

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/04/2025.

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

**USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS EM ÚLCERAS DE
CÓRNEA EM CÃES**

JULIANA MARQUES SOUSA

**BOTUCATU – SP
ABRIL/2023**

**USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS EM ÚLCERAS DE
CÓRNEA EM CÃES**

JULIANA MARQUES SOUSA

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Animal para a
obtenção do título de Mestre

Orientadora: Prof^a Titular Cláudia
Valéria Seullner Brandão

BOTUCATU – SP

ABRIL/2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA
INFORM.DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU -
UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB

Sousa, Juliana Marques.

Uso de fibrina rica em plaquetas em úlceras de córnea em
cães / Juliana Marques Sousa. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Capes: 90300009

1. Substâncias de crescimento. 2. Serviço de Hemoterapia. 3.
Paquimetria Corneana 4. Úlcera da Córnea.
6. Oftalmologia veterinária.

Nome do autor: JULIANA MARQUES SOUSA

TÍTULO: USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS EM ÚLCERAS DE
CÓRNEA EM CÃES

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª Titular Cláudia Valéria Seullner Brandão

Presidente e Orientadora

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

Profª. Ass. Drª. Natalie Bertelis Merlini

Membro externo

Docente na Universidade Estadual do Norte do Paraná UENP – Campus Luiz
Meneguel, Bandeirantes, Paraná.

Prof. Titular Sheila Canavese Rahal

Membro interno

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

Data do Exame: 18 de Abril de 2023

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo a uma pessoa essencial para a minha formação profissional, em caráter e essência de quem eu sou hoje, sem minha mãe, Maria Eunice Marques da Silva, nada disso seria possível. A palavra aqui é gratidão.

Em seguida, agradeço ao meu pai, Edmundo Expedito de Sousa, e à minha querida irmã, Bruna Marques Sousa, os quais se fizeram presentes sempre que possível e aos quais eu tenho um imenso amor e respeito e tenho certeza que celebram todas as minhas vitórias assim como eu mesma.

Agradeço à minha querida orientadora desde à residência, professora Cláudia Valéria Seullner Brandão, por me apoiar nesse projeto e me ajudar a alcançar meu objetivo de poder fazer um mestrado acadêmico em oftalmologia veterinária na minha Universidade do coração.

Obrigada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp Botucatu pelos anos de ensino e por me proporcionar momentos inesquecíveis e suporte em todas as etapas da minha jornada acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento nº 88887.630443/2021-00.

Obrigada aos membros da banca examinadora por doarem um pouco do seu tempo para poder agregar no aperfeiçoamento deste trabalho.

À equipe do Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV/FMVZ-Botucatu em especial aos meus amigos que continuam e outros que já se foram do meu convívio diário, sem vocês nada disso faria sentido e minha curva de aprendizado não teria sido a mesma.

Muita gratidão aos meus familiares que estiveram presentes mesmo longe e de quem eu me aproximei muito e sempre pude recorrer em momentos de crise e dificuldade, foram vocês que seguiram comigo nesses tempos sombrios que vivemos nos últimos anos. Àqueles que não estão mais neste plano agradeço e deixo aqui escrita minha insuportável saudade.

Agradeço imensamente aos meus amigos, colegas e pessoas que fizeram minha vida mais feliz e leve durante todos esses anos. À minha

república Tarja Preta que foi o meu primeiro lar longe da minha família e que efetivamente tornou-se minha família e foi crucial para que eu continuasse minha história em Botucatu.

Os mais sinceros e especiais agradecimentos a todos os animais que passaram pela minha vida e trouxeram imensa alegria e muitos aprendizados. Ao meu primeiro amor canino, minha primogênita e razão pela qual eu escolhi ser médica veterinária: Princesa. Aos meus outros e não menos especiais amores caninos Zara (um anjinho), Shakira, Allis e à minha caçula felina Backhaus, o meu eterno agradecimento e amor que não cabe no peito.

Obrigada a todos que me apoiaram nessa jornada!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Córnea.....	4
2.2 Úlcera de córnea	5
2.3 Cicatrização da córnea.....	5
2.4 PRF	6
2.5 Lente de contato.....	8
3 REFERÊNCIAS.....	9
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO	18
MATERIAIS E MÉTODOS	19
RESULTADOS.....	24
DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
EGF	Fator de crescimento epidermal
FA	Fosfatase alcalina
FGF	Fator de crescimento fibroblástico
GC	Grupo controle
GGT	Gama glutamil trasferase
GL	Grupo lente
IGF-I	Fator de crescimento semelhante à insulina
KGF	Fator de crescimento de ceranócitos
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PRF	Plaqueta rica em fibrina
PRP	Plasma rico em plaquetas
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
β FGF	Fator de crescimento de fibroblastos básico
PIO	Pressão intraocular

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Cão da raça Shih Tzu representando uma fotodocumentação com régua. Observar úlcera de córnea estromal profunda, hiperemia leve, edema de córnea, presença de secreção mucopurulenta. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária**Error! Bookmark not defined.**

FIGURA 2. Amostra de sangue após a cetrifugação evidenciando o coágulo de fibrina na parte média do tubo. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária**Error! Bookmark not defined.**

FIGURA 3. Membrana de PRF autóloga sobre a córnea de um cão da raça Shih Tzu no transoperatório (A) e após realização de tarsorrafia parcial lateral (B). Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária**Error! Bookmark not defined.**

FIGURA 4. Cão do Grupo Lente nos momentos de avaliação. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária**Error! Bookmark not defined.**

FIGURA 5. Cão do Grupo Controle nos momentos de avaliação. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária**Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Atribuição das medianas dos escores para as variáveis clínicas da reparação das úlceras em cães, nos grupos controle e tratados com PRF e lente, nos diferentes momentos (M) em dias.	34
TABELA 2. Variáveis clínicas mensuradas, média e desvio padrão, na reapração das úlceras em cães, nos grupos controle e tratados com PRF e lente, nos diferentes momentos (M) em dias.	35
TABELA 3. Atributos clínicos atribuídos às úlceras de córnea em cada grupo nos momentos de avaliação. Valores expressos em mediana, valor mínimo e valor máximo.	36

SOUSA, J. M. USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS EM ÚLCERAS DE CÓRNEA EM CÃES. Botucatu, 2023. 51 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP.

RESUMO

O objetivo do estudo foi analisar a ação clínica da fibrina rica em plaquetas (PRF) autóloga nas úlceras de córnea superficiais e estromais em cães; e verificar a viabilidade da manutenção do biomaterial com uso de lentes de contato associada à tarsorrafia lateral temporária. Para isso, foram utilizados 16 cães, atendidos em serviço de oftalmologia com úlcera de córnea unilateral, distribuídos em dois grupos equitativos (n=08). Todos foram tratados com colírio à base de tobramicina 0,3% quatro vezes ao dia (QID) e colírio lubrificante à base de hialuronato de sódio 0,15% (QID). No grupo controle (GC) este foi o único tratamento instituído, no grupo grupo lente (GL), foi adicionada a aplicação da membrana de PRF autóloga, seguida de lente de contato e tarsorrafia lateral temporária. Os cães foram avaliados antes do tratamento, dez dias e trinta dias após o início da terapêutica, por meio de escores quali-quantitativos das variáveis oftalmológicas: vascularização, secreção ocular, hiperemia, blefaroespasma, quemose, fotofobia, pigmento corneal. Adicionalmente foi avaliada a área da úlcera e espessura da córnea. Aos dez dias observou-se maior retração das úlceras em relação ao GC, embora sem relevância estatística. Todas as úlceras estavam cicatrizadas no momento final de avaliação. O PRF autólogo é uma opção viável de tratamento adjuvante na reparação das ceratites ulcerativas, o uso de lentes de contato e tarsorrafia temporária tornam a técnica acessível.

Palavras chave: Reparação corneal, Fator de crescimento, Paquimetria corneal, Hemocomponente

SOUSA, J. M. USE OF FIBRIN-RICH PLATELET ON CORNEAL ULCERS IN DOGS.

Botucatu, 2023. 51 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP.

ABSTRACT

The study aimed to analyze the clinical action of autologous platelet-rich fibrin (PRF) on superficial and stromal corneal ulcers and to verify the feasibility of using contact lenses associated with temporary lateral tarsorrhaphy. For this, 16 dogs have been treated at the ophthalmology service with unilateral corneal ulcer and they were divided into two experimental groups (n=08). All dogs received treatment with tobramycin-based eye drops 0,3% (QID) and sodium hyaluronate-based 0,15% lubricating eye drops (QID). In the control group (GC), this was the only treatment instituted, while in the lens group (GL), the PRF membrane was applied and maintained using a contact lens and a temporary lateral tarsorrhaphy. The dogs were evaluated before treatment, ten days, and thirty days after the start of therapy using qualitative and quantitative scores of the ophthalmological variables: vascularization, ocular secretion, hyperemia, blepharospasm, chemosis, photophobia, and corneal pigment. Additionally, ulcer area and corneal thickness were evaluated. At M10 their ulcer retractions were greater when compared to the M10 of the GC, but did not show statistical significance. At M30 ulcers in both groups were fully healed. Autologous PRF proved to be a viable option for adjuvant treatment in the repair of ulcerative keratitis, the use of contact lenses and temporary tarsorrhaphy make the technique accessible.

