

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 08/05/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO E  
ALOGÊNICO AQUECIDO NO TRATAMENTO DE CERATITE  
ULCERATIVA EM CÃES**

ANNALÚ PINTON FERREIRA

Botucatu – SP

Julho/ 2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO E  
ALOGÊNICO AQUECIDO NO TRATAMENTO DE CERATITE  
ULCERATIVA EM CÃES**

**ANNALÚ PINTON FERREIRA**

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Assoc. Cláudia Valéria  
Seullner Brandão

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de  
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para  
obtenção do título de mestre no Programa  
de Pós-graduação em Biotecnologia  
Animal.

Botucatu - SP  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Ferreira, Annalú Pinton.

Uso do plasma rico em plaquetas autólogo e alogênico aquecido no tratamento de ceratite ulcerativa em cães / Annalú Pinton Ferreira. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão  
Capes: 50501003

1. Imunologia. 2. Plasma rico em plaquetas. 3. Córnea. 4. Ceratite. 5. Substâncias de crescimento. 6. Cães - Doenças.

Palavras-chave: PRP; fatores de crescimento; imunologia; lesões de córnea.

ANNALÚ PINTON FERREIRA

**USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO E  
ALOGÊNICO AQUECIDO NO TRATAMENTO DE CERATITE  
ULCERATIVA EM CÃES**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof.<sup>a</sup> Assoc. Cláudia Valéria Seullner Brandão**

Membro e Orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ - UNESP Botucatu /SP

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elenice Deffune**

Membro

Departamento de Urologia

FMB - UNESP Botucatu /SP

---

**Dr.<sup>a</sup> Cíntia Sesso Perches**

Membro

Médica Veterinária Autônoma

Piracicaba - SP

Data da Defesa: 08 de maio de 2019

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** por me ajudar a superar todas as dificuldades enfrentadas durante este período.

Aos meus familiares: **José Ferreira Filho, Sueli Aparecida Pinton Ferreira, Neide Maria Ferreira Trevizan, Wagner Pinton Ferreira** por todo suporte psicológico, incentivo, amor, companheirismo e apoio incondicional durante toda a minha vida, sem vocês nada disso seria possível.

Ao meu namorado **João Victor Ribeiro da Silva de Souza** que esteve ao meu lado em todos os momentos, apoiando e me fazendo crescer juntamente aos meus sogros: **Claudia Andreia da Silva Paniguel e Valdir Ângelo Paniguel** que me adotaram como filha a quem eu sou eternamente grata.

À minha orientadora **Professora Cláudia Valéria Seullner Brandão** pela confiança depositada em meu trabalho desde o período de iniciação científica e que pôde acompanhar minha evolução profissional. Sou grata pelos ensinamentos transmitidos, pela paciência e por tudo o que faz por todas nós.

Ao **Professor José Joaquim Tilton Ranzani** pelos momentos de descontração, pelas conversas e por estar sempre disposto a nos ajudar.

A toda “Família Oftalmo” composta por **Micaella Gandonfi, Rodrigo Barros, Inajara Hirota, Anna Clara Hussein, Lenise Garbelotti, Letícia Ramos e Mariana de Sessa** e aos mais recentes **Luis Reiter e Mayara Chagas Ferreira** pela amizade, aprendizados e por toda a ajuda neste período.

Às **Professoras Ana Liz Garcia Alves e Regina Kiomi Takahira** pela disponibilidade ao uso do laboratório para a realização deste projeto.

Ao **Professor Carlos Roberto Padovani** pelos ensinamentos e por ter desenvolvido a análise estatística.

Às minhas grandes amigas irmãs **Alana Lucena Oliveira e Mayara Travalini de Lima** pelas risadas, companheirismo, paciência e desabafos. Agradeço por sempre estarem ao meu lado.

Agradecer à **Bruna dos Santos** pela amizade de tanto tempo e por todo o auxílio laboratorial no desenvolvimento deste projeto.

