



**Eduardo Louzada da Costa
Thiago Penido Moreira Ferreira
Anna Luiza Amancio Vidal**

AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA DO REPARO DO LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL DO JOELHO USANDO PLASMA RICO EM PLAQUETAS - UM ESTUDO EM COELHOS

1º Edição

**São José dos Pinhais
BRAZILIAN JOURNALS PUBLICAÇÕES DE PERIÓDICOS E EDITORA
2024**



**Eduardo Louzada da Costa
Thiago Penido Moreira Ferreira
Anna Luiza Amancio Vidal
Organizadores**

**Avaliação biomecânica do
reparo do ligamento colateral medial
do joelho usando plasma rico em
plaquetas – um estudo em coelhos**

1° Edição

**Brazilian Journals Editora
2024**

2024 by Brazilian Journals Editora
Copyright© Brazilian Journals Editora
Copyright do Texto© 2024 Os Autores
Copyright da Edição© 2024 Brazilian Journals Editora
Editora Executiva: Barbara Luzia Sartor Bonfim
Diagramação: Sabrina Binotti Alves
Edição de Arte: Sabrina Binotti Alves
Revisão: Os Autores

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial:

Prof. Msc. Adauto Luiz dos Santos-Faculdades Metropolitanas Unidas, Brasil.
Prof. Dr. Adilson Marques da Silva- Faculdade Santa Marcelina, Universidade Metropolitana de Santos e Faculdade de Ciências da Saúde do Hospital Alemão Oswaldo Cruz.
Prof. Dr. Alexandre Bechara - Universidade Paulista - UNIP.
Prof. Msc. Alexandre Massao Sugawara- Centro Universitário - FMABC e Faculdade de Americana-FAM
Prof. Esp. Alexandre Ribeiro da Silva - Colégio Práxis.
Prof. Esp. Ana Carolina Nogueira Bonard - Rede Estadual de Ensino.
Prof. Msc. André Schmidt Suaiden- *Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade ICTQ*.
Prof. Dra. Aparecida de Fatima Michelin - Universidade Paulista (UNIP)
Prof. Dra. Camila Stéfani Estancial Fernandes - Faculdades Integradas Maria Imaculada- FIMI e Faculdade Santa Lúcia – FSL
Prof. Msc. Claudinei Alves Santana - Centro Universitário Senac - unidade Tiradentes.
Prof. Msc. Clézio Abreu - Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro Oeste - UNIDES
Prof. Dr. Domingos Sávio Calixto - Faculdade Anhanguera.
Prof. Msc. Evandro Milton Rodrigues - Universidade de Mogi das Cruzes, Universidade Metodista de São Paulo
Prof. Dra. Fabiana Moreira Nogueira Bechara - Universidade Paulista-UNIP.
Prof. Msc. Fátima Haddad Barrach - UNIBR- Faculdade de Botucatu/SP
Dra. Fernanda da Silva Neves- Hospital Municipal de Rio das Ostras.
Prof. Esp. Guilherme Alexandre Davoli- Faculdades Integradas Maria Imaculada.
Prof. Msc. Klauber Menezes Penaforte - Faculdade Anhanguera
Prof. Dra. Kelly Cristina Gavião Luchi - Universidade Paulista (UNIP)
Laura Emilia Michelin Gobbo - Centro Universitário São Camilo.
Prof. Dra. Marise Bastos Stevanato - Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP).
Prof. Dra. Monica Maria Henrique dos Santos - Faculdade Pernambucana de Saúde-FPS



Ano 2024

Prof. Msc. Priscila Vautier - Universidade de Mogi das Cruzes.
Prof. Msc. Renata Lopes Rodrigues - Faculdades Integradas Maria Imaculada.
Prof. Esp. Ricardo Jonsson - Centro Universitário Braz Cubas.
Prof. Dr. Ricardo José Orsi de Sanctis - Faculdade de Tecnologia de Sorocaba FATEC Sorocaba e da Universidade Paulista - UNIP.
Prof. Esp. Ricardo Silveira Leite - *Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade-ICTQ*.
Prof. Dr. Sandro Rostelato - Ferreira - Universidade Paulista - UNIP e da Universidade de Sorocaba – UNISO.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Costa, Eduardo Louzada da

Avaliação biomecânica do reparo do ligamento colateral medial do joelho usando plasma rico em plaquetas [livro eletrônico]: um estudo em coelhos / Eduardo Louzada da Costa, Thiago Penido Moreira Ferreira, Anna Luiza Amancio Vidal. -- São José dos Pinhais, PR: Brazilian Journals, 2024.

PDF

Bibliografia.

ISBN: 978-65-6016-039-2

DOI: 10.35587/brj.ed.0002382

1. Joelho - Cirurgia 2. Joelho – Reabilitação 3. Ortopedia 4. Pesquisa científica I. Ferreira, Thiago Penido Moreira. II. Vidal, Anna Luiza Amancio. III. Título.

24-191849

CDD-617.582059

Brazilian Journals Editora
São José dos Pinhais – Paraná – Brasil
www.brazilianjournals.com.br
editora@brazilianjournals.com.br



Ano 2024

ORGANIZADORES

Dr. Eduardo Louzada da Costa - Graduação em Medicina na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Residência Médica em Ortopedia e Traumatologia na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Especialização em Cirurgia do Joelho no Hospital Madre Tereza de Belo Horizonte (FELUMA). Mestrado em Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina da UFMG. Fellow em Sports Medicine na Stanford University (California – USA). Coordenador do serviço de Cirurgia do Joelho do Hospital da Unimed – BH. Preceptor da Residência Médica do Hospital da Unimed – BH.

Dr. Thiago Penido Moreira Ferreira – Graduação em Medicina na Universidade de Itauna. Residência Médica em Ortopedia e Traumatologia – Rede Mater Dei (FELUMA). Especialização em Cirurgia do Joelho – Rede Mater Dei. Pós Graduação em Dor – Hospital Israelita Alber Einstein.

Dra. Anna Luiza Amancio Vidal – Graduação em Medicina pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Residência Médica em Ortopedia e Traumatologia pelo Hospital da Unimed BH. Especializada em Cirurgia da Coluna pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Antonio Carlos da Costa, meu maior incentivador e à minha família que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

À Rita Maria Procópio que colaborou incessantemente para realização
deste trabalho.

RESUMO

Objetivo: O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) está sendo usado em grande escala para tratamento de diversos campos cirúrgicos. Embora os fatores de crescimento e os mecanismos envolvidos continuem pouco entendidos, a sua fácil aplicação e a possibilidade de resultados benéficos, incluindo regeneração óssea, redução de sangramento e aceleração da cicatrização, encorajam os pesquisadores. Inúmeros métodos de preparo estão em uso. Isso dificulta a comparação e o entendimento de toda terapêutica. Esse estudo avalia o uso do PRP nas fases iniciais da cicatrização do Ligamento Colateral Medial (LCM).

Materiais e Métodos: Trinta coelhos foram submetidos a lesões cirúrgicas do LCM. Em 16 joelhos foi aplicado PRP e 14 joelhos não foram tratados servindo como controle. Após três e seis semanas os coelhos foram sacrificados e realizado teste biomecânico para comparação entre os grupos.

Resultado: Houve um aumento significativo da tensão de ruptura do ligamento tanto nos grupos com três semanas quanto nos grupos com seis semanas de lesão em que foi usado o PRP. Nos grupos de três semanas controle $2.851,1 \pm 193,1$ g/f e PRP $3.192,5 \pm 189,7$ g/f ($p=0,005$) e grupos com 6 semanas controle $4187,6 \pm 512,9$ g/f e PRP $5915,6 \pm 832,0$ g/f ($p=0,0001$).

Conclusão: Os resultados demonstraram que o uso do PRP localmente na lesão acelera a resposta inicial da cicatrização ligamentar em um modelo animal e aumenta a força de tensão de ruptura do LCM.

Descritores: Ligamento Colateral Medial, Joelho; Plasma Rico em Plaquetas; Cicatrização Tecidual; Cicatrização Ligamentar; Biomecânica; Modelo Animal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- LCM percebido através da translucência da pele	18
Figura 2: Abertura da fáscia sobre LCM.....	18
Figura 3: Pinça posicionada sob o LCM para realização da manobra de ruptura em ponta de esfregão	19
Figura 4: Lesão ponta de esfregão em inserção femoral do LCM.....	19
Figura 5: Coleta de sangue artéria auricular	21
Figura 6: Centrífuga de bancada HeraeusMegafuge 11®.....	22
Figura 7: Sangue após primeira centrifugação em velocidade de 800 rpm, durante oito minutos.....	22
Figura 8: Aspiração do plasma para segunda centrifugação a uma velocidade de 3200 rpm, durante 15 minutos	23
Figura 9: PRP produzido, cujo volume final variou de 0,4 a 0,5 ml.....	24
Figura 10: Tensiômetro linear	25
Figura 11: Distribuição da contagem do número de plaquetas nos grupos controle	28
Figura 12: Distribuição da contagem do número de plaquetas nos grupos em que foi usado o Plasma Rico em Plaquetas	28
Figura 13: A média da contagem de plaquetas nos quatro grupos não apresentou diferença estatística.....	29
Figura 14: Medida da tensão de ruptura nos grupos.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADM	Amplitude de movimento
CEUA	Comitê de Ética Animal
cm	Centímetro
EGF	Fator de Crescimento Endotelial
g	Grama
g/f	gramas/força
IGF – I	Fator de Crescimento <i>Insulin-Like</i> I
kDa	Kilodaltons
LCA	Ligamento Cruzado Anterior
LCM	Ligamento Colateral Medial
LPO	Ligamento Poplíteo Oblíquo
mg/Kg	Miligramma/Quilograma
ml	Mililitro
mm	Milímetros
mm ³	Milímetros cúbicos
n	Número
PDAF	Fator Angiogênico Derivado das Plaquetas
PDEGF	Fator de Crescimento Endotelial Derivado das Plaquetas
PF4	Fator Plaquetário 4
PFGF	Fator de Crescimento Derivado da Plaqueta
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
rpm	Rotação por minuto
TGF- β	Fator Transformador do Crescimento Beta
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEFG	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
α	Alfa
δ	Delta
λ	Lambda
μm	Micrômetro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1 Ética.....	16
3.2 Animais utilizados e cuidados dispensados	16
3.3 Desenho experimental	16
3.4 Procedimento anestésico:.....	17
3.5 Procedimento cirúrgico	17
3.6 Confecção do PRP	20
3.7 Eutanásia.....	24
3.8 Teste mecânico.....	24
3.9 Análise estatística	25
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO	31
5.1 Tratamento das lesões do Ligamento Colateral Medial	32
5.2 Cicatrização	33
5.3 A Plaqueta	34
5.4 O Plasma Rico em Plaqueta.....	35
5.5 Aplicações do PRP	38
6. CONCLUSÃO.....	43
ANEXO A	52

1. INTRODUÇÃO

As rupturas ligamentares traumáticas do joelho são lesões frequentes, observadas especialmente em jovens e associadas à prática esportiva. Podem corresponder a lesões isoladas, associadas ou complexas. Sua incidência se mantém estável nos últimos anos, sendo que o ligamento cruzado anterior tem uma incidência de 250.000 casos/ano nos Estados Unidos e o ligamento colateral medial uma frequência de 2,4 casos/100.000 habitantes/ano.