Key words: Corneal repair, Growth factor, Corneal pachymetry, Blood component.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A úlcera de córnea desenvolve-se quando há perda de epitélio e parte do estroma, é considerada emergência oftalmológica, pois pode progredir para descemetocelose ou perfuração ocular, que por vezes, são irreversíveis e resultam na perda da visão (SLATTER et al., 2013; MOREIRA et al., 2018). É uma das causas tratáveis mais comuns das doenças oculares associadas ao déficit visual em cães e, apesar das evidências recentes da predisposição de certas raças braquicefálicas, relações com outros parâmetros individuais ainda permanecem pouco documentados (BERCHT, 2009; VILELA, 2019).

A etiologia da úlcera corneal canina é multifatorial, podendo ser de origem endógena e exógena, associada à diminuição da proteção do epitélio e aumento da lesão corneal (VILELA, 2019). Podem compreender diversos tipos de trauma, produção lacrimal inadequada, lesões químicas, função palpebral inadequada devido defeitos palpebrais, invasão ou resposta imunológica inadequada aos microrganismos, além de doenças alérgicas, metabólicas, endócrinas, neutrofílicas e idiopáticas (BERCHT, 2009).

Segundo Sun et al. (2013), os fatores de crescimento são os principais responsáveis pelo processo de reparação da corneal. O fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) auxilia na reparação corneal por meio de processos de vascularização da córnea, podendo comprometer a visão devido à perda de sua transparência (SUN et al., 2013). Já o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) tem a função de intervir na proliferação, além de atuar na migração e diferenciação celular (SINGH et al., 2014). Além destes, há o fator de crescimento epidermal (EGF); fator de crescimento fibroblástico (FGF); fator de crescimento de fibroblastos básico (β FGF); e fator de crescimento de ceratinócitos (KGF) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) (MARX, 2004; VENDRAMIN et al., 2006; WROTNIK et al., 2007; LEE et al., 2013; KABIRI et al., 2014).

Tendo em vista a aceleração da reparação corneal por meio do uso de fatores de crescimento e sua ação hemostática das lesões, pesquisas envolvendo novas formas de tratamento para a doença foram descritas (ALIO et al., 2015). O uso de hemoderivados que incluem plaquetas é um tratamento que se destaca na oftalmologia médica, por meio da utilização do plasma rico em plaquetas oftalmológico

(E-PRP) que possui uma formulação própria (CHOUKROUN et al., 2006; ALIÓ et al., 2015). Os resultados são bem sucedidos no tratamento do olho seco, úlceras indolentes, síndrome da ceratomalácia em superfície ocular pós-laser *in situ*, reconstrução cirúrgica da superfície ocular após a perfuração de córnea associada ao transplante de membranas (amniótica, pericárdio bovino ou fibrina autóloga associada a coágulo de PRP sólido) (CHOUKROUN et al., 2006; ALIÓ et al., 2015).

O PRP em cães, na forma de colírio ou de tampão sólido, é um excelente adjuvante no tratamento de úlcera de córnea, pois atua na diminuição dos sinais inflamatórios e da dor ocular, além de auxiliar potencialmente na cicatrização do defeito epitelial (MERLINI et al. 2014). Os resultados são bastante satisfatórios no que diz respeito à aceleração inicial da cicatrização corneal e em oftalmologia veterinária com o uso do PRP em úlceras corneais, especialmente na diminuição do tempo de tratamento (DONATTI et al., 2013; MERLINI et al., 2014; GANDOLFI et al., 2016, FERREIRA et al., 2019). Os resultados favoráveis com seu uso estimulam a terapêutica com hemoderivados em oftalmologia veterinária, incluindo a técnica de PRF, que apresenta facilidade em sua confecção.

A membrana de fibrina rica em plaquetas (PRF), é a segunda geração do concentrado de plaquetas, foi descrito pela primeira vez em 2001 (CHOUKRUN et al., 2001). É composta por uma matriz de fibrina autóloga polimerizada tridimensional (3-D), com incorporação de plaquetas concentradas, fatores de crescimento, citocinas, células-tronco circulantes e poucos leucócitos, que possuem fatores quimiotáticos na cicatrização de feridas, além de se destacar pela facilidade de obtenção (CAN et al., 2016). Na oftalmologia médica, ainda há poucos estudos direcionados ao seu uso no tratamento para lesão de córnea.

O estudo do PRP bem estabelecido proporcionará maior acesso à terapêutica com hemoderivados em oftalmologia clínica veterinária, facilitando o início dos estudos utilizando a técnica de PRF.

Considerando o acima exposto, o estudo fundamenta-se na utilização do PRF no tratamento para úlcera de córnea em cães, possibilitando o conhecimento das características cicatriciais e biológicas da membrana. Adicionalmente, na literatura consultada, do conhecimento dos autores, não há estudos da eficácia do PRF no processo da reparação em úlceras de córneas espontâneas em cães.

A hipótese estabelecida é que o PRF autólogo auxiliará favoravelmente na reparação das ceratites ulcerativas em cães.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Córnea

A córnea é um tecido que possui quatro camadas teciduais, sendo elas epitélio, estroma, membrana de Descemet e endotélio (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Sua espessura está entre 1 e 2 μm (DIESEM, 2006). Alguns autores consideram a película lacrimal pré corneal como uma quinta camada corneal, embora não seja histologicamente visível (SLATTER, 2005).

A camada mais externa da córnea é o epitélio, este possui padrão simples, escamoso e não queratinizado e pode ser considerado uma continuação da conjuntiva bulbar (BISTNER, 1977; SLATTER, 2005). O estroma compõe 90% da substância corneal e o espaçamento regular entre suas fibras ajuda a garantir a transparência da córnea. (BISTNER, 1977; HELPER, 1989, DIESEM, 2006). Segundo Bicas et al. (1997) a transição com a estrutura adjacente (esclera), chamada limbo esclerocorneal ou limbo corneoescleral é delicada e a regular distribuição das fibrilas colágenas em seu estroma desorganiza-se progressivamente para formar a esclera.

A membrana de Descemet é a membrana basal do endotélio modificada, sendo transparente, fina e altamente elástica (SLATTER, 2005). O endotélio possui uma única camada de células hexagonais e constitui a camada mais interna, revestindo a câmara anterior (BISTNER, 1977; HELPER, 1989; SLATTER, 2005).

A córnea está localizada no segmento anterior do bulbo ocular e possui uma característica muito importante e única: a transparência (SAMUELSON, 1999). Caracteriza-se pela ausência de vasos sanguíneos, pigmentos ou queratinização do epitélio superficial, baixa densidade celular e regularidade no arranjo das fibras de colágeno no estroma (MAGGS, 2008). Outra característica importante é que sua superfície é lisa e altamente resistente a deformações e traumas (TOWNSEND, 2009; KIERSZENBAUM & TRES, 2012).

2.2 Úlcera de córnea

A úlcera de córnea, também denominada ceratite ulcerativa, consiste na perda do epitélio da córnea, resultando na exposição do estroma (LEDBETTER & GILGER, 2014), resultado de processos erosivos superficiais ou profundos (GELATT, 1995; STADES, 1999; KRACHMER, 2011; BELKNAP, 2015).

Fatores predisponentes para o desenvolvimento são descritos, dentre eles, trauma, infecção bacteriana ou fúngica e doenças imunomediadas (FARGHALI et al., 2021). Alguns autores relacionam características faciais com o surgimento da lesão (LEDBETTER & GILGER, 2014).

Os sinais clínicos mais comuns são blefarospasmo, dor, descarga ocular, fotofobia podendo manifestar edema e neovascularização ao redor da úlcera, além de opacidade da córnea (MANDELL, 2000). O epitélio regenera e faz mitose constante com cicatrização em torno de 7 dias, diferente do endotélio que não faz mitose e só expande as células presentes no local (FARGHALI et al., 2021).

2.3 Cicatrização da córnea

A cicatrização de uma úlcera na córnea obedece uma sequência de eventos organizados (KERN, 1990; SLATTER, 2005).

