal injuries and skin in several species, with promising results. Thus, the objective of this review is to describe the properties of the PRP, as well as its therapeutic application in musculoskeletal tissues and skin, but with particular focus on the equine species.

Keywords: horse, growth factors, regenerative therapy, equine, PRP

* Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

¹ Graduanda do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

^{**} Correspondência: Cynthia do Prado Vendruscolo Departamento de Cirurgia e Anestesiologia, FMVZ, UNESP, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, 18.618-970, Caixa Postal 560, Brasil. Tel: (14) 8119-6863. E-mail: cynthiainpoluto@hotmail.com

² Professor Assistente Doutor do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

³ Doutorando do Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

⁴ Doutorando do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

⁵ Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

PLASMA RICO EN PLAQUETAS: UN NUEVO ENFOQUE TERAPÉUTICO PARA LA MEDICINA EQUINA

RESUMEN

Plasma rico en plaquetas (PRP) es una preparación de sangre total que contiene varios factores de crecimiento importante en la proliferación y diferenciación celular, la angiogénesis, además de la síntesis y deposición de matriz extracelular. Hay varios estudios en la literatura acerca de la acción del PRP en la reparación de lesiones músculo-esqueléticas y de la piel en varias especies, con resultados prometedores. Así, el objetivo de esta revisión es describir las propiedades del PRP, así como su aplicación terapéutica en los tejidos músculo-esqueléticos y la piel, pero con especial énfasis en la especie equina.

Palabras-clave: caballos, factores de crecimiento, terapia regenerativa, equino, PRP

INTRODUÇÃO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é um concentrado de plaquetas obtido por meio de uma metodologia simples, com boa relação custo/benefício para se obter altas concentrações de fatores de crescimento com propriedades regenerativas. Concentrações superiores a 300.000 plaquetas/ μ l são necessárias para o efeito terapêutico desejado (1).

Na espécie equina, o PRP é estudado em diferentes enfermidades como, as tendinites (2), as desmites, as osteoartrites (3) e feridas cutâneas (4), com efeitos positivos tanto individualmente quanto sinergicamente, melhorando a migração e proliferação celular, angiogênese e deposição de matriz na cicatrização tendínea e de ferimentos (5).

O objetivo dessa revisão é relatar as propriedades do PRP, bem como a sua aplicação terapêutica em tecidos musculoesqueléticos e cutâneo de equinos.

REVISÃO DE LITERATURA

Plaquetas e fatores de crescimento

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos anucleados, discoides, derivados de megacariócitos da medula óssea. Elas possuem de 5 a 7 μ m de diâmetro e largura inferior a 3 μ m (6). Estes fragmentos contêm no citoplasma várias proteínas, citocinas e fatores bioativos que estão envolvidos com a regulação dos aspectos básicos da reparação tecidual, além da coagulação sanguínea (7).

Os grânulos *alpha* são partículas presentes nas plaquetas nos quais estão contidos o fator de crescimento transformante- β (TGF- β), fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF) (8), que são liberados após a ativação plaquetária. Entretanto, recentemente McCarrel e Fortier (5) demonstraram a liberação dos fatores de crescimento por no mínimo quatro dias, sem a necessidade de agentes ativadores exógenos, como gluconato de cálcio, cloreto de cálcio e trombina (9).

Os fatores de crescimento contidos nas plaquetas são peptídeos sinalizadores, responsáveis pela regulação do metabolismo celular pela interação com um organizado complexo de receptores de superfície celular. Esta interação resulta no aumento da transcrição

gênica e consequente produção de proteínas que desencadeiam a proliferação e diferenciação celular, além do aumento da produção da matriz extracelular (10) e angiogênese, o que facilita o processo de reparação tecidual (11).

