

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 02/02/2020.

SÍLVIA BANDIERA BORGES

“Plasma Rico em Plaquetas de Ratos Wistar”

Araçatuba – São Paulo

2019

SILVIA BANDIERA BORGES

“Plasma Rico em Plaquetas de Ratos Wistar”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PMPGCF) de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Suely Regina Mogami Bomfim

Araçatuba – São Paulo

2019

Catálogo na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B732p Borges, Silvia Bandiera.
 Plasma rico em plaquetas de ratos Wistar / Silvia Bandiera
 Borges. - Araçatuba, 2019
 79 f. : il. ; tab.

 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
 Faculdade de Odontologia, Araçatuba
 Orientadora: Profa. Suely Regina Mogami Bomfim

 1. Plasma rico em plaquetas 2. Protocolos 3. Biotecnologia
 4. Plaquetas 5. Ratos 6. Ratos Wistar I. T.

CDD 612

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico ao meu esposo Ademir José Borges, com amor, admiração, gratidão. Por sua compreensão, carinho, presença incansável e apoio ao longo do período da elaboração deste.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que me permitiu conquistar na vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de mestrado.

À Professora Doutora Suely Regina Mogami Bomfim, minha querida orientadora, pela atenção e apoio durante o processo de definição e acompanhamento desta dissertação.

Às Professoras Doutoras Doris Hissako Sumida e Rita de Cássia Menegati Dornelles, pela generosidade e conselhos nos momentos mais difíceis.

À minha mãe e ao meu pai (in memoriam), os quais amo muito, pelo exemplo de caráter, garra e dedicação em tudo que se proporcionam a cumprir e me transmitiram seus ensinamentos.

Aos meus três filhos amados, Bruna, Laís e Gustavo que são a razão de meu viver, pelo carinho e eterno afeto, impulsionando-me a concluir meus objetivos.

A todos(as) os(às) Professores(as), discentes e colaboradores(as) do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PMPGCF) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” da cidade de Araçatuba.

Aos meus amigos queridos Ângela Cristina de Nicola, Fernanda Fernandes, Fernando Marani, Mitzí Hass Wakamatsu, Rodrigo Martins dos Santos e Thaís Verônica Saori Tsosura, que me acompanharam durante essa jornada dando-me forças, ajudando-me a ampliar meus conhecimentos e me estimulando a cada momento. Bons amigos que nunca serão esquecidos.

“Se um homem tem um talento e não tem capacidade de usá-lo, ele fracassou. Se ele tem um talento e usa somente a metade deste, ele fracassou parcialmente. Se ele tem um talento e de certa forma aprende a usá-lo em sua totalidade, ele triunfou gloriosamente e obteve a satisfação que poucos homens conhecerão.”

Thomas Wolfe

Bandiera, B. S. “**Plasma Rico em Plaquetas de Ratos Wistar**”, 2019. 79 f. Dissertação - Mestrado Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PMPGCF) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araçatuba, 2018

RESUMO

Uma das biotecnologias com propósito relevante à saúde humana é o plasma rico em plaquetas (PRP) o qual, não há registro protocolar padronizado para *Rattus norvegicus* (Wistar). De fato, a falta de padronização do método leva pesquisadores à dúvida sob qual protocolo seguir para os melhores resultados referente as concentrações e mudanças morfológicas plaquetárias. Tal indeterminação promove morosidade nas pesquisas científicas. Frente a conjectura, usou-se o mínimo de animais possíveis em experimentação duplo-cego, retirando-se 3,2 mL de sangue de cada animal por pulsão cardíaca o qual posteriormente, foi testado em três protocolos distintos. Cada protocolo foi designado como P1; P2; P3 e o grupo controle designado PSP. Desta forma, *i.* P1 foi submetido a uma única centrifugação de 160G por 6min resultando em 100 µL de PRP; *ii.* P2 foi ressignado a dupla centrifugação sendo a primeira etapa 160G por 20min e a segunda etapa 400G por 15 min, resultando em 100 µL de PRP e *iii.* P3 destinado a dupla centrifugação sendo a primeira etapa 300G por 10 min e a segunda etapa 640G por 10 min, resultando em 100 µL de PRP. Obtivemos maiores concentrações plaquetárias dos protocolos P2 e P3 com concentrações superiores a 519%. Quanto a visualização morfológica plaquetária por esfregaço, os três protocolos apresentaram boa visualização, no entanto P3 sobressaiu-se aos demais quanto ao tempo global de preparo e menor inclusão eritrocitária. Assim, padronizamos um modelo animal *in vivo* para futuras investigações científicas interessadas na utilização do PRP de *Rattus norvegicus* (Wistar).

Palavras chave: desenvolvimento protocolar, protocolos, biotecnologia, padronização de métodos, morfologia plaquetária, concentração plaquetária, *Rattus norvegicus*, Wistar.

Bandiera, B. S. **“Platelet-rich plasma of wistar rats”** 2019. 79 f. Centers Postgraduate Program in Physiological Sciences (PMPGCF) of the Paulista State University "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Araçatuba, 2018

ABSTRACT

One of the biotechnologies with a relevant human health purpose is platelet rich plasma (PRP), which has no standardized protocol record for *Rattus norvegicus* (Wistar). In fact, the lack of standardization of the method leads researchers to doubt which protocol to follow for the best results regarding platelet concentrations and morphological changes. Such indeterminacy promotes slowness in scientific research. In view of the conjecture, how few animals were used in a double-blind experiment and 3.2 mL of blood was drawn from each animal by heartbeat and subsequently tested in three separate protocols. Each protocol was designated as P1; P2; P3 is the control group designated PSP. i. P1 was subjected to a single 160G centrifugation for 6min resulting in 100 µL of PRP, ii. P2 was resigned to double centrifugation with the first stage 160G for 20min and the second stage for 400G for 15 min, resulting in 100 µL of PRP and iii. P3 intended for double centrifugation with the first stage of 300G for 10 min and the second stage of 640G for 10 min, resulting in 100 µL of PRP. We obtained higher platelet concentrations of protocols P2 and P3 with concentrations higher than 519%. Regarding the morphological visualization of platelet smears, the three protocols presented good visualization, but P3 stood out for the others in terms of total preparation time and less erythrocyte invasion. Thus, we standardized an in vivo animal model for future scientific investigations interested in the use of PRP *Rattus norvegicus* (Wistar).

Keywords: Protocols, biotechnology, method standardization, platelet morphology, platelet concentration, *Rattus norvegicus*, Wistar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Preparo do plasma rico em plaquetas.....	4
Figura 2 - Origem e morfologia estrutural de uma plaqueta	5
Figura 3 – Algumas vias sinalizadoras por receptores plaquetários.....	11
Figura 4 - Ilustração do protocolo de Anitua (1999).....	27
Figura 5 - Ilustração do protocolo de Sonleitner et.al., (2000).....	28
Figura 6 - Ilustração do protocolo Vendramin et al., (2009).....	29
Figura 7- Protocolo de esfregaço do PRP	31
Figura 8 - Coleta de amostra sanguínea por punção cardíaca.....	33
Figura 9 - Obtenção do PRP conforme P1.	34
Figura 10 - Obtenção do PRP conforme protocolo Sonleitner et al., (2000).....	34
Figura 11 - Obtenção do PRP conforme protocolo de Vendramin et al. (2006).....	36
Figura 12 - Plaquetometria vista por câmara de Neubauer	38
Figura 13 - Contagem plaquetária dos protocolos testados em Rattus novergicus (linhagem Wistar).	39
Figura 14 - Esfregaço do Sangue Periférico.....	40
Figura 15 - Esfregaço plasma rico em plaquetas amostra do protocolo P1	40
Figura 16 - Esfregaço plasma rico em plaquetas amostra do protocolo P2	41
Figura 17 - Esfregaço plasma rico em plaquetas amostra do protocolo P3	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Receptores plaquetários dependentes e independentes da GPCR	9
Tabela 2 - Origem e desempenho dos principais FCs plaquetários	13
Tabela 3 - Células liberadoras de PDGF	15
Tabela 4 - Diversificações de protocolos para obtenção do PRP em humanos	23
Tabela 5 - Parâmetros dos valores expressos em média e desvio padrão da plaquetometria e concentração de PRP de <i>Rattus norvegicus</i> (Wistar)	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α – Alfa