As células do epitélio basal começam a se achatar após uma hora da lesão e substâncias são secretadas na lesão como fibrina, fibrinogênio e fibronectina, com objetivo de realizar tamponamento inicial e, por meio de estímulos quimiotáticos, polimorfonucleares chegam através do filme lacrimal e vão fagocitar os debris celulares remanescentes (NASISSE, 1985; KERN, 1990). Em algumas horas, células epiteliais adjacentes deslizam para cobrir o defeito e em poucos dias se completa a mitose das células epiteliais, restaurando a arquitetura normal do epitélio em cinco a sete dias (NASISSE, 1985; KERN, 1990). Estímulos nervosos, hormonais, fatores de crescimento e mensageiros bioquímicos vão influenciar o processo de mitose e o deslizamento do epitélio corneal (NASISSE, 1985; KERN, 1990).

Brooks et al. (2003) descreveram que as proteinases existentes no processo de cicatrização corneal normalmente estão em balanço com inibidores de proteinases, em caso de ceratite ulcerativa ou na própria córnea normal, servindo

para prevenir uma excessiva degeneração do tecido.

Os concentrados de plaquetas autólogos têm sido usados em medicina regenerativa há algum tempo devido à abundância de fatores de crescimento; na área da odontologia em cirurgias maxilofacial, odontológicas e na cavidade oral; e em outras áreas como cicatrização de feridas e na medicina esportiva (CASTILHO et al., 2021).

2.4 PRF

O PRP em cães já é descrito em literatura e seu uso como tratamento de lesões corneais mostrou resultados satisfatórios quando comparado ao tratamento clínico convencional à base de colírios (MERLINI et al. 2014). O tempo de cicatrização da córnea com uso do PRP resultou na aceleração da cicatrização e diminuição do tempo de tratamento (DONATTI et al., 2013; MERLINI et al., 2014; GANDOLFI et al., 2016, FERREIRA et al., 2019), estimulando, assim, o uso de hemoderivados em oftalmologia veterinária, incluindo o PRF, biomaterial de simples e de rápida confecção que apresenta potencial para aceleração do processo de cicatrização corneal.

O PRF é um produto sanguíneo autólogo, sem conservantes e rico em proteínas e fatores de crescimento, que possibilitam a diferenciação, proliferação e migração das células, estimulando a cicatrização e a regeneração dos tecidos (WRÓBEL-DUDZIŃSKA et. al., 2018). É considerado um biomaterial natural à base de fibrina, favorável ao desenvolvimento de microvascularização e capaz de guiar a migração de células epiteliais para sua superfície (CHOUKROUN, 2006).

Segundo Bonatti et. al. (2007), a fibrina é um derivado do sangue formado pela reação entre diversos componentes do plasma. Quando a fibrina é usada no tratamento da perfuração da córnea, ela é seguida pela cicatrização subsequente e pelo crescimento epitelial revestindo a área lesada (WRÓBEL-DUDZIŃSKA et al., 2018). A retirada mecânica do tampão de fibrina aplicado não é necessária, pois o processo inflamatório local promove sua absorção (BONATTI et al., 2007).

Assim que o tampão de fibrina sela a ferida, ele é posteriormente substituído por colágeno, progredindo para o processo de cicatrização (BONATTI et al., 2007). A matriz de fibrina orienta a cobertura de tecidos lesados, afetando o metabolismo

de células epiteliais e fibroblastos (CHOUKROUN, 2006).

Segundo Dohan et al. (2006), a ausência de anticoagulante implica a ativação em poucos minutos da maioria das plaquetas da amostra de sangue em contato com as paredes do tubo e a liberação da cascata de coagulação, sendo o fibrinogênio inicialmente concentrado na parte alta do tubo, antes que a trombina circulante o transforme em fibrina. Um coágulo de fibrina é então obtido na parte central do tubo, entre os células vermelhas na parte inferior e o plasma acelular na parte superior (DOHAN et al, 2006).

O interesse na aplicação da membrana de PRF é evidente, pois protege feridas abertas e acelera a cicatrização; além disso, sua matriz contém leucócitos e promove sua migração, apresentando potencial em feridas infectadas (CHOUKROUN, 2006).

As plaquetas presentes no biomaterial final garantem aceleração do processo de cicatrização através do estímulo à migração leucocitária e inclusão de fatores de crescimento na lesão, principais responsáveis pelo processo de reparação corneal. O processo de cicatrização ocorre de forma natural mas a aplicação deste hemoderivado parece facilitar o acesso de fatores quimiotáticos, além de produzir uma proteção imunogênica no local da lesão (WRÓBEL-DUDZIŃSKA et. al., 2018).

Dentro do arsenal terapêutico de agentes hemostáticos, os adesivos de fibrina são bem documentados; eles correspondem a um mecanismo biológico natural (polimerização de fibrina durante a hemostasia) amplificado de forma artificial e são produzidos e comercializados por indústrias farmacêuticas nos Estados Unidos da América (EUA), pois apresentam risco de contaminação viral infinitamente pequeno (DOHAN et al., 2006).

Ao contrário dos adesivos de fibrina simples, ou concentrados de plaquetas, o PRF resulta de um processo natural de polimerização progressiva durante a centrifugação, sendo que a rede de fibrina formada apresenta uma organização tridimensional particularmente homogênea, ainda mais coerente do que coágulos de fibrina naturais (DOHAN, 2006).

A membrana de PRF descrita por Choukroun (2001) pode ser fácil e

rapidamente preparada por um método simples, requer apenas um tubo de sangue sem anticoagulante, sistema de centrifugação e um período de cerca de 15 minutos antes do procedimento cirúrgico (CAN, 2016). Esta técnica é livre de substâncias químicas, as quais eventualmente promovam alterações locais e/ou sistêmicas e, permite a obtenção de uma membrana de fibrina autóloga enriquecida com plaquetas e fatores de crescimento, sendo uma opção de tratamento acessível (CAN et al., 2016).

Existem relatos na literatura demonstrando resultados satisfatórios da cola de fibrina em diferentes procedimentos cirúrgicos em humanos, como por exemplo: Bonatti et al. (2007) descreveram o uso em ceratoplastias parciais penetrantes, aderência conjuntiva-córnea e ceroplastia lamelar. Para auxiliar na manutenção da membrana e garantir seu posicionamento sobre a superfície ocular, a tarsorrafia parcial é realizada para evitar que os movimentos palpebrais a movimentem, facilitando a cicatrização de feridas (ALIÓ et al., 2013).

2.5 Lente de contato

As lentes de contato gelatinosas podem ser indicadas como terapia adjuvante em casos de ulceração da córnea, para reduzir a dor e reter o filme lacrimal sobre a área ulcerada, estimulando a cicatrização (TURNER, 2008). Já são utilizadas em pequenos animais há algum tempo, pois apresentam benefícios para o tratamento de lesões superficiais e profundas em córnea de cães e gatos (BOSSUYT, 2016).

As lentes utilizadas (Bausch & Lomb - PureVision, Balafilcon A) fornecem conforto e proteção na fase inicial do processo de cicatrização, e até cura total em casos de erosões superficiais da córnea em cães e gatos (BOSSUYT, 2016).

O tempo de cura com o uso de lentes de contato gelatinosas (Bausch & Lomb - PureVision, Balafilcon A) como adjuvantes a terapia é significativamente mais curta (média de 14 +/- 0 dias) do que em casos sem o uso de lentes de contato (média 36 +/- 17 dias) em cães (GRINNINGER et al., 2015).