Métodos de obtenção do PRP

O PRP é obtido a partir de sangue não coagulado, pois as plaquetas fazem parte do coágulo, e nele elas já foram ativadas e degranularam (12). Ele pode ser obtido basicamente por três técnicas: do tubo (manual), centrifugação (semiautomática) e por aférese (automática) (13). Nestes procedimentos variam o custo, facilidade de preparação, o volume de sangue necessário e a concentração de plaquetas obtida. No primeiro os custos são mínimos, o volume utilizado é pequeno e o PRP é facilmente obtido, mas com pequena concentração de plaquetas. Na centrifugação os custos são baixos, porém é necessária a aquisição de uma centrífuga, o volume necessário é pequeno e também é de fácil obtenção, obtendo maior concentração de plaquetas. O último método é caro, pois são necessários equipamentos e “kits” específicos, o volume de sangue necessário é grande, porém se obtém altas concentrações plaquetárias e maior volume de PRP. Existe ainda o método desenvolvido pela VetCell (Quy Bioscience Ltd., T/A VetCell, Inglaterra) no qual o sangue é coletado em uma bolsa e passa pelo dispositivo *Pall's* para captura das plaquetas. Depois se lava o filtro, recuperando as plaquetas na solução, sendo de fácil realização, porém com custos elevados. As concentrações obtidas nos diversos estudos são mostradas no Quadro 1.

Quadro 1. Estudos realizados com PRP demonstrando os autores, método de preparo e concentração plaquetária média obtida.

Autor	Método de preparo	Concentração de plaquetas média
Maia et al. (2)	centrifugação	407.500 plaquetas/ μ l
Bosch et al. (11)	GPS II, Biomet*	639.700 plaquetas/ μ l
Carmona et al. (25)	centrifugação	250.000 plaquetas/ μ l
Textor et al. (14)	centrifugação	1.765.000 plaquetas/ μ l
Textor et al. (14)	Harvest Smart PReP2*	951.000 plaquetas/ μ l

*Kits comerciais para o preparo do PRP.

Textor et al. (14) testaram os efeitos dos métodos de preparo, força de cisalhamento e a exposição ao colágeno para liberação dos fatores de crescimento utilizando seis equinos. Os métodos utilizados foram a centrifugação e um método automático (Harvest Smart PReP2), sendo que as maiores concentrações foram obtidas com a centrifugação (1.765×10^3 plaquetas/ μ l) do que no outro método (951×10^3 plaquetas/ μ l). Porém as quantidades de PDGF e TGF- β foram maiores no método automático, fato que pode ser explicado pela ativação prematura das plaquetas durante o processamento, não ocorrendo na centrifugação pela adição de prostaglandina E_1 que bloqueia a ativação plaquetária.

Nos protocolos de centrifugação para obtenção do PRP na primeira centrifugação separa-se as células vermelhas (7 μ m de diâmetro) e brancas (7-15 μ m de diâmetro) das plaquetas (2 μ m de diâmetro), devido a diferença de densidade. Na segunda ocorre a concentração das plaquetas, produzindo o PRP e o plasma pobre em plaquetas (PPP) (12). Existem diversos protocolos descritos de obtenção do PRP na espécie equina, embora sejam raros os estudos comparando a eficiência desses protocolos.

Vários estudos pré-clínicos com PRP já foram feitos e Kon et al. (8) revisaram os resultados obtidos em tecidos musculoesqueléticos em humanos, conforme demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2. Resultados pré-clínicos de estudos (8).

Tecido	Efeitos
Tendão	Estimula a expressão de moléculas de matriz, proliferação de células de tendão síntese de angiogênicos e outros fatores de crescimento. Ativação da migração de células circulantes. Aumento da neovascularização e atividade metabólica. Aumento da maturação no calo tendíneo, rigidez, tensão máxima e força de ruptura.
Ligamento	Melhora nas propriedades histológicas e biomecânicas (usado como hidrogel colágeno-PRP).
Cartilagem	Diminuição da fibrilação da cartilagem, hiperplasia da membrana sinovial e hemorragia. Aceleração da expansão dos condrócitos. Melhora na proliferação e diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais.
Músculo	Aceleração da ativação das células satélites. Aumento do diâmetro das fibras regenerativas. Estimulação da miogênese. Aumento da expressão da proteína de myoD (38-kD) e miogenina. Aceleração do tempo de recuperação após lesão por esforço.