À **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), processo nº 2017/ 13836-0, pelo apoio fundamental na realização deste trabalho.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Sinais clínicos oftalmológicos analisados segundo tratamento com PRP alogênico aquecido (GA) ou PRP autólogo (GP) nos momentos de avaliação representados por mediana, seguida por valor mínimo e máximo .....43
- Tabela 2.** Área da ceratite ulcerativa (mm<sup>2</sup>) analisadas segundo tratamento com PRP alogênico aquecido (GA) ou PRP autólogo (GP) até o momento de reparação corneal completa (M5), representada por mediana, seguida por valores mínimos e máximo.....46
- Tabela 3.** Espessura central e periférica da córnea, segundo tratamento com PRP alogênico aquecido (GA) ou PRP autólogo (GP) nos momentos de avaliação, representada por média e desvio padrão.....47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>PRP</b>	Plasma rico em plaquetas
<b>FCs</b>	Fatores de crescimento
<b>EGF</b>	Fator de crescimento epidermal
<b>IgE</b>	Imunoglobulinas E
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>MMPs</b>	Metaloproteinases
<b>PDGF</b>	Fator de crescimento derivado de plaquetas
<b>TGF<math>\beta</math></b>	Fator de crescimento transformador- $\beta$
<b>IGF-I</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina
<b>FGF</b>	Fator de crescimento de fibroblastos
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento do endotélio vascular
<b>PF-4</b>	Fator plaquetário IV
<b>LASIK</b>	Cirurgia refrativa
<b>PPP</b>	Plasma pobre em plaquetas
<b><math>\mu</math>L</b>	Microlitro
<b>GP</b>	Grupo tratado com PRP autólogo
<b>GA</b>	Grupo tratado com PRP alogênico aquecido
<b>M0</b>	Antes de iniciar o tratamento
<b>M3</b>	3 dias de tratamento
<b>M5</b>	5 dias de tratamento
<b>M10</b>	10 dias de tratamento
<b>M15</b>	15 dias de tratamento
<b>M30</b>	30 dias de tratamento
<b>mL</b>	Mililitro
<b>G</b>	Gravidade
<b>ARVO</b>	Association for Research in Vision and Ophthalmology
<b>AP</b>	Autologous PRP eye drops
<b>HP</b>	Heated allogeneic PRP eye drops



## SUMÁRIO

Capítulo 1.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Anatomia e Fisiologia da Córnea .....	13
2.2 Ceratite ulcerativa e mecanismos de reparação da córnea .....	14
2.3 Os fatores de crescimento e sua atuação na reparação corneal .....	16
2.4 O uso do plasma rico em plaquetas (PRP) na oftalmologia.....	20
3. REFERÊNCIAS.....	25
Capítulo 2.....	33
USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO E ALOGÊNICO AQUECIDO NO TRATAMENTO DE CERATITE ULCERATIVA EM CÃES .....	34
Resumo.....	34
Abstract.....	35
Introdução .....	35
Material e Métodos.....	37
Resultados e discussão .....	40
Conclusão .....	48
Referências Bibliográficas.....	48

FERREIRA, A.P. **Uso do Plasma Rico em Plaquetas Autólogo e Alogênico Aquecido no Tratamento de Ceratite Ulcerativa em Cães**. Botucatu, 2019. p.52. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

O plasma rico em plaquetas (PRP) atua na reparação corneal e quando aquecido, apresenta menor potencial à reação imunológica local sem prejudicar os níveis dos fatores de crescimento (FCs). O objetivo deste estudo clínico foi comparar o PRP autólogo com o alogênico aquecido no tratamento de ceratite ulcerativa em cães, bem como os seus efeitos clínicos. Para esse experimento, foram utilizados 24 cães com ceratite ulcerativa e estes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais, um tratado por meio de colírio de PRP autólogo (n=11) outro com colírio de PRP alogênico aquecido (n=13). Todos os animais foram avaliados no momento inicial e após 3, 5, 10, 15 e 30 dias do tratamento. Foram analisadas as variáveis oftalmológicas: blefaroespasmos, secreção ocular, opacidade corneal, vascularização, fotofobia, hiperemia conjuntival, quemose, espessura corneal, bem como o percentual de redução da úlcera de córnea. Em ambos os grupos, foi verificada redução do tempo de cicatrização da lesão com adequada reepitelização corneal, bem como diminuição dos sinais de inflamação. Concluiu-se que o PRP autólogo e alogênico aquecido apresentaram resultados equivalentes e podem ser uma excelente opção no tratamento adjuvante na reparação de ceratite ulcerativa em cães e que sua utilização potencializa a cicatrização, promove diminuição da inflamação e opacidade corneal.