AA - Ácido araquidônico

β – Beta

°C - Célsius, escala de grau

5HT:5 – Serotonina

ADP - Difosfato de adenosina

AMPC - Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

ATP - Adenosina trifosfato

ATP -Trifosfato de adenosina

bFGF - Fator de crescimento fibroblástico básico

BMPs - Proteínas morfogenéticas ósseas

Ca²⁺ - Cálcio

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CPD - Citrato/fosfato/dextrose

CPDA-1 - fosfato monobásico de sódio/dextrose anidra/ácido cítrico

CTAD - Solução de citrato de sódio, teofilina, adenosina e dipiridamol

CTGF - Fator de crescimento de tecido conjuntivo

DAG - 1,2-diacilglicerol

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

e.g. - De *exempli gratia*, locução latina que significa "por exemplo"

EGF - Fator de crescimento epitelial

et al. - Do Latim, *et alii*. Significado "e outros"

FC - Fatores de crescimento

FcRy - receptor do fator de crescimento da cadeia y para imunoglobulina G

FGF - Fator de crescimento de fibroblastos

FvW - Fator de von Willebrand

GDFS - Fatores de crescimento de diferenciação

GDP - Guanosina difosfato

G.O.T.O. - G=glutaraldeído, O=ósio, T=tânico ou tiocarbohidrazida.

GPCR - receptores acoplados à proteína G

GP1b-IX-V - Glicoproteína IbIXV -.

GPVI - Glicoproteína VI -

GTP - Guanosina trifosfato

HGF - Fator de crescimento de hepatócitos

i.e. - Do Latim que significa “isto é; ou seja”

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina

IL-1 β - Interleucina 1 β

I.P. – Intraperitoneal

IP₃ - Inositol 1,4, 5-trifosfato

kD – Kilodaltons

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

Mg²⁺ - Magnésio

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro

NO - óxido nítrico

P₂O₇ - Pirofosfato

PAF - Fator ativador de plaquetas

PAR-1 - Receptor ativado por proteinases

PDGF - Fator de crescimento derivado das plaquetas

PDGF-AA - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-AA

PDGF-AB - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-AB

PDGF-BB - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-BB

PECAM-1 - Moléculas de adesão celular endotelial plaquetária

PF4 - Fator 4 plaquetário

PIC - Complexos poliônicos

PIP₂ - Inositol fosfolipídeo

PKC - Proteína quinase C

PPP - Plasma pobre em plaquetas

PRP - Plasma rico em plaquetas

PTI - Púrpura trombocitopênica idiopática

P2Y₁ - Receptor purinérgico 1

P2Y₁₂ - Receptor purinérgico 12

SCA - Sistema canicular aberto

S.P. - Sangue periférico

STD - Sistema tubular denso

TGF- β - Fator de crescimento transformador β

TNF- α - Fator de necrose tumoral IL-1

TXA₂ - Tromboxano A₂

VASP - Fosfoproteína vasodilatadora

VASP-P - Fosfoproteína vasodilatadora desfosforilada

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. PARÂMETROS E PROTOCOLOS DIFERENCIADOS NA ELABORAÇÃO DO PRP	3
2.1 <i>Plaquetas: Morfologia, Função, Ativação e Receptores</i>	4
2.1.1. Morfologia Estrutural	4
2.1.2 Função	7
2.1.3 Ativação	7
2.1.4 Receptores.....	8
2.2 <i>Fatores de Crescimento (FC)</i>	12
2.2.1 Fatores de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)	14
2.2.1.1 Diferenças entre os PDGF	15
2.2.2 Fator de crescimento transformador β (TGF- β)	16
2.2.3 Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).....	17
2.2.4 Fator de crescimento epidérmico (EGF)	18
2.3 <i>Plaquetas como Alvos Terapêuticos</i>	19
2.4 <i>Plasma Rico em Plaquetas (PRP)</i>	21
2.4.1 Protocolos de PRP em destaque	26
2.4.1.1 Anitua (1999)	26
2.4.1.2 Protocolo de Sonnleitner et. al., (2000).....	27
2.4.1.3 Protocolo Vendramin et al., (2006)	28
2.4.1.4 Protocolo de Yazigi et. al. (2015).....	29
2.5 <i>Esfregaço</i>	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 <i>Procedimento ético</i>	32
3.2 <i>Local de realização da pesquisa</i>	32
3.3 <i>Animais</i>	32

3.4 <i>Delineamento Experimental</i>	33
3.4.1 Anestesia	33
3.4.2 Coleta de Amostra	33
3.4.3. Preparo do PRP por três protocolos distintos	33
3.4.3.1 Preparo de P1	33
3.4.3.2 Preparo de P2.....	34
3.4.3.3 Preparo de P3.....	35
3.5. <i>Análises Laboratoriais</i>	36
3.5.1 Plaquetometria do Sangue Periférico.....	36
3.5.1 Plaquetometria dos Protocolos	36
3.5.2 Análise Morfológica por Esfregaço.....	36
3.5.3 Análise Estatística	37
4. RESULTADOS	37
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Inúmeras pesquisas científicas ligadas a área da saúde utilizam várias espécies de animais como modelos experimentais. Entretanto, a preferência se dá aos roedores por apresentarem características próprias relacionadas ao tamanho, prole numerosa, fácil domesticação, adaptação a ambientes variados e por possuírem características fisiológicas que mimetizam os seres humanos (CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007). Os modelos experimentais *in vivo* possibilitam a compreensão dos eventos relativos ao desenvolvimento de métodos e/ou protocolos científicos (LIMA et al., 2014). Nesse contexto, a busca por novos procedimentos que acelerem o entendimento de mecanismos metabólicos, assim como para processos terapêuticos regenerativos é cada vez maior.

O uso das engenharias e suas biotecnologias têm trazido grandes resultados na reparação e regeneração celular por meio de modelos experimentais (CARVALHO et al., 2010). A capacidade de reconstrução tecidual está ligada ao tipo celular biológico, local afetado e aos sinalizadores que desencadeiam estímulos necessários teciduais (LACOSTE; MARTINEAU; 2003; FERREIRA; BOMFIM; ANDRADE, 2012). Sendo assim, o processo de reparação consiste em uma restauração sem que este apresente as características biológicas gênicas, promovendo a manutenção das características existentes do tecido e sua similaridade original (LENHARO et al., 2004; CHEN; ZHANG; WU, 2010). Assim, uma das tecnologias estudadas com propósito regenerativo, buscando promover a hemostasia e a sobrevivência do organismo é o plasma rico em plaquetas (PRP) (DUSSE et al., 2008; CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2018). O PRP deve ser definido como uma concentração autóloga, isto é, um número ideal de plaquetas obtidas por meio do sangue do próprio paciente com predados para a regeneração e reestruturação tecidual (MAN; PLOSKER; WINLAND-BROWN, 2001; YAZIGI et al., 2015). Foi elaborado como uma alternativa viável para minimizar as complicações alérgicas decorrentes do uso da cola de fibrina (SIERRA, 1993; SILVER; WANG; PINS, 1995; WHITMAN; BERRY; GREEN, 1997). Desta forma, apresenta poder de cicatrização advindo das funções plaquetárias e seus constituintes, os fatores de crescimento (FC) (MARX et al., 1998).