O emprego do PRP nas lesões tendíneas e ligamentares

A tendinite e a desmíte resultam em perda econômica considerável para a indústria equina devido à diminuição de desempenho, reabilitação prolongada, lesões recorrentes e aposentadoria precoce. Atualmente, buscam-se métodos de tratamento que induzam a regeneração tecidual, ou seja, a restauração da arquitetura estrutural normal e função biomecânica, ao invés de formação de tecido cicatricial com aumento do risco de recidiva (15).

Com o objetivo de se obter uma melhor cicatrização e acelerar o processo tem-se estudado o efeito do PRP nas lesões tendíneas e ligamentares. Vários fatores de crescimento presentes nas plaquetas são importantes para o desenvolvimento e homeostase tendínea, mas o IGF-I e o TGF- β 1 tem importante papel na reparação (16).

O IGF-I é um importante mediador em todas as fases da cicatrização de ferimentos, particularmente durante as fases inflamatórias e proliferativas (17). O pico deste fator ocorre quatro semanas após a lesão tendínea, durante as fases inflamatória e proliferativa da cicatrização, sendo que nas duas primeiras semanas os níveis teciduais da proteína IGF-I estão 40% abaixo do encontrado em tecido normal (16). O IGF-I fica aumentado localmente durante e após a inflamação e lesão em tecidos moles, o RNAm e os níveis de proteínas estão ambos aumentados, fato que é acompanhado por um correspondente aumento no número de receptores (17). Seu papel primário parece estimular a proliferação e migração de fibroblastos e outras células para o local da lesão, e subsequentemente aumentar a produção de colágeno e outras estruturas da matriz extracelular nessas células durante a fase de remodelamento, possuindo também a habilidade de reduzir a inflamação (17).

O TGF- β é ativo em quase todos os estágios da reparação tendínea. Ele possui variados efeitos como estimular extrinsecamente a migração celular, regular as proteinases, formar interações vinculadas a fibronectina, finalizar a proliferação celular via inibidores de cinase dependente de ciclina e estimular a produção de colágeno (17). A expressão de RNAm para TGF- β 1 aumenta imediatamente após a lesão no tendão, com pico após uma semana. Desta forma os níveis de proteína TGF- β 1 se elevam a partir da primeira semana tendo o pico com quatro semanas (18). Apesar das ações pró-reparativas, o TGF- β também é uma citocina

chave no processo de patogênese da fibrose e formação de cicatriz, podendo resultar em uma desordem de deposição excessiva de colágeno (18).

O VEGF age nas primeiras fases de migração celular e proliferação, mas é mais ativo após a inflamação, notadamente durante as fases de proliferação e remodelamento na qual ele tem se mostrado um potente estimulador de angiogênese. A neovascularização parte da superfície do epitélio e promove a chegada de células extrínsecas, nutrientes e fatores de crescimento para a área lesada (17). Terapeuticamente o VEGF mostrou melhora na força tênsil do tendão durante o curso da reparação do tendão de Achiles em ratos quando administrado por via intralesional no tendão reparado quando comparado ao controle (18). O possível mecanismo terapêutico do VEGF pela aceleração do processo de angiogênese (18).

O PDGF tem papel significativo nos estágios iniciais da reparação, pela indução da síntese de outros fatores de crescimento, como o IGF-I. Aumentos nos níveis de PDGF tiveram como resultado aumento nos níveis de IGF-I e nos receptores de IGF, que uma vez ativados estimulam a síntese de DNA (19). Estudo *in vitro* realizado por Yoshikawa e Abrahamsson (20) demonstraram que este fator de crescimento também possui um importante papel durante o remodelamento tecidual. O PDGF estimulou a produção de proteínas colágenas e não colágenas, assim como a síntese de DNA, em dose dependente. A ativação dos receptores desse fator de crescimento leva a proliferação e diferenciação de fibroblastos, deposição de colágeno e angiogênese (18). Adicionalmente, o PDGF também aumenta a força tênsil de feridas incisionais e acelera a sua reparação quando aplicado topicamente (18).