Economicamente representam gastos superiores a 14 bilhões de dólares anualmente no mundo apenas com as lesões complexas. A limitação para realização de atividades esportivas e laborativas impactam de forma contundente a qualidade de vida destes pacientes.

O Ligamento Colateral Medial (LCM) é a maior estrutura do compartimento medial do joelho. Possui uma origem femoral e duas inserções tibiais com comprimento entre 10 a 12 cm e duas camadas, quais sejam, superficial e profunda. É composto de fibras oblíquas e paralelas. Na parte anterior, as fibras têm orientação paralela com uma margem vertical distinta, enquanto as fibras posteriores tomam uma orientação num padrão triangular.

Biomecanicamente, a camada superficial do LCM é um restritor primário do estresse em valgo do joelho, e sua porção profunda age como estabilizador secundário. A maior tensão no LCM acontece durante o estresse em valgo, sendo a inserção femoral o ponto de maior tensão. Isso se correlaciona com dados clínicos que mostram a inserção femoral como o local de maior dano nas rupturas do LCM. Adicionalmente, o LCM superficial tem papel na resistência secundária durante a rotação externa da perna e translação anteroposterior do joelho.

O LCM é o ligamento mais lesado no joelho e a incidência destas lesões parecem ser maiores, já que lesões incompletas e de grau leve são pouco diagnosticadas. As lesões ocorrem em esportes de contato ou não quando uma carga em valgo é aplicada ao joelho flexionado. Mecanismos adicionais seriam rotação externa forçada da perna, trauma anterolateral direto e luxações de

joelho. Lesões associadas estão relacionadas proporcionalmente à gravidade da lesão, podendo chegar a 78 % no grau III. As lesões do LCM podem evoluir com dor crônica, instabilidade articular e possivelmente ser causa de osteoartrose.

O diagnóstico é clínico, sendo que o teste específico para lesão do LCM é o estresse do joelho com 30° de flexão e comparado ao lado não acometido. Diversas classificações são descritas para definir a gravidade das lesões, sendo a mais utilizada a que divide as rupturas de acordo com a abertura da interlinha articular. No grau I a abertura é menor que 5 mm, no grau II a abertura está entre 5-10 mm e no grau III ela é maior que 10 mm.

Apesar de ser a estrutura ligamentar mais lesada no joelho, existe controvérsia em relação à melhor forma de seu tratamento, que inclui abordagem conservadora ou procedimentos cirúrgicos. Tradicionalmente, lesões agudas são tratadas conservadoramente com bons resultados.

Para as lesões menos extensas e isoladas, classificadas como grau I e II, é preconizado o tratamento conservador com diferentes protocolos de reabilitação. As lesões grau III do LCM são tratadas conservadoramente com imobilização articular por seis semanas com um aparelho que proteja contra estresse em valgo e rotação externa, associado ao controle da dor, aumento de volume e descarga de peso.

Em 1996, Reider descreveu um protocolo que prioriza o ganho de amplitude de movimento (ADM) imediato, apoio protegido e reforço muscular progressivo. Os resultados foram comparáveis aos do tratamento com imobilização do joelho e aos da cirurgia, o que permitia um retorno mais rápido ao esporte.

O tratamento cirúrgico inclui procedimentos de reparo direto, plicaturas capsulares e procedimentos de reconstrução. Apesar das diferentes técnicas descritas, não há um algoritmo definitivo para indicação do tratamento ideal para cada tipo de ruptura do LCM. Apesar das diversas opções de tratamento, os resultados são difíceis de comparar, pois não há estudos prospectivos que incluam as diversas opções terapêuticas.

Uma opção entre o tratamento conservador e o cirúrgico seria o estímulo biológico da cicatrização ligamentar, acelerando o processo de reabilitação e evitando as complicações da abordagem cirúrgica. Dentre estas opções, a

utilização do PRP, como veículo de fatores que podem acelerar a reparação fisiológica, parece útil nas lesões ligamentares.

O PRP é um concentrado de plaquetas acima da contagem sérica, e sua premissa básica é o desenvolvimento de um molde de fibrina que atue como matriz temporária para o crescimento e diferenciação celular, auxiliando no reparo do tecido lesado. O PRP tem sido usado em inúmeras situações como adjuvante cirúrgico da cicatrização. Empregado inicialmente na cirurgia orofacial, atualmente, é usado em cirurgias do quadril, ombro, joelho e tornozelo. Sua aplicação é descrita especialmente para tendinopatias degenerativas e lesões musculares agudas.

Ainda faltam estudos em seres humanos usando o PRP como adjuvante no tratamento das lesões ligamentares agudas. Entretanto, estudos experimentais sugerem que, quando o PRP foi utilizado, houve estímulo ao processo cicatricial ligamentar aumentando a síntese da matriz e do colágeno e estimulando a proliferação celular. Tanto na lesão do LCM quanto na reconstrução do LCA, parece haver melhoria da dor, da integração óssea e dos sintomas pós operatórios.

Diante das evidências de que o PRP é um valioso adjuvante da cicatrização de tendões, em decorrência da possibilidade de cicatrização adequada do LCM por estímulo direto com fatores biológicos, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do PRP no tratamento das lesões do LCM.

2. OBJETIVO

Avaliar a tensão de ruptura do ligamento colateral medial de coelhos tratados ou não com plasma rico em plaquetas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG) sob protocolo número 354/2013 em 10 de dezembro de 2014 (ANEXO A).

3.2 Animais utilizados e cuidados dispensados

Foram utilizados 30 coelhos da raça New Zeland, machos, com quatro meses de idade e peso médio de $2.475 \pm 429,3$ g procedentes do Fazenda da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais permaneceram em aclimatação por quatro dias, sob ambiente com controle de temperatura, umidade e ciclo de luz no Biotério da Faculdade de Medicina da UFMG. No momento da admissão no Biotério, os animais foram avaliados clinicamente, pesados e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos e mantidos em gaiolas individuais, recebendo água e ração padrão (NatureMultivita®, SocilGyomarc'H) em livre demanda, durante todo o período da experimentação.

3.3 Desenho experimental

O tamanho da amostra foi determinado com emprego do programa de cálculo amostral disponibilizado pelo Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Instituto Dante Pazanezzi (www.lee.dante.br/pesquisa/amostragem). Foi definido valor do desvio padrão de 512 g/f, relativo ao grupo III, com diferença a ser detectada de 800 g/f, com alfa = 0,05 e poder do teste > 0,85. Os coelhos foram distribuídos aleatoriamente n grupos I, II, III e IV nos seguintes grupos experimentais:

I – controle com três semanas da lesão do LCM (n = 7)

II – intervenção PRP com três semanas da lesão com LCM (n = 8)

III – controle com seis semanas da lesão do LCM (n = 7)

IV – intervenção PRP com seis semanas da lesão do LCM (n = 8)

3.4 Procedimento anestésico:

A indução anestésica foi realizada com aplicação intramuscular, na região proximal do membro posterior direito, de uma solução de 100 mg/kg de quetamina (Ketalar, Sigma, St. Louis, MO, EUA), e 8 mg/kg de Xilazina (Rompun, Sigma, St. Louis, MO, EUA).

(15) A identificação do animal, de acordo com o grupo, foi realizada na orelha direita e esquerda com caneta dermográfica e reforçado semanalmente. Durante a indução anestésica, foi associada aplicação intramuscular de Cefazolina (Kefazol, ABL, Cosmópolis, SP) na dose de 50mg/kg na região proximal do membro inferior esquerdo para profilaxia de infecção na ferida cirúrgica. Os procedimentos operatórios foram realizadas no período de 9:00-12:00 h, a fim de padronizar as alterações no ciclo circadiano do animal.

3.5 Procedimento cirúrgico

Após avaliação do plano anestésico, o coelho foi posicionado em decúbito dorsal horizontal em mesa cirúrgica e realizada tricotomia limitada ao joelho do membro inferior esquerdo. Através de translucência, foi identificado o LCM (Figura 1).

Figura 1: LCM percebido através da translucência da pele. LCMs Ligamento Colateral Medial Superficial.



Fonte: Os autores

Em seguida, foi realizada assepsia e antisepsia da região inicialmente com solução degermante de clorhexidine, e em seguida solução alcóolica de clorhexidine. Depois, a área da cirurgia foi protegida com campo cirúrgico fenestrado estéril sobre o joelho e feita incisão antero-medial no joelho com lâmina n° 15 no sentido longitudinal. O tecido celular subcutâneo foi separado com tesoura e feita a abertura da fáscia proximalmente (Figura 2).

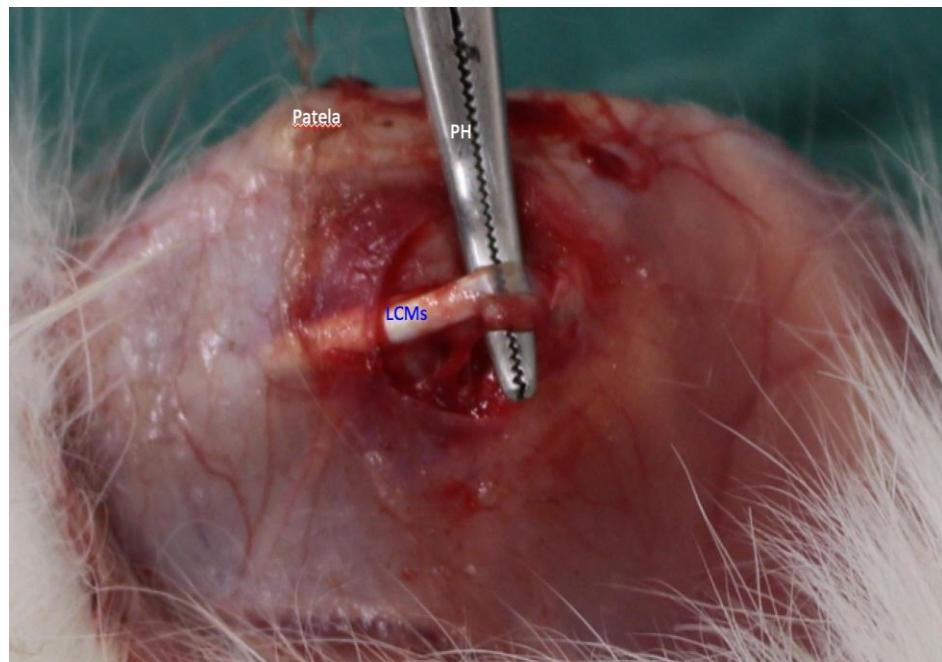
Figura 2: Abertura da fáscia sobre LCM. P: Pinça dente de rato; *: fáscia profunda do joelho.