**Palavras chave:** Fatores de crescimento; imunologia; lesões de córnea; PRP.

FERREIRA, A.P. **Use of Heated Alogenic and Autologous Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Ulcerative Keratitis in Dogs.** Botucatu, 2019. p.52. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

### **ABSTRACT**

Platelet rich plasma (PRP) acts on corneal repair and, when heated, presents reduced local immune response without interfering in growth factor (GF) levels. This clinical trial aimed to compare the use of autologous PRP and heated allogeneic PRP in the treatment of ulcerative keratitis in dogs, as well as their clinical effects. For this purpose, 24 dogs were utilized from the routine with diagnosis of ulcerative keratitis, and randomly distributed into two experimental groups, one treated with autologous PRP eye drops (n=11) and the other with heated allogeneic PRP eye drops (n=13). All the animals were evaluated before and at 3, 5, 10, 15 and 30 days after treatment. The ophthalmologic variables analyzed were: blepharospasm, ocular discharge, corneal opacity, vascularization, photophobia, conjunctival hyperemia, chemosis, corneal thickness, as well as the percentage of corneal ulcer reduction. In both groups, reduction of wound healing time with adequate corneal reepithelialization was observed, as well as reduction of inflammation signs. It was concluded that heated autologous and allogeneic PRP presented equivalent results and may be an excellent option in the adjuvant treatment in the repair of ulcerative keratitis in dogs and that its use promotes a decrease in inflammation and clinical signs of pain, enhancing corneal healing.

**Key-words:** Growth factors; immunology; corneal ulcers; PRP.

# Capítulo 1

## 1. INTRODUÇÃO

A oftalmologia veterinária é uma especialidade que vem evoluindo muito nos últimos anos, contribuindo para a manutenção da visão dos animais (GALERA et al., 2017). Dentre as principais afecções oculares que os acometem encontra-se a ceratite ulcerativa, também denominada úlcera de córnea, que ocorre quando há perda do epitélio e parte do estroma corneal (HERRERA et al., 2008; LAUS et al., 2009; SLATTER et al., 2013; MOREIRA et al., 2018).

As principais funções da córnea estão correlacionadas com a proteção e refração da luz (LAUS et al., 2009). Por estar diretamente em contato com o ambiente externo está propensa à ocorrência de traumas físicos, químicos e biológicos resultando na perda da função de sua barreira protetora, e desta forma, o seu mecanismo de reparação é regulado por mediadores inflamatórios e fatores de crescimento (FCs) produzidos imediatamente após a ocorrência da lesão (GUM; MACKAY, 2013).

Os FCs são mediadores biológicos naturais sintetizados pelas células do epitélio, estroma e endotélio corneal logo após a ocorrência de uma lesão (YU et al., 2010). Podem estar localizados no filme lacrimal e humor aquoso em contato íntimo com a córnea, participando dos processos reparativos da mesma (YU et al., 2010). Estes são responsáveis por estimularem a proliferação de ceratinócitos que irão sintetizar colágeno e proteoglicano, produzindo a matriz extracelular a fim de promover cicatrização da úlcera (ALIO et al., 2015).

Estes fatores também podem ser encontrados nos grânulos- $\alpha$  plaquetários, sendo possível concentrá-los por meio de centrifugações, e, após essa etapa, passa a ser denominado como plasma rico em plaquetas (PRP) (ALIO et al., 2013). Desta forma, o seu uso proporciona uma maior concentração de FCs tornando a reparação corneal mais rápida e eficaz, sendo frequentemente estudado em oftalmologia devido aos seus benefícios terapêuticos e pelo baixo custo de processamento (ANITUA et al., 2004; MERLINI et al., 2014; ANITUA et al., 2018).

Anitua et al. (2014) desenvolveram uma nova modalidade de PRP, na qual, após o sangue coletado ser submetido às centrifugações este é aquecido

à 56°C durante uma hora. Pôde-se observar neste estudo que o aquecimento diminuiu os índices de fator de crescimento epidermal (EGF), proteínas do sistema complemento e Imunoglobulinas E (IgE), sem interferir na concentração dos demais FCs, podendo ser indicado no tratamento de afecções de caráter autoimune.