Os mecanismos terapêuticos do PRP medeiam a ativação mitogênica e os fatores de crescimento que facilitam a angiogênese, a reepitelização e a proliferação de fibroblastos (ANTONIADES, 1981; MARX, 2001, 2004; LIEBERMAN; DALUISKI; EINHORN, 2002;

VENDRAMIN et al., 2006; BARRIENTOS et al., 2008). Além do mais, as plaquetas do PRP apresentam proteínas osteocondutoras que auxiliam na migração epitelial responsável pela formação óssea e de tecido conectivo por meio dos fatores de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e fator transformador do crescimento β (TGF- β) (EVERTS et al., 2006; VENDRAMIN et al., 2006; DeROSSI et al., 2009). Outros fatores também são liberados pelas plaquetas como o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o fator de crescimento epitelial (EGF), o fator de angiogênese derivado da plaqueta (PAF) e o fator plaquetário (PF4) (DUSSE et al., 2008; DeROSSI et al., 2009; COSTA; SANTOS, 2016).

Com tantas expressões moleculares, pesquisadores do âmbito da saúde vêm empregando o PRP em diversas terapias e pesquisas para melhor compreensão dos fragmentos plaquetários. Terapeuticamente, os odontólogos se destacaram inicialmente na utilização do PRP, acumulando grande experiência neste segmento (MARX, 2001). Tal postura chamou a atenção de outros profissionais da área da saúde, estimulando-os a buscar novos desafios e novas aplicabilidades para o PRP (DUSSE et al., 2008; PAZZINI et al., 2016). Assim, o plasma rico em plaquetas passou a ser amplamente utilizado em cirurgias plásticas (EVERTS et al., 2006), na estética como “*anti-aging*” (HEBA et al., 2017), na consolidação óssea (LUCARELLI et al., 2005), em lesões por queimaduras (PALLUA; WOLTER; MARKOWICZ, 2010), restabelecimento de tendinopatias, injúrias musculares (MISHRA et al., 2009), implantes dentários, cirurgias periodontais (DEMIR et al., 2007; KECALI et al., 2008) e para estudos de novos fármacos antiplaquetários ou fármacos antitrombóticos hiporresponsivos (CASTRO et al. 2006; SILVA; D'AMICO, 2010; SOARES et. al., 2010)

Devido a amplo utilização e grandes variações metodológicas descritivas para obter o PRP, delineamos três protocolos distintos designados P1; P2 e P3. Desta forma, objetivamos oferecer a comunidade científica um protocolo animal de *Rattus norvegicus* (linhagem Wistar) com menor tempo global para a execução, maior concentração plaquetária e boa visualização morfológica.

REFERÊNCIAS

- ABILDGAARD, C. F.; SUZUKI, Z.; HARRISON, J.; JEFcoat, K.; ZIMMERMAN, T. S. Serial Studies in von Willebrand's Disease: Variability Versus "Variants". **Journal Blood**; 56 (4): 712-716; 1980.
- AGUIRRE, A.; ARBILDO, H.; PERALTA, J. Comparative performance of the protocol of plasma rich in growth factors - universal 1 (PRGF-U1) for obtaining platelet rich plasma. **Journal Of Oral Research**, 16-18. Doi: 10.17126, 2017.
- AHMED, M.; REFFAT, S. A.; HASSAN, A.; ESKANDER, F. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Clean Diabetic Foot Ulce. **Journal Annals of Vascular Surgery**. Vol 38, Pág. 206-211; Doi: 10.1016, 2016.
- ALMEIDA, M. T. S. C. Caracterização Avançada de Materiais Preparação de amostras para análise por MEV. **Workshop**, 12 de Julho, 2011.
- ALVAREZ, R. H.; KANTARJIAN, H. M.; CORTES, J. E. Biology of platelet-derived growth factor and its involvement in disease. **Journal Mayo Clinic Proceedings**, v. 81, n. 9, p. 1241-1257, 2006.
- ANDRADE; P. B.; BORGES, L. S. R. Antiplatelet Agents in Acute Coronary Syndromes. **International Journal of Cardiovascular Sciences**; 30(5):442-451, 2017.
- ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v. 14, p. 529-535, 1999.
- ANTONIADES, H. N. Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, p. 7314, 1981.
- ASSOIAN, R. K.; KOMORIYA, A.; MEYERS, C. A.; MILLER, D. M.; SPORN, M. B. Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification, and characterization. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 258, n. 11, p. 7155-7160, 1983
- BANKS, R. E.; FORBES, M. A.; KINSEY, S. E.; STANLEY, A.; INGHAM, E.; WALTERS, C.; SELBY, P. J. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. **British Journal of Cancer**, vol. 77, n. 6, p. 956-964, 1998.
- BARBALHO, S. M.; BECHARA, M. D.; QUESADA, K.; GABALDI, M. R.; GOULART, R. A.; TOFANO, R. J.; GASPARINI, R. G. Síndrome metabólica, aterosclerose e inflamação: tríade indissociável? **Jornal Vascular Brasileiro**; Doi: org/10.1590/1677-5449.04315 14(4):319-327; 2015.

BARBIERI, O. C. M.; RAMALHO, L. T. O.; COSTA, I. P. Efeito do fator de crescimento derivado de plaquetas humanas (pdgf) sobre o processo de regeneração óssea em tíbias de ratos (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Área Imunologia). **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”** Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. 97 f., 2006

BARRIENTOS, S.; STOJADINOVIC, O.; GOLINKO, M. S., BREM, H., CANIC, M. T. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair Regen Journal**, vol. 16, p. 585-601, 2008

BAKER, D. C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed. São Paulo: Roca, p. 172-173, 2007.

BAUER, E. A.; COOPER, T. W.; HUANG, J. S.; ALTMAN, J.; DEUEL, T. F. Stimulation of *in vitro* human skin collagenase expression by platelet-derived growth factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 82, p. 4132-4136, 1985.

BERGSTROM, J.; LINDHOLM, B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: an integrated point of view. **American Journal of Kidney Diseases**; 32(5):834-41, 1998.

BERNARDI, P. S. M.; MOREIRA, H. W. Análise dos traçados de ondas da agregação plaquetária em pacientes com doenças cardiovasculares em uso do ácido acetil salicílico comparados a doadores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 26(4), 239-244, Doi: org/10.1590/S1516-84842004000400003, 2004.

BITHELL, T. C. A fisiologia da hemostasia primária. **Revista Hematologia Clínica**. São Paulo: Manole, 1998a. v. 1, cap. 18, p.587-614

BLOCKMANS, D.; DECKMYN, H.; VERMYLEN, J. Platelet actuation. **Blood Reviews**, 9(3), 143–156. Doi: 10.1016/0268-960x(95)90020-9, 1995.

BOILARD, E.; NIGROVIC, P. A.; LARABEE, K.; WATTS, G. F.; COBLYN, J. S.; WEINBLATT, M. E. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. **Journal Science**. 327(5965):580-3, 2010.

BORGES, M. D.; AGUILLERA, A. H.; BRILHANTE, J. J.; CAIXETA A. Achados de microscopia eletrônica de varredura de trombo em enxerto de veia safena em paciente com infarto agudo do miocárdio. **Journal Einstein**; 11(3):398-9, 2013.

BROWN, G. L.; CURTSINGER, L.; BRIGHTWELL, J. R.; ACKERMAN, D. M.; TOBIN, G. R.; POLK, H. C.; GEORGE-NASCIMENTO, C.; VALENZUELA, P.; SCHULTZ, G. S. Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor. **The Journal of experimental medicine**, 163 (5), 1319-24, 1986.

BRUNNER, G.; NGUYEN, H.; GABRILOVE, J.; RIFKIN, D. B.; WILSON, E. L. Basic fibroblast growth factor expression in human bone marrow and peripheral blood cells. **Magazine Blood**, vol. 81, n. 3, p. 631–638, 1993

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD, Arquivos Brasileiros**, São Paulo, vol. 20, n.1, 2018.

Canadian Council on Animal Care (CCAC) - Guide to the Care and Use of Experimental Animals. **Conseil canadien de protection des animaux**, Vol. 1, 2nd Edition, ISBN: 0-919087-18-3, 1993.