Fonte: Os autores

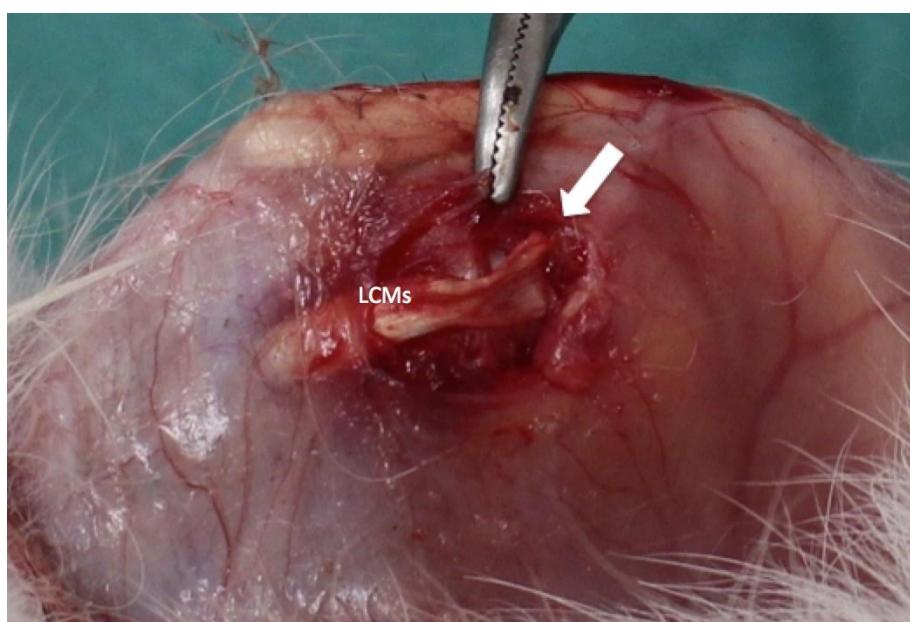
Após isolamento do LCM superficial, a ponta de uma pinça hemostática foi posicionada sob o tendão, e exercida força no sentido cefálico que rompia o ligamento em mop-end tear (ruptura em esfregão) tanto da substância do ligamento quanto de sua inserção femoral (Figura 3 e 4).

Figura 3: Pinça posicionada sob o LCM para realização da manobra de ruptura em ponta de esfregão. Patela; PH: Pinça Hemostática; LCMs Ligamento Colateral Medial superficial;



Fonte: Os autores

Figura 4: Lesão ponta de esfregão em inserção femoral do LCM. LCMs Ligamento Colateral Meial superficial; Seta: ruptura ligamentar em ponta de esfregão.



Fonte: Os autores

Os grupos II e IV receberam uma infusão de 0,2ml de PRP na área cirúrgica, na porção proximal do ligamento, e outros 0,2 ml eram aplicados na inserção femoral, simulando uma aplicação realizada por controle ultrassonográfico. Nos grupos I e III foram realizadas aplicações com o mesmo volume de soro fisiológico 0,9 %, simulando a aplicação realizada nos dois grupos estudo. O fechamento foi feito em plano único da pele com fio mononylon 4-0 (Ethicon®).

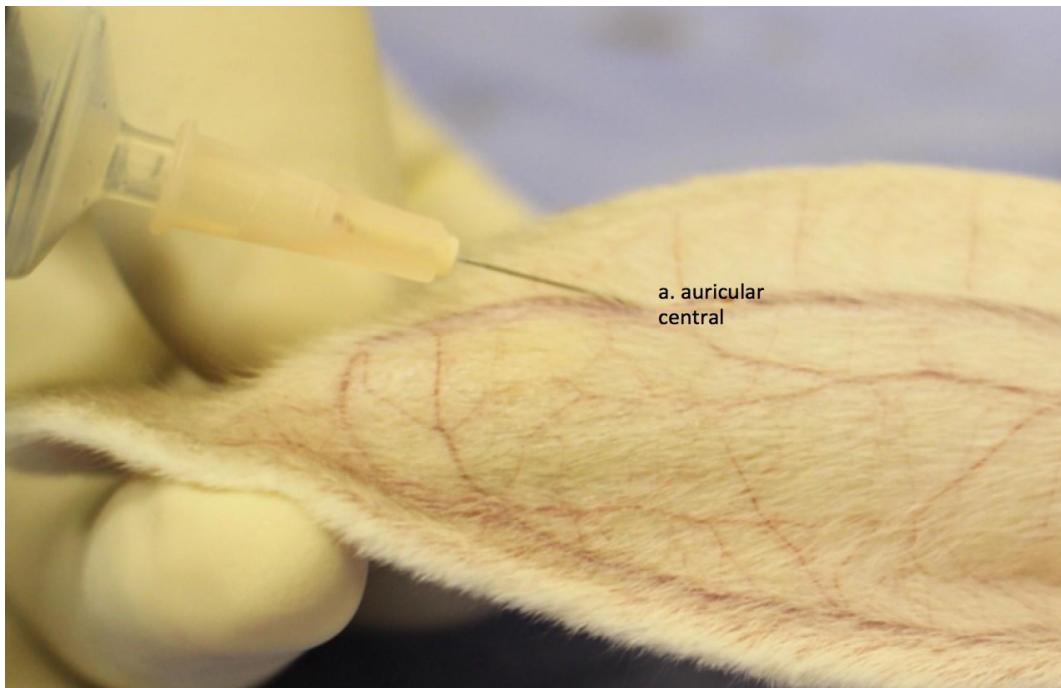
No pós-operatório imediato, o animal foi acondicionado em um local apropriado e aquecido para recuperação pós-anestésica. Após verificação de retorno aos parâmetros basais de respiração e consciência, os animais foram devolvidos às gaiolas de origem sem qualquer imobilização.

Todos coelhos reassumiram suas atividades na gaiola nas 48 horas subsequentes ao procedimento cirúrgico. Não houve perda de animais e, até o final do estudo, todos apresentavam condições clínicas perfeitas.

3.6 Confecção do PRP

Enquanto era realizado o ato cirúrgico, foi confeccionado o PRP. O protocolo empregado para a confecção do PRP foi desenvolvido de acordo com o descrito por JUNIOR et al (17). Os coelhos foram mantidos em caixa para imobilização, e procedida à coleta do sangue na artéria auricular (figura 5). Após antisepsia com álcool 70 %, era aplicada pequena quantidade de xylol para vasodilatação reativa. A punção era realizada com agulha 0,38 x 13 mm em seringas de 5ml e eram colhidos 4mL de sangue em um tudo contendo 0,3ml de ACD-A-citrato dextrose como anticoagulante. Imediatamente após a coleta, o sangue e o anticoagulante eram homogeneizados e as amostras eram encaminhadas ao setor de hematologia do Serviço de Medicina Laboratorial do Hospital das Clínicas da UFMG. Passados 40 a 60 minutos da coleta as amostras foram processadas no aparelho Cell-DynRuby® (Abbott), para quantificação automatizada das plaquetas.

Figura 5: Coleta de sangue artéria auricular.



Fonte: Os autores

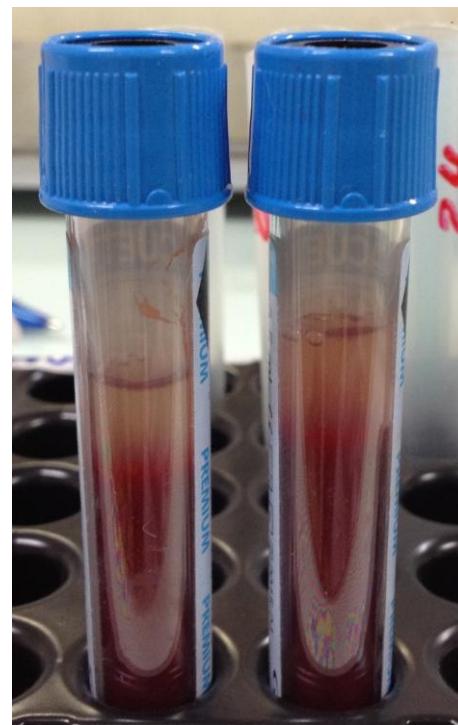
Uma vez determinado o número basal das plaquetas, as amostras foram submetidas a duas centrifugações - centrífuga HeraeusMegafuge 11® (ThermoScientific) (Figura 6). A primeira ocorreu a uma velocidade de 800 rpm, durante oito minutos. O plasma sobrenadante era aspirado e transferido a outro tubo de plástico e submetido a uma segunda centrifugação, a uma velocidade de 3200 rpm, durante 15 minutos (Figura 7 e 8).

Figura 6: Centrífuga de bancada HeraeusMegaFuge 11®.



Fonte: Os autores

Figura 7: Sangue após primeira centrifugação em velocidade de 800 rpm, durante oito minutos.



Fonte: Os autores

Figura 8: Aspiração do plasma para segunda centrifugação a uma velocidade de 3200 rpm, durante 15 minutos.



Fonte: Os autores

Ao final, os dois terços superiores do plasma eram descartados. As plaquetas presentes no terço inferior do tubo eram ressuspensas com auxílio de um vórtex, durante 30 segundos. Realizou-se, finalmente, uma nova quantificação das plaquetas no aparelho Cell-DynRuby® (Abbott) para constatação do PRP. O PRP produzido, cujo volume final variou de 0,4 a 0,5mL, foi inoculado em cada animal (Figura 9).

Figura 9: PRP produzido, cujo volume final variou de 0,4 a 0,5 ml.



Fonte: Os autores

3.7 Eutanásia

A eutanásia foi realizada após três e seis semanas do procedimento cirúrgico com auxílio de câmara de dióxido de carbono por cerca de 5-10 minutos até que fosse constatada a morte dos mesmos. As carcaças dos animais, após a retirada do membro de interesse, eram descartadas de acordo com as normas do CEUA - UFMG.

Após a eutanásia, a inspeção do membro operado revelava um LCM de cor esbranquiçada, facilmente identificável e rapidamente isolado dos tecidos vizinhos. Todos ligamentos apresentavam sinais macroscópicos de cicatrização com três e seis semanas. O tecido de cicatrização tinha uma aspecto acinzentado principalmente próximo ao ponto de clivagem. Não foram observadas lesões cartilaginosas ou ligamentares associadas.

3.8 Teste mecânico

Após o sacrifício, os membros posteriores esquerdos eram desarticulados ao nível da articulação coxofemoral. As peças foram envolvidas em uma gaze embebida em solução salina e congelada a -18° C até o teste. No dia anterior ao procedimento foram colocadas em temperatura ambiente até execução do teste. Toda a estrutura foi acoplada no aparelho com o joelho

estendido a 0°. Um gancho foi posicionado sob o ligamento e um tensiômetro mediu a tensão de ruptura para cada ligamento.

O teste para ruptura foi realizado com uma máquina de ruptura em tensão contínua linear (Figura 10). O procedimento foi realizado nos coelhos sacrificados de todos grupos. A coleta de dados foi realizada de maneira cega pelo examinador em relação os grupos que cada animal pertencia.

Figura 10: Tensiômetro linear.



