

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

João Vicente Gonçalves Mucha

**EFEITO CLÍNICO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS, AUTÓLOGO
E HOMÓLOGO, EM GEL, NA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA EM
EQUINOS**

Santa Maria, RS
2022

João Vicente Gonçalves Mucha

EFEITO CLÍNICO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS, AUTÓLOGO E HOMÓLOGO, EM GEL, NA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA EM EQUINOS

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientador: Prof. PhD. Flávio Desessards De La Côte

Santa Maria, RS

2022

Mucha, João Vicente Gonçalves

EFEITO CLÍNICO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS, AUTÓLOGO E HOMÓLOGO,
EM GEL, NA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA EM EQUINOS /

João Vicente Gonçalves Mucha.- 2022.

41 p.; 30 cm

Orientador: Flávio Desessards De La Côte Coorientador: Roberta Carneiro da
Fontoura Pereira Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa

Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de PósGraduação em
Medicina Veterinária, RS, 2022

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo

autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central.
Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

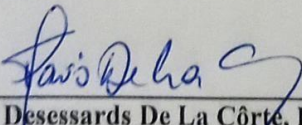
Declaro, JOÃO VICENTE GONÇALES MUCHA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

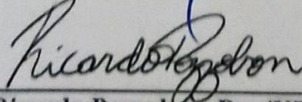
João Vicente Gonçalves Mucha

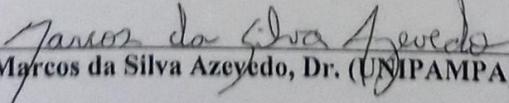
EFEITO CLÍNICO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS, AUTÓLOGO E HOMÓLOGO, EM GEL, NA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA EM EQUINOS

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovado em 10 de Março de 2022:


Flávio Desessards De La Côte, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Ricardo Pozzobón, Dr. (UFSM)


Marcos da Silva Azevedo, Dr. (UNIPAMPA)

Santa Maria, RS
2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai Walter Mendes Mucha (*in memoriam*), minha mãe Marília Mucha, à minha esposa Tássia Mello e ao meu filho Gonçalo Mello Gonçalves Mucha por me incentivarem, sendo minha inspiração e porto seguro. Para vocês todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pela saúde da minha família;

À Universidade Federal de Santa Maria, por minha formação;

Ao meu orientador, professor Flávio Desessards De La Côte, pela oportunidade, por todos os ensinamentos e contribuições transmitidos durante este período;

À minha co-orientadora, mentora e maior incentivadora desta pesquisa, professora Roberta Carneiro da Fontoura Pereira, pela confiança, amizade e todo o auxílio prestado durante o meu mestrado;

À equipe de colaboradores do grupo de Medicina Esportiva Equina da UFSM e estagiários do bloco 4, pelo auxílio na execução deste projeto;

À minha cunhada Esther Mello Dias da Costa e a minha colega de mestrado Letícia Bisso Paz, por embarcarem nesta jornada comigo e por contribuírem na execução deste projeto;

Ao Campo de Instrução de Santa Maria em especial ao amigo Major Jean Paul Santos Rocha por possibilitarem que este trabalho fosse realizado.

RESUMO

EFEITO CLÍNICO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS, AUTÓLOGO E HOMÓLOGO, EM GEL, NA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA EM EQUINOS

AUTOR: João Vicente Gonçalves Mucha
ORIENTADOR: Flávio Desessards De La Côte

Lesões cutâneas, principalmente em porções distais de membros fazem parte dos principais desafios em medicina equina, sendo suas resoluções custosas, com impactos tanto no indivíduo, reduzindo sua qualidade de vida, quanto econômicos, para os criadores e proprietários destes animais. Existem inúmeras pesquisas demonstrando o uso do plasma rico em plaquetas (PRP) e sua eficácia na cicatrização dessas lesões, porém nestas pesquisas utiliza-se o sangue do próprio animal a ser tratado, sendo o PRP realizado no mesmo momento da aplicação. Devido a realidade do Médico veterinário que trabalha a campo trazer barreiras para a realização deste processo, e a sua utilização depender de inúmeras aplicações, este estudo tem a finalidade de mensurar a viabilidade da utilização de sangue homólogo para a realização da aplicação do PRP a fim de facilitar a realização do processo. Os objetivos deste estudo foram avaliar através da macroscopia e microscopia o processo de cicatrização de feridas em equinos, tratadas por PRP autólogo e homólogo. Foram selecionados 6 equinos sendo que 5 animais foram submetidos à realização de feridas de forma cirúrgica, em cada animal foram realizadas três feridas, as quais foram tratadas com PPR autólogo, PRP homólogo e solução fisiológica. O 6º animal serviu de doador universal para o tratamento com PRP homólogo. Não houve diferença estatística na diminuição da área de lesão aos 15 e 30 dias de tratamento ($p > 0.05$), comparando todos os grupos, mesmo que visualmente os grupos tratados com as diferentes formas de PRP apresentavam-se menores que as do grupo controle. Quanto às avaliações macroscópicas nenhuma ferida apresentou secreção assim como indícios de infecção, nenhum animal apresentou também tecido de granulação exuberante. O PRP homólogo foi tão eficiente quanto o PRP autólogo na capacidade de aumentar a velocidade de cicatrização das feridas, permitindo uma cicatrização de qualidade muito semelhante e sem qualquer efeito adverso.

Palavras-chave: feridas cutâneas, plasma rico em plaquetas, cicatrização.

ABSTRACT

CLINICAL EFFECT OF PLATELET RICH PLASMA GEL, AUTOLOGOUS AND HOMOLOGOUS, ON SKIN HEALING IN HORSES

AUTHOR: João Vicente Gonçalves Mucha
ADVISOR: Flávio Desessards De La Côte

In equine medicine, cutaneous injuries, especially distal limb, are part of the main challenges and their resolutions involve high costs, with impacts both on the individual, reducing their quality of life, and economic, for the breeders and owners of these animals. There are numerous studies demonstrating the use of PRP and its effectiveness in the healing of these injuries, but in these studies the blood of the animal itself to be treated is used, and the PRP is performed at the same time of application. Due to the reality of the veterinarian who works in the field of bringing barriers to the implementation of this process, and its use depending on numerous applications, this study aims to measure the feasibility of using homologous blood to carry out the application of PRP in order to facilitate the completion of the process. The objectives of this study were to evaluate, through macroscopy and microscopy, the healing process of wounds in horses, treated with autologous and homologous PRP. Six horses were selected, 5 animals were submitted to surgical wounds, and in each animal three wounds were made, which were treated with autologous PPR, homologous PRP and saline solution, and the 6th animal served as a universal donor for the treatment with homologous PRP. There was no statistical difference in the reduction of the lesion area at 15 and 30 days of treatment ($p > 0.05$), even though visually the groups treated with the different forms of PRP were smaller than those of the control group. As for the macroscopic evaluations, no wound presented secretion as well as signs of infection, no animal also presented exuberant granulation tissue. Homologous PRP was as efficient as autologous PRP in its ability to increase wound healing speed, allowing healing of very similar quality and without any adverse effects.

Keywords: skin wounds, platelet-rich plasma, healing.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO

- FIGURE 1 - Performing regional anesthesia at the sites before performing the wounds.....24
- FIGURE 2 - Marking the lesion to be made (A), making the lesion (B) and the lesion already made (C.....25
- FIGURE 3 - Platelet Rich Plasma in ready-to-apply gel form.....26
- FIGURE 4 - Measurement of wound area, showing greater difference in PRP-treated groups in relation to the control group, being the group treated with homologous PRP the one that obtained a greater decrease in wound area.....28
- FIGURE 5 - Platelet concentrations in the first and second treatments.....30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	FERIDAS DE MEMBROS EM EQUINOS.....	12
2.1.1	Morfologia do tecido tegumentar	12
2.1.2	Cicatrização cutânea nos equinos	13
2.1.3	Utilização do software ImageJ na mensuração de feridas	14
2.2	PLASMA RICO EM PLAQUETAS	15
2.2.1	Obtenção de PRP	16
2.2.2	PRP na medicina veterinária	17
2.2.3	Utilização PRP gel	18
2.2.3	Utilização de PRP homólogo.....	18
3	ARTIGO	20
	Abstract	21
	Resumo	22
	Introduction	23
	Materials and Methods	24
	Results and Discussion	28
	Conclusions	32
	References	33
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
5	REFERÊNCIAS	36

INTRODUÇÃO

O plasma rico em plaquetas (PRP), é uma terapia alternativa para o tratamento de feridas cutâneas e em feridas crônicas (CARTER, 2003; DE ROSSI et al., 2009; PEREIRA et al., 2019). Devido a sua capacidade já comprovada de liberação dos fatores de crescimento, promove o recrutamento de outras plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas, que estimulam a angiogênese, neovascularização, permeabilidade vascular, aumento da síntese de colágeno e a proliferação de fibroblasto (MARX et al., 1998).

