



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**CRISTIANE GARDÊNIA CORREA LODE**

**ANÁLISE CICATRICAL DAS LESÕES PROVOCADAS POR QUEIMADURAS EM  
COELHOS E TRATADAS COM FIBRINA RICA EM PLAQUETAS AUTOLOGA**

Presidente Prudente - SP  
2021



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**CRISTIANE GARDÊNIA CORREA LODE**

**ANÁLISE CICATRICAL DAS LESÕES PROVOCADAS POR QUEIMADURAS EM  
COELHOS E TRATADAS COM FIBRINA RICA EM PLAQUETAS AUTOLOGA**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de concentração: Fisiopatologia Animal

Orientador:  
Profa. Dra. Cecília Laposy Santarém

Presidente Prudente - SP  
2021

636.9  
L821a

Lode, Cristiane Gardênia Correa.

Análise cicatricial das lesões provocadas por queimaduras em coelhos e tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga / Cristiane Gardênia Correa Lode. – Presidente Prudente, 2021.

31f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2021.

Bibliografia.

Orientador: Cecília Laposy Santarém

1. Coelhos. 2. Queimaduras. 3. Reepitelização. I. Título.

**CRISTIANE GARDÊNIA CORREA LODE**

**ANÁLISE CICATRICIAL DAS LESÕES PROVOCADAS POR QUEIMADURAS EM  
COELHOS E TRATADAS COM FIBRINA RICA EM PLAQUETAS AUTOLOGA**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de concentração: Fisiopatologia Animal

Presidente Prudente, 30 de novembro de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Orientadora Cecília Laposy Santarém  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Profa. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Profa. Dra. Karina Keller Marques da Costa Flaiban  
Universidade Estadual de Londrina – UEL  
Londrina -PR

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu marido e amor de todas as horas André Lode, que sempre me apoiou, e também aos meus dois filhos e tesouros Pedro e Davi que tiveram que suportar minha ausência e nervosismo em diversos momentos para que esse trabalho pudesse se concretizar.

## **AGRADECIMENTOS**

A Professora Cecília Laposy Santarém o meu sincero agradecimento pela orientação valiosa e confiança antes de tudo, por ter acreditado nesse trabalho e ter me ajudado a realizar um sonho que faz parte do meu projeto de vida.

Ao meu marido e companheiro André Lode, meu eterno agradecimento por acumular muitas das minhas responsabilidades domésticas e por ouvir as minhas lamúrias constantes nesses últimos meses, compreender com seu olhar afetuoso em todos os momentos que percebia as minhas dificuldades que encontrei no decorrer dessa caminhada que trilhamos juntos de mãos dadas, seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todos os momentos desse trabalho.

E também a minha mãe Maria Chavelina meu profundo apreço por todo apoio suprimo a minha ausência junto aos meus filhos permitindo que me dedicasse para a finalização do meu trabalho.

Aos meus filhos Pedro e Davi agradeço as demonstrações de afeto ao requisitar a minha presença também o esforço em tentar me ajudar quando pensava em desistir agradeço pela espontaneidade e amor incondicional que sempre me estimularam nos momentos mais difíceis.

A minha amiga querida Glayciane Pires Canela, uma irmã na fé, um presente que Deus colocou em meu caminho no decorrer dessa caminhada, que sempre me socorreu nos momentos em que a tecnologia resolveu nos pregar "peças" e em vários outros momentos.

Agradeço também a Deus de infinita bondade por ter me dado forças para chegar até aqui.