CANALIS, E.; MCCARTHY, T. L.; CENTRELLA, M. Growth factors and cytokines in bone cell metabolism. **Annual Review of Medicine**, v. 42, p. 17-24, 1989.

CARVALHO, A. C. C.; SOUSA, J. M. A. Cardiopatia isquêmica. **Revista Brasileira de Hipertensão** 8: 297-305, 2001.

CARVALHO, A. C. A.; PEREIRA, E. S. C.; COSTA C.; BARRETO I. C.; MADUREIRA, L. C.; PAIM, F. R. Bioengineered tissue regenerative strategies and ethical aspects. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. ISSN 1677-5090, 2010.

CASTILLO, T. N.; POULIOT, M. A.; KIM, H. J.; DRAGOO, J. L. Comparison of Growth Factor and Platelet Concentration From Commercial Platelet-Rich Plasma Separation Systems. **American Journal of Sports Medicine**. 2011 Feb; 39 (2): 266-71. Doi: 10.1177/ 0363546510387517, 2010

CASTRO, C. H.; FERREIRA, B. L. A.; NAGASHIMA, T.; SCHUELER, A.; RUEFF, C.; CAMISASCA; SCOVINO, G.; BORGES, G.; LEAL, L.; FILGUEIRA, M.; PASCHOAL, M.; BOURGUINHON, P. B. V.; RODRIGUES, S.; RANGEL, C.; OLIVEIRA, S. D. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 5, p. 321-332, 2006.

CATTANEO, M. Is hyperhomocysteinemia an important risk factor of cardiovascular disease? **Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis** 33(5-6):345-7. Doi: 10.1159/000083826, 2003.

CHEN, F.-M.; ZHANG, M.; WU, Z. F. Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. **Jornual Biomaterials**, v. 31, p. 6279-6308, 2010.

CHEN, R.; JIN, G.; LI, W.; MCINTYRE, T. M. Epidermal Growth Factor (EGF) Autocrine Activation of Human Platelets Promotes EGF Receptor-Dependent Oral Squamous Cell Carcinoma Invasion, Migration, and Epithelial Mesenchymal Transition. **Journal Acta pathologica, microbiologica, immunologica**, 201(7):2154-2164, Doi: 10.4049/1800124, 2108.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada**, vol. 28, p 11-23, 2007

COCCO, R. Metabolismo das plaquetas. Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do Tecido Animal, **Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 7 p, 2016.

COHEN, S. Isolation of a Mouse Submaxillary Gland Protein Accelerating Incisor Eruption and Eyelid Opening in the New-born Animal. **The Journal of Biological Chemistry**, 237: 1555-1562; 1962.

COLLER, B. S.; ITALIANO, J. J. E.; SMYTH, S. S.; WHITEHEART, S. Platelet morphology, biochemistry and function. **Book Williams Hematology**. Ed. 8. The McGraw-Hills Companies, Inc. 2010.

CONCEIÇÃO, M. L.; ALVARENGA, M. L.; SOUZA, J. B.; MATTOS, L. H. L.; RODRIGUES, C. A.; WATANABE, M. J.; HUSSNI, C. A.; ALVES A. L. G. Plasma rico em plaquetas: estudo comparativo entre a dupla centrifugação e o filtro E-PET (Equine Platelet Enhancement Therapy). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Vol.37, n.3, pp.215-220; ISSN 0100-736X, 2017

COSTA, P. A.; SANTOS, P. Platelet-rich plasma: a review of its therapeutic use. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Doi: 10.21877/2448-3877.201600177; 2016

DEMIR, B.; DEMIRALP, B.; GÜNCÜ, G. N.; UYANIK, M. O.; CAĞLAYAN, F. Intentional replantation of a hopeless tooth with the combination of platelet rich plasma, bioactive glass graft material and non-resorbable membrane: a case report. **Journal Dental Traumatology**. v. 23, n. 3, p. 190-194, 2007.

DENIS, M. M.; TOLLEY, N. D.; BUNTING, M.; SCHWERTZ, H.; JIANG, H.; LINDEMANN, S. Escaping the nuclear confines: signal-dependent premRNA splicing in anucleate platelets. **Magazine Cell**. 122(3):379-91; 2005.

DeROSSI, R. L.; COELHO, A. C. A. O.; MELLO, G. S.; FRAZÍLIO, F. O.; LEAL, C. R. B.; FACCO, G. G.; BRUM, K. B. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. **Acta Cirurgica Brasileira**, 24(4), 276-281. Doi.org/10.1590/S0102-86502009000400006; 2009.

DINIZ, M. F. F. M.; MEDEIROS, I. A.; SANTOS, H. B.; OLIVEIRA, K. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; AGUIAR, F. B.; TOSCANO, M. G.; RIBEIRO, E. A. N. Haematological and Biochemical Parameter Standardization of Swiss Mice and Wistar Rats. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, 171-176ISSN 1415-2177, 2006.

DOHAN, D. M.; CHOUKROUN, J.; DISS, A.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A. J. J.; MOUHYI, J.; GOGLY, B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, 101: E37-44, 2006.

DUGRILLON, A.; EICHLER, H.; KERN, S. et al. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v. 31, p. 615-619, 2002.

DUSSE, L. M. S. A.; MACEDO, A. P.; BATSCHAUER, A. P.; CARVALHO, M. G. Plasma rico em plaquetas (PRP) e sua aplicação em Odontologia. **Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC)**, v. 40, n.3, p.193-197, 2008.

EHRENFEST, D.; RASMUSSEN, L.; ALBREKTSSON, T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). PMID: 19187989. **Trends in Biotechnology Publishes**. 2009 Mar;27(3):158-67. Doi: 0.1016/j.tibtech.2008.11.009, 2009

EPPLEY, B. L.; WOODILL, J. E.; HIGGINS, J. B. S. Platelet Quantification and Growth Factor Analysis from Platelet-Rich Plasma: Implications for Wound Healing. **American Society of Plastic Surgeons**; Vol.114, pp 1502-1508. 2004

EVERTS, P. A.; KNAPE, J. T.; WEIBRICH, G.; SCHÖNBERGER, J. P.; HOFFMANN, J.; OVERDEVEST, P. E.; CAIXA, H. Á.; VAN ZUNDERT, A. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. **The Journal of the American Society of Extra-Corporeal Technology**. v. 38, p. 174-187. PMID: 16921694, 2006.

FALCÃO, F. J. A.; CARVALHO, L.; CHAN, M.; ALVES, C. M. R.; CARVALHO, A. C. C.; CAIXETA, A. M. Receptores plaquetários P2Y12: importância na intervenção coronariana percutânea. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 101(3), 277-282. Epub, 2013.

FÁTIMA, L. A.; PAPA, P. C. Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF): regulação transcricional e pós-transcricional. **Revista da Biologia**. ISSN 1984-5154, Doi: 10.7594/revbio; 2010.

FERRARI, M.; ZIA, S.; VALBONESI, M.; HENRIQUET, F.; VENERE, G.; SPAGNOLO, S.; GRASSO, M. A.; PANZANI, I. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. **Journal of Artificial Organs**. Jan;10(1):47-50. PMID:3570542,1987.

FERREIRA, V. B. C.; BOMFIM, M. R. S.; ANDRADE, L. A. Protocolo Para Obtenção do Plasma Rico em Plaquetas de Cães. Tese (Mestrado em Ciência Animal - Fisiopatologia Médica e Cirúrgica). **Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"** Faculdade de Medicina Veterinária Campus de Araçatuba. 52 f., 2012.

FORTIER, L. A.; BARKER, J. U.; STRAUSS, E. J.; McCARREL, T. M.; COLE, B. J. The role of growth factors in cartilage repair. **Journal Clinical Orthopaedics and Related Research**, vol. 489, n.10, p. 2706-2715, 2011.