Desta forma, sendo utilizado como uma terapia regenerativa com diversos benefícios clínicos, o interesse pelo PRP cresceu nos últimos anos e o uso desta técnica se espalhou por diversas áreas como a odontologia (PETRUNGARO, 2001), medicina humana (ANITUA et al., 2005) e veterinária (TAMBELLA et al., 2018).

A utilização de PRP de um animal previamente selecionado por sua capacidade de concentração plaquetária e a utilização deste material para o tratamento de outros animais, além de garantir a deposição de um número mais constante de células e fatores de crescimento nas lesões, garantem também a facilidade de acesso do veterinário à obtenção deste material, podendo o mesmo identificar um animal com tal capacidade de ser um doador facilitando a coleta e processamento do plasma para a realização do tratamento em diversos pacientes.

O uso do PRP homólogo pode tornar-se extremamente útil também em animais debilitados, que estejam desidratados ou que sofreram um episódio recente de hemorragia e que necessitem deste tipo de tratamento, assim como em animais extremamente jovens (neonatos) que possuam um menor volume sanguíneo corpóreo, possibilitando assim mais segurança e qualidade na técnica utilizada. O objetivo deste estudo foi o uso do PRP homólogo em relação ao autólogo, e assim comprovar ou não a eficácia desta modalidade de PRP ainda pouco evidenciada na literatura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FERIDAS DE MEMBROS EM EQUINOS

Os equinos são animais extremamente susceptíveis a lesões de pele, principalmente quando mantidos em liberdade e em estruturas pouco seguras, como as que contém cercas de arame, por exemplo. Por serem animais excepcionalmente ativos, e por serem naturalmente presas, qualquer mudança no ambiente, sejam barulhos altos ou movimentação a qual não estão acostumados, costumam facilmente machucar-se nos obstáculos existentes e estranhos ao seu ambiente (NETO, 2003). Considerando a existência, no Brasil, de 1,1 milhões de animais no segmento de esportes e lazer, estima-se que a movimentação econômica do segmento atinge R\$ 5,84 bilhões. Avalia-se que neste rebanho apenas os gastos com medicamentos possam chegar à casa dos R\$200.000.000,00, sendo que uma parcela de 9% destes são medicamentos terapêuticos (LIMA E CINTRA, 2016). Assis-Brasil et al, 2015, verificaram que o tecido de granulação exuberante, o que geralmente ocorre pós traumas, foi a segunda maior causa de lesões de pele no sul do Brasil, o que corresponde a 11,4% dos casos de patologias de pele levantados pelo estudo.

A pele é o maior órgão do corpo, o qual possui uma grande população celular, com diferentes apresentações e comportamentos nas fases da cicatrização (JATANA e DELOUISE, 2014). A cicatrização nas regiões distais dos membros dos equinos caracteriza-se por difícil execução, principalmente por apresentarem uma menor retração tecidual, taxas mais lentas de epitelização, menor aporte sanguíneo, maiores chances de contaminação e formação de tecido exuberante (THEORET e WILMINK, 2013).

2.1.1 MORFOLOGIA DO TECIDO TEGUMENTAR

A pele é constituída por três tipos de tecidos, organizados em camadas, sendo as duas principais: a epiderme, mais superficial seguida da derme, mais profunda. A epiderme é composta por cinco camadas, sendo elas a germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. A granulosa é assim denominada pois suas células caracterizam-se pela presença de grande quantidade de grânulos, de tamanho e forma irregulares, compostos por querato-hialina. Já a camada lúcida é uma camada fina de células anucleares, mortas e completamente queratinizada, encontrando-se entre a granulosa e a camada córnea. A camada córnea é uma camada composta principalmente por células escamosas queratinizadas, responsável por uma

barreira física externa conferindo assim proteção contra traumas (JANATA e DE LOISE, 2014; THEORET e WILMINK, 2013).

A derme compreende uma grande quantidade de tecido conjuntivo. Nessa camada estão alojadas as estruturas anexas da pele, como as glândulas sudoríparas, os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e o músculo eretor do pelo, além de vasos sanguíneos, linfáticos e estruturas nervosas (HANSELKA, 1982). Sua camada mais superficial é chamada de zona papilar, e está intimamente relacionada à epiderme, sendo constituída por tecido conjuntivo frouxo, já sua camada mais profunda, zona reticular, é formada por tecido conjuntivo denso (DELMANN & BROWN, 1982). A derme é responsável por garantir maior firmeza para a epiderme e anexos, proporcionando uma grande força de tensão com as fibras colágenas e flexibilidade com as fibras elásticas. Suas camadas mais profundas misturam-se com o tecido subcutâneo, que apresenta-se frouxamente fixado à fáscia subjacente (PARKS, 1999).

2.1.2 CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA NOS EQUINOS

A cicatrização das feridas é um fenômeno fisiológico que inicia-se a partir da perda de integridade da pele, o que leva a uma solução de continuidade atingindo os planos subjacentes em diversos graus, e depende da interação de várias reações químicas. O evento de cicatrização é classicamente dividido em: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (FITCH e SWAIM, 1995).

A fase de coagulação ocorre logo após o surgimento da ferida, onde alguns fatores como proteínas adesivas, substâncias vasoativas, fatores de crescimento e proteases são imediatamente liberados ocasionando uma série de eventos nas fases restantes (TERKELTAUB e GINSBERG, 1998). Imediatamente dá-se início a fase inflamatória, assinalada por um aumento de permeabilidade dos capilares, vasodilatação, permitindo com que células de defesa, plaquetas e proteínas do sangue circulante cheguem até o foco da lesão, tal evento garante resistência e proteção à ferida (STASHAK, 2004).

Vários fatores de crescimento são liberados a partir dos α -grânulos presentes nas plaquetas, sendo alguns dos principais disponíveis o transformante beta 1 (TGF- β 1), derivado das plaquetas (PDGF), fibroblástico básico (bFGF), epitelial (EGF) e o endotelial vascular (VEGF) (ANITUA et al., 2012; RENZI et al., 2013). O TGF- β é um dos mais importantes fatores de crescimento para o processo de cicatrização cutânea, por auxiliar na angiogênese, quimiotaxia e proliferação celular. Adicionalmente, tanto essa proteína como o

PDGF estimulam a produção de colágenos, que são os principais componentes estruturais do tecido cicatricial maduro, sendo sintetizados por fibroblastos (YANG, et al., 2013).

A fase de proliferação é dividida em: re-epitelização, fibroplasia e neovascularização. Na primeira ocorre a migração de queranócitos dos anexos epiteliais quando a ferida é de espessura parcial e das margens epidérmicas quando feridas de espessura total. Diferentes fatores de crescimento fazem com que ocorra um aumento de mitoses e hiperplasia do epitélio (MANDELBAUM e SANTIS, 2003). A fibroplasia ocorre a partir de fibloblastos, estes são células mesenquimais diferenciadas que proliferam na região mais superficial da ferida. Ao mesmo tempo ocorrem formações de capilares por brotamento endotelial (STASHAK, 2004). A nutrição do tecido nesta fase é ocasionada pela neovascularização, fornecendo assim oxigênio e metabólitos (NETO, 2003).

O tecido de granulação é formado por vasos sanguíneos neoformados, fibroblastos e produtos de fibroblastos, incluindo o colágeno, elastina, fibronectina, proteases, glicosaminoglicano sulfatado, glicosaminoglicano não sulfatado e macrófagos (BERRY e SULLINS, 2003). Ao modo em que o fluxo sanguíneo e a oxigenação são alcançados no tecido lesado, o principal fator desencadeador da angiogênese é reduzido e a formação neovascular por sua vez também reduz (NETO, 2003).

Nas feridas que cicatrizam por granulação e fibroplasia, o fechamento ocorre por contração das paredes marginais da lesão. Esta ação é realizada pelos fibroblastos ativados, os quais se diferenciam para miofibroblastos, que são assim nominados porque contêm fibras intracelulares de actina e miosina que formam conexões especializadas com a matriz extracelular e outras células dentro da cavidade da lesão. A aproximação das margens da ferida é realizada pelos fibroblastos, fazendo com que as fibras de colágeno se sobreponham e se entrelacem. A granulação exuberante pode ocorrer quando esta fase não se dá por completa, produzindo contração insuficiente para fechar a ferida (STASHAK, 2004).

A fase final do processo cicatricial consiste na remodelação tecidual, onde a remodelação dos componentes do colágeno e matriz, como ácido hialurônico e proteoglicanas, persiste por um longo período após o fechamento do ferimento e é onde os elementos reparativos da cicatrização são transformados para tecido maduro de características bem diferenciadas (NETO, 2003).

2.1.3 UTILIZAÇÃO DO SOFTWARE IMAGEJ NA MENSURAÇÃO DE FERIDAS

A avaliação clínica e a mensuração macroscópica de feridas cutâneas são as metodologias mais comuns para estudos em cicatrização (LIMA et al., 2012). A avaliação morfométrica macroscópica, ou planimétrica, consiste na mensuração do diâmetro da ferida com o objetivo de se estabelecer um parâmetro de comparação entre a primeira medida e as demais medidas obtidas durante a evolução o processo cicatricial (CARDINAL et al., 2009).

