

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/07/2018.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS ALOGÊNICO EM  
ÚLCERAS INDUZIDAS EM CÓRNEA DE RATOS**

**MICAELLA GORDON GANDOLFI**

**BOTUCATU - SP**  
**Julho/2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**

# **PLASMA RICO EM PLAQUETAS ALOGÊNICO EM ÚLCERAS INDUZIDAS EM CÓRNEA DE RATOS**

**MICAELLA GORDON GANDOLFI**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Botucatu, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Adj. Cláudia Valéria Seullner Brandão.

**BOTUCATU - SP**  
**Julho/2016**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Gandolfi, Micaella Gordon.

Plasma rico em plaquetas alogênico em úlceras induzidas em córnea de ratos / Micaella Gordon Gandolfi. - Botucatu, 2016

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

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Capes: 50501003

1. Plasma Rico em Plaquetas. 2. Córnea - Úlceras. 3. Biotecnologia animal. 4. Soluções oftálmicas. 5. Rato como animal de laboratório.

Palavras-chave: Colírio; Fator de crescimento; PDGF; Plasma rico em plaquetas aquecido; Reparação corneal.



MICAELLA GORDON GANDOLFI

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS ALOGÊNICO EM ÚLCERAS INDUZIDAS  
EM CÓRNEA DE RATOS**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Profª. Adj. Drª. Cláudia Valéria Seullner Brandão**

Membro e Orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária  
FMVZ/UNESP - Botucatu - SP.

---

**Profa. Adj. Drª. Regina Kiomi Takahira**

Presidente

Departamento de Clínica Veterinária  
FMVZ/UNESP - Botucatu - SP.

---

**Profa. Adj. Drª. Claudia Helena Pellizon**

Membro

Departamento de Morfologia  
IB-UNESP - Botucatu - SP.

Data da defesa: 22 de julho de 2016.

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus.

À minha orientadora Professora Cláudia Valéria, por todos os ensinamentos, pela paciência, por tudo que ela fez e faz por mim e principalmente por ter me aceitado no mestrado e ter depositado tanta confiança em mim, espero ter retribuído.

Ao Professor Quim, por todos os ensinamentos, pelas conversas, por toda a dedicação pelo serviço e por nós.

À Profa. Cláudia Pellizzon por me receber em seu departamento por me ajudar no desenvolvimento deste estudo, sempre me recebendo com muito carinho em seu departamento. Ao Lucas e Fernando Pereira pela ajuda no laboratório.

À Profa. Regina Kiomi Takahira pelas correções e por toda a contribuição tanto na qualificação quanto na defesa.

À grande família oftálmica, que hoje não é tão grande assim: Úrsula, Cintia, Inajara, Natalie, Nátaia, Joice, Vivian, Rodrigo, Cris, Luciana e Anna Clara, queria agradecer de coração a cada um por terem me ajudado, cada um de uma maneira; obrigada por animarem as minhas madrugadas com os animais; sem vocês eu não estaria aqui.

Às meninas com quem morei, seja um mês ou anos, Juliana, Rebeca, Flávia, Janaína, Úrsula, Natalie, Ana Paula, Inajara, Anna Clara e Lenise; obrigada pelas conversas, desabafos e pela ótima convivência.

Aos meus pais, Karen e Alberto, sem vocês eu não estaria aonde estou, obrigada pelo apoio, dedicação, pela educação que recebi; vocês são a minha base, sem vocês nada disso faria sentido. Em especial para o Alberto, pois sempre tive vontade de estudar e aprender me espelhando em você.

Ao Augusto, meu namorado, a pessoa que mais me aguentou nesse tempo todo, obrigada pela paciência e por sempre me fazer ver o outro lado de tudo.

Ao Prof. Carlos Roberto Padovani pela análise estatística.

À CAPES pelo apoio fundamental na realização deste trabalho.