FREDRIKSSON, L.; ERIKSSON, H. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoformas. **Journal Science Direct**, vol. 15, Pages 197-204, Doi: 10.1016/j.cytogfr; 2004.

FRIESEL, R. E.; MACIAG, T. Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction. **The FASEB Journal**. 9:919–25; 1995.

FUCHS, A. M. M. C.; ALMEIDA, D. D.; FIALHO, F. P.; PERIM, G. C.; RUSTUM, M. D. Intrastent Thrombosis and Clopidogrel Resistance in Diabetic Patients. *Revista Brasileira de Cardiologia*; 26(1):58-61, 2013.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**. Nov 27;288 (5789):373-6.45,1980.

FURCHGOTT, R. F.; CARVALHO, M. H.; KHAN, M. T.; MATSUNAGA, K. Evidence for endothelium dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. **Blood Vessels**, 24(3):145-9, 1987.

GACHET, C.; CATTANEO, M.; OHLMANN, P.; HECHLER, B.; LECCHI, A.; CHEVALIER, J.; CASSEL, D.; MANNUCCI, P. M.; CAZENAVE, J. P. Purinoceptors on blood platelets: further pharmacological and clinical evidence to suggest the presence of two ADP receptors. **British Journal of Haematology**, Doi: org/10.1111/j.1365-2141.1995.tb05319, 1995.

GIEMSA: corante. Doles Reagentes e Equipamento para Laboratórios Ltda. CNPJ: 01.085.513/0001-05. Rodovia BR 153, Km 493, Lt.07 Chácara Retiro, Conjunto Palmares. CEP: 74775-027 Goiânia/ GO/ Brasil. Disponível em: <<http://www.doles.com.br/produtos/instrucoes/GIEMSA.pdf>> Acesso em: 18 junho 2019.

GODEAU, B.; PROVAN, D.; BUSSE, J. Immune thrombocytopenic purpura in adults. **Current Opinion in Hematology - Journals**, 14:535-56, 2007.

GONÇALVES, M. C. “Long-lasting effect of nitric oxide on platelet aggregation”. 99 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2012.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Patologia clínica veterinária: texto introdutório. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 342 p. CDD 636.089607, 2008.

HAGBERG, C. E.; FALKEVALL, A.; WANG, X.; LARSSON, E.; HUUSKO, J.; NILSSON, I.; VAN MEETEREN, L. A.; SAMEN, E.; LU, L.; VANWILDEMEERSCH, M.; KLAR, J.; GENOVE, G.; PIETRAS, K.; STONE-ELANDER, S.; CLAEISSON-WELSH, L.; YIA-HERTTUALA, S.; LINDAHL, P.; ERIKSSON, U. Vascular endothelial growth factor B controls endothelial fatty acid uptake. **Nature**, 464: 917-921, 2010

HEBA, I.; GAWDAT, A. M.; TAWDY, R. A.; HEGAZY, M. M.; ZAKARIA, R.; ALLAM, S. Autologous platelet-rich plasma versus readymade growth factors in skin rejuvenation: A split face study. **Journal of Cosmetic Dermatology** 16:2, pages 258-264, 2017.

HELDIN, C. H.; WESTERMARK, M. Mechanisms of action an *in vivo* role of platelet-derived growth factor. **Physiological Reviews**. 79:1283–1316; 1999.

HOELZ, L. V. B.; FREITAS, G. B. L.; TORRES, P. H. M.; FERNANDES, T. V. A., ALBUQUERQUE, M. G.; SILVA, J. F. M.; PASCUTTI, P. G; ALENCASTRO; R. B. G-protein coupled receptors. **Revista Virtual de Química**. v. 5, n. 5; Doi: 10.5935/1984-6835.20130071; 2013.

HOURLANI, S. M.; HALL, D. A. Receptors for ADP on human blood platelets. Apr;15(4):103-8. Doi: 10.1016/0165-6147(94)90045-0, 1994

HOM, D. B.; MAISEL, R. H. Angiogenic growth factors: Their effects and potential in soft tissue wound healing. **Annals of Otology, Rhinology, and Laryngology**, 101:349–54, 1992.

HUANG, T. Y.; LIN, Y. H.; CHANG, H. A.; YEH, T. Y.; CHANG, Y. H.; CHEN, Y. F.; CHEN, Y. C.; LI, C. C.; CHIU, W. T. STIM1 Knockout Enhances PDGF-Mediated Ca²⁺ Signaling through Upregulation of the PDGFR-PLCγ-STIM2 Cascade. **International Journal of Molecular Sciences**, 19(6), 1799. Doi: 10.3390/ijms19061799; 2018.

IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNS, R. E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 84(24):9265-9, 1987.

ITALIANO J. J. E.; LECINE, P.; SHIVDASANI, R. A.; HARTWIG, J.H. Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. **The Journal of Cell Biology**. v. 147, n. 6, p. 1299-1312, 1999

JAIN, N. C. The platelets. In: JAIN, N. C. **Book Essentials of Veterinary Hematology**. 1^a ed. Malvern, Pennsylvania: Lea & Febiger, p 105-132. 1993

JADHAV, G.; SHAH, N.; LOGANI, A. Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. **Journal Endodontics** Dec; 38(12):1581-7, 2012.

JOÃO, C. Artigo de Revisão: Doença de von Willebrand. **Revista Medicina Interna**. Vol. 8, N. 1, 2001.

KAJIHARA, M.; OKAZAKI, Y.; KATO, S.; ISHII, H.; KAWAKAMI, Y.; IKEDA, Y.; KUWANA M. Evaluation of platelet kinetics in patient with liver cirrhosis: similarity to idiopathic thrombocytopenia púrpura. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**; v 22, p 112-118, 2007.

KANAYAMA, R. H. Agregação plaquetária: manual de procedimento técnico ALABO. PR. TE. 008. **Hospital Israelita Albert Einstein**, São Paulo, 5 p., 2003.

KAPLAN, D. R.; CHAO, F. C.; STILES, C. D.; ANTONIADES, H. N.; SCHER, C. D. Platelet alpha granules contain a growth factor for fibroblasts. **Magazine Blood**, vol. 53, n. 6, p. 1043–1052, 1979

KAREY, K. P.; SIRBASKU, D. A. Human platelet-derived mitogens. II. Subcellular localization of insulinlike growth factor I to the alpha-granule and release in response to thrombin. **Magazine Blood**, v. 74, n. 03, p. 1093–1100, 1989

KATAOKA, K.; AKAIKE, T.; SAKURAI, Y.; TSURUTA, T. Effect of Charge and Molecular Structure of Polyion Complexes on the Morphology of Adherent Blood Platelets. **Journal Macromolecular Chemistry**, 179, 1121-1124, 1978.

KECELI, H. G.; SENGUN, D.; BERBEROGLU, A.; KARABULUT, E. Use of platelet gel with connective tissue grafts for root coverage: a randomized-controlled trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, p. 255-262, 2008.

KEYV, S. V.; JACOBSON, M. S. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. **The Journal of Extra-corporeal Technology**, 36:28-35. PMID: 15095838, 2004.

KNOLL, J. S.; ROWELL, S. Clinical hematology in clinic analysis, quality control, reference values and system selection. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v.26, n.5, p.981-1002, 1996.

KON, E.; FILARDO, G.; DELCOGLIANO, M.; PRESTI, M. L.; RUSSO, U. M.; BONDI, A.; DI MARTINO, U. M.; CENACCHI, U. M.; FORNASARI, P. M.; MARCACCI, M. Platelet-rich plasma: New clinical application. A pilot study for treatment of jumper's knee. **Injury**; 40(6):598-603, 2009

KRETTLI, W. S. C.; MOTA, B. C.; ANDRADE G. H. A.; GONTIJO, J.; SILVA, J. S.; LOPES, J. H. M.; LAFETÁ, L.; BRANDÃO, L. I.; ALVES, L.; SILVA, R. P. Púrpura trombocitopênica idiopática: etiopatogênese, diagnóstico e tratamento em adultos. **Revista Médica Minas Gerais**, 21 (04 Supl 6): S1-S143; 2011.