O IGF-I e PDGF têm função vital durante a primeira fase e a fase intermediária da reparação, durante a qual eles agem na migração e proliferação dos fibroblastos e estimulam a síntese de matriz extracelular. O TGF- β e o VEGF também possuem papéis neste processo, e adicionam instrumentos na fase de remodelamento, regulando a angiogênese dentro da lesão (17).

Baseando no importante papel dos fatores crescimento na fisiopatologia da tendinite e desmíte, o PRP pode ser considerado uma excelente alternativa terapêutica para o tratamento dessas afecções. Fato esse comprovado pelos bons resultados relatados na literatura científica (2,11,13, 15).

Maia et al. (2) estudaram experimentalmente a tendinite no tendão do músculo flexor digital superficial (TFDS) de equinos tratados com PRP, sendo observado na histopatologia reparação tecidual uniforme e organizada, 36 dias após aplicação intratendínea desse componente rico em plaquetas. Prades et al. (13) trataram sessenta e dois equinos com lesões tendíneas e ligamentares e, após um período de quatro a cinco meses, cinquenta e três animais voltaram ao treinamento.

Bosch et al. (11) testaram o efeito de uma única aplicação de PRP em lesões criadas cirurgicamente em equinos. Avaliou-se a neovascularização, por ultrassonografia com “Color Doppler” (uma semana após a lesão, logo antes da administração de PRP, duas, três, cinco, oito, doze, dezoito e vinte e quatro semanas após a indução), e realizou-se exame imunoistoquímico (vinte e quatro semanas após o início do experimento) para o fator VIII (fator de Von Willebrand), que está presente apenas em células endoteliais intactas e funcionais. Os resultados permitiram demonstrar que os membros tratados com PRP apresentaram maior neovascularização. A melhora na vascularização é proposta como uma razão para o prolongado efeito terapêutico de uma única aplicação de PRP, já que os fatores de crescimento agem por um curto período.

Schnabel et al. (21) testaram o efeito do PRP, do plasma pobre em plaquetas (PPP), do aspirado de medula óssea, do plasma e do sangue total em culturas de fragmento de TFDS de equinos em concentrações de 10%, 50% e 100% de cada um dos tratamentos. Observou-se que as culturas com 100% de PRP obtiveram maiores expressões de RNAm para colágeno tipo I (COL1A1), colágeno tipo III (COL3A1), proporção COL1A1: COL3A1, e proteína

oligomérica de matriz cartilaginosa (COMP). Além disso, não foi observada estimulação da expressão de metaloproteinase-13 (MMP-13) e MMP-3, sugerindo que o efeito dos fatores de crescimento liberados pelas plaquetas concentradas durante a centrifugação prevalece sobre o potencial de mediadores catabólicos ou pró-inflamatórios derivados dos leucócitos e plaquetas. O PRP também obteve as maiores concentrações de fatores de crescimento.

Em outro estudo com cultura de ligamento suspensório com plasma, sangue total, PRP, PPP e aspirado de medula óssea acelular, também nas concentrações de 10%, 50% e 100%, Schnabel et al. (22) avaliaram a resposta proliferativa e determinaram os níveis de RNAm. O PRP obteve os mais altos índices de estimulação das MMP-3 e MMP-13. No conteúdo de DNA e de colágeno total ele obteve desempenho intermediário. Os melhores resultados foram obtidos pelo aspirado a 100%.

Ridermann et al. (15) conduziram um estudo com seis equinos que apresentavam variados graus de tendinite, porém sem um grupo controle. Os resultados ultrassonográficos revelaram diminuição no percentual de área lesada, na área do tendão, no grau de ecogenicidade, além de melhor alinhamento das fibras. Além disso, não houve recidiva durante o período de monitoramento (treze meses pós-lesão).

O emprego do PRP nas lesões osteoarticulares

A lesão à cartilagem é um grande problema e vários equinos são afastados da carreira atlética, ou até mesmos eutanasiados, por apresentarem danos irreparáveis e, subsequente, osteoartrite da cartilagem articular (23).