A mensuração direta da ferida com instrumentos de precisão como Paquímetros, por haver contato do material de mensuração com a ferida, causa desconforto ao paciente durante a avaliação. Com isso, o método de mensuração de imagens por programas computacionais vem ganhando cada vez mais destaque. Neste método, denominado de morfometria digital, uma câmera digital é posicionada a uma distância fixa da ferida para a captura de imagens. Em seguida essas imagens são analisadas em um programa de mensuração de imagens. (CARDINAL et al., 2009).

A ferramenta ImageJ tem sido utilizada como forma de medição em diferentes imagens de cunho científico e médicas, inclusive alterações cutâneas (ARAGON-SANCHES et al., 2017). Jeffcoate et al. (2017) quantificaram a área de úlceras de pé de pessoas diabéticas utilizando o programa ImageJ. Entretanto, as imagens digitais não eram realizadas das fotografias das feridas, mas do traçado da borda da úlcera em acetato estéril. Este método utiliza folha com quadrados de grade e a área da lesão é determinada pela contagem dos quadrados. Porém, o cálculo da área não é suficientemente preciso, porque além de atribuir um formato retangular, atualmente a folha não possui quadriculados menores que 1,0 x 1,0 cm. Turin et al. (2018), compara a análise digital com os métodos tradicionais e afirma que essa fornece medidas mais confiáveis e precisas.

2.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS

A medicina regenerativa é uma importante modalidade terapêutica para tratar doenças degenerativas tanto em humanos como em animais. O seu principal objetivo é restaurar a arquitetura e proporcionar o correto funcionamento de uma célula (TERZIC et al., 2013).

O plasma enriquecido com plaquetas (também chamado de PRP), é obtido através de um processo de uma ou duas centrifugações, tendo como produto destas um plasma de reduzido volume e com contagem de plaquetas 3 vezes do que no sangue total (MALANGA

et al., 2014). Embora as plaquetas tenham um papel essencial na hemostasia, elas são fundamentais para mediar os efeitos anabólicos do PRP, em razão da liberação de fatores de crescimento contidos em seus α -grânulos. Nas fases iniciais da ferida as plaquetas ativadas atraem e estimulam migração celular, a qual forma uma matriz de fibrina, que serve como suporte para a liberação sustentada de fatores de crescimento e citocinas, que estimulam o recrutamento, diferenciação e deposição de matriz extracelular (SCHERER et al., 2012).

Os principais fatores de crescimento contidos nos grânulos plaquetários são: fator de crescimento derivado de plaqueta, (PDGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento vascular e endotelial (VEGF) e fator de crescimento semelhante a insulina (IGF) (ANITUA et al., 2005). Eles desempenham fundamental importância na reparação da cicatrização de tendões através de efeitos na proliferação, migração celular e síntese de colágeno (MOLLOY et al., 2003; DAHLGREN et al., 2002).

2.2.1 OBTENÇÃO DE PRP

A preparação do PRP inicia com a coleta de sangue periférico do paciente, onde este sangue é composto na sua fração sólida por 93% de glóbulos vermelhos, 6% de plaquetas e 1% de leucócitos. Após a coleta este sangue é submetido a um ou mais processos de centrifugação, com o objetivo de proporcionar uma maior concentração de plaquetas e diminuir o volume relativo de eritrócitos (SAMPSON et al., 2008).

São descritos inúmeros protocolos na literatura para obtenção de PRP, porém os protocolos que utilizam duas centrifugações são os que mostram um melhor resultado na concentração e integridade das plaquetas no PRP. Os protocolos em que se utilizam apenas uma centrifugação resultam normalmente em baixa concentração total de plaquetas e maior concentração dos outros constituintes do sangue (leucócitos e hemácias) (PEREIRA et al., 2013).

Considerando a concentração de plaquetas, leucócitos e hemácias em um determinado volume de plasma além do método manual existem dois tipos de métodos: aférese (automático), que possibilita a captura de plaquetas pela utilização de filtro descartável; buffy-coat (semiautomático), que permite a separação das plaquetas por centrifugação utilizando kits comerciais (sistemas ACP, GPS II, GPS III, SmartPreP2.) (MAFFULLI & DEL BUONO 2012).

2.2.2 PRP NA MEDICINA VETERINÁRIA

Para que ocorra uma reparação tecidual efetiva, é de extrema importância que este tecido tenha acesso a uma fonte rica em fatores de crescimento, sendo que as plaquetas agem na hemostasia, na cicatrização propriamente dita, na reepitelização e são capazes de liberar diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese e proliferação de fibroblastos, aumentando assim a síntese de colágeno. O PRP apresenta-se como uma forma natural e desta maneira, segura e capaz de proporcionar um maior número destes elementos ao tecido lesado, com o intuito de proporcionar uma recuperação mais rápida e de melhor qualidade ao animal (DYSON, 1996).

Diversos estudos realizados revelam que fatores de crescimento segregados a partir dos grânulos plaquetários ativados pós lesão, principalmente os fatores PDGF, TGF β , EGF, VEGF e IGF têm uma função fundamental no processo de cicatrização (MARX, 2005). O PRP é capaz de fornecer mais plaquetas do que o que seria produzido por uma resposta fisiológica para uma ferida ou lesão. O PRP pode chegar a conter até cinco vezes a concentração de plaquetas em relação ao valor de concentração basal (EPPLEY, 2006).

Em um estudo, Souza (2010) avaliou a cicatrização óssea de fraturas experimentais em cães, concluindo que o plasma rico em plaquetas por promover uma melhor cicatrização óssea através da maior expressão dos fatores de crescimento PDGF-B e TGF- β nos animais tratados, é uma boa terapia adjuvante no tratamento destas lesões.

Já Aghaloo et al. (2005) em seu estudo avaliando o efeito do PRP na regeneração óssea de defeito crítico no crânio de coelhos não observou diferença significativa entre os grupos sem e com PRP, embora tenha-se percebido uma tendência ao aumento da densidade e da área óssea nos grupos que receberam o PRP. Um fator importante que deve ser levado em consideração o qual sustenta a idéia de melhor reparação óssea é a melhora do reparo dos tecidos moles que revestem defeitos ósseos tratados com enxerto e PRP (ANDRADE et al., 2007).

O tratamento com PRP em equinos com tendinite induzida no tendão do músculo flexor digital superficial demonstrou significativa melhora em relação ao grupo controle (MAIA, 2008). Corroborando com estes resultados Arguelles et al. (2005) observou em um estudo com sete equinos acometidos com tendinite ou desmíte, uma redução da severidade da claudicação e melhora na imagem ultrassonográfica nos animais tratados com PRP.

Bertoletti et al. (2015) constatou que o uso do plasma rico em plaquetas na forma líquida melhorou a capacidade de contração levando conseqüentemente à uma cicatrização mais rápida em feridas produzidas experimentalmente em gatos.

Bonfá et al. (2017) avaliou a ação do PRP em gel autólogo na cicatrização de enxertos cutâneos em oito equinos, porém não observou diferença estatística na recuperação do grupo tratado com PRP e o grupo controle obtendo uma taxa de sobrevivência dos enxertos de 75%. No entanto, Pereira et al. (2019) em seu estudo com oito animais, concluiu que o PRP na forma de gel foi o mais eficaz no tratamento de feridas de equinos e que a forma homóloga pode ser uma boa opção no tratamento destas feridas.

2.2.3 UTILIZAÇÃO DE PRP GEL

O PRP na forma de gel é um produto capaz de induzir a aceleração da cicatrização de feridas (ROBSON et al. 1997), Carter et al., (2003) verificou que o PRP na forma de gel em feridas de equinos foi capaz de induzir uma diferenciação celular mais rápida e restaurou a matriz de colágeno de forma mais organizada do que no grupo controle.

Bonfá et al. (2017) obteve uma boa taxa de sobrevivência de enxertos cutâneos livres localizados na região lateral do pescoço tratados com PRP gel (75%) porém não observou diferenças significativas entre o tratamento com PRP gel e o grupo controle no ponto de vista clínico e histopatológico.

Yamada et al. (2016) ao estudar a utilização de arcabouço de PRP em gel associado a células tronco mesenquimais (CTMs) em lesões condrais verificou que a sua aplicação suportou o implante das CTMs e preencheu adequadamente o defeito condral e que as lesões tratadas com CTM em gel de PRP apresentaram um tecido de reparação com melhor aspecto morfológico macroscópico e microscópico do que o grupo controle.

2.2.4 UTILIZAÇÃO DE PRP HOMÓLOGO

Diferentes fontes de PRP podem ser utilizadas para terapias regenerativas, sendo elas a autóloga, homóloga e heteróloga, tendo a primeira, a vantagem de reduzir a transmissão de doenças infecciosas e reações de rejeição imunológica (SHANG et al., 2013). Porém existem alguns casos onde a utilização de PRP autólogo deve ser evitada, como em pacientes com feridas associadas a doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e hipertensão que ao longo prazo acabam por desenvolverem um quadro de trombocitopenia,

contraindicando sucessivas coletas de sangue. Também há casos de feridas extensas causadas por queimaduras (BARRIONUEVO et al., 2015).