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Vascularização corneal nos diferentes grupos e momentos de avaliação, representada por mediana dos escores, seguida por valor mínimo e máximo ..... | 43 |
| Tabela 2. Opacidade corneal nos diferentes grupos e momentos de avaliação, representada por mediana dos escores, seguida por valor mínimo e máximo. ....      | 44 |
| Tabela 3. Reparação corneal nos diferentes grupos e momentos, representada por mediana dos escores, seguida por valor mínimo e máximo. ....                   | 45 |
| Tabela 4. Concentração corneal de PDGF-BB (ng/mL), segundo grupos e momento de avaliação, representada por média e desvio padrão. ....                        | 46 |

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Aspecto macroscópico dos bulbo ocular e anexos dos ratos. Notar: A. Opacidade leve e ausência de vasos e reparação corneal parcial no M3 do grupo aquecido (GA). B. Opacidade intensa e ausência de vasos e reparação corneal parcial no M3 do grupo controle (GC). C. Opacidade leve, ausência de vasos e reparação corneal parcial no M3 do grupo PRP (GP). .....45

## LISTA DE ABREVIACÕES

|              |                                                                   |
|--------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>µl</b>    | microlitro                                                        |
| <b>ARVO</b>  | <i>Association for Research in Vision and Ophthalmology</i>       |
| <b>βFGF</b>  | fator de crescimento de fibroblastos básico                       |
| <b>EGF</b>   | fator de crescimento epidermal                                    |
| <b>FGF</b>   | fator de crescimento fibroblástico                                |
| <b>FMVZ</b>  | Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu |
| <b>GA</b>    | grupo tratado com plasma rico em plaquetas aquecido               |
| <b>GC</b>    | grupo controle                                                    |
| <b>GP</b>    | grupo tratado com plasma rico em plaquetas                        |
| <b>IgE</b>   | imunoglobulina E                                                  |
| <b>IGF-I</b> | fator de crescimento semelhante à insulina                        |
| <b>IM</b>    | intramuscular                                                     |
| <b>KGF</b>   | fator de crescimento de ceratinócitos                             |
| <b>M1</b>    | 1 dia de tratamento                                               |
| <b>M3</b>    | 3 dias de tratamento                                              |
| <b>M5</b>    | 5 dias de tratamento                                              |
| <b>mg</b>    | miligramas                                                        |
| <b>mg/kg</b> | miligramas por quilo                                              |
| <b>mg/mL</b> | miligramas por mililitro                                          |
| <b>mL</b>    | mililitro                                                         |
| <b>MMPs</b>  | metaloproteinase da matriz extracelular                           |
| <b>ng/mL</b> | nanograma por mililitro                                           |
| <b>PDGF</b>  | fator de crescimento derivado das plaquetas                       |
| <b>PPP</b>   | plasma pobre em plaquetas                                         |
| <b>PRP</b>   | plasma rico em plaquetas                                          |
| <b>TGF-β</b> | fator transformador de crescimento beta                           |
| <b>UNESP</b> | Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho            |
| <b>VEGF</b>  | fator de crescimento endotelial vascular                          |

## SUMÁRIO

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Capítulo 1 .....                                                                    | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO.....                                                                   | 14 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA.....                                                        | 16 |
| 2.1 Aspectos anatomofisiológicos da córnea .....                                    | 16 |
| 2.2 Reparação corneal.....                                                          | 18 |
| 2.3 Atuação dos fatores de crescimento na reparação corneal .....                   | 19 |
| 2.4 A utilização do plasma rico em plaquetas na oftalmologia .....                  | 21 |
| 3 REFERÊNCIAS .....                                                                 | 25 |
| PLASMA RICO EM PLAQUETAS ALOGÊNICO EM ÚLCERAS INDUZIDAS EM<br>CÓRNEA DE RATOS ..... | 35 |

GANDOLFI, M.G. **Plasma rico em plaquetas alogênico em úlceras induzidas em córnea de ratos**. Botucatu, 2016. p.49. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