Os fatores de crescimento contidos no PRP podem contribuir para a regeneração da cartilagem. O TGF- β aumenta a expressão fenotípica dos condrócitos, diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais, deposição de matriz extracelular, além de diminuir os efeitos supressivos do mediador inflamatório interleucina-1 na síntese de proteoglicano na cartilagem. Já o PDGF aumenta a proliferação de condrócitos e síntese de proteoglicanos, e o IGF estimula a síntese de proteoglicanos e atrasa o seu catabolismo (8).

Dentre os estudos conduzidos com equinos, Prades et al. (13) trataram vinte e três animais com três aplicações intra-articulares, com duas a três semanas de intervalo entre elas. Observou-se melhora no grau de claudicação e efusão articular. Em outro estudo, Frisbie et al. (24) relataram melhora no grau de claudicação e diminuição da fibrose na cartilagem, da hiperplasia na membrana sinovial e da hemorragia após a administração de plasma autólogo em equinos com osteoartrite induzida experimentalmente na articulação do carpo.

Carmona et al. (25) realizaram estudo com equinos que não responderam a terapia convencional composto de três aplicações intraarticulares de PRP com um intervalo de duas semanas entre cada aplicação. Os resultados permitiram demonstrar redução no grau de claudicação principalmente após a terceira aplicação, além da regressão da efusão articular. A resposta terapêutica foi atribuída ao efeito analgésico e anti-inflamatório exercido pelo PRP mediante a inibição da expressão de fatores nucleares e bloqueio da ação dos metabólitos pró-inflamatórios em uma escala menor. Além disso, o PRP causa aumento da síntese *in vitro* de ácido hialurônico pelos sinoviócitos de humanos com osteoartrite, gerando conseqüentemente poderoso e prolongado efeito analgésico e anti-inflamatório na articulação (26).

Em estudos conduzidos com humanos, Sanchez et al. (27) publicaram um relato de caso no qual o PRP foi utilizado para tratar avulsão de cartilagem articular em um jogador de futebol, obtendo-se como resposta a diminuição do tempo de recuperação e completa restauração da cartilagem articular, com rápido retorno a atividade atlética sem apresentação de sintomas. Sanchez et al. (28) em outro estudo testaram o PRP para o tratamento de osteoartrites na articulação femurotibiopatelar. O ácido hialurônico foi utilizado como controle, mostrando melhora no tratamento da dor e função física com o uso do PRP.

O emprego do PRP nas lesões ósseas

Há poucos estudos sobre a aplicação do PRP em lesões ósseas em equinos, sendo a maioria dos estudos conduzidos em outras espécies. Entretanto, há na literatura o relato de López et al. (29) que realizaram o tratamento de uma fratura escapular causada acidentalmente por um projétil de arma de fogo. O tratamento consistiu em três aplicações guiadas por ultrassom com duas semanas de intervalo. Com um mês de evolução houve redução no grau de claudicação (de 5 para 3) e não havia mais crepitação. O equino foi submetido a um programa de exercícios gradual e em nove meses estava completamente recuperado, não apresentando mais atrofia muscular do membro acometido.

Kitoh et al. (30) relataram uma série de casos no qual dezessete pacientes humanos receberam aplicação de PRP e vinte e nove não. Os autores concluíram que no grupo tratado com PRP não houve atraso na consolidação e tiveram menos complicações.

Em outro estudo foram criadas fraturas no fêmur de quarenta e oito ratos (9). O grupo tratado recebeu PRP e o controle recebeu solução salina. Na quarta semana após o tratamento as análises revelaram que no grupo tratado com PRP houve a formação de um maior calo ósseo, sendo também mais resistente. Houve maior expressão de TGF- β e de proteína óssea morfogênica que foram associadas com a aceleração na reparação óssea.

Intini (31) realizou um estudo sobre as ações dos diversos fatores de crescimento plaquetários na reparação óssea, conforme demonstrado no Quadro 3.