3 REFERÊNCIAS

1. Alio JL, Rodriguez AE, WróbelDudzińska D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders: *Curr Opin Ophthalmol.* julho de 2015;26(4):325–32.
2. Alio JL, Rodriguez AE, Martinez LM, Rio AL. Autologous Fibrin Membrane Combined With Solid Platelet-Rich Plasma in the Management of Perforated Corneal Ulcers: A Pilot Study. *JAMA Ophthalmol.* 1o de junho de 2013;131(6):745.
3. Belknap EB. Corneal Emergencies. *Top Companion Anim Med.* setembro de 2015;30(3):74–80.
4. Bercht BS. Úlcera de córnea profunda em cães. Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção da Graduação em Medicina Veterinária, 2009.
5. Bicas HE. Morfologia do sistema visual. Simpósio: OFTALMOLOGIA PARA O CLÍNICO – Capítulo I, jan/mar, 1997.
6. Bistner SI, Aguirre G, Batik G. *Atlas of Veterinary Ophthalmic Surgery.* W.B. Saunders Company Philadelphia, 1977.
7. Bossuyt SM. The use of therapeutic soft contact bandage lenses in the dog and the cat: a series of 41 cases. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr.* 28 de dezembro de 2016;85(6):343–8.
8. Bonatti, JA, Bechara SJ, Dall'col, MWL, Cresta FB, Carricondo PC, Kara-José N. Linha de pesquisa em fibrina e possibilidades teóricas de seu uso como membrana basal provisória em úlceras corneanas não perfuradas e em córneas operadas de ceratectomia fotorrefrativa (PRK). *Arq. Bras. Oftalmol.* vol. 70 no. 5 São Paulo Sept./Oct. 2007.
9. Brooks, DE, Oliver FJ, Schultz GS, Andrew SE, Lassaline ME, Kallberg ME. Duration of in vitro inhibitory activity of equine serum against equine tear film matrix metalloproteinases. *Proceedings of the Association for Research in Vision and Ophthalmology*, 2003; p.36.
10. Can ME, Dereli Can G, Cagil N, Cakmak HB, Sungu N. Urgent Therapeutic Grafting of Platelet-Rich Fibrin Membrane in Descemetocoele. *Cornea.* setembro de 2016;35(9):1245–9.
11. Castilho MS, Rahal SC, Dias Neto RDN, Pereira AC, Francia CCDDA, Mesquita LDR, et al. Preparation and characterization of leukocyte- and platelet-rich fibrin membrane derived from cats' blood. *Microsc Res Tech.* agosto de 2021;84(8):1802–8.
12. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* março de 2006;101(3):e56–60.

13. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. março de 2006;101(3):299–303.
14. Diesem, C. Generalidades sobre órgãos sensoriais e integumento comum: o órgão da visão. R. Getty, Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos. Editora Guanabara Koogan S.A. 2006: 212-213.
15. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. março de 2006;101(3):e37–44.
16. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. março de 2006;101(3):e45–50.
17. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. março de 2006;101(3):e51–5.
18. Donatti C, Brandão CVS, Ranzani JJT, Perches CS, Padovani CR, Pellizzon CH, et al. Uso do plasma rico em plaquetas no reparo de úlceras de córnea profundas induzidas em coelhos. Avaliação clínica e histomorfométrica. *Arq Bras Med Veterinária E Zootec*. junho de 2013;65(3):809–18.
19. Farghali HA, AbdElKader NA, AbuBakr HO, Ramadan ES, Khattab MS, Salem NY, et al. Corneal Ulcer in Dogs and Cats: Novel Clinical Application of Regenerative Therapy Using Subconjunctival Injection of Autologous Platelet-Rich Plasma. *Front Vet Sci*. 18 de março de 2021;8:641265.
20. Ferreits, AP, Brandão CVS. Uso do plasma rico em plaquetas autólogo e alogênico aquecido no tratamento de ceratite ulcerativa em cães. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2019.
21. Galera, PD, Oriá AP. Afecções da túnica fibrosa. *Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães e Gatos*, 2009, 69-96.
22. Gandolfi, MG. Allogenic Platelet-Rich Plasma In Induced Ulcers In Rats Cornea. Master Thesis (Veterinary Ophthalmology), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2016.
23. Gilger, BC, Bentley E, Olliver FJ. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. *Veterinary Ophthalmology*, 2007, 690-752.
24. Goodman LA. Simultaneous confidence intervals for contrast among multinomial populations. Simultaneous confidence intervals for multinomial proportions.

- Technometrics, 1965, 247-54.
25. Grinninger P, Verbruggen AMJ, Kraijer-Huver IMG, Djajadiningrat-Laanen SC, Teske E, Boevé MH. Use of bandage contact lenses for treatment of spontaneous chronic corneal epithelial defects in dogs. *J Small Anim Pract.* julho de 2015;56(7):446–9.
 26. Ledbetter, EC, Gilger, BC. Canine Cornea: Diseases and Surgery. *Essentials of Veterinary Ophthalmology*, 2014,11, 214-36.
 27. Helper JC. Diseases and surgery of the cornea and sclera. *Magrane's canine ophthalmology*, 1989, 102-49.
 27. Junqueira, LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 2004.
 28. Kabiri A, Hashemibeni B, Pourazar A, Mardani M, Esfandiari E, Esmaeili A. Platelet-rich plasma application in chondrogenesis. *Adv Biomed Res.* 2014;3(1):138.
 29. Kern TJ. Ulcerative Keratitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* maio de 1990;20(3):643–66.
 30. Kierszenbaum A, Tres L. *Histology and cell biology: an introduction to pathology*, 2012, 261-63.
 31. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig.* dezembro de 2016;20(9):2353–60.
 32. Krachmer, JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea*, 2011, 1967.
 33. Laus, JL. *Terapia em Oftalmologia. Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães e Gatos*, 2009, 12–32.
 34. Maggs, DJ. *Cornea and sclera. Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*, 2008, 175-94.
 35. Mandell, DC. *Ophthalmic emergencies. Clinical Techniques In Small Animal Practice*, 2000, 94-100.
 36. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* abril de 2004;62(4):489–96.
 37. Merlini NB, Fonzar JF, Perches CS, Sereno MG, Souza VL, Estanislau CA, et al. Uso de plasma rico em plaquetas em úlceras de córnea em cães. *Arq Bras Med Veterinária E Zootec.* dezembro de 2014;66(6):1742–50.
 38. Moreira, MVL, Teixeira Neto, RLAL, Lancgohr, IM, Ecco, R. Prospective study 427 of ocular and periocular diseases in animals: 188 cases. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2018, 428-38, 502-10.
 40. Vilela, DPA. *Etiologia das úlceras de córnea em cães: estudo retrospectivo de 69*

casos clínicos. Dissertação de mestrado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, 2019.

41. Nasisse, MP. Canine ulcerative keratitis. *The compendium on continuing Education*, 1985, 686-98.
42. Rueden CT, Schindelin J, Hiner MC, DeZonia BE, Walter AE, Arena ET, et al. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*. dezembro de 2017;18(1):529.
43. Samuelson, DA. Ophthalmic anatomy. *Veterinary Ophthalmology*, 1999, 31-150.
44. Shively JN, Epling GP. Fine structure of the canine eye: cornea. *Am J Vet Res*. abril de 1970;31(4):713–22.
45. Singh V, Barbosa FL, Torricelli AAM, Santhiago MR, Wilson SE. Transforming growth factor β and platelet-derived growth factor modulation of myofibroblast development from corneal fibroblasts in vitro. *Exp Eye Res*. março de 2014;120:152–60.
46. Slatter, D. Terceira pálpebra. In: *Fundamentos de oftalmologia veterinária*, 2005, 247-58.
47. Stades, FC, Boevé, WN, Neumann W. *Fundamentos de oftalmologia veterinária*, 1999, 204.
48. Turner, SM. Cornea. *Small Animal Ophthalmology*, 2018, 121-97.
49. Wróbel-Dudzińska D, Alio J, Rodriguez A, Suchodoła-Ratajewicz E, Kosior-Jarecka E, Rymgayłło-Jankowska B, et al. Clinical Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Neurotrophic Corneal Ulcer. *J Ophthalmol*. 20 de junho de 2018;2018:1–7.
50. Zar, JH. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, 2009.

CAPÍTULO 2

Trabalho a ser enviado para a revista “Journal of Veterinary Medical Science”, de acordo com as normas: https://www.jstage.jst.go.jp/guide/jvms/8/27608/-char/en/instruction_en_20221101.pdf

Uso de fibrina rica em plaquetas em úlceras de córnea em cães

Juliana Marques SOUSA, Cláudia Valéria Seullner BRANDÃO

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Unesp) - Botucatu, São Paulo 18616-681, Brasil

Correspondence to: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Email: valeria.brandao@unesp.br

ABSTRACT

The study aimed to analyze the clinical action of autologous platelet-rich fibrin (PRF) on superficial and stromal corneal ulcers and to verify the feasibility of using contact lenses associated with temporary lateral tarsorrhaphy. For this, 16 dogs have been treated at the ophthalmology service with unilateral corneal ulcer and they were divided into two experimental groups (n=08). All dogs received treatment with tobramycin-based eye drops 0,3% (QID) and sodium hyaluronate-based 0,15% lubricating eye drops (QID). In the control group (GC), this was the only treatment instituted, while in the lens group (GL), the PRF membrane was applied and maintained using a contact lens and a temporary lateral tarsorrhaphy. The dogs were evaluated before treatment, ten days, and thirty days after the start of therapy using qualitative and quantitative scores of the ophthalmological variables: vascularization, ocular secretion, hyperemia, blepharospasm, chemosis, photophobia, and corneal pigment. Additionally, ulcer area and corneal thickness were evaluated. At M10 their ulcer retractions were greater when compared to the M10 of the GC, but did not show statistical significance. At M30 ulcers in both groups were fully healed. Autologous PRF proved to be a viable option for adjuvant treatment in the repair of ulcerative keratitis, the use of contact lenses and temporary tarsorrhaphy make the technique accessible.