Neste estudo, tivemos como objetivo avaliar o efeito clínico do uso do plasma rico em plaquetas (PRP) alogênico, aquecido ou não aquecido, no tratamento de úlcera de córnea, utilizando-se o rato como modelo experimental. Para isso foram induzidas úlceras unilaterais na córnea esquerda de ratos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*) (n=81), machos e fêmeas, os quais foram distribuídos de forma randomizada em três grupos (n=27): grupo controle (GC), o qual não recebeu nenhum tratamento tópico; grupo PRP aquecido (GA) e o grupo PRP (GP); ambos receberam tratamento tópico a cada oito horas, durante cinco dias. Cada grupo foi subdividido em três momentos, de acordo com o período final de avaliação, 24 horas (M1), três dias (M3) e cinco dias (M5). A avaliação clínica foi realizada considerando-se as variáveis opacidade, vascularização e reparação corneal. Foi dosado na córnea o PDGF-BB, utilizando-se o método de Elisa. Houve diminuição da opacidade corneal nos grupos tratados em relação ao GC, no M1, bem como menor tempo na reparação corneal dos grupos tratados quando comparado com GC. Quanto à vascularização, observou-se maior vascularização no M3 em comparação com o M1, apenas no GP. Entretanto não houve diferença na concentração de PDGF-BB, dentre os grupos e momentos. Conclui-se que a utilização de PRP alogênico, aquecido ou não, acelera a reparação corneal, bem como diminui a opacidade corneal; no entanto, não aumenta a concentração do PDGF-BB na córnea.

**Palavras chave:** Plasma rico em plaquetas aquecido; Fator de crescimento; reparação corneal; PDGF; Plasma rico em fatores de crescimento; Colírio.

**GANDOLFI, M.G. Allogenic Platelet-Rich Plasma In Induced Ulcers In Rats Cornea.** Botucatu, 2016. p. 49. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## **ABSTRACT**

This study aims to evaluate the clinical effect of the use of an allogeneic platelet-rich plasma (PRP), heated or unheated, in the treatment of corneal ulcers. An experimental model of corneal ulcers were induced in 81 rats (*Rattus norvegicus*, Albinus variety), standardizing the left eye, distributing the rats randomly and blindly into three groups (n = 27): control group (CG), which received no topical treatment; heated PRP Group (GA) and PRP group (PG) which received topical treatment every eight hours for five days. Each group was divided at three different moments, according to the final evaluation moment, 24 hours (M1), three days (M3) and five days (M5). The opacity, vascularization and corneal repair were clinically evaluated. PDGF-BB was measured from the cornea, using ELISA method. There was a reduction of corneal opacity at M1 and M5 in animals treated with PRP (GA and GP) and decrease in corneal repair time, when compared to the control group. Also, a greater vascularization was noted in the GP in M3 compared to M1. The use of allogeneic PRP eyedrops, heated or not, accelerates the corneal repair as well as decreases the corneal opacity. However, the concentration of PDGF in the cornea did not alter in any treatment.

**Keywords:** Heated Platelet-rich plasma; Growth fator; Platelet-derived growth fator; Corneal repair; Eyedrop.

## Capítulo 1

## 1 INTRODUÇÃO

A ceratite ulcerativa, conhecida também como úlcera de córnea, é a afecção ocular mais frequente nos animais; ocorre quando o epitélio e uma quantidade variável do estroma são perdidos (SLATTER, 2005; HERRERA, 2008; GALERA et al., 2009).

Devido à ausência de vasos na córnea, o mecanismo de cicatrização é conduzido por intermédio de mediadores inflamatórios, juntamente com os fatores de crescimento produzidos decorrentes da lesão (GUM; MacKAY, 2013).

Os fatores de crescimento são produzidos pelo epitélio, estroma e endotélio corneal (ZAGON et al., 2000) e estão presentes no filme lacrimal e humor aquoso, ficando constantemente em contato com a córnea (ROLANDO; ZIERHUT; LONG et al., 2007). Estes são de extrema importância na reparação corneal devido à ação mediadora na proliferação de células epiteliais e estromais, e influenciam na remodelação da matriz extracelular (SCALINCI et al., 2011).