Quadro 3. Diversas ações dos fatores de crescimento na reparação óssea (31).

Fator de crescimento	Ação nos ossos
Fator de crescimento Epidermal (EGF)	Age na proliferação óssea, promovendo a formação do osso periosteal e aumentando a reabsorção endosteal, em doses fisiológicas. A falta de receptores para este fator de crescimento causa um atraso na ossificação primária da cartilagem e atrasa o recrutamento dos osteoclastos e osteoblastos.
Fator de crescimento Fibroblástico básico (bFGF)	Age na proliferação e diferenciação ao induzir os preosteoblastos e osteoblastos capazes de induzir e sustentar a regeneração óssea.
Fator de crescimento semelhante a insulina (IGF)	Estimula células osteoblásticas em cultura a proliferarem, sintetizarem proteínas da matriz óssea e estimulam a expressão de mRNA para a fosfatase alcalina, osteopontina e osteocalcina na matriz óssea estromal.
Fator de crescimento celular endotelial derivado de plaquetas (PDECGF)	Angiogênese.
Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)	Proliferação: o efeito primário do PDGF nos ossos é relacionado a sua atividade mitogênica. Liberação controlada de PDGF é benéfica para a regeneração óssea quando aplicado no local de lesão.
Fator de crescimento transformante - β1 (TGF-β1)	Age como um fator de crescimento parácrino e autócrinoproliferativo, afetando principalmente os fibroblastos, células tronco medulares e preosteoblastos.
Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)	Angiogênese: aumenta a vascularização nos defeitos ósseos. Também é eficaz para induzir a regeneração óssea em ossos irradiados.

O emprego do PRP nas lesões musculares

Lesões musculares, causadas por contusão ou estiramento, são comuns e incapacitantes. Elas acometem principalmente atletas em competições que envolvem contato, corrida, salto e atividade de aceleração, e podem ser responsáveis pela maioria dos dias perdidos na prática esportiva (12).

Em um estudo com ratos com múltiplas aplicações de PRP em lesões musculares excêntricas, houve redução significativa no tempo de recuperação (32).

Quatorze atletas profissionais que apresentavam lesão muscular aguda foram tratados com aplicação de PRP guiada por ultrassom após a aspiração do hematoma em uma série de casos não publicada (12). Houve redução do período de recuperação de 50%. Em intervalos regulares foi realizado acompanhamento médico com exames ultrassonográficos que confirmaram progressiva melhora do músculo acometido.

Apesar do sucesso obtido em alguns estudos, há a teoria de que o PRP pode induzir a fibrose muscular, principalmente pela presença do TGF- β nos *alpha* grânulos. Em estudos *in vitro* com tecido muscular foi demonstrado que este fator de crescimento estimula a fibrose, e esta falha na reparação pode levar ao aumento do risco de recidiva (12).

A maioria desses estudos é conduzida em ratos, coelhos e humanos sendo escassa a literatura em equinos. São necessários mais estudos para avaliar a viabilidade do uso do PRP em lesões musculares nesta espécie.

O emprego do PRP nas lesões cutâneas

Os ferimentos traumáticos são desafiadores e, muitas vezes, exigem acompanhamento intensivo dos proprietários e veterinários de equinos, sendo que o fechamento primário de feridas é bem sucedido em apenas 24% dos casos (33). Para agravar o problema, a cicatrização de feridas por segunda intenção está sujeita a inúmeras complicações que comprometem o equino, incluindo inflamação crônica, contração fraca, desenvolvimento de tecido de granulação exuberante e reepitelização lenta (34).