KUSHIDA, S.; KAKUDO, N.; MORIMOTO, N.; HARA, T.; OGAWA, T.; MITSUI, T.; KUSUMOTO, K. Platelet and growth factor concentrations in activated platelet-rich plasma: a comparison of seven commercial separation systems. **Journal of Artificial Organs**. Vol. 17, Pages 186-192. Doi: org/10.1007/s10047-014-0761-5, 2014

LACOSTE, E.; MARTINEAU, I. Gagnon G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. **Journal Periodontol**, 74:1498–507, 2003.

LANDESBERG, R.; ROY, M.; GLICKMAN, R. S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**; Vol. 58, Issue 3; Pages 297-300, 2000.

LANDI, E. P.; MARQUES J. J. F. C. Caracterização da ativação plaquetária nos concentrados de plaquetas por citometria de fluxo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 1, p. 39-46, Mar. 2003

LENHARO, A.; COSSO, F.; MAGALHÃES, D.; PONTUAL, M. A. B.; MAGINI, R. S. Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Fatores de Crescimento – **Pesquisas Científicas à Clínica Odontológica**. 1ª ed. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda. p. 59-64, 165-185, 2004.

LIAO, J. K.; BETTMANN, M. A.; SANDOR, T.; TUCKER, J. I.; COLEMAN, S. M.; CREAGER, M. A. Differential impairment of vasodilator responsiveness of peripheral resistance and conduit vessels in humans with atherosclerosis. **Circulation Research**, 68(4):1027-34; 1991.

LIMA, C. M.; LIMA, A. K.; MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; LEITE, B. L. S.; SERAFINI, M. R.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**, vol. 10, num. 03. ISS: 034601; 2014.

LIEBERMAN, J. R.; DALUISKI, A.; EINHORN, T. A. The role of growth factors in the repair of bone. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 84-A, n. 6, p. 1032-1044, 2002.

LINS, C. F. A Aplicação de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em Lesões Musculoesqueléticas – Revisão de Literatura. **Rev. News: Artigos Cetrus**; ano VI, ed. 57, jul., 2014.

LÓPEZ, C.; GIRALDO, C. E.; CARMONA, J. U. Evaluación de un método de doble centrifugación en tubo para concentrar plaquetas bovinas: Estudio celular. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, 44:109-115, 2012.

LÖSCHE, W.; REDLICH, H.; KRAUSE, S.; HEPTINSTALL, S.; SPANGENBERG, P. Activation of leukocytes in whole blood samples by N-formyl-methionyl-leucyl-

phenylalanine (FMLP) enhances platelet aggregability but not platelet P-selectin exposure and adhesion to leukocytes. **Journal Platelets**, 9(3-4):219-21, Doi: 10.1080/09537109876726, 1998.

LUCARELLI, E.; FINI, M.; BECCHERONI, A. GIAVARESI, G.; DI BELLA, C.; ALDI, N. N.; DONATI, D. Stromal stem cells and platelet-rich plasma improve bone allograft integration. **Journal Clinical Ortop Relat**, n. 435, p.62-68, 2005.

MAIA, L.; SOUZA, M. V.; ALVES, G. E. S.; RIBEIRO, J. J. I.; OLIVEIRA, A. C.; SILVA, Y. F. R. S.; ZANDIM, B. M. Plasma rico em plaquetas no tratamento de tendinite induzida em equinos: avaliação ultra-sonográfica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29(3):241-245, 2009.

MAIA, L.; SOUZA, M. V. Componentes ricos em plaquetas na reparação de afecções tendo-ligamentosas e osteo-articulares em animais. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n.04, p. 1279-1286, 2009.

MACEY, M.; AZAM, U.; MCCARTHY, D.; WEBB, L.; CHAPMAN, E. S.; OKRONGLY, D.; ZELMANOVIC, D.; NEWLAND, A. Evaluation of the Anticoagulants EDTA and Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole (CTAD) for Assessing Platelet Activation on the ADVIA 120 Hematology System. **Journal Hematology Clinical Chemistry** 48:6, 48, No. 6, 2002.

MACHADO, L. L. C. Modificação do método de Wright para coloração de esfregaços sanguíneos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 33: 41-43, 1973

MAHALUÇA, F. A. Estatística aplicada. **Statistic and MSc in Health Sciences**, vol.: 02, 2016.

MARQUES, C. P. M.; LEITE, T. S. E. Cuidados nos pacientes com hemofilia e doença de von Willebrand na cirurgia eletiva otorrinolaringológica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringo**; l.V.69, n.1, 40-6, 2003.

MARQUES, A. P. L.; BOTTEON, R. C. C. M.; CORDEIRO, M. D.; MACHADO, C. H.; BOTTEON, P. T. L.; BARROS, J. P. N.; SPÍNDOLA, B. F. Padronização de técnica manual para obtenção de plasma rico em plaquetas de bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 34(Supl.1):1-6, Doi: 10.1590/S0100-736X2014001300001, 2014.

MARLOVITS, S.; MOUSAVI, M.; GÄBLER, C.; ERDÖS, J.; VÉCSEI, V. A new simplified technique for producing platelet-rich plasma: a short technical note. **European Spine Journal**, v. 13, p. 102-106, 2004.

MARTIN, P.; HOPKINSON-WOOLLEY, J.; MCCLUSKY, J. Growth factors and cutaneous wound repair. **Progress in Growth Factor Research**, 4:25-44; 1992.

MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUSS, J. E.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v.85, n.6, p.638-646, 1998.

MARX, R. E. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? **Journal Implant Dentistry**, v.10, n. 4, p.225-228, 2001.

MARX, R. E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, v.62, n.4, p.489-496, 2004.

MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; SERAFINI, M. R. ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*, vol. 8, n° 4, PMID: 049903-1, 2012.

MCKENZIE S. B.; WILLIAMS, L. Clinical Laboratory Hematology. **Book Publisher Pearson Education**; 03 edition; Boston, United States. ISBN13 9780133076011; 2014.

MEHTA, S.; WATSON, J. T. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. **Journal of Orthopaedic and Trauma**; v. 22, n. 06, p. 433-438, 2008.

MISHRA, A.; PAVELKO, T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. **American Journal of Sports Medicine**; 34:1774–1778. PMID: 16735582, 2006

MISHRA, A.; TUMMALA, P.; KING, A.; LEE, B.; KRAUS, M.; TSE, V.; JACOBS, A. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. **Journal Tissue Engineering**, v. 15, n. 3, p. 431-435, 2009.

MONTEIRO, B. S.; DEL, C.; JUNQUEIRA, R.; ARGÔLO, N.; MARTINS, N.; BONFÁ, L. P.; VARGAS, V. M.; NEVES, C.D.; CARVALHO, P. H.; & BRITO, A. F. S. Contribuição do plasma rico em plaquetas na reparação óssea de defeitos críticos criados em crânios de camundongos. **Revista Ciência Rural**, 1590-1596, 2010

MORENO, A.; MENKE, D. Assessment of platelet numbers and morphology in the peripheral blood smear. **Clinics in Laboratory Medicine**, 22(1), 193–213. Doi: 10.1016/s0272-2712(03)00072-6, 2002.

MURPHY, S.; GARDNER, F. H. Maintenance of platelet viability and functional integrity during storage, **Vox Sang**, 20(5):427-8, 1971.

MUSTARD, J. F.; PACKHAM, M. A. Factors influencing platelet function — adhesion, release and aggregation. **Journal Pharmacol**, 22(3): 97-187, 1970.