Fonte: Os autores

3.9 Análise estatística

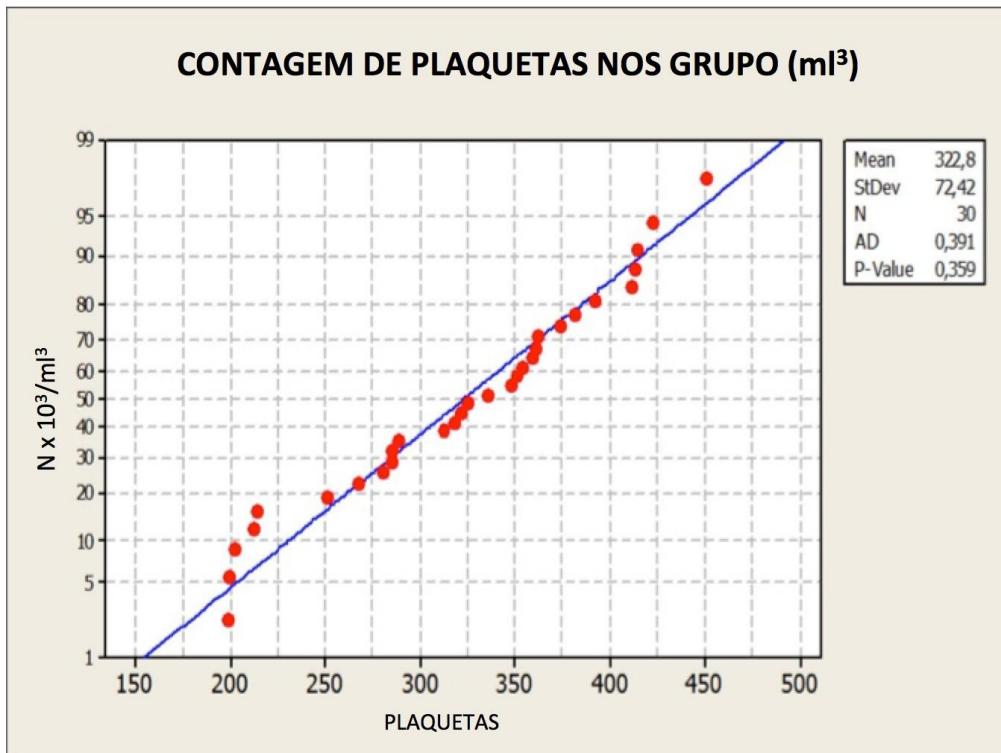
Inicialmente foi aplicado o teste de Kolmogorov – Smirnov para avaliar a normalidade na contagem de plaquetas no plasma dos animais. O mesmo método também avaliou se os resultados da tensão de ruptura de cada grupo de animais seguiam padrão normal. Os resultados mostraram distribuição normal em todos grupos, tanto com relação à concentração de plaquetas quanto à tensão de ruptura. Após a confirmação do padrão de distribuição dos

grupos, a análise dos resultados foi feita pelo teste T de Student para amostras independentes com auxílio do programa Minitab version 17 tomando como significativos valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

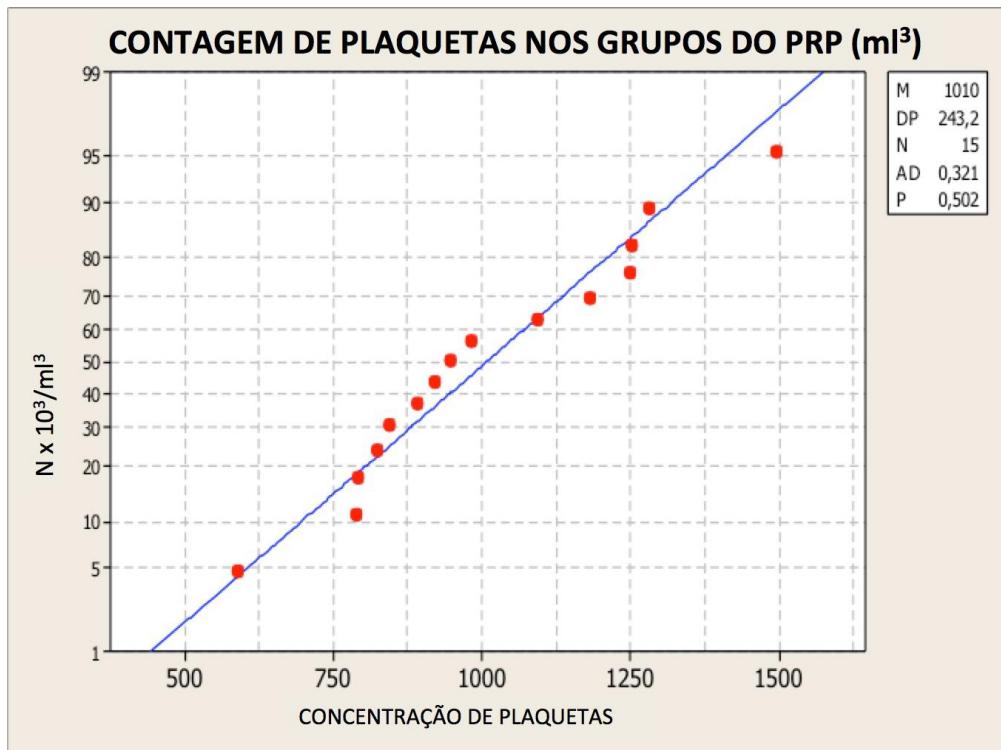
Após o período de três e seis semanas, nenhum animal apresentou sinais locais ou sistêmicas de infecção. Não houve perda de animais durante o procedimento cirúrgico ou durante o período pós-operatório. A análise da distribuição da contagem de plaquetas apresentou padrão normal nos grupos controle e submetidos ao PRP (Figura 11 e 12).

Figura 11: Distribuição da contagem do número de plaquetas nos grupos controle.



Fonte: Os autores

Figura 12: Distribuição da contagem do número de plaquetas nos grupos em que foi usado o Plasma Rico em Plaquetas



Fonte: Os autores

A análise da concentração de plaquetas no soro foi de:

Grupo I - $325,86 \pm 79,98$ plaquetas/mm³

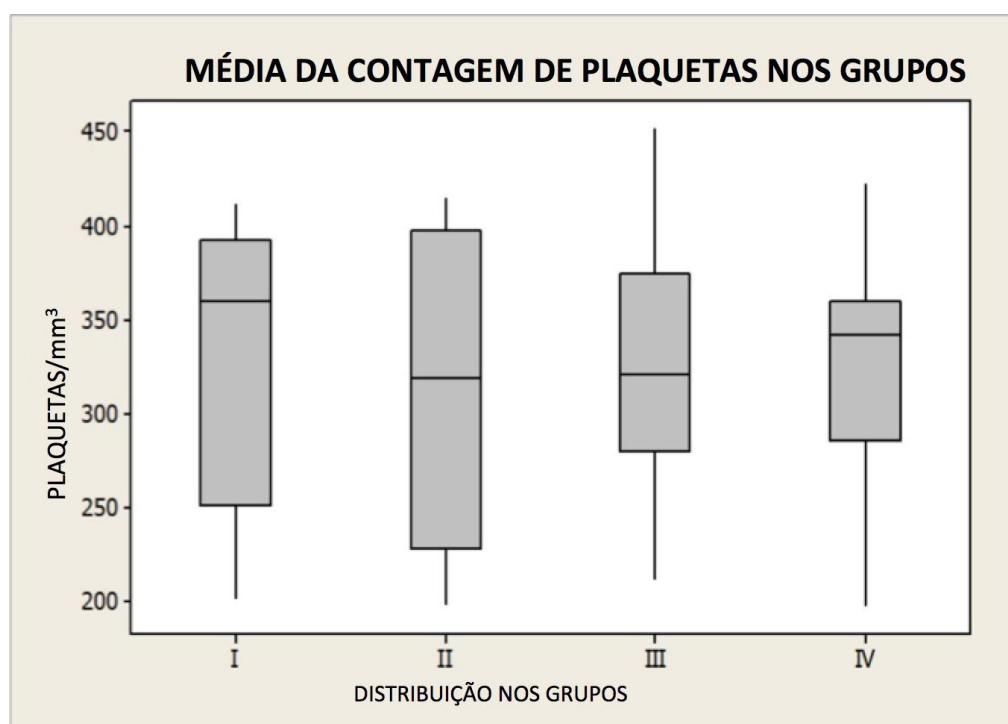
Grupo II - $311,88 \pm 81,67$ plaquetas/mm³

Grupo III - $331,14 \pm 75,54$ plaquetas/mm³

Grupo IV - $323,87 \pm 66,83$ plaquetas/mm³

A diferença da contagem entre os grupos controle e os grupos submetidos a intervenção com PRP não foi estatisticamente significativa (Figura 13).

Figura 13: A média da contagem de plaquetas nos quatro grupos não apresentou diferença estatística.



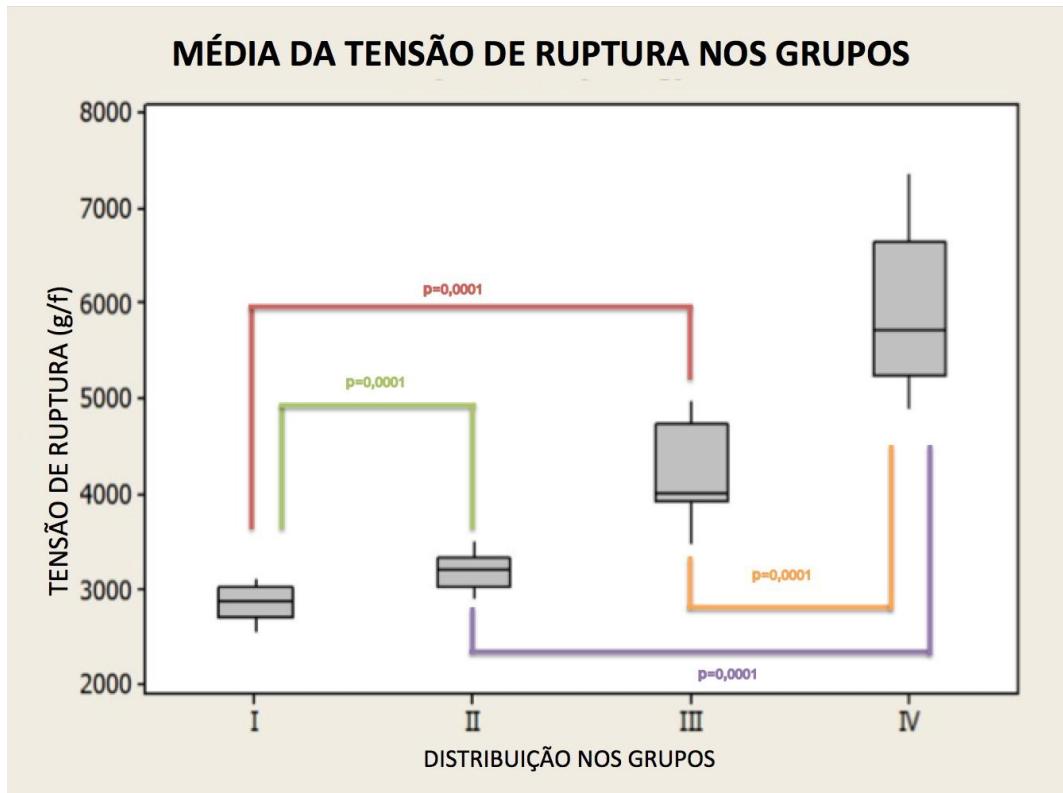
Fonte: Os autores

Comparados o grupo I ($2.851,1 \pm 193,1$ g/f) com três semanas e o grupo III ($4.187,6 \pm 512,9$ g/f) com seis semanas, pudemos observar um aumento significativo ($p=0,0001$) da tensão de ruptura do ligamento. Quando avaliamos os animais do grupo onde houve o uso PRP, grupo II ($3.192,5 \pm 189,7$ g/f) e grupo IV ($5.915,6 \pm 832,0$ g/f) também pudemos observar um aumento da tensão de ruptura significativamente maior ($p=0,0001$) após 6 semanas.