Com o objetivo de reduzir o tempo de cicatrização das lesões cutâneas, vários estudos foram conduzidos. Dentre eles pode-se citar o de De Rossi et al. (4) que testaram o uso de PRP em gel no tratamento de feridas induzidas cirurgicamente na região do pescoço de equinos. Duas feridas com oito centímetros foram realizadas em cada antímero do pescoço, e os seis equinos foram divididos em grupo um e dois. O primeiro grupo teve uma lesão biopsiada no dia cinco e outra no dia trinta após a indução. O segundo grupo teve sua lesão biopsiada nos dias quinze e quarenta e cinco. Os resultados permitiram demonstrar que no grupo tratado a resposta inflamatória foi menor, nos parâmetros histológicos houve uma melhor organização tecidual e maior angiogênese do que no grupo controle. Por outro lado, Monteiro et al. (35) não observaram aceleração e nem melhora na qualidade da reparação ao tratar lesões na região metacarpiana. O PRP teve um efeito deletério estimulando o tecido de granulação exuberante e, conseqüentemente, atrasando significativamente a cicatrização. Neste estudo foram avaliados os parâmetros histológicos, biomecânicos e mensuração da quantidade de TGF- β e de RNAm para colágeno tipo I e III, não havendo diferença nas avaliações. Uma provável justificativa é a elevada concentração de TGF- β que possivelmente acelera a diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, reduzindo a síntese e quantidade de matriz depositada no tecido de cicatrização.

A principal vantagem terapêutica do PRP sobre os fatores de crescimento purificados e isolados para o tratamento de feridas é que ele representa uma mistura natural de mediadores estimulantes e inibitórios projetados para ter efeitos biológicos sinérgicos no ambiente do ferimento (36).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O PRP é estudado há muito tempo com grande sucesso em alguns casos, o que estimulou vários pesquisadores a utilizá-lo em lesões de diferentes tecidos. Alguns estudos como o de Maia et al. (2), Bosch et al. (11), Frisbie et al. (24) e De Rossi et al. (4) apresentaram resultados favoráveis, já o estudo de Monteiro et al. (35) não revelou resultados satisfatórios. Em lesões musculares há ainda grande receio quanto a sua utilização devido à

excessiva produção de tecido fibroso que pode ser provocada pelo TGF- β . Apesar de alguns resultados positivos desses experimentos, há alguns estudos nos quais não se observa melhora. Isso se deve em parte a falta de padronização nos protocolos de obtenção, com diferentes formas de preparo, além de tempo e forças de centrifugação relativa variadas. Além disso, ainda não se sabe exatamente o correto número de aplicações, intervalo entre elas, a dose e concentração ideal de plaquetas e o momento correto para se realizar o tratamento. Portanto há a necessidade de mais estudos básicos para que se obtenha o máximo de efeito do PRP e se comprove ou não sua eficácia, particularmente na medicina equina.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pela a concessão das bolsas de iniciação científica a Vendruscolo e de doutorado ao Maia e Carvalho.

REFERÊNCIAS

1. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelet source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91:4-15.
2. Maia L, Souza MV, Ribeiro Júnior JI, Oliveira AC, Alves GES, Benjamin LA, et al. Platelet-Rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. *J Equine Vet Sci.* 2009;29:618-26.
3. Carmona JU, López C, Prades M. Uso de concentrados autólogos de plaquetas obtidos mediante el método del tubo como tratamiento de artopatías em caballos. *Arch Med Vet.* 2009;41:175-9.
4. De Rossi R, Coelho ACAO, Mello GS, Frazílio FO, Leal CRB, Facco GG, et al. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras.* 2009;24:276-81.
5. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *J Orthop Res.* 2009;27:1033-42.
6. Feldman BF. Schalm's veterinary hematology. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
7. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10:225-8.
8. Kon E, Filardo G, Di Martino A, Marcacci M. Platelet-rich plasma (PRP) to treat sports injuries: evidence to support its use. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19:516-27.
9. Simman R, Hoffmann A, Bohinc RJ, Peterson WC, Russ AJ. Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing. *Ann Plast Surg.* 2008;61:337-44.
10. Dahlgren LA, Nixon AJ, Brower-Toland BD. Effect of betaaminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. *Am J Vet Res.* 2001;62:1557-62.