Ferraciolli et al. (2018) ao avaliar as fibras colágenas de feridas dérmicas de coelhos tratadas com diferentes fontes de plasma rico em plaquetas, verificou que o PRP homólogo gel mostrou-se tão eficiente quanto a fonte de PRP autólogo gel em comparação à cicatrização, organização e quantidade de fibras colágenas e sem efeitos negativos como rejeição.

Quarteiro et al. (2015), ao estudarem ratos tratados com PRP homólogo gel no reparo de lesões musculares, observaram que, na primeira avaliação feita aos sete dias, a quantidade média de colágeno foi significativamente menor nas lesões tratadas com PRP em relação às lesões controle, o que pode sugerir uma possível redução do período do processo inflamatório ou alteração da liberação de citocinas.

A utilização de PRP homólogo em úlceras experimentais da córnea pelas vias tópica e subconjuntival apresentou melhor capacidade de antecipar os fenômenos reparadores, visto que, tanto a aplicação pela via tópica; quanto pela via subconjuntival, promoveram a cicatrização em menores períodos de observação, quando comparados com o grupo controle (ANDREOLI, 2013).

3 ARTIGO

TRABALHO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

Periódico: Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

**CLINICAL EFFECT OF PLATELET RICH PLASMA GEL, AUTOLOGOUS
AND HOMOLOGOUS, ON SKIN HEALING IN HORSES**

**J. V. G. Mucha¹, L. B. Paz¹, A. A. Beck Jr¹, M. I. Frank², R. C. F. Pereira³, F. D. De La
Côrte³**

¹Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS

²Universidade Federal de Santa Maria – Curso de Medicina Veterinária, Santa Maria, RS

³Departamento de Clínica de Grandes Animais – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria

1 **Clinical effect of platelet rich plasma gel, autologous and homologous, on**
2 **skin healing in horses**

3 **[Efeito clínico do plasma rico em plaquetas, autólogo e homólogo, em gel, na cicatrização cutânea**
4 **em equinos]**

5
6 *J. V. G. Mucha¹, L. B. Paz¹, A. A. Beck Jr¹, M. I. Frank², R. C. F. Pereira³, F. D. De La*
7 *Côrte³*

8
9 **ABSTRACT**

10 Platelet rich plasma (PRP) is a whole blood derivative, wich, in addition to containing
11 high concentrations of platelets, is an efficient source of growth fator capable of aiding
12 the tissue healing proces. In order to carry out research, 6 healthy horses were selected,
13 5 animals were submitted to surgical wounds, in each animal three wounds were made
14 which were treated with different ways, for the ones from group 1, the treatment was
15 with homologous PRP in gel, for group 2 the received treatment was with autologous
16 PRP in gel and finally, for the group 3 ones, was done the control which received saline
17 solution as treatment, the 6th animal served as a universal donor for the treatment with
18 homologous PRP. The two types of PRP, autologous and homologous, were identically
19 obtained and the cell count was performed by an automatic hematological analyzer. The
20 wounds were evaluated according to their macroscopic presentation and were submitted
21 to analysis in the *ImageJ* program to quantify the degree of wound reduction as a time
22 result, all wounds were analyzed on day 0, day 15 and day 30. Biopsies were also
23 performed to analyze the healing quality. There was no statistical difference in the
24 reduction of the lesion area at 15 and 30 days of treatment ($p > 0.05$) even though
25 visually the groups treated with the different forms of PRP were smaller than those of
26 the control group. As for the macroscopic evaluations, no wound showed secretion as
27 well as signs of infection, no animal also presented exuberant granulation tissue.
28 Homologous PRP was as efficient as autologous PRP in ability to increase the speed of
29 wound healing compared to the control group, allowing a healing of very similar quality
30 and without any adverse effect.

31
32 **Keywords:** PRP, horses, homologous PRP, skin healing

RESUMO

33

34 O plasma rico em plaquetas (PRP) é um derivado do sangue total, que além de conter
35 altas concentrações de plaquetas, é uma eficiente fonte de fatores de crescimento
36 capazes de auxiliar o processo de cicatrização de tecidos. Neste estudo foram
37 selecionados 6 equinos hípidos sendo que 5 animais foram submetidos à realização de
38 feridas de forma cirúrgica sendo que em cada animal foram realizadas três feridas as
39 quais foram tratadas de diferentes formas, sendo grupo 1 o tratamento com PRP
40 homólogo em gel, o grupo 2 recebeu tratamento com PRP autólogo em gel e o grupo 3
41 foi o controle o qual recebeu solução fisiológica como tratamento, o 6º animal serviu de
42 doador universal para o tratamento com PRP homólogo. A obtenção dos dois tipos de
43 PRP, autólogo e homólogo, foi realizada da mesma forma e a contagem celular foi
44 realizada por um analisador hematológico automático. As feridas foram avaliadas
45 conforme sua apresentação macroscópica e foram submetidas à análise no programa
46 ImageJ para quantificar o grau de diminuição da ferida em razão do tempo, todas as
47 feridas foram analisadas no dia 0, no dia 15 e no dia 30. Também foram realizadas
48 biópsias para analisar a qualidade da cicatrização. Não houve diferença estatística na
49 diminuição da área de lesão aos 15 e 30 dias de tratamento ($p > 0.05$), mesmo que
50 visualmente os grupos tratados com as diferentes formas de PRP apresentavam-se
51 menores que as do grupo controle. Quanto às avaliações macroscópicas nenhuma ferida
52 apresentou secreção assim como indícios de infecção, nenhum animal apresentou
53 também tecido de granulação exuberante. O PRP homólogo foi tão eficiente quanto o
54 PRP autólogo na capacidade de aumentar a velocidade de cicatrização das feridas em
55 relação ao grupo controle, permitindo uma cicatrização de qualidade muito semelhante e
56 sem qualquer efeito adverso.

57

58 Palavras-chave: PRP, cavalos, PRP homólogo, cicatrização de pele

59

60

61

62

INTRODUCTION

63

64 PRP is an alternative and promising therapy for the treatment of skin wounds
65 and chronic wounds (CARTER, 2003; DE ROSSI et al., 2009; PEREIRA et al., 2019).
66 Due to its proven ability to release growth factors, it promotes the recruitment of other
67 platelets, leukocytes and plasma proteins, which stimulate angiogenesis,
68 neovascularization, vascular permeability, collagen synthesis increasing and fibroblast
69 proliferation (MARX et al. 1998).

70 Thus, being used as a regenerative therapy with several clinical benefits, the
71 interest in PRP has grown in recent years and the use of this technique has spread to
72 several areas such as the dentistry (PETRUNGARO, 2001), the human medicine
73 (ANITUA et al., 2004) and the veterinary (TAMBELLA et al., 2018).

74 The use of PRP from an animal previously selected for its platelet concentration
75 capacity and the use of this material for the treatment of other animals, in addition to
76 guaranteeing the deposition of a more constant number of cells and growth factors in
77 the lesions, also guarantee an easy access for the veterinarian to obtain this material,
78 which can identify an animal with such capacity to be a donor, facilitating the collection
79 and processing of plasma to perform the treatment in several patients.

80 Homologous PRP use can also become extremely useful in debilitated animals, which
81 are dehydrated or have suffered a recent episode of hemorrhage needing this type of
82 treatment. As well as in extremely young animals (neonates) that have a lower body
83 blood volume, enabling thus, more safety and quality in the technique used. The aim of
84 this study was to evaluate the clinical effect and scar quality of using PRP in
85 homologous and autologous gel in surgically induced equine wounds.

86

87

88

89

90

91

92

MATERIALS AND METHODS

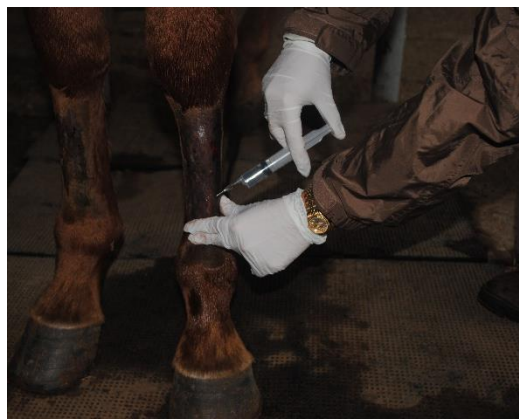
93

94 Selection of horses

95 In this study, six adult mixed-breed horses were used. They were kept in an area
96 of 20 hectares with good quality pasture and access to clean water, being supplemented
97 twice a day with feed and mineral salt. Were performed clinical and complementary
98 exams to guarantee the health of all animals used in this study. Laboratory tests were
99 performed to rule out equine infectious anemia (EIA) and glanders in all horses prior to
100 the beginning of the experiments. This study was approved by the ethics committee in
101 the use of animals of the Federal University of Santa Maria under protocol number
102 1999230321.