Comparando os grupos I ($2.851,1 \pm 193,1$ g/f) e grupo II ($3.192,5 \pm 189,7$ g/f) com três semanas após intervenção com PRP, ficou demonstrada superioridade estatística ($p=0,005$) em relação à tensão de ruptura do

ligamento. O mesmo ocorreu nos grupo com seis semanas, grupo III ($4.187,6 \pm 512,9$ g/f) e IV ($5.915,6 \pm 832,0$ g/f com significância ($p=0,0001$) (Figura 14).

Figura 14: Medida da tensão de ruptura nos grupos.



Fonte: Os autores

5. DISCUSSÃO

O LCM é o ligamento mais lesado no joelho, e lesões incompletas podem evoluir com dores crônicas, instabilidade articular e possivelmente osteoartrose. (18) As lesões, que podem cicatrizar em 14 semanas, são subestimadas devido à boa evolução do tratamento conservador. Entretanto elas permanecem histologicamente e funcionalmente comprometidas por anos. Independentemente da forma de tratamento, estudos em animais demonstram que o LCM cicatrizado tem força tênsil inferior ao controle bem como a qualidade, alinhamento e tipo de colágeno.

A cicatrização ligamentar envolve um processo lento, mas altamente organizado que apresenta resposta inflamatória inicial com hemorragia, migração e proliferação celular, neoangeogênese, produção e deposição de matriz extracelular, remodelamento tecidual e resistência mecânica progressiva. Inúmeros fatores podem influenciar a duração do processo e a qualidade do tecido formado.

O LCM superficial possui uma abundante vascularização que aumenta em cerca de três vezes após a lesão. A cicatrização varia de acordo com a localização da injúria, e lesões da substância ligamentar cicatrizam mais rapidamente que as lesões insercionais.

Delauney 1964 e Goldin 1980, em estudos biomecânicos, sugerem que a formação da cicatriz segue um padrão semelhante ao da cicatrização da pele e de tendões. A inflamação inicial aumenta a concentração de água e glicosaminoglicanos na cicatriz com o colágeno sofrendo alterações conforme a base da cicatrização. A menor concentração ocorre com três semanas após a lesão e aumenta gradualmente, mas nunca se iguala aos valores de um LCM normal. Devido a essa diminuição de colágeno, apenas 70 % da força tênsil do novo ligamento é reestabelecida. Além disso, a qualidade do colágeno também está alterada. Bailey percebeu que um ligamento é composto basicamente de colágeno tipo I e a cicatriz do ligamento possui quantidades consideráveis de colágeno tipo III, um colágeno relacionado a tecidos imaturos. Woo sugeriu que

o reparo o LCM acontece mais pela formação de cicatriz do que realmente regeneração ligamentar.

5.1 Tratamento das lesões do Ligamento Colateral Medial

O mecanismo mais comum de ruptura do LCM é o trauma direto sobre a face lateral do joelho ou da perna ou o pouso com a perna em valgo severo. A lesão é graduada pela Associação Médica Americana baseada nos sintomas e exame físico. As lesões de grau I envolvem poucas fibras e geram uma dor localizada e não há instabilidade.

No grau II há maior ruptura de fibras com alteração leve ou moderada dos movimentos. No Grau III, há ruptura completa do ligamento com instabilidade franca. Gardiner 2001 demonstrou que o local mais comum de falha é a inserção femoral.

Não existe protocolo definitivo para as lesões do LCM e, ainda hoje, o tratamento é controverso. A lesão isolada do LCM grau I e II continua sendo abordada de forma conservadora com ênfase em reabilitação precoce devido ao possível reparo direto com colágeno tipo I, enquanto as grau III, em que há a formação de uma falha, há grande deposição de colágeno tipo III no defeito. Inúmeros protocolos foram desenvolvidos, mas não há estudos que os compare.

A imobilização é um obstáculo à cicatrização ligamentar. Observaram-se, em estudos experimentais, que ocorre nesta modalidade terapêutica formação de calo ósseo anômalo e reabsorção óssea. O que foi corroborado por Thorton 2005 e Gomes 1985.

Em uma revisão recente, Miyamoto 2009 sugere o tratamento conservador, entretanto a opção do tratamento cirúrgico deve ser considerado quando o paciente, particularmente atletas de elite, percebem instabilidade em valgo persistente que interfira em sua função atlética. Outros achados podem ser considerados indicativos cirurgia, como instabilidade persistente durante exame físico e radiografias sob estresse que demonstrem o LCM incompetente. As avulsões ósseas com fragmentos de tamanho maior que um cm são melhores tratadas com cirurgia. Kuroda 2003 demonstrou que um parafuso de 4,5 mm pode ser usado para redução de uma avulsão do tubérculo

adutor associada a sutura das estruturas mediais. Yoshiya 2005 seguiu 27 pacientes em uma coorte e percebeu que 24 apresentavam pontuação pelos critérios IKDC (International Knee Documentation Committee) normais ou muito próximos ao normal após o procedimento cirúrgico.

Alguns autores advogam a reconstrução conjunta do LCM superficial e o ligamento poplíteo oblíquo (LPO) devido à alta incidência de lesão combinada. Inúmeras técnicas são descritas com a possibilidade de reparo direto de ambos ligamentos, reparo primário e técnicas de reforço (*augmentation*), transferência dos tendões da pata de ganso com avanço do LCM superficial e avanço em massa das estruturas pôsteror- mediais em casos de lassidão generalizada. (33) (34) (35) Poucos estudos compararam as técnicas existentes, mas nenhum de forma prospectiva, nem mesmo se sabe se reconstruções são mais efetivas que reparos.

5.2 Cicatrização

Ferida é definida como a ruptura da estrutura anatômica normal do tecido, podendo ser resultado de um processo patológico causado intencionalmente ou accidentalmente. A ferida, portanto, rompe a estrutura do tecido resultando em sangramento, contração de vasos, coagulação, ativação de complemento e outras respostas inflamatórias. O processo de cicatrização é interativo e dinâmico, começando no momento do ferimento e envolvendo mediadores solúveis, vários tipos celulares e a matriz extracelular.

A cicatrização não pode ser considerada um termo genérico, muito pelo contrário, deve ser vista como um processo integrado e cuidadosamente regulado, que inclui coagulação, inflamação, deposição e diferenciação da matriz extracelular, fibroplasia, epitelização, contração da ferida e remodelamento. A reparação do tecido lesado resulta em restauração da integridade funcional e anatômica.

A dinâmica do processo cicatricial envolve a interação ordenada entre células e destas com a matriz usando como mediadores mensageiros humorais em uma sequência específica e ordenada. O tempo necessário para que cada etapa se complete sofre influência de vários fatores, estando na dependência da característica da ferida e condições do hospedeiro.

5.3 A Plaqueta

A plaqueta, sabidamente envolvidas na hemostasia desde os anos 1880, provaram estar engajadas em várias outras respostas fisiológicas. São os menores componentes do sangue com uma forma irregular e diâmetro variando entre 1,5–3 μm . Possuem sobrevida de cerca de 10 dias. São ativadas quando há, por exemplo perda da camada endotelial e exposição de seus receptores ao colágeno e ao fator de von Willebrand, entre outros. Apesar de não ter núcleo, possuem organelas e estruturas como algumas mitocôndrias, microtúbulos e três formas de grânulos (α , δ e λ). Os grânulos α estão fixos à membrana e são formados durante a maturação dos meacariócitos. Cada plaqueta possui entre 50-80 grânulos, e eles contêm mais de 30 proteínas bioativas, a maioria das quais apresentando papel na hemostasia e reparo tissular. Entretanto, a função completa e exata dessas proteínas continuam desconhecidas. Elas são acumuladas nos granulócitos α , e as plaquetas contêm subpopulações diferentes destes granulócitos que sofrem diferentes liberações durante a fase de ativação. Os corpos denso ou granulócitos δ estocam serotonina, adenina e guanina. Lisossomos ou granulócitos λ possuem grande número de enzimas hidrolíticas incluindo hidrolases, catepsinas e heparanases. As plaquetas contêm, sintetizam e liberam um grande número de agentes biológicos ativos das proteínas que promovem regeneração tecidual. Já foram identificadas mais de 1100 tipos de proteínas dentro das plaquetas e em sua superfície.

O papel das plaquetas estende-se além da simples adesão e agregação no local da lesão. Elas não são apenas contribuintes no processo de coagulação, inflamação e resposta antimicrobiana ou cicatrização tecidual. Os agentes bioativos liberados pelas plaquetas orquestram todos esses eventos. Uma das hipóteses é que as plaquetas possuem grânulos não uniformes de fatores, como granulócitos α , que podem ser liberadas de forma diferenciada. Apesar do pouco conhecimento disponível sobre a secreção molecular, está claro que o refinamento do balanço entre todos os agentes mitogênicos, pro-angiogênicos, pro-inflamatórios, anti-angiogênico e agregantes, é essencial no processo cicatcial. Se todos fossem liberados de maneira descoordenada o crescimento do trombo tornaria todos eventos subsequentes caóticos e ineficazes.

Após a agregação plaquetária, são liberadas proteínas oriundas dos granulócitos a em resposta ao tecido lesado. Esses fatores ativam a cascata de coagulação por uma dupla via tanto intrínseca quanto extrínseca.

Os fatores de crescimento atuam em todas fases da cicatrização tecidual, ligando-se à membrana celular e funcionam como sinalizadores que, em ultima análise, resultam em produção proteica. As expressões proteicas regulam múltiplas vias envolvidas na proliferação celular, quimiotaxia, angiogênese, diferenciação celular e produção de matriz extracelular.

5.4 O Plasma Rico em Plaqueta

O Plasma Rico em Plaquetas, também chamado de Plaquetas Ricas em Fatores de Crescimento, Plaquetas ricas em Matriz de Fibrina, Plaquetas Ricas em Fibrina, Selante de Fibrina, Concentrado de Plaquetas, está sendo usado em grande escala para tratamento de diversos campos cirúrgicos. Embora os fatores de crescimento e os mecanismos envolvidos continuem pouco entendidos, a sua fácil aplicação e a possibilidade de resultados benéficos, incluindo regeneração óssea, redução de sangramento e aceleração da cicatrização, encorajam os pesquisadores.

A primeira descrição do PRP foi realizado por Ferrari em 1987, quando o mesmo usou o composto como suporte para o tratamento de sangramento de cirurgias cardíacas.

Nos anos 1990, Gibble introduziu o gel de fibrina autólogo (selante de fibrina ou cola de fibrina), um biomaterial com capacidade adesiva e hemostática. A adição de plaquetas como uma rica fonte de fatores bioativos ocorreu depois e mudou o foco das pesquisas que, até então eram voltadas para os fatores de crescimento recombinantes que tinham uma pequena meia-vida e difícil atuação nas células-alvo.