A hipótese para esse trabalho é que o PRP alogênico aquecido seja uma opção viável de tratamento adjuvante na reparação das ceratites ulcerativas em cães. Ressalta-se, portanto, que o uso de PRP alogênico aquecido e autólogo vem sendo estudado no tratamento de úlceras de córnea, apresentando resultados bastante satisfatórios especialmente no que diz respeito à aceleração inicial da cicatrização, diminuição de opacidades e na possibilidade de redução do seu potencial imunogênico ao aquecê-lo (DONATTI et al., 2013; MERLINI et al., 2014; PERCHES et al., 2015; GANDOLFI, 2016).

A motivação para o desenvolvimento desse projeto esta na carência de estudos relatando a eficácia clínica do PRP alogênico aquecido no processo de reparação corneal em cães. Devido à diminuição da atividade imunológica local, sem comprometer a concentração dos FCs, tornaria viável a implantação de um banco de PRP com animais saudáveis.

O estoque de PRP alogênico aquecido permitiria ampliar a sua aplicação em outros cães, inclusive os de pequeno porte e peso reduzido ou aqueles acometidos por alguma afecção sistêmica, sem comprometer suas funções hemodinâmicas, em vista da grande quantidade de sangue necessária para a síntese de PRP autólogo.

Objetiva-se com esse estudo comparar os efeitos clínicos do PRP autólogo com o PRP alogênico aquecido no tratamento de ceratite ulcerativa em cães. Podendo-se desta forma indicá-los como uma opção de terapia adjuvante na cicatrização de úlceras de córnea.

339  
340  
341  
342  
343

#### 344 **Conclusão**

345         Conclui-se que o PRP autólogo e alogênico aquecido em cães apresentam-se de forma  
346 equiparável quanto a sua capacidade de acelerar a reepitelização, redução da inflamação e  
347 opacidade corneal, sendo uma excelente opção no tratamento adjuvante da ceratite ulcerativa  
348 em cães. O uso do PRP alogênico aquecido promove ampla disponibilidade de aplicação  
349 clínica especialmente em cães de pequeno porte e portadores de afecções de caráter  
350 autoimune, tornando válida a instituição de um banco de PRP alogênico aquecido e  
351 criopreservado.

352

#### 353 **Agradecimentos**

354         A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo  
355 n°2017/ 13836-0, pelo apoio financeiro.

356

#### 357 **Referências Bibliográficas**

358 Ackermann, M.R., 2017. Inflammation and healing. In: Zachary, J.F. (Ed.), Pathologic Basis  
359 of Veterinary Disease. Elsevier, Illinois-USA, pp. 73-131.

360 Akbache, A., Lamiot, É., Moroni, O., Turgeon, S., Gauthier, S.F., Pouliot, Y., 2009. Use of  
361 membrane processing to concentrate TGF-  $\beta$ 2 and IGF-I from bovine milk and whey.