103 Creating skin defects

104 To create the cutaneous deffects, the animals were sedated with 10% xylazine at
105 a dose of 0.5mg/kg intravenously and local anesthesia was performed by means of
106 regional block, using 2% lidocaine so that it covered the entire extension of the defect to
107 be performed. In addition, the lateral and medial digital nerves located between the
108 flexor tendons and the suspensory ligament of the fetlock were blocked, and the lateral
109 and medial metacarpal nerves, located between the 2nd and 4th metacarpal bones and
110 the suspensory ligament of the fetlock, were blocked as well, this block is called high
111 volar (STASHAK, 2004), with 2% lidocaine at a dose of 2 ml per infiltration point.



112

113 Figure 1 Performing regional anesthesia at the sites before performing the wounds

114

115 Sterile gloves were used to reduce the chances of contamination. Trichotomy
116 and antiseptis with 10% povidone-iodine and alcohol 70 in the region to be used for

117 cutaneous defects. A 2cm² pattern was placed on the skin to be incised and, with the aid
118 of a scalpel with a No. 4 handle and a No.24 blade, a quadrangular incision was made,
119 respecting the mold limit and the removal of the skin located in the dorsolateral to the
120 main metacarpal bone (McIII). After hemostasis of the wounds, the dressing was
121 performed with sterile bandage. One day after the wounds were created, each of them
122 was treated with randomly assigned treatments. Two wounds were made on one limb
123 chest and a wound in another, with each wound receiving a type of treatment. A sterile
124 bandage was placed over the wounds for protection and was changed daily after
125 cleaning the wounds with saline solution.



126

127 Figure 2 Marking the lesion to be made (A), making the lesion (B) and the lesion already made (C)

128

129 **PRP preparation**

130 Both Autologous PRP and Homologous PRP were prepared from 450 mL of
131 blood collected by venipuncture of the external jugular vein into a commercial blood
132 transfusion bag containing 63 mL of citrate-phosphate-dextrose solution with adenine as
133 an anticoagulant. One hundred milliliters of blood were aspirated from the blood bag
134 and distributed into three 50 mL polypropylene Falcon tubes, where one tube will
135 receive 30 mL and the other 35 mL. The tubes were centrifuged at 224G for 10 minutes
136 to separate the plasma from leukocytes and red blood cells, the plasma obtained was

137 again centrifuged at 440G for 10 minutes, once more, in order to obtain the PRP, as
138 described by (PEREIRA et al., 2013). From the total PRP produced, a 2 ml sample was
139 taken and sent to the laboratory for testing of platelet count, leukocyte count and total
140 platelet volume. For activation and gelation of PRP in gel form, calcium gluconate was
141 added. For each mL of PRP to be transformed into a gel, 0.5ml of the supernatant was
142 collected, which was considered the Poor Plasma in platelets and incubated at 37° for 15
143 minutes. After incubation, it was resuspended and centrifuged at 640G for 10 minutes at
144 room temperature, thus forming the PRP in gel.

145



146

147 Figure 3 Platelet Rich Plasma in ready-to-apply gel form

148

149 **Treatment groups**

150 Each wound was considered a group, in Group 1 the lesion was covered by
151 homologous PRP activated in the form of a gel, in Group 2 the lesion was covered by
152 Autologous PRP activated in the form of a gel and in Group 3 the lesion was covered
153 by a physiological solution, being this the control group. Group 1 and Group 2 received
154 two applications of PRP, the first application on the day after the lesions were
155 performed and the second application 15 days later.

156

157

158

159 **Macroscopic wound healing evaluation**

160 After the established treatment, each group was submitted to biweekly
161 evaluations by a veterinarian which unknown the treatments used for the presence of
162 secretion using a scale of 0-3 (0: absent, 1: little amount, 2: moderate amount, 3:
163 abundant), wound infection (0: absence; 1: presence of infection), granulation tissue
164 growth (1: little, 2: moderate, 3: excessive), coloring (pale, pink and hyperemic
165 (PEREIRA et. al 2016).

166 **Planimetric evaluation**

167 The size of the wounds was measured through planimetry performed by digital
168 photographs, where the images were processed in the *Image J* program, as demonstrated
169 by Rodrigues et al. al (2013).

170 The wounds were photographed using a professional digital camera (Nikon
171 D3000) at an average distance of 15 cm and a ruler was used as a scale, without it
172 coming into contact with the wound. The images were analyzed using the free *Image J*
173 program, version 1.36b (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA), available
174 at <http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>. Each image was opened in the program and then
175 the measurement of the distance of 1cm was performed on the ruler that was
176 photographed together with the wound, to choose the scale in centimeters, using the
177 Straight line selection tool and the Set scale option on the Analyze tab. Next, the cutting
178 tool (Cut) on the Edit tab was used to isolate only the wound as much as possible.
179 Subsequently, the threshold color plugin from the Plugins tab in the Color option was
180 used, to delimit only the wound area, adjusted in the saturation bar. After this
181 procedure, the image was converted to 8 bit type in the Image tab, in the Type function.
182 Subsequently, the resulting image was submitted to the analyze particles tool of the
183 analyze tab, which provided the final area of the wound in square centimeters.

184 **Histopathological analysis**

185 Skin biopsies were performed in all groups on the 30th day after the first
186 application of PRP. For this, the animals were sedated with 10% xylazine at a dose of
187 1mg/kg and received local anesthesia with 2% lidocaine without vasoconstrictor.
188 Samples were collected with a 6 mm diameter dermatological punch under aseptic
189 conditions. The samples were immediately fixed in 10% formalin and sent to the

190 laboratory of Unijuí where they were processed. The variables analyzed histologically
191 were: inflammation severity, granulation tissue formation, fibroblast cells,
192 neovascularization and collagen maturity, on a scale of mild, moderate and intense.

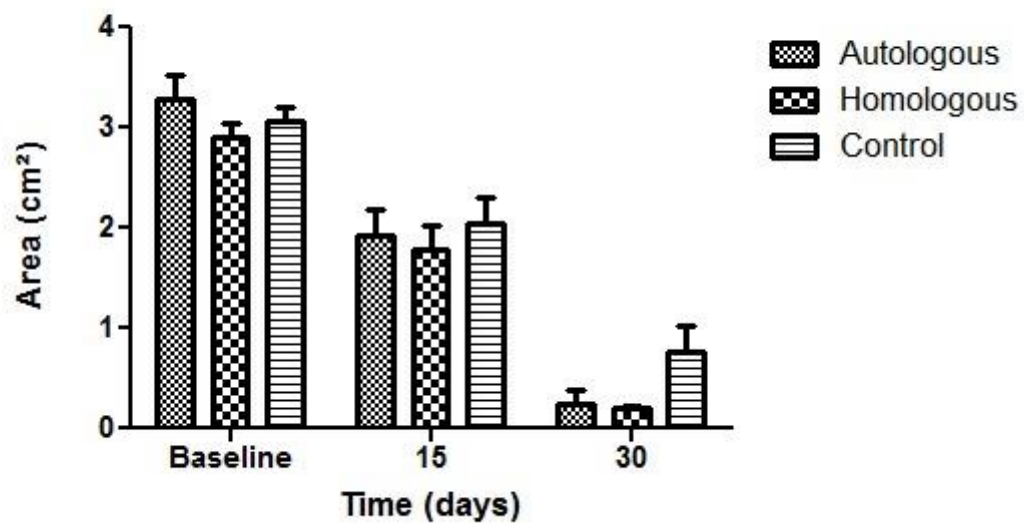
193

194

RESULTS AND DISCUSSION

195 There was no statistical difference in the reduction of the lesion area at 15 and
196 30 days of treatment ($P > 0.05$) even though, macroscopically, the groups treated with
197 the different forms of PRP were considerably smaller than those of the control group. It
198 can be said that treatment with both autologous and homologous PRP can increase the
199 speed of healing by decreasing the treatment of wounds for a few days, with a minimal
200 difference between them, and in our study the homologous PRP obtained a faster
201 healing. Bermejo (2014) suggests, where the use of a simplified form of injectable PRP
202 on the edges of wounds proved macroscopically and statistically that there was a
203 reduction in the size of the wound.

204 Just as Pereira et al. (2019) also visualized an ability to decrease of wounds for
205 up to 15 days in the groups treated with different forms of PRP, Monteiro et al (2009)
206 observed that PRP would have a biological action mainly at the beginning of the wound
207 repair process in horses, but without the ability to reduce the total healing time. He also
208 reported that the closing time of wounds treated with PRP was higher than in untreated
209 wounds, thus suggesting that PRP therapy has a better effect in the initial phase.