Dentre os principais fatores de crescimento que atuam na cicatrização corneal está o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), que tem como função modular a proliferação, migração e diferenciação das células na córnea, assim como em outros tecidos (SINGH et al., 2014).

Estudos avaliaram os derivados à base de sangue e mostraram que os mesmos são eficazes e seguros no tratamento de muitas doenças da superfície ocular (ANITUA, 2015). Dentre os derivados, encontra-se o plasma rico em plaquetas (PRP), que possui alta concentração de plaquetas e fatores de crescimento, que são liberados pelos grânulos- $\alpha$  das plaquetas (ANITUA et al., 2004).

A utilização do PRP em afecções da superfície ocular está sendo cada vez mais estudada e aplicada. Sabe-se que o PRP possui excelentes resultados, acelerando a cicatrização, quando empregados na oftalmologia (ALIÓ et al., 2007a; ALIÓ et al., 2007b; GEREMICCA et al., 2010; PANDA et al., 2012; ALIÓ et al., 2013).

Anitua et al. (2014) avaliaram uma nova opção de PRP, o qual é aquecido à 56°C durante uma hora após o seu preparo. Nesse estudo, verificou-se que a concentração da maioria dos fatores de crescimento não alterou. Entretanto, o

fator de crescimento epidermal (EGF), proteínas do sistema complemento e Imunoglobulina E (IgE) apresentaram diminuição significativa do componente inflamatório. Concluíram que o uso do PRP aquecido é uma opção para o tratamento de doenças da superfície ocular em pacientes que possuem como etiologia de base, o sistema autoimune, uma vez que o aquecimento diminuiu os níveis de IgE e do sistema complementar; contudo, manteve a maior parte das proteínas e componentes envolvidos na cicatrização. Além disso, sugeriram estudos *in vivo* para avaliar a eficácia e o potencial do PRP aquecido.

Hipotetiza-se que a utilização de fatores de crescimento em forma de colírio aumenta a presença do mesmo na córnea. Além de que, a utilização de PRP, seja ele aquecido ou não, oriundo de outros animais da mesma espécie, sob forma de colírio é capaz de acelerar a cicatrização, bem como diminuir a opacidade corneal, posto que os fatores de crescimento presentes no PRP modulam a reparação corneal.

Na literatura consultada, não foram encontrados estudos sobre a administração do PRP aquecido no tratamento de úlcera de córnea, tampouco a utilização de PRP alogênico, o que estimulou o desenvolvimento desta pesquisa.

Diante deste contexto, objetivou-se, com este estudo, avaliar o efeito clínico do uso do PRP e PRP aquecido, ambos alogênicos, no tratamento de úlcera de córnea, utilizando-se o rato como modelo experimental. Além disso, comparar a resposta do tratamento com PRP e PRP aquecido, por meio de avaliação clínica e quantificação do fator de crescimento derivado de plaquetas BB (PDGF-BB) na córnea, desta forma, estabelecendo-se uma nova opção terapêutica adjuvante na cicatrização de úlcera de córnea.

### 3 REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R. Inflamação e cicatrização. In: ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013. cap. 3, p. 86-146.

ALIÓ, J. L.; ABAD, M.; ARTOLA, A.; RODRIGUEZ-PRATS, J. L.; PASTOR, S.; COLECHA, J. R. Use of autologous platelet-rich plasma in treatment of dormant corneal ulcers. **American Academy of Ophthalmology**, v. 114, n. 7, p. 1286-1293, 2007a.

ALIÓ, J. L.; ARNALICH-MONTIEL, F.; RODRIGUEZ, A. E. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, p. 1257-1265, 2012.

ALIÓ, J. L.; COLECHA, J. R.; PASTOR, S.; RODRIGUEZ, A.; ARTOLA, A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. **Ophthalmic Research**, v. 39, n. 3, p. 124-129, 2007b.