11. Bosch G, Moleman M, Barneveld A, Van Weeren PR, Van Schie HT. The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. *Scand J Med Sci Sports*. 2011;21:554-61.
12. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009;37:2259-72.
13. Prades M, Abellanet I, Carmona JU, Argüelles D, Masri M. Platelet rich plasma: a realistic alternative in tissue repair. In: *Proceedings of the 15th Annual Meeting European College of Veterinary Surgeons; 2006, Seville*. Seville: ECVS; 2006. p.211-6.
14. Textor JA, Norris JW, Tablin F. Effects of preparation method, shear force, and exposure to collagen on release of growth factors from equine platelet-rich plasma. *Am J Vet Res*. 2011;72:271-8.
15. Ridermann G, Cislakova M, Arndt G, Carstanjen B. Autologous conditioned plasma therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *J Vet Sci*. 2010;11:173-5.
16. Dahlgren LA, Mohammed HO, Nixon AJ. Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *J Orthop Res*. 2005;23:84-92.
17. Molloy T, Wang Y, Murrell GAC. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med*. 2003;33:381-94.
18. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *J Hand Surg*. 2004;29A:551-63.
19. Lynch SE, Colvin R, Antoniadis HN. Growth factor in wound healing: single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest*. 1989; 84:640-6.
20. Yoshikawa Y, Abrahamsson S. Dose-related cellular effects of platelet-derived growth factor-BB differ in various types of rabbits tendon in vitro. *Acta Orthop Scand*. 2001; 72:287-92.
21. Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, McDermott WG, Jacobson MS, Santangelo KS, et al. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendon. *J Orthop Res*. 2007;25:230-40.
22. Schnabel LV, Mohammed HO, Jacobson MS, Fortier LA. Effect of platelet-rich plasma and acellular bone marrow on gene expression patterns and DNA content of equine suspensory ligament explant cultures. *Equine Vet J*. 2008;40:260-5.
23. Brama P. Cartilage repair: an update. In: *Abstracts European Veterinary Conference; 2007, Voorjaarsdagen*. Voorjaarsdagen: IVIS; 2007. p. 210-1.
24. Frisbie DD, Kawcak CE, Werpy NM, Park RD, McIlwraith CW. Clinical, biochemical, and histological effects of intraarticular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2007;68:290-6.

25. Carmona JU, López C, Prades M. Uso de concentrados autólogos de plaquetas obtenidos mediante el método del tubo como tratamiento de artropatías em caballos. Arch Med Vet. 2009;41:175-9.
26. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Zalduendo MM, de la Fuente M, Azofra J, et al. Platelet-release growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. Rheumatology. 2007;46:1769-72.
27. Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andía I, Padilla S, Santisteban J, et al. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. Med Sci Sports Exerc. 2003;35:1648-52.
28. Sanchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intraarticular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. Clin Exp Rheumatol. 2008;26:910-3.
29. López C, Carmona JU, Samudio I. Uso de concentrados autólogos de plaquetas como tratamiento de una fractura escapular y una lesión del plexo braquial producidas por un disparo en un caballo. Arch Med Vet. 2010;42:209-14.
30. Kitoh H, Kitakoji T, Tsuchiya H, Katoh M, Ishiguro N. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones. Bone. 2007;40:522-8.
31. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. Biomaterials. 2009;30:4956-66.
32. Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. Am J Sports Med. 2009;37:1135-42.
33. Wilmlink JM, Van Herten J, Van Weeren PR, Barneveld A. Retrospective study of primary intention healing and sequestrum formation in horses compared to ponies under clinical circumstances. Equine Vet J. 2002;34:270-3.
34. Theoret CL. What's new and innovative in wound management: problems and solutions. In: Proceedings of the 52th AAEP Convention; 2006, San Antonio. San Antonio, TX: AAEP; 2006. p.265-9.
35. Monteiro SO, Lepage OM, Theoret CL. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses. Am J Vet Res. 2009;70:277-81.
36. Steel CM, Robertson ID, Thomas J, Yovich JV. Effect of topical rh-TGF- β 1 on second intention wound healing in horses Aust Vet J. 1999;77:734-7.

Recebido em: 30/06/11

Aceito em: 13/12/11