NIN, J. R.; GASQUE, G. M.; AZCARATE, A. V.; BEOLA, J. D.; GONZALEZ, M. H. Has platelet-rich plasma any role in anterior cruciate ligament allograft healing? **Journal Artroscopia**. nov; 25 (11): 1206-13, 2009

NIKIL, K. J.; GULATI, M. Platelet-rich plasma: a healing virtuoso. **Blood research**, vol. 51, 1: 3-5, 2016

NUNES, J. F.; SOARES, J. O.; ALVES, M. A. P. Micro-buffy coats of whole blood: a method for the electron microscopic study of mononuclear cells. **Stain Technology**, sep;54(5):257-60,1979.

OBARRIO, J. J.; ARAÚZ-DUTARI, J. I.; CHAMBERLAIN, T. M.; CROSTON, A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology – case reports. **International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v.20, n.5, p.487-497, 2000.

OLIVEIRA, I.; GIRÃO, M. J. B.; MISAKO, C.; SAMPAIO, U.; OLIVA, M. L. V.; ANDRADE, S. S. Plaquetas: Papéis tradicionais e não tradicionais na hemostasia, na inflamação e no câncer. **ABCS Health Scienses Journal**, 38(3):153-161. Doi: 10.7322/abcshs.v38i3.21, 2013.

PALLUA, N.; WOLTER, T.; MARKOWICZ, M. Platelet-rich plasma in burns. **Burns Journal- Elsevier**, v. 36, p. 4-8, 2010.

PALMER, L. C.; BRIGGS, S.; MCFADDEN, G.; ZINI, J.; BURTHEM, G.; ROZENBERG, M.; PROYTCHIEVA, S.; MACHIN, J. "ICSH Recommendations for the Standardization of Nomenclature and Grading of Peripheral Blood Cell Morphological Features." **International Journal of Laboratory Hematology** 37, no. 3, Doi: 10.1111/ijlh.12327, 2015

PANÓTICO: corante Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. CNPJ: 76.619.113/0001-31. Rua Cassemiro de Abreu, 521. CEP. 83.321-210 Pinhais/PR/ Brasil Disponível em: <<http://www.interlabdist.com.br/dados/produtos/bula/doc/>> Acesso em: 18 junho 2019

PARK, J. J.; SIDENTOP, K. H.; CHUNG, S.; SANCHEZ, B.; BHATTACHARYYA, T. Comparison of the bonding power of various autologous fibrin tissue adhesives. **American Journal Otology**, vol. 18, n. 5, p. 655-659, Sept. 1997.

PAZZINI, J. M.; NARDI, A. B.; HUPPES, R. R.; GERING, A. P.; FERREIRA, M. G. P.A.; SILVEIRA, C. P. B.; LUZZI, M. C.; OLIVEIRA, J. A. Utilização de plasma rico em plaquetas para estimulação da angiogênese em flape de padrão axial toracodorsal em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 108-118, 2016.

PEREIRA, R. C. F.; ZACARIAS, G. V. F.; CANTARELLI, C.; CORRÊA, M. M. B.; SILVA, G. B. B.; ANNA, L. T.; BRASS, K. E.; CÔRTE, F. D. L. Avaliação de sete protocolos para obtenção de plasma rico em plaquetas na espécie equina. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria, v.43, n.6, p.1122-1127. ISSN 0103-8478, 2013.

PEREZ, A. G. M; SANTANA, M. H. A. Preparação, modulação, encapsulação e liberação controlada de plasma rico em plaquetas para aplicação em terapia regenerativa (Tese de Doutorado), "**Universidade Estadual de Campinas**". Faculdade de Engenharia Química, F. 231, REPOSIP/266597, 2013.

PIERCE, G. F.; MUSTOE, T. A.; ALTROCK, B. W.; DEUEL, T. F.; THOMASON A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. **Journal Cellular Biochemistry**. 45:319–26, 1991.

POCHINI, A. C.; ANTONIOLI, E.; BUCCI, D. Z.; SARDINHA, L. R.; ANDREOLI, C. V.; FERRETTI, M.; EJNISMAN, B.; GOLDBERG, A. C. Análise do perfil de citocinas e fatores de crescimento em plasma rico em plaquetas obtido por meio das metodologias do sistema aberto e colunas. Cohen, M. **Revista Einstein**. PMC5234752; Doi: 10.1590/S1679-45082016AO3548. 2016.

PURI, R. N.; COLMAN, R. W. ADP-induced platelet activation. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, 32(6):437-502; Doi: 10.3109/10409239709082000, 1997.

RAICA, M; CIMPEAN, A. M. Platelet-derived growth factor (PDGF)/PDGF receptors (PDGFR) axis as target for antitumor and antiangiogenic therapy. **Journal Pharmaceuticals**. 3: 572–599. Doi: 10.3390/ph3030572; 2010.

RIEDEL, K.; RIEDEL, F.; GOESSLER, U. R.; HOLLE, G.; GERMANN. G.; SAUERBIER, M. Current status of genetic modulation of growth factors in wound repair (review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 17, p. 183-193, 2006.

RODAK, B. F; FRITSMAN, G. A.; KEAOHANE, E. M. Hematology: Clinical Principles and Applications, **Saunders**, 4th ED., St Louis, 2012.

ROSS, R.; GLOMSET, J.; KARIYA, B.; HARKER, L. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 71(4):1207–1210. Doi: 10.1073/pnas.71.4.1207, 1974.

ROSS, R. Platelet-derived growth factor. **Annual Review of Medicine**, v. 38, p. 71-79, 1987.

ROSENTHAL, A. R.; HARBURY, C.; EGBERT, P. R.; RUBENSTEIN, E. Use of a platelet-fibrinogen-thrombin mixture as a corneal adhesive: experiments with sutureless lamellar keratoplasty in the rabbit. *Invest Ophthalmol*, 14:872–5, 1975.

SALDALAMACCHIA, G.; LAPICE, E.; CUOMO, V.; DEFEOMEB, L.; D'AGOSTINO, E.; RIVELLESE, A. A.; RICCARDI, G.; VACCARO, O. Uso del gel di piastrine autologo per la cura delle ulcere del piede diabetico. **Giornale Italiano di Diabetologia Metabolismo**, v. 24, p. 103-105, 2004.

SAMPSON, S.; GERHARDT, M.; MANDELBAUM, B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. **Review Musculoskeletal Medicine**, 1:165–174, 2008.

SANCHEZ, M.; ANITUA, E.; AZOFRA, J.; ANDÍA, I.; PADILLA, S.; MUJICA, I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. **American Journal of Sports Medicine**, 35:245–251. 2007

SECCHI, P. **Bioquímica dos conservantes sanguíneos**, 2010. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/conservantes_secchi.pdf> Acessado em 19 junho de 2019.

SCHWEIRGERT, A.; REZENDE, H. F.; FANTONI, D. T.; MOROZ, L. R. Evaluation of platelet count by automatic blood counter QBC Vet Autoread® compared with blood smear estimative and count by hemocytometer. **Revista Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1001-1008, 2010.

SEIDEL, S. R. T. Correlação entre concentrações plaquetárias e de fator de crescimento TGF- β presente no plasma rico em plaquetas de equinos. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2017.

SEHGAL, S.; STORRIE, B. Evidence that differential packaging of the major platelet granule proteins von Willebrand factor and fibrinogen can support their differential release. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, Doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02698, 2007.

SEMPLE, J. W.; ITALIANO J. J. E.; FREEDMAN, J. Platelets and the immune continuum. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, p. 264-274, 2011.

SEOANE, O. A.; MONSREAL, G. C.; CATALÁN, J. M. A.; OBREGÓN, A. D.; ÁNGEL, S. T. Atlas de Hematologia Abbott. Gráfica E.C.S.A. - Abott Lab. México S.A.; vol. 1, Ed. 1. ISSN 1666-7174, 2002

SHARKEY, A. M.; DAY, K.; MCPHERSON, A.; MALIK, S.; LICENCE, D.; SMITH, S. K.; CHARNOCK-JONES, D. S. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 85, 402-409, 2000.