ALIÓ, J. L.; RODRIGUEZ, A. E.; MARTINEZ, L. M.; RIO, A. L. Autologous fibrin membrane combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers. **Journal of the American Medical Association. Formerly Archives of Ophthalmology**, v. 131, n. 6, p. 745-751, 2013.

ANDREW, S. E. Immune-mediated canine and feline keratitis. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 38, n. 2, p. 269-290, 2008.

ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 14, p. 529-535, 1999.

ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; NURDEN, A. T. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 91, n. 1, p. 4-15, 2004.

ANITUA, E.; MURUZABAL, F.; TAYEBBA, A.; Riestra, A.; PEREZ, V. L.;

MERAYO-LLOVES, J.; ORIVE, G. Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: preclinical and clinical studies. **Acta Ophthalmologica**, v. 93, p. 605-614, 2015.

ANITUA, E.; MURUZABAL, F.; DE LA FUENTE, M.; MERAYO-LLOVES, J.; ORIVE, G. Effects of heat-treatment on plasma rich in growth factors-derived autologous eye drop. **Experimental Eye Research**, v. 119, p. 27-34, 2014.

BARROS, L. F.; BARROS, P. S.; RÖPKE, C. D.; SILVA, V. V.; SAWADA, T. C.; BARROS, S. B.; BELFORT JR., R. Dose-dependent in vitro inhibition of rabbit corneal matrix metalloproteinases by an extract of *Pothomorphe umbellata* after alkali injury. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 8, p. 1129-1132, 2007.

BENTLEY, E.; MURPHY, C. J. Topical therapeutic agents that modulate corneal wound healing. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 623-638, 2004.

BERCHT, B. S. **Úlcera de córnea profunda em cães**. 2009. 35 f. Monografia (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Comissão de Estágio, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

BERGSTEN, E.; UUTELA, M.; LI, X.; PIETRAS, K.; OSTMAN, A.; HELDIN, C.-H.; ALITALO, K.; ERIKSSON, U. PDGF-D is a specific, protease-activated ligand for the PDGF beta-receptor. **Nature Cell Biology**, v. 3, p. 512-516, 2001.

BETSHOLTZ, C.; KARISSON, L.; LINDAHL, P. Developmental roles of platelet-derived growth factors. **Bio e Essays**, v. 23, p. 494-507, 2001.

BROOKS, D. E.; OLLIVIER, F. J. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 611-622, 2004.

CARRINGTON, L. M.; ALBON, J.; ANDERSON, I.; KAMMA, C.; BOULTON, M. Differential regulation of key stages in early corneal wound healing by TGF-

beta isoforms and their inhibitors. **Investigative Ophthalmology & Vision Science**, v. 47, n. 5, p. 1886-1894, 2006.

CLAESSON-WELSH, L. Mechanism of action of platelet-derived growth factor. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 28, p. 373-374, 1996.

COUTURE, S.; DOUCET, M.; MOREAU, M.; CARRIER, M. Topical effect of various agents on gelatinase activity in the tear film of normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 3, p. 157-164, 2006.

DONATTI, C.; BRANDÃO, C. V. S.; RANZANI, J. J. T.; PERCHES, C. S.; PADOVANI, C. R.; PELLIZZON, C. H.; SERENO, M. G. Uso do plasma rico em plaquetas sob a forma de colírio ou tampão no reparo de úlceras de córnea profundas induzidas em coelhos: avaliação clínica e histomorfométrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 809-818, 2013.

FREIRE, V.; ANDOLLO, N.; ETXEBARRIA, J.; HERNÁEZ-MOYA, R.; DURÁN, J.A.; MORALES, M. C. Corneal wound healing promoted by 3 blood derivatives: an in vitro and in vivo comparative study. **Cornea**, v. 33, n. 6, p. 614-620, 2014.

GALERA, P. D.; LAUS, J. L.; ORIÁ, A. P. Afecções da túnica fibrosa. In: LAUS, J. L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. cap. 4, p. 69-96-110.