“(...) E nunca considere seu estudo uma obrigação mas sim como uma oportunidade invejável de aprender, sobre a influência libertadora da beleza no domínio do Espírito para seu prazer pessoal e para o proveito da comunidade a qual pertencerá seu trabalho futuro ...”  
Albert Einstein

## RESUMO

### **Análise cicatricial das lesões provocadas por queimaduras em coelhos e tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga**

A queimadura é um tipo comum de ferida, tendo sua classificação baseada no agente causal, tempo de exposição e porcentagem de tecido atingido, ocasionando danos físicos, emocionais e financeiros ao paciente queimado. O uso de curativos contendo substâncias cicatrizantes e anti-infecciosas é uma das opções para a terapia local. Avanços no campo da engenharia de tecidos demonstram que o uso da fibrina rica em plaquetas autóloga (FRPa), possa ter um grande potencial regenerativo em feridas complexas como as de queimados. O objetivo do presente estudo foi avaliar a resposta cicatricial das feridas tratadas ou não com FRPa após queimadura de segundo grau, de forma sequencial e comparativa. Foram utilizados 10 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, adultos, distribuídos em dois grupos: grupo C-controle (n=5), que receberam tratamento padrão para queimaduras (5g de creme a base de sulfadiazina de prata a 1%), grupo T (n=5), tratados com FRPa. Para indução das lesões, foram feitas queimaduras com barra de ferro padronizada (5 cm<sup>2</sup>), aquecida em banho de água fervente, por um período de 10 seg/quadrante. Após este procedimento, os animais receberam cloridrato de Tramadol (4,0mg/Kg, IM), 2 vezes ao dia durante 3 dias consecutivos. As biópsias de pele foram realizadas aos 7, 14, 21 e 30 dias pós lesão para avaliar a crosta fibrinoleucocitária, porcentagem de contração e reepitelização. Ambos os grupos aos 7 dias tiveram 100% das feridas com crostas, que evoluíram para ausência ao final de 30 dias de experimento. A contração das feridas tratadas com FRPa ocorreu aos 14 dias pós queimadura, em detrimento ao grupo controle (21 dias) agilizando o processo cicatricial. Quando comparado ao grupo controle, verificou-se que as feridas tratadas com FRPa apresentaram um início de reepitelização aos 7 dias, diferentemente do grupo controle que teve o início aos 14 dias. Conclui-se que o uso da FRPa proporcionou uma cicatrização mais rápida e organizada sendo um biomaterial viável para tratamento de queimaduras.

**Palavras-chave:** biomaterial, coelhos, reepitelização, queimaduras.



## ABSTRACT

### **Skin burn wound healing in rabbits treated with autologous platelet-rich fibrin**

Burns are a common type of wound, and its classification is based on the causal agent, exposure time and percentage of tissue affected. causing physical, emotional and financial damage to the burned patient. The use of dressings containing healing and anti-infective substances is one of the options for local therapy. Advances in the field of tissue engineering demonstrate that the use of autologous platelet-rich fibrin (aPRF) can have a great regenerative potential in complex wounds such as burns. The aim of the present study was to evaluate the healing response of wounds treated or not with aPRF after second-degree burns, sequentially and comparatively. Ten adult male New Zealand rabbits were used, divided into two groups: C-control group (n=5), which received standard treatment for burns (5g of 1% silver sulfadiazine cream), group T (n=5), treated with aPRF. To induce the lesions, burns were performed with a standardized iron bar (5 cm<sup>2</sup>), heated in a boiling water bath, for a period of 10 sec/quadrant. After this procedure, the animals received Tramadol hydrochloride (4.0mg/Kg, IM), twice a day for 3 consecutive days. Skin biopsies were performed at 7,14, 21 and 30 days post-lesion to assess fibrinoleukocyte crust, reepithelialization and percentage of contraction. Both groups at 7 days had 100% of the wounds with scabs, which evolved to absence at the end of 30 days of the experiment. The contraction of wounds treated with aPRF occurred 14 days after the burn, to the detriment of the control group (21 days), speeding up the healing process. When compared to the control group, it was found that the wounds treated with aPRF presented an onset of re-epithelialization at 7 days, unlike the control group, which started at 14 days. It is concluded that the use of aPRF provided a faster and more organized healing, being a viable biomaterial for the treatment of burns.