KEYWORDS: Blood component, corneal pachymetry, corneal repair, growth factor.

1 INTRODUÇÃO

2 A úlcera de córnea é uma das oftalmopatias mais comuns em cães e está associada a
3 diversas causas desencadeantes [21]. Desenvolve-se quando há perda do epitélio e a exposição
4 do estroma [19]. É considerada uma emergência oftalmológica, pois pode progredir para
5 descemetocelose ou perfuração ocular, com lesões, por vezes, irreversíveis que resultam na perda
6 da visão [14, 16].

7 No processo de cicatrização corneal, os fatores de crescimento desempenham um
8 importante papel e apresentam diversas funções como o fator de crescimento do endotélio
9 vascular (VEGF), que atua na proliferação vascular, e o fator de crescimento derivado de
10 plaquetas (PDGF), o qual atua na proliferação, migração e diferenciação celular [26]. Além
11 destes, há o fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF),
12 fator de crescimento de fibroblastos beta (β FGF), fator de crescimento de ceratinócitos (KGF)
13 e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) [23].

14 Tendo em vista a aceleração da reparação corneal associada ao uso de fatores de
15 crescimento, pesquisas envolvendo essa terapêutica nas doenças da córnea foram descritas
16 [5][6]. Dentre estas, destaca-se na oftalmologia humana o uso de hemoderivados ricos em
17 plaquetas, o PRP oftalmológico (E-PRP), cujos resultados foram bem-sucedidos em doenças
18 da córnea [1, 7].

19 A membrana de fibrina rica em plaquetas (PRF), segunda geração de concentrado de
20 plaquetas, descrita pela primeira vez por Choukrun et al. (2001) [6]. Consiste em um composto
21 de matriz de fibrina autóloga polimerizada tridimensional (3-D), com incorporação de plaquetas
22 concentradas, fatores de crescimento, citocina e células-tronco, além de se destacar pela
23 facilidade de obtenção [6]. Promove o desenvolvimento de microvascularização e guia a
24 migração de células epiteliais para sua superfície [7].

25 Sabe-se sobre sua contribuição para proteger feridas abertas e acelerar a cicatrização,
26 além de promover a migração leucocitária [7]. Em humanos, descata-se no uso terapêutico de
27 feridas de pele infectadas [7], bem como em alvéolos dentários objetivando o revestimento
28 epitelial e neovascularização [7]. Em cães a aplicação da membrana de PRF está descrita em
29 trabalhos experimentais relacionados a odontologia [20, 30].

30 Considerando o acima exposto, a hipótese do estudo é que o PRF autólogo auxiliará
31 favoravelmente na reparação das ceratites ulcerativas em cães. A escassez de relatos na
32 literatura a respeito da eficácia na reparação do uso deste hemocomponente em córneas em
33 cães, sua facilidade de produção, associada a possibilidades da manutenção pelas técnicas de
34 lente de contato e tarsorrafia temporária, estimularam o seu desenvolvimento.

35

36 **MATERIAIS E MÉTODOS**

37

38 A metodologia foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da
39 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista
40 (UNESP) - Botucatu, segundo processo nº 0031/2021. Os animais foram incluídos no
41 estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido dos tutores.

42

43 *Seleção dos animais*

44 Foram utilizados 16 cães com úlcera de córnea unilateral, sem predileção de sexo,
45 raça, peso e idade. A distribuição ocorreu de forma aleatória em dois grupos experimentais
46 (n=8), perfazendo um total de 16 cães. Os animais foram atendidos pelo setor de
47 Oftalmologia Veterinária do Hospital Veterinário da UNESP - Campus Botucatu/SP,
48 apresentando o diagnóstico de ceratite ulcerativa. Foram incluídos apenas pacientes com

49 úlceras superficiais, ou profundas, sem exposição da membrana de Descemet. A seguir, os
50 cães foram submetidos ao exame físico geral, hemograma e bioquímica sérica, incluindo
51 ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA),
52 gamaglutamiltranspeptidase (GGT), proteína total e albumina para verificar sua higidez.

53

54 *Grupos experimentais*

55 No grupo GC, denominado Controle, as úlceras de córnea foram tratadas com colírio
56 à base de tobramicina 0,3% (Tobrex® - Alcon) e lubrificante à base de hialuronato de sódio
57 0,15% (Hyabak® - Genom), quatro vezes ao dia, por 10 dias; e no grupo GL, denominado
58 Lente, os olhos foram submetidos à aplicação da membrana de PRF, com manutenção pela
59 lente de contato e tarsorrafia lateral além do mesmo protocolo medicamentoso do GC. Em
60 ambos os grupos foi instituída a obrigatoriedade do uso de colar elizabetano durante todo
61 o tratamento.

62

63 *Exame clínico oftalmológico*

64 Os pacientes foram submetidos ao exame oftalmológico inicial, com auxílio da
65 lâmpada de fenda portátil (Lâmpada de Fenda SL 15 Kowa Japan), objetivando avaliar a
66 superfície ocular e anexos, a vascularização e pigmentação da córnea, secreção ocular,
67 hiperemia conjuntival, blefaroespasmos, quemose e fotofobia.. A seguir, os animais foram
68 submetidos ao teste de Schirmer tipo 1 (Ophthalmos®) durante um minuto, para averiguar
69 sua produção lacrimal e tonometria de rebote (TonoVet plus®) para mensurar a pressão
70 intraocular; o teste de fluoresceína, com o intuito de identificar qual o tipo de úlcera e sua
71 extensão; a oftalmoscopia direta (Welch Allyn®) para as possíveis alterações em fundo de
72 olho e, por fim, a fotodocumentação para acompanhamento do tratamento preconizado

73 (Figura 1).

74

75 *Crêterios de exclusão*

76 Foram excluídos do estudo os animais que apresentaram úlceras com profundidade
77 superior a dois terços da espessura da córnea, descemetoceloses e perfurações, assim como
78 cães sem higiene clínica. As altera es palpebrais quando presentes também foram
79 corrigidas antes de se iniciar o tratamento, evitando interferência na terapêutica.

80

81 *Obtenção da membrana de fibrina rica em plaqueta (PRF)*

82 Foram coletados 8 ml de sangue venoso da veia jugular, sob condi es estéreis e
83 colocados em um tubo de vidro sem anticoagulante, imediatamente antes da cirurgia. A
84 seguir, o tubo foi centrifugado a 3000 rpm (aproximadamente 400g) por 10 minutos
85 utilizando-se centrífuga de mesa (Hettich EBA-20; Hettich Holding GmbH & Co. oHG,
86 Alemanha).

87 O plasma pobre em plaquetas (PPP) ou plasma acelular deposita-se na parte superior
88 do tubo de centrifuga o, seguido pelo coágulo de fibrina concentrado, o qual deposita-se
89 na parte média do tubo e, por fim, os glóbulos vermelhos ficam na parte baixa do tubo.
90 Depois de remover o PPP, o coágulo de fibrina (Figura 2) foi mecanicamente separado dos
91 glóbulos vermelhos, utilizando-se espátula específica para a confec o do PRF e
92 suavemente comprimido por meio de caixa específica para a confec o do PRF ("Fibrin
93 box" - Medisoft Medikal, Turquia) [6].

94

95 *Técnica cirúrgica e p s-operatório*

96 Os cães do GL foram induzidos com propofol e a anestesia inalatória mantida com

97 isoflurano, associada à anestesia tópica com colírio anestésico à base de cloridrato de
98 proximetacaína 0,5% (Anestalcon® - Alcon). Todos os cães do GL foram posicionados em
99 decúbito lateral, realizou-se tricotomia da região periocular e prévia antissepsia, utilizando-
100 se solução aquosa de polivinilpirrolidona (PVPI Brasilíquidos Produtos Farmacêuticos -
101 Comercial Bono Ltda) a 1:50, sendo empregado pano fenestrado oftálmico estéril.

102 Foi realizada a aplicação da membrana de PRF sobre a córnea (Figura 3A), ato
103 contínuo à implantação da lente de contato terapêutica (Bausch & Lomb-PureVision,
104 Balafilcon A) e tarsorrafia parcial lateral [27] com fio de náilon 3.0 e capton (Figura 3B)
105 mantida por dez dias.

106 Nos dois grupos foi realizada a terapia com colírio à base de tobramicina 0,3%
107 (Tobrex® - Alcon) e lubrificante à base de hialuronato de sódio 0,15% (Hyabak® -
108 Genom), quatro vezes ao dia, por dez dias; recomendações para uso de colar elizabetano
109 durante todo o tratamento, além de medicações analgésicas à base de dipirona (25mg/kg)
110 [2] durante três dias. Os pontos da tarsorrafia foram removidos no décimo dia do pós-
111 operatório, bem como a lente de contato, utilizando-se colírio anestésico.