GEREMICCA, W.; FONTE, C.; VECCHIO, S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms. **Blood Transfusion**, v. 8, p. 107-112, 2010.

GILBERTSON, D. G.; DUFF, M. E.; WEST, J. W.; KELLY, J. D.; SHEPPARD, P. O.; HOFSTRAND, P. D.; GAO, Z.; SHOEMAKER, K.; BUKOWSKI, T. R.; MOORE, M.; FELDHAUS, A. L.; HUMES, J. M.; PALMER, T. E.; HART, C. E. Platelet-derived growth factor C (PDGF-C), a novel growth factor that binds

to PDGF  $\alpha$  and  $\beta$  receptor. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, p. 27406-27414, 2001.

GUM, G. G.; MacKAY, E. O. Physiology of the eye. In: GELLAT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. **Veterinary ophthalmology**. 5. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2013. chap. 3, p. 171-207.

HERRERA, D. Afecções da córnea. In:\_\_\_\_. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet, 2008. chap. 7, p. 111-140.

JOYCE, N.; ZIESKE, J. Transforming growth factor-beta receptor expression in human cornea. **Investigative Ophthalmology & Vision Science**, v. 38, p. 1922-1928, 1997.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 488.

KABIRI, A.; ESFANDIARI, E.; ESMAEILI, A.; HASHEMIBENI, B.; POURAZAR, A.; MARDANI, M. Platelet-rich plasma application in chondrogenesis. **Advanced Biomedical Research**, v. 3, p. 135-156, 2014.

KAUR, H.; CHAURASIA, S. S.; MEDEIROS, F. W.; AGRAWAL, V.; SALOMAO, M. Q.; SINGH, N.; AMBATI, B. K.; WILSON, S. E. Corneal stroma PDGF blockade and myofibroblast development. **Experimental Eye Research**, v. 88, n. 5, p. 960-965, 2009.

KIM, K. M.; SHIN, Y. T.; KIM, H. K. Effect of autologous platelet rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. **The Official International Journal of the Japanese Ophthalmology Society**, v. 56, p. 544-550, 2012.

KIM, W. J.; MOHAN, R. R.; WILSON, S. E. Effect of PDGF, IL-1 alpha, and BMP2/4 on corneal fibroblast chemotaxis: expression of the platelet-derived growth factor system in the cornea. **Investigative Ophthalmology & Vision Science**, v. 40, p. 1364-1372, 1999.

LEDBETTER, E. C.; GILGER, B. C. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: GELLAT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. **Veterinary ophthalmology**. 5. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2013. chap. 18, p. 976-1049.

LEDBETTER, E. C.; MUNGER, R. J.; RING, R. D.; SCARLETT, J. M. Efficacy of two chondroitin sulfate ophthalmic solutions in the therapy of spontaneous chronic corneal epithelial defects and ulcerative keratitis associated with bullous keratopathy in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 2, p. 77-78, 2006.

LEE, J. W.; KWON, O. H.; KIM, T. K.; CHO, Y. K.; CHOI, K. Y.; CHUNG, H. Y.; CHO, B. C.; YANG, J. D.; SHI, J. H. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. **Archives of Plastic Surgery**, v. 40, n. 5, p. 530-535, 2013.

LONG, Q.; CHU, R.; ZHOU, X.; DAI, J.; CHEN, C.; RAO, S. K.; LAM, D. S. C. Correlation between TGF- $\beta$ 1 in tears and corneal haze following LASEK and Epi-LASIK. **American Journal of Ophthalmology**, v. 143, n. 1, p. 195-199, 2007.

LYNCH, S. E.; WILLIAMS, R. C.; POLSON, A. M.; HOWELL, T. H.; REDDY, M. S.; ZAPPA, U. E.; ANTONIADES, H. N. A combination of platelet-derived and insuline-like growth factors enhances periodontal regeneration. **Journal of Periodontology**, v. 16, p. 545-548, 1989.