210
 211 Figure 4 Measurement of wound area, showing greater difference in PRP-treated groups in relation to the
 212 control group, being the group treated with homologous PRP the one that obtained a greater decrease in
 213 wound area

214

215 As for the macroscopic evaluations, no wound showed secretion as well as
 216 evidence of infection, no animal showed exuberant granulation tissue, unlike the study
 217 by Pereira et al., (2019) where all groups treated with different forms of PRP and the
 218 control group showed tissue of considerable granulation. Also, compared to this study,
 219 the total wound healing time was shorter in our study in all groups. Such differences can
 220 demonstrate that the application of PRP in two moments is more effective than three
 221 applications and the care with the hygiene of the wound, as well as keeping it closed
 222 with compressive bandages are efficient ways of infection controlling and a way to
 223 minimize or nullify the chances of exuberant granulation tissue. The formation of
 224 exuberant granulation tissue delays the healing process and it is especially common in
 225 limb wounds (SERENSEN et al., 2014).

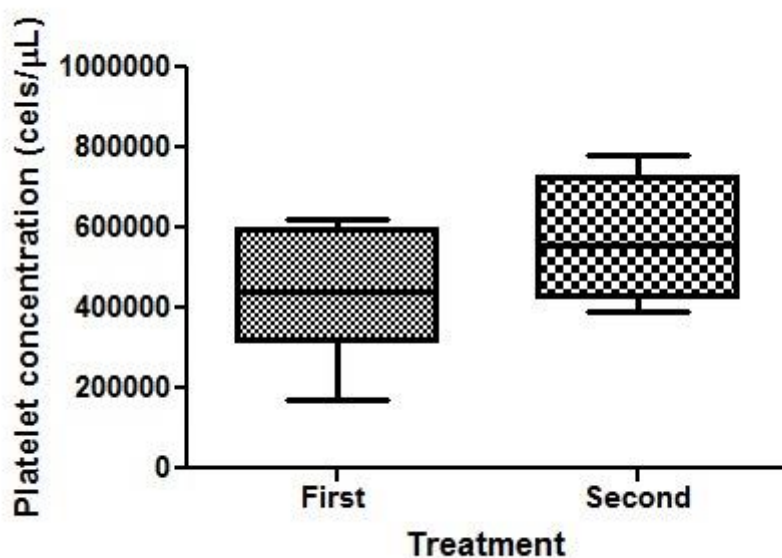
226 It was possible to notice a higher degree of sensitivity during dressings in the
 227 control group in all animals. Decalzi et al. (2013) justified the use of PRP when they
 228 observed that, in inflammatory conditions, the biomaterial deposited under the wound
 229 can increase the production of components related to the endocannabinoid system, by
 230 significantly elevating its mediators and producing thus a greater analgesic effect at the
 231 wound site, which does not happen when the wound is treated only with saline solution.

232 The anti-inflammatory effect of PRP appears to depend on different mechanisms.
233 Platelet-rich plasma was able to inhibit nuclear factor Kappa B (NF- κ B) a key pathway
234 activated during the inflammatory process (GHOSH et al., 2008). It was even able to
235 reduce chemotaxis for polymorphonuclear cells due to the increase in lipoxin A4 and
236 other chemokines (SUNDMAN et al., 2014). Such effects may result in the
237 downregulation of important pro-inflammatory mediators such as TNF- α , IL-1 and
238 COX-2 (METCALF et al., 2012).

239 In the wound treated with homologous PRP, one of the animals showed a
240 yellowish color the day after the first application, but in the subsequent dressing it was
241 already rosy in color, as well as the other wounds of the other groups, Pereira et al.,
242 (2019) did not identify any systemic or local reaction to the use of homologous PRP in
243 skin wounds. Maciel (2012), states that the double application of PRP disfavors the
244 healing process, since when the product is applied again, it results in a new
245 inflammatory stimulation, restarting the process of chemotaxis of polymorphonuclear
246 cells and platelet degranulation again, once in our study there were not significant
247 changes in the appearance of the wounds after the second application of PRP.

248 One of the animals, when analyzing the difference in the wound areas, had a
249 lower decrease of all wounds compared to others, with the wound that healed better than
250 the one treated with homologous PRP, this particular animal was the only one that had a
251 Thoroughbred in its cross. In addition to the individual characteristics of the animal, this
252 fact can be explained by the lower platelet concentration obtained in autologous PRP
253 and in whole blood, which corroborates the findings of PAZ et al., (2021) where the
254 author compared the influence of races on the concentration of platelets in the
255 production of PRP, being the Thoroughbred breed one of the studied breeds that
256 obtained a lower concentration of platelets, and with that a lesser action of growth
257 factors acting on the lesion.

258 There was no statistical difference ($P > 0.05$) in platelet concentration comparing
259 the first and second treatments, all PRPs obtained had a concentration greater than
260 300,000 platelets/ μ L, according to Anitua et al., (2004) these concentrations are
261 sufficient for the PRP to have a therapeutic effect.



262

263 Figure 5 Platelet concentrations in the first and second treatments

264

265 In the histopathological analysis there was a higher intensity of necrotic tissue in
 266 the control group with greater deposition of inflammation cells such as macrophages,
 267 lymphocytes and neutrophils, as well as a greater prevalence of granulation tissue. The
 268 groups treated with PRP had greater deposition of collagen and fibrin, and the group
 269 treated with homologous PRP was more expressive in this aspect. Quarteiro et al.
 270 (2015), when analyzing the repair of muscle injuries in rats treated with homologous
 271 PRP gel, described that, in the first evaluation, the mean amount of collagen was
 272 significantly lower in injuries treated with PRP compared to control injuries, which may
 273 suggest a possible reduction of the period of the inflammatory process. Harris et al.
 274 (2012) when injecting PRP or saline into focal areas of healing tissue, observed
 275 fibroblasts, collagen formation and neovascularization, which was not observed in any
 276 site where saline was applied.

277 The use of *ImageJ* software proved to be extremely efficient and capable of
 278 providing greater objectivity in the assessment of wound healing speed, Turin et al.,
 279 (2018), compares digital analysis with traditional methods and states that it provides
 280 more accurate and reliable measures. The use of programs as a way to analyze images
 281 of wounds is already well described in the literature, as in the works carried out by
 282 Ferreira et al., (2008) and Souza et al., (2012). However, not all of these programs are
 283 free, unlike *ImageJ*, which can be accessed for free on the internet. Another advantage

284 of using these types of tools is that it is not necessary to touch the wound, which
285 provides less discomfort for the patient.

286

287

CONCLUSIONS

288 The use of PRP gel can decrease the time of wound healing in horses on a few
289 days. Homologous PRP, in addition to being safe, was slightly superior to autologous
290 PRP in the macroscopic evaluation and very similar in the histological evaluation,
291 providing excellent healing quality and its use is capable of facilitating the work of the
292 responsible clinician and is also a great alternative in cases of debilitated or with
293 thrombocytopenia patients.

294

295

296

297

ACKNOWLEDGEMENTS

298

299 This study was funded by the Coordination for the Improvement of Higher
300 Education (CAPES) and Foundation to Support Science and Technology (FATEC),
301 agreement FATEC/UFSM (Grant 5.03.0046).

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

REFERENCES

- 314
315
316 ANITUA E., ANDIA I., ARDANZA B., NURDEN P., NURDEN A.T. Autologous
317 platelet source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.*
318 2004;91:4-15.
319
320 BERMEJO V. J. *Estudo comparativo da utilização de prp (plasma rico em plaqueta)*
321 *autólogo na cicatrização de feridas metacarpianas em equinos.aspectos macroscopicos,*
322 *histopatologicos,imunoistoquimicos e morfometricos.* 2014. 144f. Dissertação
323 (Mestrado em Medicina Veterinária) - universidade estadual paulista faculdade de
324 medicina veterinária e zootecnia, Botucatu.
325
326 CARTER, C.A. et al. Platelet rich plasma gel promotes differentiation and regeneration
327 during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, v.74, p. 244-
328 255, 2003.
329
330 DECALZI, F.; ULIVI, V.; CANCEDDA, R. et al. Platelet-rich plasma exerts
331 antinociceptive activity by a peripheral endocannabinoide-related mechanism. *Tissue*
332 *Eng.*, part A, v.19, p.2120- 2129, 2013.
333
334 DE ROSSI, R. et al. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical
335 wound in horses. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.24, n.4, p.276–281, 2009.
336
337 FERREIRA, A. S.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N., CAMPOS, A. D.; MENDONÇA,
338 A.C. Mensuração de área de cicatrização por planimetria após aplicação do ultra-som de
339 baixa intensidade em pele de rato. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, São Carlos, v. 12,
340 n.5, p.351-358, 2008.
341
342 GHOSH S, HAYDEN MS. New regulators of NF-kappaB in inflammation. *Nat Rev*
343 *Immunol.* (2008) 8:837–48. 10.1038/nri2423
344
345 Harris NL, HUFFER WE, VON STADE E, LARSON AI, PHINNEY S, PURNELL
346 ML. The effect of platelet-rich plasma on normal soft tissues in the rabbit. *J Bone Joint*
347 *Surg Am.* 2012;94(9):786-93.