O PRP tem uma técnica fácil de obtenção com bom custo benefício de produção e uma alta concentração de fatores de crescimento para cicatrização tecidual e regeneração.

A cicatrização, tanto dos tecidos moles quanto de material ósseo, é mediada por uma complexa disposição de eventos intra e extra celulares regulados por proteínas sinalizadoras. Danos às estruturas vasculares após um

trauma levam a formação de fibrina e agregados plaquetários. É formado um coágulo sanguíneo estável e fatores de crescimento são liberados no local da injúria pelas plaquetas e outras células que induzem e auxiliam na cicatrização e formação tecidual.

Blair 2009 mostrou que os grânulos α são essenciais na função da plaqueta, pois contêm numerosas proteínas que atuam na recomposição tecidual, hemostasia, inflamação, aterosclerose, defesa antimicrobiana e angiogênese. Essas proteínas são membros das famílias dos fatores de crescimento, citocinas e quimoquinas. A interação entre esses fatores de crescimento e receptores de superfície nas células alvo ativam os caminhos de sinalização celular, induzindo a produção das proteínas necessárias a regeneração, proliferação celular, formação de matriz extracelular, produção de osteoide e síntese de colágeno. O PRP também contém proteínas capazes de realizar adesão celular, como fibrina, fibronectina, vitronectina, e trombospondin, importantes para a migração dos osteoblastos, fibroblastos e células epiteliais.

Fatores de crescimento são um grupo de polipeptídeos de 6-45kDa envolvidos na proliferação, diferenciação celular e morfogênese tecidual dos órgãos durante a embriogênese, crescimento pós-natal e vida adulta. As quimiocinas são pequenas proteínas sinalizadoras que regulam a resposta imune, hemostasia, quimiotaxia e angiogênese.

O Fator de Crescimento Derivado da Plaqueta (PDGF) foi descrito inicialmente em plaquetas, mas também é encontrado em macrófagos, células endoteliais, monócitos, fibroblastos e matriz óssea. A mais importante e específica atividade do PDGF inclui angiogênese e ativação de macrófagos, proliferação ativa dos fibroblastos, quimiotaxia para síntese de fibroblastos e síntese de colágeno. Possui também a capacidade de aumentar a replicação celular óssea ao estimular a renovação.

O Fator Transformador do Crescimento Beta (TGF-β) pertence à superfamília dos fatores de crescimento e diferenciação tecidual. O TGF-β é produzido em sua maioria pelos ossos, embora sua forma mais concentrada seja encontrada nas plaquetas. Os efeitos na célula dependem do fenótipo e do estágio da diferenciação celular. Além de promover produção de matriz extracelular, proliferação e atividade de fibroblastos, estimula a biossíntese de

colágeno tipo I e fibronectina e induz a deposição de matriz óssea.

O IGF – I Fator de Crescimento Insulin-Like I, é um quimiotáxico para fibroblastos e estimula a síntese de proteínas. Aumenta a formação óssea pela proliferação e diferenciação dos osteoblastos. O PDEGF, Fator de Crescimento Endotelial Derivado das Plaquetas, tem capacidade de estimular a regeneração epidérmica e promover cicatrização tecidual pelo aumento do número de queratinócitos e fibroblastos dérmicos que aumentam a produção e efeito dos outros fatores de crescimento. O VEGF, Fator de Crescimento Endotelial Vascular, pertence à subfamília dos fatores de crescimento das plaquetas . É um indutor específico da mitose e da angiogênese endotelial, assim como um mediador da permeabilidade vascular. Tem função ainda na regeneração óssea endocondral. O PDAF, Fator Angiogênico Derivado das Plaquetas, tem a capacidade de induzir vascularização pelo estímulo de células endoteliais vasculares. Várias citocinas regulam o PDAF. O PF4, Fator Plaquetário 4, é também liberado pelos alfa granulócitos das plaquetas e pode ser parcialmente responsável pelo influxo inicial dos neutrófilos na ferida. Age ainda como um quimioatrator para fibroblastos e promove a coagulação sanguínea.

O EGF, Fator de Crescimento Endotelial, atua pela ligação aos receptores de fator de crescimento epitelial para a superfície das células, causando aumento da expressão de certos genes que ao final levam à síntese de DNA e proliferação celular.

O PRP foi classificado em vários tipo, em uma tentativa de padronizar suas formulações e permitir a comparação dos métodos de preparo. A classificação divide o PRP em quatro tipos diferentes: PRP pobre em leucócitos, PFP rico em leucócitos, fibrina pobre em leucócitos e fibrina rica em leucócitos.

Posteriormente surgiu uma nova classificação PAW (Platelets Activation White blood cells) baseada na concentração absoluta de plaquetas e presença ou ausência de leucócitos. Pode-se dividir o PRP em Nível Baixo, com concentrações inferiores às basais; Nível Moderado, que está entre a concentração basal e 750.000 plaquetas/ μ L; Nível Alto, de 750.000 a 1.250.000 plaquetas/ μ L; Nível Superior, com valores maiores a 1.250.000 plaquetas/ μ L.

5.5 Aplicações do PRP

Nossos resultados corroboraram a hipótese do uso do PRP na cicatrização de tendões usando como modelo a lesão do LCM de coelhos. Diferentes espécies animais foram usadas para pesquisas sobre cicatrização dos ligamentos. O LCM foi escolhido por ser um ligamento de fácil manejo, secção transversa contínua, propenso a cicatrização e cujo tratamento traz algumas controvérsias. Além disso, apresenta processo de cicatrização reproduzível em outros ligamentos. A opção pelos coelhos se deu pelo fato de serem animais com anatomia e fisiologia da cicatrização semelhante à humana. Novos métodos de tratamento já foram testados experimentalmente, como fatores de crescimento isolados, ácido hialurônico, oxigênio hiperbárico, transferência genética, estimulação mecânica e uso de moldes na tentativa de acelerar a cicatrização ligamentar.

A presente investigação teve como pressuposto que o PRP poderia afetar a cicatrização em lesões experimentais do LCM de coelho, o que foi corroborado pelos resultados obtidos tanto nos animais do período precoce quanto no período tardio da lesão. Comparando-se todos os grupos com três e seis semanas de lesão em relação à tensão de ruptura do ligamento, o PRP mostrou-se eficiente na cicatrização precoce, mas seus resultados foram superiores com seis semanas de evolução. O grupo do uso do PRP com seis semanas apresentou média de tensão de ruptura significativamente maior que todos outros grupos. Poucas são as publicações sobre o efeito do PRP em ligamentos ou em cicatrização tendínea, e os experimentos concentram-se em áreas básicas com pequenas séries. *In vitro*, Aspenberg 2004 injetou PRP percutaneamente em tendões calcâneos transectados de ratos. Em comparação ao grupo tratado conservadoramente houve um aumento da força e rigidez do calo tendíneo em cerca de 30 % após uma semana. Testes mecânicos indicaram aumento da maturação do calo. Kajikawa 2008 aplicou PRP no tendão patelar de ratos e, através de proteínas marcadas, avaliou aumento na circulação e na expressão de colágeno tipo I e III especialmente nos dias três e sete pós procedimento. Anaguchi 2005, utilizando coelhos, avaliou o efeito do TGF- β nas características mecânicas do tecido fibroso formado após a ressecção do terço central do ligamento patelar e observou

aumento significativo da resistência tênsil com o uso do fator de crescimento quando comparado ao grupo que usou solução salina e o grupo onde nenhuma substância foi aplicada. Hapa 2012 utilizou ratos para avaliar o efeito do PRP no reparo do manguito rotador. Histologicamente, o grupo que usou PRP apresentou menor resposta inflamatória e maior integridade tendínea, formação óssea e resistência biomecânica que o grupo controle. Baksh 2013 realizou revisão sistemática sobre o uso do PRP em trabalhos experimentais. Houve diminuição do tempo de cicatrização, aumento da organização tecidual ou ambos. Estudos demonstraram aumento da proliferação celular, aumento da expressão de fatores de crescimento, vascularização tecidual e aumento da resistência tênsil. Nesta revisão concluiu-se que o PRP parece conferir efeitos sobre a regeneração tendínea. No entanto, existe inconsistência em relação aos métodos de preparo do PRP e à citologia.

Nossos resultados foram consistentes com os de Yoshioka 2013 que, usando coelhos como modelo, aplicou plasma rico em fatores de crescimento (PRGF-Endoret) no LCM de coelhos e percebeu que, ao final do período de observação, houve proliferação de fibroblastos e neovascularização na cicatriz. A força tênsil de ruptura desses ligamentos foi superior tanto em três quanto em seis semanas. Ueshima 2008 aplicando fator de crescimento derivado do hepatócito, um conhecido fator pro-angiogênico, em lesões do LCM de coelhos observou após três, seis e doze semanas que os escores histológicos com maior neovascularização além de fibras de colágeno mais alinhadas do que no grupo controle. No entanto, a força de ruptura foi semelhante em ambos grupos. O uso do PRP em lesões de LCM humano ainda é bastante preliminar, e apenas um relato de caso foi publicado até o momento. O PRP foi aplicado em um jogador de futebol profissional e o relato de alívio dos sintomas e o retorno ao esporte foram promissores.

Van den Dolder 2006 conduziu um estudo aplicando PRP em diferentes espécies e avaliou a possibilidade de haver também diferença entre os PRPs e os fatores de crescimento contidos neles. Aplicando PRP humano, de ratos e cabras a culturas de células de medula óssea de ratos avaliou a resposta osteogênica e produção de fatores de crescimento. Observou que o PRP humano tinha maior concentração de fatores de crescimento com estímulo à proliferação em todas culturas. Talvez este fato explique o motivo pelo qual

trabalho semelhante em ratos não tenha mostrado resultados similares. Amar 2015 submeteu ratos à transecção do LCM e avaliou os animais após três semanas, não encontrando diferença significativa em relação à força de ruptura do ligamento e escores de maturidade tecidual. Kurtz 1999 estudou o efeito do IGF-1 sobre o tendão calcâneo de ratos. Os animais tratados com o fator de crescimento apresentam menor redução funcional e recuperação mais rápida em comparação ao grupo controle, no entanto não houve diferença em testes.

Recentemente, alguns autores levantaram a hipótese de que talvez seja também possível que o PRP rico em leucócitos tenha a capacidade de desenvolver uma resposta inflamatória particularmente robusta nas semanas iniciais do tratamento por mecanismos ainda não bem entendidos. Isso teria implicação particularmente na cicatrização de tendões e ligamentos. Dragoo 2012 comparou o efeito de duas apresentações comerciais do PRP no tendão patelar de coelhos. O PRP rico em leucócitos causou uma reação inflamatória significativamente maior após cinco dias da aplicação quando comparado com o PRP pobre em leucócitos. No entanto após 14 dias não se observou diferença detectável em relação ao processo inflamatório e celularidade.