362 Journal of Membrane Science, 326, 435-440.

363 Aleixo, G.A. de S., Coelho, M.C. de O.C., Trajano, S.C., Andrade, L.S.S., 2017. Platelet-rich

- 364 plasma: mechanisms of action, production and indications for use - a review. *Medicina*  
365 *Veterinária (UFRPE)*, 11, 239-246.
- 366 Aleixo, G.A.S., Coelho, M.C.O.C., Teixeira, M.N., Mesquita, E.P., Oliveira, F.F., Zubieta,  
367 L.M. V, Almeida, T.L.C., Guimarães, A.L.N., Maia, F.C., Zacarias, T.F.L., Santos,  
368 S.M.L.G., Lima, C.P.S., 2011. Comparison between two protocols to obtain platelet-rich  
369 plasma in dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63, 567-573.
- 370 Alio, J.L., Rodriguez, A.E., Martinez, L.M., Rio, A.L., 2013. Autologous fibrin membrane  
371 combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal  
372 ulcers: A pilot study. *JAMA Ophthalmology*, 131, 745-751.
- 373 Alio, J.L., Arnalich-Montiel, F., Rodriguez, A.E., 2012. The role of “eye platelet rich  
374 plasma”(E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Current Pharmaceutical*  
375 *Biotechnology*, 13, 1257-1265.
- 376 Alio, J.L., Abad, M., Artola, A., Rodriguez-Prats, J.L., Pastor, S., Ruiz-Colecha, J., 2007. Use  
377 of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers.  
378 *Ophthalmology*, 114, 1286-1293.
- 379 Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P., Nurden, A.T., 2004. Autologous platelets as a  
380 source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis*, 91,  
381 4-15.
- 382 Anitua, E., Muruzabal, F., Pino, A., Merayo-Llodes, J., Orive, G., 2013a. Biological stability  
383 of plasma rich in growth factors eye drops after storage of 3 months. *Cornea*, 32, 1380-  
384 1386.
- 385 Anitua, E., Zalduendo, M.M., Alkhraisat, M.H., Orive, G., 2013b. Release kinetics of  
386 platelet-derived and plasma-derived growth factors from autologous plasma rich in  
387 growth factors. *Annals of Anatomy*, 195, 461-466.
- 388 Anitua, E., Muruzabal, F., De la Fuente, M., Merayo-Llodes, J., Orive, G., 2014. Effects of



- 389 heat-treatment on plasma rich in growth factors-derived autologous eye drop.  
390 Experimental Eye Research, 119, 27-34.
- 391 Anitua, E., Prado, R., Nurden, A.T., Nurden, P., 2018. Characterization of plasma rich in  
392 growth factors (PRGF): components and formulations. In: Anitua, E., Cugat, R.,  
393 Sánchez, M. (Eds.), Platelet Rich Plasma in Orthopaedics and Sports Medicine. Springer  
394 International Publishing, Vitoria Gasteiz-Spain, pp. 29-45.
- 395 Donatti, C., Brandão, C.V.S., Ranzani, J.J.T., Perches, C.S., Padovani, C.H., Pellizzon, C.H.,  
396 Sereno, M.G., 2013. Use of platelet-rich plasma in the treatment of deep corneal ulcers  
397 induced in rabbits. Clinical and histomorphometric evaluation. Arquivo Brasileiro de  
398 Medicina Veterinária e Zootecnia, 65, 809-818.
- 399 Gandolfi, M.G., 2016. Allogenic Platelet-Rich Plasma In Induced Ulcers In Rats Cornea.  
400 Master Thesis (Veterinary Ophthalmology), Universidade Estadual Paulista Júlio de  
401 Mesquita Filho, Botucatu-SP.
- 402 Garbett, N.C., Miller, J.J., Jenson, A.B., Chaires, J.B., 2008. Calorimetry outside the box : a  
403 new window into the plasma proteome. Biophysical Journal, 94, 1377-1383.
- 404 Gum, G.G., Mackay, E.O., 2013. Physiology of the eye. In: Gelatt, K.N. (Ed.), Veterinary  
405 Ophthalmology. Wiley-Blackwell, University of Florida, USA, pp. 171-207.
- 406 Johnson, R.A., Wichern, D.W, 2007. The Bonferroni Method of Multiple Comparisons. In:  
407 Johnson, R.A., Wichern, D.W (Eds.), Applied Multivariate Statistical Analysis. Pearson  
408 Prentice Hall, New Jersey, pp. 232-233.
- 409 Kabiri, A., Esfandiari, E., Esmaeili, A., Hashemibeni, B., Pourazar, A., Mardani, M., 2014.  
410 Platelet-rich plasma application in chondrogenesis. Advanced Biomededical Research.  
411 3, 138.
- 412 Kim, K.M., Shin, Y.T., Kim, H.K., 2012. Effect of autologous platelet-rich plasma on  
413 persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. Japanese Journal