Keywords: biomaterial, rabbits, re-epithelialization, burns.

## LISTA DE SIGLAS

FRPa	– Fibrina rica em plaquetas autóloga
IM	– Intramuscular
mg/kg	– miligrama por kilo
mL	– Mililitros
Força G	– força gravitacional
Il-1 $\beta$	– Interleucina 1 beta
Il-4	– Interleucina 4
Il-6	– Interleucina 6
TNF- $\alpha$	– Fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>11</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>25</b>
	<b>ANEXO A- NORMAS DA REVISTA ADVANCES IN SKIN &amp; WOUND CARE.....</b>	<b>25</b>
	<b>ANEXO B- APROVAÇÃO CEUA.....</b>	<b>31</b>

## Artigo Científico<sup>1</sup>

### **Análise cicatricial de lesões provocadas por queimaduras em coelhos e tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga**

Cristiane Gardênia Correa Lode (pós-graduanda do curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista -Presidente Prudente-São Paulo -Brasil); MSc; Camila Akemi Derré Mitooka (estudante do curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista- Presidente Prudente-São Paulo -Brasil); Nadiele Thaise Massaranduba (aprimoranda do curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista- Presidente Prudente-São Paulo -Brasil ); Rosa Maria Barilli Nogueira, Dra. (professora do curso de pós-graduação da Universidade do Oeste Paulista -Presidente Prudente-São Paulo -Brasil); Gisele Alborghetti Nai, Dra. (professora do curso de pós-graduação da Universidade do Oeste Paulista -Presidente Prudente-São Paulo -Brasil); Cecília Laposy Santarém, Dra. (professora do curso de pós-graduação da Universidade do Oeste Paulista -Presidente Prudente-São Paulo -Brasil)

#### Resumo

**Objetivos:** avaliar a cicatrização das feridas tratadas ou não com FRPa de forma sequencial e comparativa, além de verificar o potencial de cicatrização do biomaterial quando exposto a lesão causada por queimadura.

**Métodos:** estudo aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista- Presidente Prudente -Brasil (protocolo número 6602). 10 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, adultos, distribuídos em dois grupos: grupo C-controle (n=5), que receberam tratamento padrão para queimaduras (5g de creme a base de sulfadiazina de prata a 1%), grupo FRPa (n=5), tratados com biomaterial. Para indução das lesões, foram feitas queimaduras com barra de ferro de 30 cm de comprimento pesando 313gr aquecida previamente em água fervente até atingir 72°C, e aplicada durante 10 seg/quadrante/coelho. Após este procedimento, os animais receberam cloridrato de Tramadol (4,0mg/Kg, IM), 2 vezes ao dia durante 3 dias consecutivos. As biópsias de pele foram realizadas aos 7, 14, 21 e 30 dias pós lesão para avaliar crosta fibrinoleucocitária, reepitelização e porcentagem de contração das feridas.

**Resultados:** Ambos os grupos aos 7 dias tiveram 100% das feridas com crostas, que evoluíram para ausência ao final de 30 dias de experimento. Quando comparado ao grupo controle verificou-se que os animais apresentaram menor edema. Além disso as feridas tratadas com FRPa apresentaram um início de reepitelização aos 7 dias, diferentemente do grupo controle que teve o início aos 14 dias. A contração das feridas tratadas com FRPa ocorreu aos 14 dias pós queimadura, em detrimento ao grupo controle (21 dias) agilizando a processo cicatricial. Não houve complicações até o final do experimento.

---

<sup>1</sup> Artigo segue as normas da revista *Advances in Skin & Wound Care*. Fator de Impacto:1,438

Conclusões: o uso da FRPa proporcionou uma reepitelização precoce sendo um biomaterial viável para tratamento de queimaduras de segundo grau.