- 348 MACIEL,F.B.; DeROSSI, R.; MODOLO, T.J.C.; PAGLIOSA, R.C.; LEAL, C.R.J.;
349 DELBEN, A.A.S.T. Scanning electron microscopy and microbiological evaluation of
350 equine burn wound repair after platelet-rich plasma gel treatment. Faculty of Veterinary
351 Medicine and Animal Science. *ELSIEVER*, v. 38, p. 1058 – 1065, 2012.
- 352
- 353 MARX, R.E. et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts.
354 *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, v.85, n.6, p.638-646, 1998. Disponível
355 em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9638695/>> Acesso em: Jul, 07,2020. doi:
356 10.1016/s1079-2104(98)90029-4.
- 357
- 358 METCALF K., SCOGGIN K., TROEDSSON M. H.T. The effect of platelet-rich plasma
359 on endometrial pro-inflammatory cytokines in susceptible mares following semen
360 deposition. *J Equine Vet Sci.* (2012) 32. 10.1016/j.jevs.2012.06.065
- 361
- 362 MONTEIRO, S. O.; LEPAGE, O.M.; THEORET, C.L. Effects of platelet rich plasma
363 on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses. *Am. J. Vet. Res.*
364 70: 277 – 282, 2009.
- 365
- 366 PEREIRA, R.C.F. et al. Avaliação de sete protocolos para obtenção de plasma rico em
367 plaquetas na espécie equina. *Ciência Rural*, v.43, p.1122–1127, 2013.
- 368
- 369 PEREIRA, R.C.F. et al. Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for
370 Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds. *J EqVet Sci.*, v.72, p.1-7, 2019.
- 371
- 372 PETRUNGARO, P. S. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in
373 esthetic 350 periodontal surgery. *Compend Contin Educ Dent.*, v. 22, n. 9, p. 729-746,
374 2001.
- 375
- 376 QUARTEIRO, M.L.; TOGNINI, J.R.F.; OLIVEIRA, E.L.F.; SILVEIRA I. O efeito do
377 plasma rico em plaquetas no reparo de lesões musculares em ratos. *Rev. Bras. Ortop.*,
378 v.50, p.586-595, 2015.
- 379

- 380 RODRIGUES, D.F. O programa Image J como ferramenta de análise morfológica de
381 feridas cutâneas, Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9,
382 n.17; p. 2013.
383
- 384 SERENSEN M. A., PETERSEN L. J., BUNDGAARD L., TOFT N., JACOBSEN S.
385 Regional disturbances in blood flow and metabolism in equine limb wound healing
386 with formation of exuberant granulation tissue. *Wound Repair Regen.* (2014) 22:647–
387 53. 10.1111/wrr.12207.
388
- 389 SOUSA, A. T. O.; VASCONCELOS, J. M. B.; SOARES, M.J. G. O. Software Image
390 Tool 3.0 as an instrument for measuring wounds. *Journal of Nursing*, Recife, v. 6, n. 10,
391 p.2569-2573, 2012.
392
- 393 STASHAK, T.D. *Equine wound management*. London : Lea e Febiger, 2004.
394
- 395 SUNDMAN EA, COLE BJ, KARAS V, DELLA VALLE C, TETREAULT MW,
396 MOHAMMED HO, et al. . The anti-inflammatory and matrix restorative mechanisms of
397 platelet-rich plasma in osteoarthritis. *Am J Sports Med.* (2014) 42:35–41.
398 10.1177/0363546513507766.
399
- 400 TAMBELLA, A. M.; MARTIN, S.; CANTALAMESSA, A., et al. Platelet-rich Plasma
401 and 372 Other Hemocomponents in Veterinary Regenerative Medicine. *Wounds*, v.30,
402 n.11, p.329–336, 373 2018.
403
- 404 TURIN, SERGEY Y., LEDWON, JOANNA K., BAE, et. al., Digital analysis yields
405 more reliable and accurate measures of dermal and epidermal thickness in histologically
406 processed specimens compared to traditional methods. *Experimental Dermatology*,
407 Austrian, vol.27(6), pp.687-690, jun. 2018.
408 Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-29573291>>. Acesso
409 em: 07 out. 2021.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As terapias regenerativas ocupam um papel muito importante na medicina veterinária, sendo cada vez mais estudadas nos últimos anos. A possibilidade de utilização de PRP de um animal previamente selecionado por sua capacidade de concentração plaquetária e a utilização deste material para o tratamento de outros animais, além de garantir a deposição de um número mais constante de células e fatores de crescimento nas lesões, garantem também a facilidade de acesso do veterinário à obtenção deste material, podendo o mesmo identificar um animal com tal capacidade de ser um doador facilitando a coleta e processamento do plasma para a realização do tratamento em diversos pacientes.

Os resultados deste estudo comprovam que o PRP de origem homóloga pode contribuir para acelerar o processo de cicatrização de feridas cutâneas, sendo uma opção de tratamento válida e segura, permitindo assim maior acessibilidade do médico veterinário que trabalha a campo a essas modalidades terapêuticas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AGHALOO, T. L.; MOY, P. K; FREYMILLER, E. G. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium: a pilot study. **Clin. Oral Impl. Res.**, Copenhagen, v. 16, n. 2, p. 250-257, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15777336/>> Acesso: Jun. 03, 2020. doi: 10.1111/j.1600-0501.2004.01075.x.

ANDRADE, M.G.S; DANTAS, D. B.; SADIGURSKY, M. Efeitos biológicos do plasma rico em plaquetas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v.6, n.2, p. 204-213, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/237267283_Efeitos_biologicos_do_plasma_rico_em_plaquetas> Acesso: Jun. 03, 2020. doi: [10.9771/cmbio.v6i2.4352](https://doi.org/10.9771/cmbio.v6i2.4352).

ANDREOLI C. D. Reparação de úlceras experimentais da córnea tratadas com plasma rico em plaquetas homólogo, pelas vias tópica e subconjuntival: estudo experimental em coelhos. Tese de mestrado, Uberaba, 2013.

ANITUA, E.; ALKHRAISAT, M.; ORIVE, G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. **J. Control. Release**, v. 157,

p 29-38, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763737/>> Acesso: Jun. 03, 2020. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.07.004.

ANITUA, E.; ANDÍA, I.; SANCHEZ, M.; AZOFRA, J.; SALDUENDO, M. Del M.; FUENTE, M. de la; NURDEN, P.; NURDEN, A.T. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 23, p. 281–286, 2005. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15779147/>> Acesso: Jun. 05, 2020. doi: 10.1016/j.orthres.2004.08.015.

ARAGÓN-SÁNCHEZ, J.; QUINTANA-MARRERO, Y.; ARAGÓN-HERNÁNDEZ, C.; HERNÁNDEZ-HERERO, M. J. ImageJ: A Free, Easy, and Reliable Method to Measure Leg Ulcers Using Digital Pictures. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**, London, vol. 16(4), pp. 269–273, dec. 2017. Disponível em: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl_-29251541>. Acesso em: 12 out. 2021.

ARGUELLES, D. et al. Clinical experiences with platelet-rich plasma as a treatment of tendon and ligament injuries in the horse. Em: ANNUAL SCIENTIFIC MEETING, 16., 2005, Dublin, Ireland. **Proceedings...** Dublin: European College of Veterinary Surgeons, 2005. V.1. XXXp, p.217-222. Disponível em: <http://www.equinete.com/articles/modules.php?name=News&file=article&sid=1178> Acesso: Jul. 06, 2020.

ASSIS-BRASIL, N. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; STIGGER, A. L.; FISS, L.; SANTOS, B. L.; COELHO, A. C. B.; SALLIS, E. S. V.; FERNANDES C. G.; SCHILD, A. L. Dermatopatias em equinos na região sul do Rio Grande do Sul: estudo de 710 casos. **Ciência Rural** v.45, n.3, p.519-524, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782015000300519&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em: Jul. 01, 2020.

BARRIONUEVO, D.V.; LAPOSY, C.B.; ABEGÃO, K.G. et al. Comparison of experimentally-induced wounds in rabbits treated with different sources of platelet-rich plasma. **Lab. Anim.**, v.49, p.209-214, 2015.

BERRY, D.B; SULLINS, K.E. Effects of topical application of antimicrobials and bandaging on healing and granulation tissue formation in wounds of the distal aspect of the limbs in horses. **Am Jour of Vet Res**, 64, 88–92, 2003. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12518884/> > Acesso em: Jul. 20, 2020. doi: 10.2460/ajvr.2003.64.88.

BERTOLETTI B. **Plasma rico em plaquetas na cicatrização cutânea de gatos: Padronização de técnica e aplicação clínica.** 2015. XXXf Tese (Doutorado em medicina veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BONFÁ, A.F. et al. Efeito do gel de plasma rico em plaquetas na cicatrização de enxertos cutâneos em eqüinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.18, p.1-12, 2017. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180968912017000100314&lng=en&nrm=iso > Acesso em: Agos. 10, 2020.

CARDINAL, M., EISENBUD, D. E., ARMSTRONG, D.G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v.17, p. 173-178, 2009.