- 414 of Ophthalmology, 56, 544-550.
- 415 Maggs, D.J., 2013. Cornea and sclera. In: Maggs, D.J., Miller, P.E., Ofri, R. (Eds.), Slatter's  
416 Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. Elsevier, pp. 184-219.
- 417 Marx, R.E., 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. Journal of Oral and  
418 Maxillofacial Surgery, 62, 489-496.
- 419 Merlini, N.B., Fonzar, J.F., Perches, C.S., Sereno, M.G., Souza, V.L., Estanislau, C.A.,  
420 Rodas, N.R., Ranzani, J.J.T., Maia, L., Padovani, C.R., Brandão, C.V.S., 2014. Use of  
421 platelet rich plasma on corneal ulcers in dogs. Arquivo Brasileiro de Medicina  
422 Veterinária e Zootecnia, 66, 1742-1750.
- 423 Miller, M.A., Collier, R.J., Torkelson, A.R., White, T.C., Madsen, K.S., Eppard, P.J., Vicini,  
424 J.L., Lanza, G.M, 1991. Factors Affecting Insulin-Like Growth Factor-I Concentration  
425 in Bovine Milk. Journal of Dairy Science, 74, 2905-2911.
- 426 Moreira, M.V.L., Teixeira Neto, R.L.A.L., Langohr, I.M., Ecco, R., 2018. Prospective study  
427 of ocular and periocular diseases in animals: 188 cases. Pesquisa Veterinária Brasileira,  
428 38, 502-510.
- 429 Panda, A., Jain, M., Vanathi, M., Velpandian, T., Khokhar, S., Dada, T., 2012. Topical  
430 autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. Cornea 31,  
431 989-993.
- 432 Perches, C.S., Pellizzon, C.H., Ranzani, J.J.T., Donatti, C., Padovani, C.R., Merlini, N.B.,  
433 Fonzar, J.F., Beserra, H.E.O., Rocha, N.S., Brandão, C.V.S., 2015. Expression of matrix  
434 metalloproteinases and PCNA in deep corneal ulcers induced in rabbits, treated with  
435 platelet-rich plasma. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 67, 1607-  
436 1615.
- 437 Pontes, K.C.S., Borges, A.P.B., Eleotério, R.B., Favarato, L.S.C., Duarte, T.S., 2011. Repair  
438 process of corneal damage and the amniotic membrane in ophthalmology. Ciência Rural

- 439 41, 2120-2127.
- 440 Ranzani, J.J.T., Brandão, C.V.S., Cremonini, D.N., Mobicci, L.A.L., Rodrigues, G.N., 2009.
- 441 Terapia em Oftalmologia. In: Laus, J.L (Ed.), *Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães*
- 442 *e Gatos*. Rocca, pp. 12–32.
- 443 Rocha, E.M., Cunha, D.A., Carneiro, E.M., Boschero, A.C., Saad, M.J.A., Velloso, L.A.,
- 444 2002. Identification of insulin in the tear film and insulin receptor and IGF-I receptor on
- 445 the human ocular surface. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, 963-967.
- 446 Samuelson, D. A., 2013. *Ophthalmic Anatomy*. In: Gelatt, K.N. (Ed.), *Veterinary*
- 447 *Ophthalmology*. Wiley-Blackwell, University of Florida, USA, pp. 39-170
- 448 Sanchez-Avila, R.M., Merayo-Lloves, J., Riestra, A.C., Berisa, S., Lisa, C., Sánchez, J.A.,
- 449 Muruzabal, F., Orive, G., Anitua, E., 2018. Plasma rich in growth factors membrane as
- 450 coadjuvant treatment in the surgery of ocular surface disorders. *Medicine*, 97, 1–10.
- 451 Singh, V., Barbosa, F.L., Torricelli, A.A.M., Santhiago, M.R., Wilson, S.E., 2014.
- 452 Transforming growth factor  $\beta$  and platelet-derived growth factor modulation of
- 453 myofibroblast development from corneal fibroblasts *in vitro*. *Experimental Eye*
- 454 *Research*, 120, 152–160.
- 455 Tanidir, S.T., Yuksel, N., Altintas, O., Yildiz, D.K., Sener, E., Caglar, Y., 2010. The effect of
- 456 subconjunctival platelet-rich plasma on corneal epithelial wound healing. *Cornea* 29,
- 457 664–669.
- 458 Yu, F.S.X., Yin, J., Xu, K., Huang, J., 2010. Growth factors and corneal epithelial wound
- 459 healing. *Brain Research Bulletin*, 81, 229–235.
- 460 Young, A., Mcnaught, C.E., 2011. The physiology of wound healing. *Surgery Oxford*, 29,
- 461 475-479.
- 462 Zar, J.H., 2009. *Biostatistical analysis*. Pearson Prentice Hall, New Jersey, pp. 232-233.
- 463