SHIN, H. S.; WOO, H. M.; KANG, B. J. Optimisation of a double-centrifugation method for preparation of canine platelet-rich plasma. **BMC Veterinary Research Journal**. Vol 01. London. ISSN: 1746-6148, 2017.

SIERRA, D. H. S. Fibrin sealant adhesive systems: a review of their chemistry, material properties and clinical application. **Journal of Biomaterials Applications**, Vol. 7, issue 4, april, p 309-352; 1993.

SILVA, P. F. N.; BALARIN, M. R. S.; MARUCHI, H. P.; FLAIBAN, K. K. M. C.; MOROZ, L. R. Correlação entre o hemocítômetro e outras técnicas de rotina para a contagem do número de plaquetas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (H.V.-UEL). **Semina: Ciências Agrárias**, 28(4), 659. Doi:10.5433/1679-0359.2007v28n4p659, 2007.

SILVA, L. L.; D'AMICO, E. A. Estudo comparativo entre agregação plaquetária por turbidimetria e impedância elétrica em pacientes sob terapia antiplaquetária à base de ácido acetilsalicílico. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 32(6), 463-468. Doi.org/10.1590/S1516-84842010000600010, 2010.

SILVER, F. H.; WANG M. C.; PINS D. G. Preparation and use of fibrin glue in surgery. **Journal Biomaterials**, 891-9030 1995 16, 1995.

SOARES, J. S.; BRITO, F. C. F.; PENA, F. M.; MESQUITA, E. T.; MEDINA-ACOSTA, E. Pharmacogenetic Aspects Associated with Anti-Platelet Therapy Resistance in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Revista Brasileira de Cardiologia*; 23(2):131-142, 2010.

SONNLEITNER, D.; HUEMER, P.; SULLIVAN, D. Y. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v. 15, p. 879-882, 2000.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, 2ª edição, Rio de Janeiro, 215, 218, 225, 701, 744 p., 2011.

SZACHOWICZ, E. H. Facial bone wound healing. An overview. **Otolaryngologic Clinics of North America**. vol.28, p. 865-880, 1995.

TAKAHASHI, T.; OGASAWARA, T.; ASAWA, Y.; MORI, Y.; UCHINUMA; TAKATO, E.; HOSHI, K. Three-dimensional microenvironments retain chondrocyte phenotypes during proliferation culture. **Tissue Engineering**, vol. 13, p. 1583-1592, 2007.

VANNI, D. S.; HORSTMANN, B.; BENJO, A. M.; DAHER, J. P. L.; KANAAN, S.; SLEIMAN, M. Óxido nítrico: inibição das plaquetas e participação na formação do trombo. **Jornal Brasileiro de Patologia Medica Laboratorial**, vol. 43, n3, p.181-189; 2007.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 31, n. 1, p. 24-28, 2006.

VENDRAMIN, F.S.; FRANCO, D.; FRANCO, T.R. Methods to obtain autologous platelet-rich plasma gel. **Rev. Bras. Cir. Plástica**. Vol. 24, n 2; 24(2):212-218; 2009.

VENDRUSCOLO, C. P.; CARVALHO, A. M.; MORAES, L. F.; MAIA, L.; QUEIROZ, D. L.; WATANABE, M. J, YAMADA, A. L.; ALVES, A. L. G. Avaliação da eficácia de diferentes protocolos de preparo do Plasma Rico em Plaquetas para uso em Medicina Equina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 2, p. 106-110, 2012.

Vidraria de laboratório/ técnica de esfregaço. Disponível em: <<http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/tecnica-esfregaco-sanguineo>> Acesso em: 07 de julho de 2019.

VIEIRA, Â.; BARBOSA, R.; MENEZES, F.; MALAGUTTI, W. Y; NOGUEIRA, R. Eficácia do citrato como anticoagulante na hemodiálise veno-venosa contínua com ciclo de 60 horas em unidade de terapia intensiva. **ConScientiae Saúde**, 9 (2): 187-193, 2010

WANG, J. S. Basic fibroblastic growth factor for stimulation of bone formation in osteoinductive or conductive implants. **Acta Orthopaedica Scandinavica**. ;269:1–33; 1996.

WANG, H.-L.; AVILA, G. Platelet rich plasma: myth or reality? **European Journal of Dentistry**, v. 01, p. 192-193, 2007.

WEICKHARDT, A. J.; WILLIAMS, D. S.; LEE, C. K.; CHIONH, F.; SIMES, J.; MURONE, C.; WILSON, K.; PARRY, M. M.; ASADI, K.; SCOTT, A. M.; PUNT, C. J.; NAGTEGAAL, I. D.; PREÇO, T. J.; MARIADASON, J. M.; TEBBUTT, N. C. Vascular endothelial growth factor D expression is a potential biomarker of bevacizumab benefit in colorectal cancer. **British Journal of Cancer**, 113, pages37–45, 2015.

WEIBRIC, G; BUCH, R. S.; KLEIS, W. K.; HAFNER, L.; HITZLER, W. E.; WAGNER, W. Quantification of thrombocyte growth factors in platelet concentrates produced by discontinuous cell separation. **Journal Factor Growth**, London, v.20, n.2, p.93-97, 2002.

WENDLAND, A. E; FARIAS, M. G.; MANFROI, W. C. Volume plaquetário médio e doença cardiovascular. **Jornal Brasileiro de Patologia Medica Laboratorial**. Vol 45; n. 5; p. 371-378; 2009.

WHITE, J. A. Current Concepts of Platelet Structure. **American Society of Clinical Pathologists**. p. 363-378, 1979.

WHITMAN, D. H.; BERRY, R. L.; GREEN, D. M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v. 55, p. 1294-1299, 1997.

WEISS, D. J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. **Blackwell Publishing**, 6th ed. 1232p. 2010.

WISE, L. M.; INDER, M. K.; REAL, N. C.; STUART, G. S.; FLEMING, S. B.; MERCER, A. A. The vascular endothelial growth factor (VEGF)-E encoded by Orf virus regulates keratinocyte proliferation and migration and promotes epidermal regeneration. **Cellular Microbiology**, 14:1376–1390, 2012.

YARDUMIAN, D. A.; MACKIE, I. J.; MACHIN, S. J. Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. **Journal of Clinical Pathology**, v. 39, p. 701-712, 1986.

YAZIGI, J.; JOÃO, A.; SANTOS, J. B. G.; XAVIER, B. R.; FERNANDES, M. A; VALENTE, S. G.; LEITE, V. M.I. Quantificação do número de plaquetas a partir de diferentes métodos de centrifugação em ratos da linhagem SHR. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 50(6), 729-738; Doi: org/10.1016/j.rboe.2015.10.008, 2015.

YEBRA, M.; PARRY, G. C.; STROMBLAD, S.; MACKMAN, N.; ROSENBERG, S.; MUELLER, B. M.; CHERESH, D. A. Requirement of receptor-bound urokinase-type plasminogen activator for integrin α v β 5-directed cell migration. **The Journal of Biological Chemistry**. 15;271(46):29393-9; 1996.

YUAN, S.; CHAN, H. C.; VOGEL, H.; FILIPEK, S.; STEVENS, R. C.; PALCZEWSKI, K. The Molecular Mechanism of P2Y₁ Receptor Activation. **Angewandte Chemie International Edition**, 55 (35): 10331-10335. Doi: 10.1002 / anie.201605147, 2006.

ZANDIM, B. M.; SOUZA, M. V.; MAGALHÃES, P. C., BENJAMIN, L. A.; MAIA, L.; OLIVEIRA, A. C.; PINTO, J. O.; RIBEIRO, J. J. Platelet activation: ultrastructure and morphometry in platelet-rich plasma of horses. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(1), 83–92. Doi: 10.1590/s0100-736x2012000100014, 2012.

ZUCKER, M. B. Platelet aggregation measured by the photometric method. *Methods Enzymol* 1989, (169):117-133.