112

113 *Momentos de avaliação e variáveis analisadas*

114 Os pacientes foram avaliados em três momentos: antes do tratamento (M0), aos dez
115 (M10) e trinta dias (M30) após o tratamento. As variáveis oftalmológicas avaliadas foram:
116 vascularização, secreção ocular, hiperemia conjuntival, blefaroespasma, quemose,
117 fotofobia e pigmento corneal, realizadas por um observador único e experiente. Estas foram
118 qualiquantificadas em escores, sendo (0) ausente; (1) leve; (2) moderado; (3) severo.

119 Foram realizados o teste de Schirmer tipo 1 (Opthalmos®), durante um minuto para
120 avaliação da produção lacrimal e tonometria de rebote (TonoVet plus®). A espessura da

121 córnea foi mensurada em todos os momentos de avaliação por meio de delicados toques na
122 córnea com a probe do paquímetro (Tomey® – Japan), após dessensibilização desta com
123 colírio anestésico à base de cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon® - Alcon).
124 Alterações de fundo de olho foram descartadas em M0 por meio do exame de fundoscopia.

125 Para avaliar a evolução da reparação da úlcera, foi empregado o uso da fluoresceína
126 (Fluoro Touch Strips - Madhu®) em todos os retornos, bem como a fotodocumentação por
127 meio de uma câmera fotográfica digital, obedecendo a distância de 10 cm do olho e
128 utilizada régua milimetrada ao redor. Em seguida, foi analisado o percentual de redução da
129 úlcera de córnea, em relação ao momento inicial de avaliação (M0) nos diferentes
130 momentos de avaliação, utilizando o software ImageJ® desenvolvido pelo National
131 Institute of Health (NIH).

132

133 *Análise estatística*

134 A comparação dos dois grupos avaliados em três momentos consecutivos foi
135 realizada pela técnica de análise de variância para o modelo de medidas repetidas ou
136 grupos independentes. As variáveis com aderência à distribuição normal de probabilidades
137 foram submetidas à técnica paramétrica complementada com o teste de comparações
138 múltiplas de Bonferroni [17] e as não aderentes, à técnica não paramétrica complementada
139 com o teste de comparações múltiplas de Dunn [25]. Todos os testes foram realizados ao
140 nível de 5% de significância.

141

142

143

144 **RESULTADOS**

145

146 A mediana dos escores das variáveis clínicas qualitativas avaliadas em ambos os grupos
147 estão descritas na Tabela 1. A média e desvio padrão das variáveis quantitativas avaliadas em
148 ambos os grupos e a contração da área da úlcera em porcentagem em relação a M0 estão
149 descritas na Tabela 2.

150 Nas Figuras 4 e 5 estão apresentadas imagens fotográficas dos momentos de avaliação
151 de um cão do GL e de um do GC, respectivamente. Na Figura 4 o M0 apresenta um olho com
152 secreção ocular, úlcera estromal profunda, vascularização, opacidade corneal e hiperemia
153 conjuntival, na sequência a fotografia foi tirada logo em seguida à retirada do ponto da
154 tarsorrafia lateral no GL em M10, representando a córnea completamente cicatrizada sem
155 presença de edema, hiperemia conjuntival e secreção ocular e, por fim, o mesmo olho em M30
156 a opacidade corneal apresenta-se menos evidente que em M10. Na Figura 5 o M0 apresenta um
157 olho com hiperemia conjuntival severa, úlcera estromal superficial e edema de córnea, seguido
158 por M10 com melhora da hiperemia conjuntival e aumento do edema de córnea e profundidade
159 da úlcera e, por fim, em M30 a córnea está completamente cicatrizada e com opacidade corneal
160 generalizada.

161 As variáveis área da úlcera, secreção, hiperemia e blefaroespasma do GL e do GC
162 apresentaram redução significativa dos valores dentro de um mesmo grupo sendo M10 a
163 transição desta significância.

164 A área da úlcera e contração apresentaram queda importante na comparação entre os
165 momentos do mesmo grupo em GL, embora não tenham apresentado diferença estatística
166 significativa na comparação entre os grupos.

167 Os resultados das variáveis quantitativas schirmer, PIO e espessura corneal não

168 apresentaram diferença estatística significativa comparando os dois grupos no mesmo momento.

169 A paquimetria apresentou valores alterados em relação ao padrão de normalidade
170 devido, sobretudo, às alterações causadas pelo edema de córnea na superfície [3] e os valores
171 diminuíram nos momentos avaliados, tendendo a crer que a conformação desta estrutura voltou
172 a ser próxima da normalidade.

173 Em M10 nem todos os olhos já estavam com a córnea completamente cicatrizada, nestes
174 foi estendido o tempo de tratamento com os colírios. No último momento de avaliação
175 oftalmológica M30, todos os olhos apresentaram 100% de cicatrização corneal.

176

177 **DISCUSSÃO**

178

179 A reparação tecidual da córnea com o uso das membranas de PRF apresenta melhor
180 resultado, pois diminui o tempo de cicatrização corneal e diminuição do desconforto ocular e
181 sinais de inflamação, notados por mais tempo nos olhos submetidos ao tratamento convencional
182 apenas com uso de colírios. A diferença estatística entre os grupos não apresentou relevância,
183 apesar disto ambos os grupos mostraram-se uniformes e as etiologias e evoluções foram
184 bastante similares na comparação entre os cães do estudo. A limitação para apresentar
185 significância também é a importante diferença entre as áreas das úlceras em M0, pois os cães
186 foram selecionados na rotina clínica do hospital, não podendo as lesões serem selecionadas de
187 forma uniforme.

188 A pesquisa foi iniciada com o GL seguido pelo GC. Todos os termos de ciência foram
189 assinados pelos tutores e as recomendações do tratamento medicamentoso e uso de colar
190 elizabetano foram corretamente seguidos. O sucesso do tratamento depende disso [21].

191 O primeiro relato do uso de PRP em humanos em que foi usado com sucesso nos casos

192 de úlceras de córnea difíceis e urgentes foi publicado em 2012 [1] apresentando resultados
193 promissores. A confecção e aplicação da membrana mostraram-se simples [6] e a formação do
194 coágulo de fibrina no tubo é resultado da coleta e centrifugação de acordo com as orientações
195 pré estabelecidas [1, 3]. A velocidade e o tempo são fatores importantes na padronização, pois
196 a centrifugação do material de outra forma pode resultar num material mais líquido e menos
197 estável para aplicação sobre a córnea [2]. O tempo entre a coleta de sangue e a centrifugação
198 foi realizada de forma imediata, como recomendado no protocolo para pacientes humanos [4,
199 9, 12].

200 A membrana foi preparada com uso de estojo metálico especializado “Fibrin box”, o
201 que promoveu uniformidade nas membranas obtidas [5, 9]. Uma outra opção consiste na
202 compressão com uso de gazes estéreis [12]. No presente estudo, todas as amostras de sangue
203 no GL apresentaram membranas de PRF uniformes após a centrifugação, devido à padronização
204 na sua confecção na Fibrin box, e não houveram complicações durante a aplicação nos olhos.

205 A retirada mecânica da membrana de fibrina não é necessária, pois a absorção local
206 ocorre dentro de poucos dias [5]. O mesmo foi evidenciado neste estudo; as mesmas não foram
207 presenciadas em M10.

208 Como auxílio adicional à manutenção das membranas, foram utilizadas lentes de
209 contato gelatinosas terapêuticas que são utilizadas em prática geral e de referência em pequenos
210 animais há algum tempo e úteis em lesões traumáticas da córnea proporcionando conforto e
211 proteção, sendo um importante aliado ao tratamento [4, 9, 12]. O intuito do uso da lente neste
212 estudo foi a manutenção da membrana de PRF na córnea, e evita a necessidade de
213 procedimentos cirúrgicos mais invasivos como a sutura da membrana em córnea ou conjuntiva,
214 que demandam maior tempo cirúrgico. A necessidade de materiais mais caros e menos
215 acessíveis aos médicos veterinários e a maior dificuldade para realizar a retirada destes pontos,

216 também são evitados com uso dessa técnica. As lentes de contato servem como componente
217 que recobre o local da lesão, garantindo que o filme lacrimal permaneça por mais tempo em
218 contato com a úlcera [6]. Para manutenção adequada da lente de contato e membrana sobre a
219 superfície ocular, a tarsorrafia parcial lateral foi utilizada para evitar que os movimentos
220 palpebrais movimentassem as estruturas aplicadas, facilitando a cicatrização [2]. Esta técnica
221 cirúrgica e o uso de lentes de contato mostrou servir como importante adjuvante no tratamento
222 do GL pois promoveu conforto aos cães, inclusive das raças braquicefálicas que possuem
223 grande exposição ocular devido sua anatomia facial, o que prova que esta técnica traz bons
224 resultados como forma de manutenção da membrana de PRF e não promove desconforto ou
225 irritação ocular [11, 23]. A maior parte dos cães é da raça Shih Tzu, provando novamente a
226 recorrência do atendimento desta raça na rotina oftalmológica.