Vetrano 2013 e Dragoo 2014 usando PRP rico em leucócitos aplicado em lesões patelares, Mishra 2014, Thanasas 2011, Peerbooms 2010 e Gosens 2011 usando também PRP rico em leucócitos em tendinopatias do cotovelo obtiveram resultados favoráveis em avaliações funcionais. No entanto Schepull 2011, De Jonge 2011, de Vos 2010, usando PRP pobre em leucócitos nas tendinopatias do tendão calcâneo e Krogh 2013 e Creaney 2011 usando PRP pobre em leucócitos em tendinopatias do cotovelo não encontraram diferenças em relação ao controle.

Os primeiros usos clínicos do PRP se concentraram na cirurgia orofacial. Em 1994 Tayapongsak descreveu em estudo imaginológico resposta 50 % superior na consolidação da matriz óssea. Atribuiu ao PRP a capacidade osteoindutiva sobre as células do enxerto devido à rede de fibrina desenvolvida pelo concentrado de plaquetas. Eppley 2006 acredita que, após ativação, o PRP seja capaz de aumentar consolidação óssea e reparo de tecidos moles, cicatrização de feridas, redução da infecção, perda sanguínea e dor no pós-operatório.

Mishra 2006 aplicou PRP em 15 pacientes com epicondilite, observando melhora com uma aplicação e mantendo os bons resultados durante todo o período da pesquisa. Khaliq 2015, em um estudo randomizado, dividiu 102 pacientes com epicondilite lateral do cotovelo em dois grupos semelhantes, utilizando em um corticoide e no outro PRP. A efetividade foi de 52,9 % no grupo que utilizou corticoide e 82,4 % nos que utilizaram PRP. Palacio 2016 não encontrou evidência significativa na aplicação de PRP em comparação ao corticoide.

Em um estudo caso-controle, Sanchez 2007 investigou o efeito do PRP em rupturas de tendões calcâneos de atletas que foram submetidos à cirurgia. O procedimento foi realizado em seis atletas com aplicação de preparação rica em fatores de crescimento. Os resultados foram comparados com resultados retrospectivos de grupo tratado com cirurgia convencional. Aqueles que foram submetidos ao PRP apresentaram ganho de ADM precoce, melhora na cicatrização e menor tempo para reassumir as atividades. Guelfi 2015 tratou a tendinopatia crônica do tendão calcâneo não insercional com injeção única de PRP, com resposta satisfatória em 91,6 % dos pacientes de acordo com o escore de Blazina. Não houve rupturas tendíneas nos pacientes tratados com PRP. (91) Kearney 2015 conduziu uma revisão sistemática da literatura e não recomenda o uso rotineiro das aplicações.

O potencial do PRP em reparo de manguito rotador foi avaliado em um pequeno estudo de Randelli 2008. Após o reparo da lesão, 14 pacientes receberam PRP autólogo durante o procedimento, e em seguimento por 24 meses mostraram significativa redução nos escores de dor e aumento dos scores de função. Zhang 2016 dividiu 60 pacientes de forma aleatória em dois grupos e aplicou PRP em um grupo após o reparo do manguito. Não houve diferença com relação aos padrões de dor, força e ganho de amplitude de movimento. No entanto, a taxa de re-ruptura foi menor no grupo com PRP (14 % contra 30 %). Saltzman 2015 conduziu uma metanálise em 2015 e concluiu que não há ainda evidências para o uso rotineiro do PRP na melhora do padrão de dor e escores funcionais do ombro. No entanto, houve tendência de melhores resultados quando realizada aplicação direta da matriz de PRP na interface tendão osso nos reparos em dupla fileiras e em lesões pequenas ou médias do manguito rotador. Kon 2009 descreveu uma formulação de baixo

custo para produção de PRP e usou em uma série de casos de pacientes com sintomas crônicos decorrentes de joelho do saltador foram realizadas três aplicações de PRP no ligamento patelar a cada 15 dias, com melhora clínica.

O trabalho sugere que o uso de PRP após a lesão do LCM pode ser benéfica no tratamento de lesões agudas e ao rápido retorno às atividades, principalmente, em atletas de elite que mais se beneficiariam desse retorno precoce ao esporte. Serão necessários outros estudos para corroborar os resultados.

6. CONCLUSÃO

O PRP aplicada a lesão do LCM de coelhos demonstrou superioridade estatística em relação ao controle no aumento da tensão de ruptura tanto nos grupos com três quanto nos grupos com seis semanas.

BIBLIOGRAFIA

Cimino F, Volk BS, Setter D. Anterior cruciate ligament injury: diagnosis, management, and prevention. *Am Fam Physician*. 2010 Oct 15;82(8):917–22.

Jagodzinski M, Ettinger M, Liodakis E, Hawi N, Petri M, Krettek C. [Trauma sequelaes after complex knee ligament injuries]. *Unfallchirurg*. 2013 May;116(5):404–12.

LaPrade RF, Engebretsen AH, Ly TV, Johansen S, Wentorf FA, Engebretsen L. The anatomy of the medial part of the knee. *J Bone Joint Surg Am*. 2007 Sep;89(9):2000–10.

Miyamoto RG, Bosco JA, Sherman OH. Treatment of medial collateral ligament injuries. *J Am Acad Orthop Surg*. 2009 Mar;17(3):152–61.

Fetto JF, Marshall JL. Medial collateral ligament injuries of the knee: a rationale for treatment. *Clin Orthop*. 1978 May;(132):206–18.

Ellsasser JC, Reynolds FC, Omohundro JR. The non-operative treatment of collateral ligament injuries of the knee in professional football players. An analysis of seventy-four injuries treated non-operatively and twenty-four injuries treated surgically. *J Bone Joint Surg Am*. 1974 Sep;56(6):1185–90.

Noyes FR, Barber-Westin SD. The treatment of acute combined ruptures of the anterior cruciate and medial ligaments of the knee. *Am J Sports Med*. 1995 Aug;23(4):380–9.

Steadman JR. Rehabilitation of first- and second-degree sprains of the medial collateral ligament. *Am J Sports Med*. 1979 Oct;7(5):300–2.

Giannotti BF, Rudy T, Graziano J. The non-surgical management of isolated medial collateral ligament injuries of the knee. *Sports Med Arthrosc Rev*. 2006 Jun;14(2):74–7.

Reider B. Medial collateral ligament injuries in athletes. *Sports Med Auckl NZ*. 1996 Feb;21(2):147–56.

Kim S-J, Lee D-H, Kim T-E, Choi N-H. Concomitant reconstruction of the medial collateral and posterior oblique ligaments for medial instability of the knee. *J Bone Joint Surg Br*. 2008 Oct;90(10):1323–7.

Andia I, Sanchez M, Maffulli N. Tendon healing and platelet-rich plasma therapies. *Expert Opin Biol Ther*. 2010 Oct;10(10):1415–26.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225–8.

Pressman A, Johnson DH. A review of ski injuries resulting in combined injury to the anterior cruciate ligament and medial collateral ligaments. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* 2003 Feb;19(2):194–202.

HUBBELL M, et al. Drugs used for preanesthetic medication. *Hand Book of Veterinary Anesthesia.* 3 ed. Mosby; 19-57 p.

Weiss JA, Woo SL, Ohland KJ, Horibe S, Newton PO. Evaluation of a new injury model to study medial collateral ligament healing: primary repair versus nonoperative treatment. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* 1991 Jul;9(4):516–28.

Junior WCT. Efeito do plasma rico em plaquetas (PRP) na regeneração do tendão de aquiles em coelhos - avaliação por ressonância magnética e histopatologia [Internet]. 2014 [cited 2015 Nov 16]. Available from: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUBD-9ZCPQW?show=full>

Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, et al. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Ann Intern Med.* 2000 Oct 17;133(8):635–46.

Amiel D, Frank CB, Harwood FL, Akeson WH, Kleiner JB. Collagen alteration in medial collateral ligament healing in a rabbit model. *Connect Tissue Res.* 1987;16(4):357–66.

Frank CB, Loitz BJ, Shrive NG. Injury location affects ligament healing. A morphologic and mechanical study of the healing rabbit medial collateral ligament. *Acta Orthop Scand.* 1995 Oct;66(5):455–62.

DeLee J, Drez D, Miller M. *DeLee and Drez's orthopaedic sports medicine: principles and practice.* Philadelphia: Saunders; 2003. 39-40 p.
Delaunay A, Bazin S. Mucopolysaccharides, collagen, and nonfibrillar proteins in inflammation. *Int Rev Connect Tissue Res.* 1964;2:301–25.

Goldin B, Block WD, Pearson JR. Wound healing of tendon--I. Physical, mechanical and metabolic changes. *J Biomech.* 1980;13(3):241–56.

Bailey AJ, Bazin S, Delaunay A. Changes in the nature of the collagen during development and resorption of granulatin tissue. *Biochim Biophys Acta.* 1973 Dec 6;328(2):383–90.

Woo SL, Inoue M, McGurk-Burleson E, Gomez MA. Treatment of the medial collateral ligament injury. II: Structure and function of canine knees in response to differing treatment regimens. *Am J Sports Med.* 1987 Feb;15(1):22–9.

American Medical Association. Committee on the Medical Aspects of Sports. Standard nomenclature of athletic injuries. Chicago: American Medical Assn; 1966.

Gardiner JC, Weiss JA, Rosenberg TD. Strain in the human medial collateral ligament during valgus loading of the knee. *Clin Orthop.* 2001 Oct;(391):266–74.

Frank C, Woo SL, Amiel D, Harwood F, Gomez M, Akeson W. Medial collateral ligament healing. A multidisciplinary assessment in rabbits. *Am J Sports Med.* 1983 Dec;11(6):379– 89.

Thornton GM, Johnson JC, Maser RV, Marchuk LL, Shrive NG, Frank CB. Strength of medial structures of the knee joint are decreased by isolated injury to the medial collateral ligament and subsequent joint immobilization. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* 2005 Sep;23(5):1191–8.

Gomez MA, Woo SL, Inoue M, Amiel D, Harwood FL, Kitabayashi L. Medical collateral ligament healing subsequent to different treatment regimens. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985.* 1989 Jan;66(1):245–52.

Kuroda R, Muratsu H, Harada T, Hino T, Takayama H, Miwa M, et al. Avulsion fracture of the posterior oblique ligament associated with acute tear of the medial collateral ligament. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* 2003 Mar;19(3):E18.

Yoshiya S, Kuroda R, Mizuno K, Yamamoto T, Kurosaka M. Medial collateral ligament reconstruction using autogenous hamstring tendons: technique and results in initial cases. *Am J Sports Med.* 2005 Sep;33(9):1380–5.

Gorin S, Paul DD, Wilkinson EJ. An anterior cruciate ligament and medial collateral ligament tear in a skeletally immature patient: a new technique to augment primary repair of the medial collateral ligament and an allograft reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* 2003 Dec;19(10):E21–6.

Nicholas JA. The five-one reconstruction for anteromedial instability of the knee. Indications, technique, and the results in fifty-two patients. *J Bone Joint Surg Am.* 1973 Jul;55(5):899–922.

Benjamin Jackson J, Ferguson CM, Martin DF. Surgical treatment of chronic posteromedial instability using capsular procedures. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2006 Jun;14(2):91–5.

Harrison P, Cramer EM. Platelet alpha-granules. *Blood Rev.* 1993 Mar;7(1):52–62.

Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.*

2004 Jan;91(1):4–15.

Ma L, Perini R, McKnight W, Dicay M, Klein A, Hollenberg MD, et al. Proteinase-activated receptors 1 and 4 counter-regulate endostatin and VEGF release from human platelets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jan 4;102(1):216–20.

Boswell SG, Cole BJ, Sundman EA, Karas V, Fortier LA. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc*. 2012 Mar;28(3):429–39.

Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001 Jan;107(1):229–37; discussion 238–9.

Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquez F, Venere G, Spagnolo S, et al. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs*. 1987 Jan;10(1):47–50.

Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion (Paris)*. 1990 Oct;30(8):741–7.

Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003 Feb;18(1):93–103.

Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009 Jul;23(4):177–89.

Schilephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002 Oct;31(5):469–84.

Bodnar RJ. Chemokine Regulation of Angiogenesis During Wound Healing. *Adv Wound Care*. 2015 Nov 1;4(11):641–50.

Borkham-Kamphorst E, Weiskirchen R. The PDGF system and its antagonists in liver fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015 Oct 30;

Yang D, Chen J, Jing Z, Jin D. Platelet-derived growth factor (PDGF)-AA: a self-imposed cytokine in the proliferation of human fetal osteoblasts. *Cytokine*. 2000 Aug;12(8):1271–4.

Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin Orthop*. 1990 Jan;(250):261–76.

Wrana JL, Maeno M, Hawrylyshyn B, Yao KL, Domenicucci C, Sodek J. Differential effects of transforming growth factor-beta on the synthesis of extracellular matrix proteins by normal fetal rat calvarial bone cell

- populations. *J Cell Biol.* 1988 Mar;106(3):915–24.
- Bikle DD, Tahimic C, Chang W, Wang Y, Philippou A, Barton ER. Role of IGF-I signaling in muscle bone interactions. *Bone.* 2015 Nov;80:79–88.
- Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma.* 2005 Dec;19(10 Suppl):S4–6.
- Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol.* 2001;106(4):148–56.
- Maurer A-M, Zhou B, Han ZC. Roles of platelet factor 4 in hematopoiesis and angiogenesis. *Growth Factors Chur Switz.* 2006 Dec;24(4):242–52.
- Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59(2 Suppl):21–6.
- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009 Mar;27(3):158–67.
- DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* 2012 Jul;28(7):998–1009.
- Proffen BL, McElfresh M, Fleming BC, Murray MM. A comparative anatomical study of the human knee and six animal species. *The Knee.* 2012 Aug;19(4):493–9.
- Woo SL-Y, Abramowitch SD, Kilger R, Liang R. Biomechanics of knee ligaments: injury, healing, and repair. *J Biomech.* 2006;39(1):1–20.
- Takeyama N, Sakai H, Ohtake H, Mashitor H, Tamai K, Saotome K. Effects of hyperbaric oxygen on gene expressions of procollagen, matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in injured medial collateral ligament and anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc Off J ESSKA.* 2007 Apr;15(4):443–52.
- Delbari A, Bayat M, Bayat M. Effect of low-level laser therapy on healing of medial collateral ligament injuries in rats: an ultrastructural study. *Photomed Laser Surg.* 2007 Jun;25(3):191–6.
- Aspberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004 Feb;75(1):93–9.
- Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, Matsuda K, Oshima Y, Yoshida A, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol.* 2008 Jun;215(3):837–45.
- Anaguchi Y, Yasuda K, Majima T, Tohyama H, Minami A, Hayashi K. The effect of transforming growth factor-beta on mechanical properties of the fibrous

tissue regenerated in the patellar tendon after resecting the central portion. Clin Biomech Bristol Avon. 2005 Nov;20(9):959–65.

Hapa O, Cakıcı H, Kükner A, Aygün H, Sarkalan N, Baysal G. Effect of platelet-rich plasma on tendon-to-bone healing after rotator cuff repair in rats: an in vivo experimental study. Acta Orthop Traumatol Turc. 2012;46(4):301–7.

Baksh N, Hannon CP, Murawski CD, Smyth NA, Kennedy JG. Platelet-rich plasma in tendon models: a systematic review of basic science literature. Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc. 2013 Mar;29(3):596–607.

Yoshioka T, Kanamori A, Washio T, Aoto K, Uemura K, Sakane M, et al. The effects of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) on healing of medial collateral ligament of the knee. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc Off J ESSKA. 2013 Aug;21(8):1763–9.

Ueshima K, Kitaoka K, Nakase J, Xu Q, Matsumoto K, Tsuchiya H. Promotion of rabbit ligament healing by local delivery of hepatocyte growth factor. J Orthop Sci Off J Jpn Orthop Assoc. 2011 Jul;16(4):451–7.

Eirale C, Mauri E, Hamilton B. Use of platelet rich plasma in an isolated complete medial collateral ligament lesion in a professional football (soccer) player: a case report. Asian J Sports Med. 2013 Jun;4(2):158–62.

van den Dolder J, Moeren R, Vloon APG, Stoelinga PJW, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. Tissue Eng. 2006 Nov;12(11):3067–73.

Amar E, Snir N, Sher O, Brosh T, Khashan M, Salai M, et al. Platelet-rich plasma did not improve early healing of medial collateral ligament in rats. Arch Orthop Trauma Surg. 2015 Nov;135(11):1571–7.

Kurtz CA, Loebig TG, Anderson DD, DeMeo PJ, Campbell PG. Insulin-like growth factor I accelerates functional recovery from Achilles tendon injury in a rat model. Am J Sports Med. 1999 Jun;27(3):363–9.

Dragoo JL, Braun HJ, Durham JL, Ridley BA, Odegaard JI, Luong R, et al. Comparison of the acute inflammatory response of two commercial platelet-rich plasma systems in healthy rabbit tendons. Am J Sports Med. 2012 Jun;40(6):1274–81.

Vetrano M, Castorina A, Vulpiani MC, Baldini R, Pavan A, Ferretti A. Platelet-rich plasma versus focused shock waves in the treatment of jumper's knee in athletes. Am J Sports Med. 2013 Apr;41(4):795–803.

Dragoo JL, Wasterlain AS, Braun HJ, Nead KT. Platelet-rich plasma as a treatment for patellar tendinopathy: a double-blind, randomized controlled trial. Am J Sports Med. 2014 Mar;42(3):610–8.

Mishra AK, Skrepnik NV, Edwards SG, Jones GL, Sampson S, Vermillion DA, et al. Efficacy of platelet-rich plasma for chronic tennis elbow: a double-blind, prospective, multicenter, randomized controlled trial of 230 patients. *Am J Sports Med.* 2014 Feb;42(2):463–71.

Thanasas C, Papadimitriou G, Charalambidis C, Paraskevopoulos I, Papanikolaou A. Platelet-rich plasma versus autologous whole blood for the treatment of chronic lateral elbow epicondylitis: a randomized controlled clinical trial. *Am J Sports Med.* 2011 Oct;39(10):2130–4.

Peerbooms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, Gosens T. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2010 Feb;38(2):255–62.

Gosens T, Peerbooms JC, van Laar W, den Oudsten BL. Ongoing positive effect of platelet- rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2011 Jun;39(6):1200–8.

Schepull T, Kvist J, Norrman H, Trinks M, Berlin G, Aspenberg P. Autologous platelets have no effect on the healing of human achilles tendon ruptures: a randomized single- blind study. *Am J Sports Med.* 2011 Jan;39(1):38–47.

de Jonge S, de Vos RJ, Weir A, van Schie HTM, Bierma-Zeinstra SMA, Verhaar JAN, et al. One-year follow-up of platelet-rich plasma treatment in chronic Achilles tendinopathy: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am J Sports Med.* 2011 Aug;39(8):1623–9.

de Vos RJ, Weir A, van Schie HTM, Bierma-Zeinstra SMA, Verhaar JAN, Weinans H, et al. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2010 Jan 13;303(2):144–9.

Krogh TP, Fredberg U, Stengaard-Pedersen K, Christensen R, Jensen P, Ellingsen T. Treatment of lateral epicondylitis with platelet-rich plasma, glucocorticoid, or saline: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Sports Med.* 2013 Mar;41(3):625–35.

Cleaney L, Wallace A, Curtis M, Connell D. Growth factor-based therapies provide additional benefit beyond physical therapy in resistant elbow tendinopathy: a prospective, single-blind, randomised trial of autologous blood injections versus platelet- rich plasma injections. *Br J Sports Med.* 2011 Sep;45(12):966–71.

Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* 1994 Feb;52(2):161–5; discussion 166.

Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Nov;118(6):147e – 159e.

Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med.* 2006 Nov;34(11):1774–8.

Khaliq A, Khan I, Inam M, Saeed M, Khan H, Iqbal MJ. Effectiveness of platelets rich plasma versus corticosteroids in lateral epicondylitis. *JPMA J Pak Med Assoc.* 2015 Nov;65(11 Suppl 3):S100–4.

Palacio EP, Schiavetti RR, Kanematsu M, Ikeda TM, Mizobuchi RR, Galbiatti JA. Effects of platelet-rich plasma on lateral epicondylitis of the elbow: prospective randomized controlled trial. *Rev Bras Ortop.* 2016 Feb;51(1):90–5.

Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007 Feb;35(2):245–51.

Guelfi M, Pantalone A, Vanni D, Abate M, Guelfi MGB, Salini V. Long-term beneficial effects of platelet-rich plasma for non-insertional Achilles tendinopathy. *Foot Ankle Surg Off J Eur Soc Foot Ankle Surg.* 2015 Sep;21(3):178–81.

Kearney RS, Parsons N, Metcalfe D, Costa ML. Injection therapies for Achilles tendinopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;5:CD010960.

Randelli PS, Arrigoni P, Cabitza P, Volpi P, Maffulli N. Autologous platelet rich plasma for arthroscopic rotator cuff repair. A pilot study. *Disabil Rehabil.* 2008;30(20-22):1584–9.

Zhang Z, Wang Y, Sun J. The effect of platelet-rich plasma on arthroscopic double-row rotator cuff repair: a clinical study with 12-month follow-up. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2016;50(2):191–7.

Saltzman BM, Jain A, Campbell KA, Mascarenhas R, Romeo AA, Verma NN, et al. Does the Use of Platelet-Rich Plasma at the Time of Surgery Improve Clinical Outcomes in Arthroscopic Rotator Cuff Repair When Compared With Control Cohorts? A Systematic Review of Meta-analyses. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* 2015 Dec 22;

Kon E, Filardo G, Delcogliano M, Presti ML, Russo A, Bondi A, et al. Platelet-rich plasma: new clinical application: a pilot study for treatment of jumper's knee. *Injury.* 2009 Jun;40(6):598–603.

ANEXO A



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

UFMG

Senhor(a) Professor(a) Ivana Duval de Araujo,

Após análise de sua solicitação de avaliação do projeto Avaliação Biomecânica e Histológica do Reparo do Ligamento Colateral Medial do Joelho de Coelhos Usando-se Plasma Rico em Plaquetas, submetido a esta comissão pelo protocolo 354 / 2013, a CEUA decidiu **aprovar** a sua solicitação.

Justificativa: Aprovado na reunião do dia 10/02/2014.

Para acessar ao seu projeto clique no link:

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Belo Horizonte, 11/02/2014.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

Agência Brasileira ISBN
ISBN: 978-65-6016-039-2