Palavras-chave: biomaterial, coelhos, reepitelização

## **Introdução**

As queimaduras são lesões traumáticas na pele ou em outro tecido orgânico, ocasionadas por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos, culminando em respostas inflamatórias no organismo, que podem influenciar diretamente na qualidade de vida da pessoa afetada, provocando dor, sofrimento, danos incapacitantes e prejuízo à imagem<sup>1,2</sup>. O tratamento pode necessitar de internações prolongadas, procedimentos cirúrgicos e um longo processo de reabilitação<sup>3</sup> que culminam em um impacto psicossocial e econômico elevado, representando uma despesa entre R\$ 1.200,00 e R\$ 1.500,00 por dia de internação<sup>4</sup>. Trata-se de um trauma de grande complexidade, apresentando altas taxas de morbidade e mortalidade, considerada a quinta causa de morte acidental no mundo, segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), constituindo um grande problema de saúde pública<sup>2</sup>.

O tratamento de queimadura e processos de cicatrização continua sendo um aspecto desafiador que ocasiona, em alguns casos, um trauma para o corpo humano, invalidez, morte ou afeta significativamente a qualidade de vida do sobrevivente da queimadura. No entanto, modalidades como debridamento precoce e o enxerto de pele são bem-sucedidos, mas o tecido pode ser insuficiente e as condições inadequadas do paciente para a cirurgia dificultam o enxerto. Nestas circunstâncias, o uso de produtos que agilizem o processo de cicatrização de feridas contribuem para diminuição da morbimortalidade. Assim, há um grande esforço na área científica, acadêmica e tecnológica, para o desenvolvimento e comercialização de diferentes tipos de curativos e farmacoterapias<sup>5</sup>.

O uso de concentrados de sangue autólogos como a fibrina rica em plaquetas (FRP) apresenta resultados promissores de tal forma que fomentam pesquisas nas mais diversas áreas, como dermatologia<sup>6</sup>, medicina esportiva<sup>7</sup>, implantologia<sup>8</sup> e em procedimentos estéticos<sup>9,10</sup>.

A FRP oferece todos os benefícios clínicos do PRP, bem como uma estrutura de fibrina que orienta a formação do coágulo, servindo como suporte para a regeneração tecidual e sustentando os fatores de crescimento e células-tronco<sup>11-14</sup>.

Em contraste com o PRP, a FRP é obtida pela única centrifugação do sangue total sem adição de anticoagulantes formando espontaneamente um coágulo gelatinoso de matriz de fibrina<sup>13,15,16</sup> que confere a secreção de fatores de crescimento para o local de coagulação. Os fibroblastos recrutados reorganizam esta matriz de fibrina e iniciam a síntese de colágeno. Assim, os efeitos combinados da secreção de fatores de crescimento e recrutamento de fibroblastos na FRP promovem a colagenização e reparação tecidual. Segundo Schulz et al.<sup>17</sup>, a aplicação de FRP pode reduzir o tempo de cicatrização de queimaduras dérmicas profundas, melhorando o aspecto da cicatriz.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar as características macroscópicas e histomorfométricas de feridas provocadas por queimaduras de segundo grau tratadas ou não com FRP autóloga (FRPa) de forma sequencial em coelhos.

## **Material e Métodos**

### **Animais:**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista- Presidente Prudente -Brasil (protocolo número 6602). Foram selecionados 10 coelhos machos, adultos (3,0±1 anos), da raça Nova Zelândia, peso médio 3,2Kg±0,1, apresentando pele íntegra. Os animais foram mantidos durante todo o experimento em gaiolas individuais, com temperatura ambiente de 22°C ± 2°C e fotoperíodo (12 horas claro/escuro) controlados e passaram por um período de adaptação prévia de sete dias para evitar estresse da manipulação. Durante todo o experimento foram mantidos em condições padronizadas de dieta (Supra Coelho Agro; Alisul Alimentos S.A, Maringá,Paraná, Brasil) e água à vontade.