227 No presente estudo, as lentes permaneceram nos animais até M10 quando foram
228 retiradas juntamente com o ponto da tarsorrafia lateral. O período de reepitelização da úlcera é
229 de sete a dez dias confluindo com os momentos estipulados de avaliação e retirada do ponto em
230 M10 no GL [21]. A realização do teste de Schirmer não promoveu incômodo aos cães, já que
231 foi realizado após a retirada da lente nos cães do GL, além da membrana já ter sido
232 completamente absorvida neste momento.

233 O M10 foi o marco mais importante na comparação entre a evolução da cicatrização
234 corneal quando comparamos os cães entre os grupos e a evolução de um mesmo cão a partir de
235 M0. Os dez primeiros dias foram o período em que ocorreu a maior porcentagem de redução
236 da área das úlceras e mostrou diferença estatística na comparação entre GC e GL.

237 O número de cães foi um fator limitante para evidenciar a diferença estatística entre os
238 resultados dos grupos, podendo este ser um estímulo ao início de futuros estudos com número
239 elevado de animais para avaliação de um maior número de olhos.

240 O grupo de pesquisa da instituição vem estudando o uso do PRP em úlceras corneais
241 [15, 24], com resultados bastante satisfatórios especialmente no que diz respeito à aceleração
242 inicial da cicatrização [8, 16, 18, 27] e agora com esta nova terapêutica de hemoderivados
243 visibiliza-se facilitar o acesso dessa terapêutica na oftalmologia clínica veterinária.

244

245 **CONCLUSÃO**

246

247 A preparação das membranas de PRF autólogas se mostrou de simples execução e
248 aplicação nos defeitos corneais, sua facilidade de obtenção e simplicidade no processo de
249 confecção permitirão acessibilidade da técnica para o tratamento de inúmeros animais. A
250 técnica de lente de contato com tarsorrafia lateral temporária é efetiva para a manutenção do
251 biomaterial no leito da úlcera.

252 O uso da membrana de PRF autólogo em cães favorece a reparação corneal de úlceras
253 de córneas em cães, considerando o contexto geral de melhora das variáveis clínicas estudadas
254 e contração da área da úlcera, embora o tratamento clínico convencional também seja efetivo.
255 Ambos os grupos do estudo apresentaram 100% de cicatrização corneal em M30, mas em M10
256 haviam olhos que ainda apresentaram úlcera de córnea em ambos os grupos, sendo que no GC
257 mais cães ainda precisaram estender o tratamento medicamentoso, evidenciando que o uso da
258 membrana de PRF teve papel importante na reparação tecidual, pois diminuiu o tempo de
259 cicatrização corneal. Sendo assim, este trabalho destaca a necessidade de novos estudos sobre
260 a eficácia do PRF, inovador em cão, no processo da reparação em especial em úlceras
261 complicadas, nas quais acredita-se que os fatores de crescimento presente no biomaterial
262 deverão atuar intensamente.

263

264 **CONFLITO DE INTERESSE.** The authors declare no conflicts of interest.

265

266 **AGRADECIMENTOS.** Um agradecimento especial à Coordenação de Aperfeiçoamento
267 de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo suporte financeiro concedido durante
268 todo o período – processo nº 88887.630443/2021-00.

269

270 **REFERÊNCIAS**

271 1. Alió JL, Montiel FA, Rodriguez AE. 2012. The role of “eye platelet rich plasma” (e-
272 prp) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol* **13**: 1257-1265.

273 2. Alió JL, Rodriguez AE, Martinez LM, Rio AL. 2013. Autologous fibrin membrane
274 combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers: a pilot
275 study. *JAMA Ophthalmol* **131**: 745-751.

276 3. Alió JL, Rodriguez AE, Wróbel dudzinka D. 2015. Eye platelet-rich plasma in the
277 treatment of ocular surface disorders. *Curr Opin Ophthalmol* **26**: 325-332.

278 4. Alizade FL, Kazemi M, Irani S, Sohrabi M. 2016. Biologic characteristics of platelet
279 rich plasma and platelet rich fibrin: a review. *Int J Contemp Dent Med Rev* **2016**: 1-4.

280 5. Borie E, Oliví DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltrán V, Fuentes R. 2015. Platelet-
281 rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med* **8**: 7922-7929.

282 6. Bossuyt SM. 2016. The use of therapeutic soft contact bandage lenses in the dog and the
283 cat: a series of 41 cases. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* **85**: 343-348.

284 7. Can ME, Dereli Can G, Cagil N, Cakmak HB, Sungu N. 2016. Urgent therapeutic
285 grafting of platelet-rich fibrin membrane in descemetocoele. *Cornea* **35** :1245-1249.

286 8. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ,
287 Mouhyi J, Dohan DM. 2006. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet
288 concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral*

289 *Radiol Endod* **101**: e56-e60.

290 9. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. 2010. Three-
291 dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and
292 membrane. *J Periodontol* **81**: 546-555.

293 10. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. 2009. Classification of platelet
294 concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-
295 PRF). *Trends Biotechnol* **27**: 158-167.

296 11. Donatti C, Brandão CVS, Ranzani JJT, Perches CS, Padovani CR, Pellizzon CH, Sereno
297 MG. 2013. Use of platelet-rich plasma in the treatment of deep corneal ulcers induced in rabbits.
298 *Arq Bras Med Veterinario Zootec* **65**: 809-818.

299 12. Feigin K, Shope B. 2019. Use of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in dentistry
300 and oral surgery: introduction and review of the literature. *J Vet Dent* **36**: 109-123.

301 13. Ferreira AP, Brandão CVS. 2019. Uso do plasma rico em plaquetas autólogo e alogênico
302 aquecido no tratamento de ceratite ulcerativa em cães. Dissertação de mestrado. Disponível em:
303 https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/182423/ferreira_ap_me_bot_par.pdf
304 [f?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/182423/ferreira_ap_me_bot_par.pdf). Acesso em 31/01/2021. Botucatu-SP, Brasil, 2019.

305 14. Galera PD, Laus JL, Oriá AP. 2009. Afecções da túnica fibrosa. pp. 69-96. In:
306 *Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães e Gatos*, 5th ed. (Laus JL, eds), Rocca Ltda: São
307 Paulo.

308 15. Gandolfi MG, Brandão CVS, Pellizon CH, Hirota IN, Barros R, Hussein ACB, Merlini
309 NB, Takahira RK, Mesquita LR. 2021. Allogenic platelet-rich plasma in induced ulcers in rat's
310 cornea. *Arq Bras Med Vet Zootec* **73**: 613-621.

311 16. Gilger BC, Bentley E, Olliver FJ. 2007. Diseases and surgery of the canine cornea and
312 sclera. pp. 690-752. In: *Veterinary Ophthalmology*, 4th ed. (Gelatt KN, eds), Blackwell

313 Publishing: Iowa.

314 17. Johnson RA, Wichern DW. 2007. Applied multivariate statistical analysis. pp. 800. 6th
315 ed. (Pearson), Prentice-Hal: New Jersey.

316 18. Kim KM, Shin YT, Kim HK. 2012. Effect of autologous platelet rich plasma on
317 persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Jpn J Ophthalmol* **56**: 544-550.

318 19. Ledbetter EC, Gilger BC. 2014. Canine Cornea: Diseases and Surgery. pp. 214-236. In:
319 Essentials of Veterinary Ophthalmology, 3th ed. (Gelatt KN, eds), Wiley-Blackwell: Florida.

320 20. Lee JB, Lee JT, Hwang S, Choi JY, Rhyu IC, Yeo IL. 2020. Leukocyte- and platelet-
321 rich fibrin is an effective membrane for lateral ridge augmentation: an in vivo study using a
322 canine model with surgically created defects. *J Periodontol* **91**: 120-128.

323 21. Lobo TV, Sant'Anna ARM, Fayad AR, Lima AMV. 2021. A córnea e as ceratites
324 ulcerativas em cães: uma revisão da anatomia, etiopatogenia e diagnóstico. *Enciclopédia*
325 *Biosfera* **18**: 17-37.