MARQUEZ, R. A.; ESPINOSA, I. M.; MUNOZ, M.; PEREIRA, G. Aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas en el tratamiento de quemaduras oculares. Resultados preliminares. **Archivos Sociedad Española de Oftalmología**, v. 82, p. 475-482, 2007.

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

MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUSS, J. E.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: growth factor

enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**, v. 85, p. 638-646, 1998..

MERLINI, N. B.; FONZAR, J. F.; PERCHES, C. S.; SERENO, M. G.; SOUZA, V. L.; ESTANISLAU, C. A.; RODAS, N. R.; RANZANI, J. J. T.; MAIA, L.; PADOVANI, C. R.; BRANDÃO, C. V. S. Uso de plasma rico em plaquetas em úlceras de córnea em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p. 1742-1750, 2014.

MURPHY, C. J.; MARFURT, C. F.; McDERMOTT, A.; BENTLEY, E.; ABRAMS, G. A.; REID, T. W.; CAMPBELL, S. Spontaneous chronic epithelial defects (SCCED) in dogs: clinical features, innervation, and effect of topical SP, with or without IGF-1. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 10, p. 2252-2261, 2001.

NJAA, B. L.; WILCOCK, B. P. Orelha e olhos. In: ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. cap. 20, p. 1156-1247.

OLLIVIER, F. J.; BROOKS, D. E.; KALLBERG, M. E.; KOMAROMY, A. M.; LASSALINE, M. E.; ANDREW, S. E.; GELATT, K. N.; STEVENS, G. R.; BLALOCK, T. D.; VAN SETTEN, G. B.; SCHULTZ, G. S. Evaluation of various compounds to inhibit activity of matrix metalloproteinases in the tear film of horses with ulcerative keratitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 9, p. 1081-1087, 2003.

OLLIVIER, F. J.; BROOKS, D. E.; VAN SETTEN, G. B.; SCHULTZ, G. S.; GELATT, K. N.; STEVENS, G. R.; BLALOCK, T. D.; ANDREW, S. E.; KOMAROMY, A. M.; LASSALINE, M. E.; KALLBERG, M. E.; CUTLER, T. J. Profiles of matrix metalloproteinase activity in equine tear fluid during corneal healing in 10 horses with ulcerative keratitis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 6, p. 397-405, 2004.

PANDA, A.; JAIN M.; VANATHI M.; VELPANDIAN T.; KHOKHAR S.; DADA T. Topical autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. **Cornea**, v. 31, n. 9, p. 989-993, 2012.

PERCHES, C. S.; PELLIZZON, C. H.; RANZANI, J. J. T.; DONATTI, C.; PADOVANI, C. R.; MERLINI, N. B.; FONZAR, J. F.; BESERRA, H. E. O.; ROCHA, N. S.; BRANDÃO, C. V. S. Expressão de metaloproteinases de matriz e PCNA em úlceras de córnea profundas, induzidas em coelhos, tratadas com plasma rico em plaquetas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 6, p. 1607-1615, 2015.

PIPPI, N. L.; GONÇALVES, G. F.; ORIÁ, A. P. Anatomofisiologia ocular. In: LAUS, J. L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. cap. 1, p. 1-10.

REZENDE, M. S. V. M.; SILV, C.; ANTUNES, V. C.; RIBEIRO, L. E. F.; TATSUI, N.; CVINTAL, T. Uso do concentrado de plaquetas em doença da superfície ocular. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 66, n. 4, p. 257-261, 2007.

ROLANDO, M.; ZIERHUT, M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. **Survey of Ophthalmology**, v. 45, n. 2, p. 203-212, 2001.

SCALINCI, S. Z.; SCOROLLI, L.; MEDURI, A.; GRENGA, P. L.; CORRADETTI, G.; METRANGOLO, C. Effect of basic fibroblast growth factor and cytochrome c peroxidase combination in transgenic mice corneal epithelial healing process after excimer laser photoablation. **Clinical Ophthalmology**, v. 5, p. 215-221, 2011.