CARTER, C.A.; JOLLY, D. G.; WORDEN, C. E.; HENDREN, D. G.; KANE, C. Platelet rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. **Experimental and Molecular Pathology**, v.74, p. 244-255, 2003.

DAHLGREN, L. A.; VAN DER MEULEN, M. C. H.; STARRAK, G. S. NIXON A. J. et al. Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis. **Journal of Orthopaedic Research**, v.20, p.910–919, 2002. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12382953/> > Acesso em: Jul, 15, 2020. doi: 10.1016/S0736-0266(02)00009-8.

DE ROSSI, R.; COELHO, A. C. A. de O.; MELLO, G. S. de; 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 Cirúrgica Brasileira**, v.24, n.4, p.276–281, 2009.

DELLMANN, H.; BROWN, E. M. **Histologia Veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 397p.

DYSON, S.J. Diagnosis and Prognosis of suspensory desmitis. In: Dubai Equine International Symposium: The Equine Athlete: Tendon, Ligament and soft Tissue Injuries, 1996. Dubai. **Proceedings...** Dubai : Neyenesch Printers, 1996, p.207–225.

EPPLEY, B.L.; Platelet rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. **Plast Reconstr Surg**, v.118, n.6, p.147-159, 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17051095/>> Acesso em: Jul, 30, 2020. doi: 10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf.

FERRACIOLLI E. LAPOSY C. B., NOGUEIRA, M. R. et al. Avaliação das fibras colágenas de feridas dérmicas de coelhos tratadas com diferentes fontes de plasma rico em plaquetas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.4, p.1179-1186, 2018.

FITCH R. B.; SWAIM, S. F. The role of epithelization in wound healing, **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.17, n.2, p.167-77, 1995.

HANSELKA, D.V. Wounds and their management. Em: MCMULLAN, W.C. The Skin. Em: MANSMANN, R.A., MCALLISTER, E.S., PRATT, P.W. **Equine Medicine and Surgery**. 2. ed. Santa Barbara : American Veterinary Publications, 1982, p.857-880.

JATANA, S.; DELOUISE, L.A. Understanding engineered nanomaterial skin interactions and the modulatory effects of ultraviolet radiation skin exposure. **Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.**, v.6, p.61-79, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24123977/>> Acesso em: Agos, 10, 2020. doi: 10.1002/wnan.1244.

JEFFCOATE, W. J.; MUSGROVE, A. J.; LINCOLN, N. B. Using image J to document healing in ulcers of the foot in diabetes. **International Wound Journal**, Nottingham, vol. 14(6), pp.1137-1139, dec. 2017. Disponível em:<<https://onlinelibrarywiley.ez69.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/iwj.12769>>. Acesso em: 12 out. 2021.

LIMA, C. R. O., RABELO, R. E., MOURA, V. M. B. D., SILVA, L. A. F., TRESVENZOL, L. M. F. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. **Revista CFMV**, Brasília, ano 18, n.56, p.53-59, 2012.

LIMA, R. A.; SOUZA E CINTRA, A. G. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Local : Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016. p.36-46.

MAFFULLI, N.; DEL BUONO, A. Platelet plasma rich products in musculoskeletal medicine: Any evidence? **Surgeon**, v.10, p.148-150, 2012.

MAIA, L. **Plasma Rico em plaqueta no tratamento de tendinite em equinos: avaliação clínica, ultrassonografia e histopatologia**. 2008. 88p. Dissertação (mestrado) - Curso de pós-graduação em Jul, 14, 2008, Universidade Federal de Viçosa.

MALANGA, G. A.; GOLDIN, M. PRP: review of the current evidence for musculoskeletal conditions. **Current Physical Medicine and Rehabilitation Reports**, v.2, p.1–5, 2014.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, E. P. D. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte 1. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.393-408, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S036505962003000400002&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em: Set, 01, 2020.

MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUSS, J. R.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v.85, n.6, p.638-646, 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9638695/>> Acesso em: Jul, 07,2020. doi: 10.1016/s1079-2104(98)90029-4.

MARX, R.E. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, n. 62, p.489-496, 2005. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15085519/>> Acesso em Jul, 07,2020. doi:10.1016/j.joms.2003.12.003.

MOLLOY, T.; WANG, Y.; MURRELL, G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. **Sports Medicine**, v. 33, p. 381–394, 2003.

NETO, J. C. L. Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos. 2003 Disponível em: http://www.merial.com.br/veterinarios/equinos/biblioteca/equinos_documentoList. Acesso em: Mai, 22, 2020. doi: 10.18677/EnciBio_2019A39.

PARKS, A. H. Equine foot wounds: general principles of healing and treatment. Em: **Proceedings American Association of Equine Practitioner Convention**, v.45, p. 180-187, 1999.

PEREIRA, R. C. F.; ZACARIAS, G. V. F.; CANTARELI, C.; CORRÊA, M. M. B; SILVA, G. B. da; BARBOSA, A. L. T.; BRASS, K. E.; DE LA CÔRTE, F. D. Avaliação de sete protocolos para obtenção de plasma rico em plaquetas na espécie equina. **Ciência Rural**, v.43, p.1122–1127, 2013.

PEREIRA, R. C. F.; DE LA CÔRTE, F. D.; BRASS, K. E.; AZEVEDO, M. da S.; GALLIO, M.; CANTARELLI, C.; DAU, S. L.; CEZAR, A. S.; INKELMANN, M. A. Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds. **J EqVet Sci.**, v.72, p.1-7, 2019.

PETRUNGARO, P. S. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic 350 periodontal surgery. **Compend Contin Educ Dent.**, v. 22, n. 9, p. 729-746, 2001.

QUARTEIRO, M.L.; TOGNINI, J.R.F.; OLIVEIRA, E.L.F.; SILVEIRA I. O efeito do plasma rico em plaquetas no reparo de lesões musculares em ratos. **Rev. Bras. Ortop.**, v.50, p.586-595, 2015.

RENZI S. et al. Autologous bone marrow mesenchymal stromal cells for regeneration of injured equine ligaments and tendons: a clinical report. **Res. Vet. Sci.**, v.95, p.272-277, 2013.

ROBSON M.C. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. **Wound Rep Regenerat.** 1997;5:12-7.

SAMPSON, S.; GERHARDT, M.; MANDELBAUM, B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. **Current Reviews in Musculoskeletal Medicine**, v.1, p.165-174, 2008.

SCHERER, S.S. et al. Nonactivated versus thrombin-activated platelets on wound healing and fibroblast-to-myofibroblast differentiation in vivo and in vitro. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.129, n.1, p.46-54, 2012.

SHAN G.Q., ZHANG Y.N., MA J., et al. Evaluation of the effects of homologous platelet gel on healing lower extremity wounds in patients with diabetes. **Int J Low Extrem Wounds** 2013; 12: 22–29.

SOUZA, T.F.B. **Expressão dos fatores de crescimento obtidos do plasma rico em plaquetas, no tratamento de fraturas experimentais do rádio de cães.** 2010. 74f Dissertação (mestrado) - Curso de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP.

STASHAK, T.D. **Equine wound management.** London : Lea e Febiger, 2004.

TAMBELLA, A. M.; MARTIN, S.; CANTALAMESSA, A., et al. Platelet-rich Plasma and 372 Other Hemocomponents in Veterinary Regenerative Medicine. **Wounds**, v.30, n.11, p.329–336, 373 2018.

TERKELTAUB, R.A.; GINSBERG, M.H. Platelets and response to injury. In: **The molecular and cellular biology of wound repair**; p. 35-55,1998.

TERZIC, A.; NELSON, T. J. Regenerative medicine primer. **Mayo Clinic Proceedings**, v.88, p.766-775, 2013. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23809322/> > Acesso em: Agos, 12, 2020.

THEORET, L. C.; WILMINK, J. M. Aberrant wound healing in the horse: Naturally occurring conditions reminiscent of those observed in man. Em: **Wound repair and regeneration**, v.21, p. 3, 2013.

TURIN, S. Y.; LEDWON, J. K.; BAE, H.; BUGANZ A-TEPOLE, A.; TOPCZEWSKA, Jolanta; GOSAIN, Arun K.; Digital analysis yields more reliable and accurate measures of dermal and epidermal thickness in histologically processed specimens compared to traditional methods. **Experimental Dermatology**, Austrian, vol.27(6), pp.687-690, jun. 2018. Disponível em: <[ttp://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-29573291](http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-29573291)>. Acesso em: 07 out. 2021.

YAMADA A. L. M., ALVARENGA M. L., BRANDÃO J. S., WATANABE M. J., RODRIGUES C. A., HUSSNI C. A. E ALVES A. L. G. Arcabouço de PRP-gel associado a células tronco mesenquimais: uso em lesões condrais em modelo experimental equino. **Pesq. Vet. Bras.** 36(6):461-467, 2016.

YANG, L. et al. A biomechanical model of wound contraction and scar formation. **J. Theor. Biol.**, v.332, p.228-248, 2013.