326 22. Marquez RA, Espinosa IM, Munoz M, Pereira G. 2007. Aplicación subconjuntival de
327 concentrado de plaquetas plasmáticas en el tratamiento de quemaduras oculares: resultados
328 preliminares. *Arch Soc Esp Oftalmol* **82**: 475-482.

329 23. Marx RE. 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac*
330 *Surg* **62**: 489-496.

331 24. Merlini NB, Fonzar JF, Perches CS, Sereno MG, Souza VL, Estanislau CA, Rodas NR,
332 Ranzani JJT, Maia L, Padovani CR, Brandão CVS. 2014. Uso de plasma rico em plaquetas em
333 úlceras de córnea em cães. *Arq Bras Med Vet Zootec* **66**: 1742-1750.

334 25. Norman GR, Streiner DL. 2014. Biostatistics: the bare essentials, with SPSS. 4 ed. USA.
335 Peoples Medical Publishing House (PMPH), 408 p.

336 26. Panda A, Jain M, Vanathi M, Velpandian T, Khokhar S, Dada T. 2012. Topical

- 337 autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. *Cornea* **31**: 989-
338 993.
- 339 27. Singh V, Barbosa FL, Torricelli AA, Santhiago MR, Wilson SE. 2014. Transforming
340 growth factor β and platelet-derived growth factor modulation of myofibroblast development
341 from corneal fibroblasts in vitro. *Exp Eye Res* **120**: 152-160.
- 342 28. Slatter D. 2005. Terceira pálpebra. pp. 247-258. In: Fundamentos de oftalmologia
343 veterinária, 3th ed. Roca: São Paulo.
- 344 29. Zar JH. 2009. Bioestatitital analysis. pp. 994. 5th ed. (Roca), Prentice-Hal: New Jersey.
- 345 30. Zhou R, Wang Y, Chen Y, Chen S, Lyu H, Cai Z, Huang X. 2017. Radiographic,
346 histologic, and biomechanical evaluation of combined application of platelet-rich fibrin with
347 blood clot in regenerative endodontics. *J Endod* **43**: 2034-2040.

348 **LEGENDAS DAS FIGURAS**

349

350 **Fig. 1.** Cão da raça Shih Tzu representando uma fotodocumentação com régua. Observar úlcera
351 de córnea estromal profunda, hiperemia leve, edema de córnea, presença de secreção
352 mucopurulenta. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária.

353

354 **Fig. 2.** Amostra de sangue após a cetrifugação evidenciando o coágulo de fibrina na parte média
355 do tubo. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária.

356

357 **Fig. 3.** Membrana de PRF autóloga sobre a córnea de um cão da raça Shih Tzu no
358 transoperatório (A) e após realização de tarsorrafia parcial lateral (B). Fonte: Serviço de
359 Oftalmologia Veterinária.

360

361 **Fig. 4.** Cão do GL nos momentos de avaliação. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária.

362

363 **Fig 5.** Cão do GC nos momentos de avaliação. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária.

364 **TABELA 1.** Atribuição das medianas dos escores para as variáveis clínicas da reparação das
 365 úlceras em cães, nos grupos controle e tratados com PRF e lente, nos diferentes momentos (M)
 366 em dias.

		Momentos de avaliação		
Variável	Grupo	M0	M10	M30
Vascularização	GL	1 (0;2)	1 (1;2)	1 (0;2)
	GC	1 (0;3)	1 (0;1)	0 (0;1)
Secreção ocular	GL	1,5 (1;3)	0 (0;1)	0 (0;0)
	GC	2 (1;3)	0 (0;1)	0 (0;1)
Hiperemia conjuntival	GL	1,5 (1;3)	1 (0;2)	0 (0;1)
	GC	2 (1;2)	0 (0;1)	0 (0;1)
Blefaroespasma	GL	2 (0;3)	0 (0;1)	0 (0;0)
	GC	2 (1;3)	0 (0;1)	0 (0;0)
Quemose	GL	0,5 (0;1)	0 (0;1)	0 (0;0)
	GC	0 (0;1)	0 (0;0)	0 (0;0)
Fotofobia	GL	1 (0;3)	0 (0;1)	0 (0;0)
	GC	2 (1;3)	0,5 (0;1)	0 (0;0)
Pigmento corneal	GL	0 (0;2)	0 (0;2)	0 (0;2)
	GC	0 (0;2)	0 (0;1)	0 (0;1)

367 *Legenda: GL: grupo lente; GC: grupo controle.*

368 **TABELA 2.** Variáveis clínicas mensuradas, média e desvio padrão, na reapuração das úlceras
 369 em cães, nos grupos controle e tratados com PRF e lente, nos diferentes momentos (M) em dias.

Momentos de avaliação				
Variável	Grupo	M0	M10	M30
Área úlcera (mm ²)	GL	10,33 ± 7,24	2,77 ± 2,21	0 ± 0
	GC	10,26 ± 8,12	3,91 ± 2,19	0 ± 0
Schirmer (mm/min)	GL	19,38 ± 3,34	18,38 ± 1,85	19,00 ± 1,20 *
	GC	17,63 ± 4,10	19,75 ± 1,98	21,00 ± 1,41
PIO (mmHg)	GL	14,25 ± 5,26	17,50 ± 4,07	18,00 ± 4,75
	GC	13,63 ± 4,31	20,13 ± 3,27	20,13 ± 2,64
Espessura corneal (µm)	GL	785,25 ± 316,49	789,50 ± 229,03 *	644,25 ± 189,84 *
	GC	579,63 ± 214,19	477,63 ± 160,58	452,88 ± 146,67
Contração* (%)	GL	-	70,12 ± 20,89	100 ± 0
	GC	-	53,62 ± 24,21	100 ± 0

370 *Legenda: GL: grupo lente; GC: grupo controle. * p < 0,05 vs. GC. * redução percentual em*
 371 *relação a M0.*

372 APÊNDICE

373 **TABELA 3.** Atributos clínicos das úlceras de córnea em cada grupo nos momentos de
374 avaliação.

Variável	Grupo	Momento de avaliação		
		M0	M10	M30
Área úlcera (mm ²)	GL	10,33 ± 7,24 B	2,77 ± 2,21 AB	0 ± 0 A
	GC	10,26 ± 8,12 B	3,91 ± 2,19 AB	0 ± 0 A
PIO (mmHg)	GL	14,25 ± 5,26 A	17,50 ± 4,07 A	18,00 ± 4,75 A
	GC	13,63 ± 4,31 A	20,13 ± 3,27 B	20,13 ± 2,64 B
Espessura corneal (µm)	GL	785,25 ± 316,49 A	789,50 ± 229,03 A	644,25 ± 189,84 A
	GC	579,63 ± 214,19 B	477,63 ± 160,58 AB	452,88 ± 146,67 A
Contração* (%)	GL	-	70,12 ± 20,89 A	100 ± 0 B
	GC	-	53,62 ± 24,21 A	100 ± 0 B
Schirmer (mm/min)	GL	19,38 ± 3,34 A	18,38 ± 1,85 A	19,00 ± 1,20 A
	GC	17,63 ± 4,10 A	19,75 ± 1,98 A	21,00 ± 1,41 A
PIO (mmHg)	GL	14,25 ± 5,26	17,50 ± 4,07	18,00 ± 4,75
	GC	13,63 ± 4,31	20,13 ± 3,27	20,13 ± 2,64
Vascularização	GL	1 (0;2) A	1 (1;2) A	1 (0;2) A
	GC	1 (0;3) A	1 (0;1) A	0 (0;1) A
Secreção ocular	GL	1,5 (1;3) B	0 (0;1) AB	0 (0;0) A
	GC	2 (1;3) B	0 (0;1) A	0 (0;1) A
Hiperemia conjuntival	GL	1,5 (1;3) B	1 (0;2) AB	0 (0;1) A
	GC	2 (1;2) B	0 (0;1) A	0 (0;1) A
Blefaroespasma	GL	2 (0;3) B	0 (0;1) AB	0 (0;0) A
	GC	2 (1;3) B	0 (0;1) A	0 (0;0) A
Quemose	GL	0,5 (0;1) A	0 (0;1) A	0 (0;0) A
	GC	0 (0;1) A	0 (0;0) A	0 (0; 0) A
Fotofobia	GL	1 (0;3) A	0 (0;1) A	0 (0;0) A
	GC	2 (1;3) B	0,5 (0;1) A	0 (0;0) A
Pigmento corneal	GL	0 (0;2) A	0 (0;2) A	0 (0;2) A
	GC	0 (0;2) A	0 (0;1) A	0 (0;1) A

375 *Legenda: GL: grupo lente; GC: grupo controle. * redução percentual em relação a M0. As*
376 *letras maiúsculas indicam diferença entre os momentos dentro de um mesmo grupo.*