SINGH, V.; JAINI, R.; TORRICELLI, A. A. M.; SANTHIAGO, M. R.; SINGH, N.; AMBATI, B. K.; WILSON, S. E. TGF $\beta$  and PDGF-B signaling blockade inhibits myofibroblast development from both bone marrow-derived and keratocyte-derived precursor cells in vivo. **Experimental Eye Research**, v. 21, p. 35-40, 2014.

SLATTER, D. Córnea e esclera. In: SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2005. cap. 11, p. 283-338.

SLATTER, D.; DIETRICH, U. Córnea e esclera. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2007. cap. 11, p. 1368-1396.

STADES, F. C.; BOEVÉ, M. W.; NEUMANN, W.; WYMAN, M. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. São Paulo: Roca, 1999.

STRUBBE, D. T.; BROOKS, D. E.; SCHULTZ, G. S.; WILLIS-GOULET, H.; GELATT, K. N.; ANDREW, S. E.; KALLBERG, M. E.; MACKAY, E. O.; COLLANTE, W. R. Evaluation of tear film proteinases in horses with ulcerative keratitis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, n. 2-3, p. 111-119, 2000.

SUN, Y.; SU, L.; WANG, YANG, Z.; XU, Y.; XU, X. H-RN, a peptide derived from hepatocyte growth factor, inhibits corneal neovascularization by inducing endothelial apoptosis and arresting the cell cycle. **BMC Cell Biology**, v. 14, n. 8, p. 1-10, 2013.

TANDIR, S. T.; YUKSEL, N.; ALTINTAS, O.; YILDIZ, D. K.; SENER, E.; CAGLAR, Y. The effect of subconjunctival platelet-rich plasma on corneal epithelial wound healing. **Basic Investigation**, v. 29, n. 6, p. 664-669, 2010.

TERRACIO, L.; RÖNNSTRAND, L.; TINGSTRÖM, A.; RUBIN, K.; CLAEISSON-WELSH, L.; FUNA, K.; HELDIN, C.-H. Induction of platelet-derived growth factor receptor expression in smooth muscle cells and fibroblasts upon tissue culturing. **Journal of Cell Biology**, v. 107, p. 1947, 1988.

VAN DER WOERDT, A. Adnexal surgery in dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 5, p. 284-290, 2004.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 33, n. 1, p. 24-28, 2006.

WHITMAN, D. H.; BERRY, R. L.; GREEN, D. M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery.

**Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 55, p. 1294-1299, 1997.

WILLIAMS, D. L.; KIM, J. Y. Feline entropion: a case series of 50 affected animals (2003-2008). **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 4, p. 221-226, 2009.

WITMER, A. N.; VRENSSEN, G. F. J. M.; VAN NOORDEN, C. J. F.; SCHLINGEMANN, R. O. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 22, p. 1-29, 2003.

WROTNIAK, M.; BIELECKI, T.; GAZDZIK, T. S. Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery. **Ortopedia Traumatologia Rehabilitação**, v. 9, n. 3, p. 227-238, 2007.

YU, F. S. X.; YIN, J.; XU, K.; HUANG, J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. **Brain Research Bulletin**, v. 81, p. 229-235, 2010.

ZAGON, I. S.; SASSANI, J. W.; MCLAUGHLIN, P. J. Re-epithelialization of the rabbit cornea is regulated by opioid growth factor. **Brain Research**, v. 803, p. 61-68, 1998.

ZAGON, I. S.; SASSANI, J. W.; McLAUGHLIN, P. J. Reepithelization of the human cornea is regulated by endogenous opioids. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 41, n. 1, p. 73-81, 2000.

ZHOU, L.; BEUERMAN, R. W.; HUANG, L.; BARATHI, A.; FOO, Y. H.; LI, S. F.; CHEW, F. T.; TAN, D. Proteomic analysis of rabbit tear fluid: defensin levels after an experimental corneal wound are correlated to wound closure. **Proteomics**, v. 7, n. 17, p. 3194-3206, 2007.