### **Procedimento anestésico**

Os animais foram contidos manualmente para realização da tricotomia da região dorsal. Em seguida, anestesiados (intramuscular-IM) com uma associação de cloridrato de Tiletamina e Zolazepam (Zoletil<sup>®</sup> 50, 30mg/dL IM) e Xilazina a 2% (0,2 mg/Kg IM)<sup>18</sup>, e posteriormente aplicado anestésico local (cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstritor) nos locais das futuras lesões.

### Preparo da Fibrina rica em plaquetas autóloga (FRPa)

O sangue foi colhido da veia auricular (4 mL) utilizando um scalp 23G e foi acondicionado em tubos sem anticoagulante e centrifugado em baixa velocidade (200G - centrífuga Excelsa Baby 206R) durante 10 minutos. Esse procedimento ativa as plaquetas e a polimerização da fibrina. O coágulo de FRPa foi retirado do tubo e separado dos demais constituintes para ser colocado na área queimada (Fig.1)

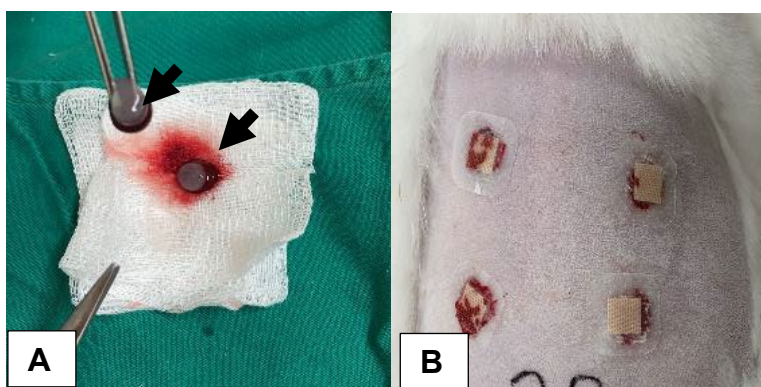


Figura 1.: Procedimento para tratamento das queimaduras com FRPa. A: Retirada da FRPa (setas) do tubo e corte do coágulo. B Aplicação da FRPa nas lesões e fechamento com rayon e Band Aid®.

### Indução das queimaduras

As queimaduras foram causadas com barra de ferro padronizada de 30 cm de comprimento pesando 313g com 5 cm<sup>2</sup> de área, aquecida em banho de água a 92°C durante 2 min. Após chegar a 72<sup>0</sup>C, a barra foi colocada em cada ponto previamente demarcado com caneta pilot® permanecendo a barra de ferro por um período de 10 segundos em cada local<sup>19</sup> (Fig. 2-B). Após as queimaduras, o Grupo C (controle) recebeu tratamento padrão (5g de creme a base de sulfadiazina de prata a 1%) e o Grupo FRPa (tratado) recebeu a FRPa em cada lesão. Acrescido ao tratamento tópico, os animais receberam cloridrato de Tramadol (4,0mg/Kg, IM), 2 vezes ao dia durante 3 dias consecutivos, a fim de minimizar o desconforto inicial. Em seguida foi colocado um curativo sobre todas as feridas utilizando rayon estéril e curativo adesivo (Band Aid®). A primeira troca dos curativos foi realizada com 48 horas. A partir disso, as trocas ocorreram a cada 3 dias até completarem 30 dias de experimento.



Figura 2. Indução das queimaduras em coelhos: A: aquecimento da água a 92<sup>0</sup>C; B: aquecimento da barra de ferro a 72<sup>0</sup>C; C:queimadura com a barra de ferro; D: lesões feitas. E: Tratamento padrão e oclusão das lesões com rayon.

### Análise macroscópica

Nos dias 7, 14, 21 e 30, os animais foram avaliados quanto às características da ferida em relação à cor considerando-se os escores: (1) rósea; (2) amarelada; (3) pálida; (4) cianótica; bordas da ferida: (1) sem granulação; (2) pouca granulação; (3) muita granulação; exsudato: (1) sem exsudato; (2) pouco exsudato; (3) muito exsudato; característica do exsudato: (0) ausente; (1) seroso; (2) sanguinolento; (3) purulento; sensibilidade ao toque: (1) ausente; (2) presente<sup>20</sup>.

### Cálculo de contração das feridas

A área da ferida foi mensurada com auxílio de paquímetro digital marca DC-60 Western<sup>®</sup> nos momentos acima citados e em seguida foi calculado o percentual de contração de cada lesão utilizando modelo matemático proposto por Oliveira et al.<sup>21</sup> onde Pc (% de contração); Af (área final); Ai (área inicial) ou seja:  $Pc = (Af - Ai) \times 100 / Ai$ .

### Avaliação histopatológica

Os fragmentos foram retirados utilizando punch de 6 mm e de forma padronizada aos 7 (canto superior esquerdo), 14 (canto superior direito), 21 (canto inferior esquerdo) e 30 dias (canto inferior direito), preservando sempre a musculatura. Em todos os momentos utilizou-se o mesmo protocolo anestésico da indução das queimaduras (Fig.3).



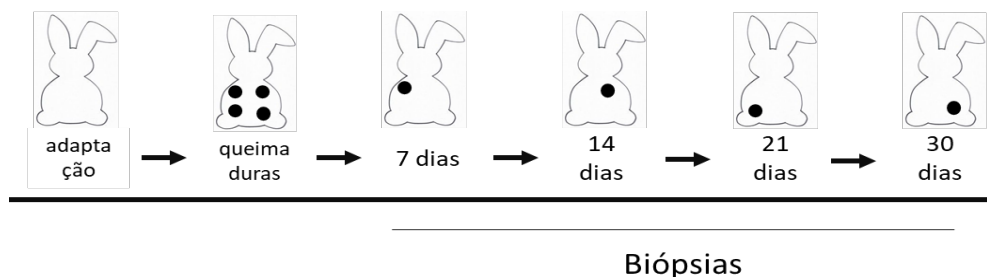


Figura 3. Delineamento experimental das queimaduras e realização das biópsias dos coelhos nos diferentes momentos.

As amostras de pele foram fixadas em solução de formalina a 10% tamponada com pH 7,0 por 24 horas, e posteriormente foram submetidos a processamento conforme a técnica de rotina histológica para microscopia óptica e inclusão em parafina. Após fixação, o tecido foi incluso em blocos de parafina, obtendo-se cortes histológicos de 5 micrômetros de cada animal que foram corados com solução de Hematoxilina-Eosina (H/E). Na epiderme avaliou-se crosta fibrinoleucocitária e reepitelização utilizando o sistema de escore, onde: (0) representa ausência, (1) alteração leve, (2) alteração moderada e (3) alteração acentuada<sup>20</sup>. Todas as avaliações foram feitas por um único observador e de forma cega.

### Análise Estatística

Todas as variáveis foram avaliadas quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar diferenças entre os tratamentos. As diferenças dentro do mesmo tratamento foram comparadas usando o teste de Student-Newman-Keuls. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

### Resultados

Dos animais do grupo controle, verificou-se que em 40 % houve alteração na coloração das feridas (variando de amarelada e pálida), e 100% de granulação em suas bordas. O exsudato do tipo seroso foi observado em 60% dos coelhos deste grupo. Já os animais que foram tratados com o biomaterial, todas as feridas apresentaram-se de coloração rósea, com discreta granulação (Fig. 4). O exsudato seroso foi verificado em apenas um animal. Em ambos os grupos os animais não

apresentaram sensibilidade ao toque e não houve variação de peso corporal ( $3,14 \pm 0,08$  para grupo controle e  $3,12 \pm 0,17$  para o tratado).

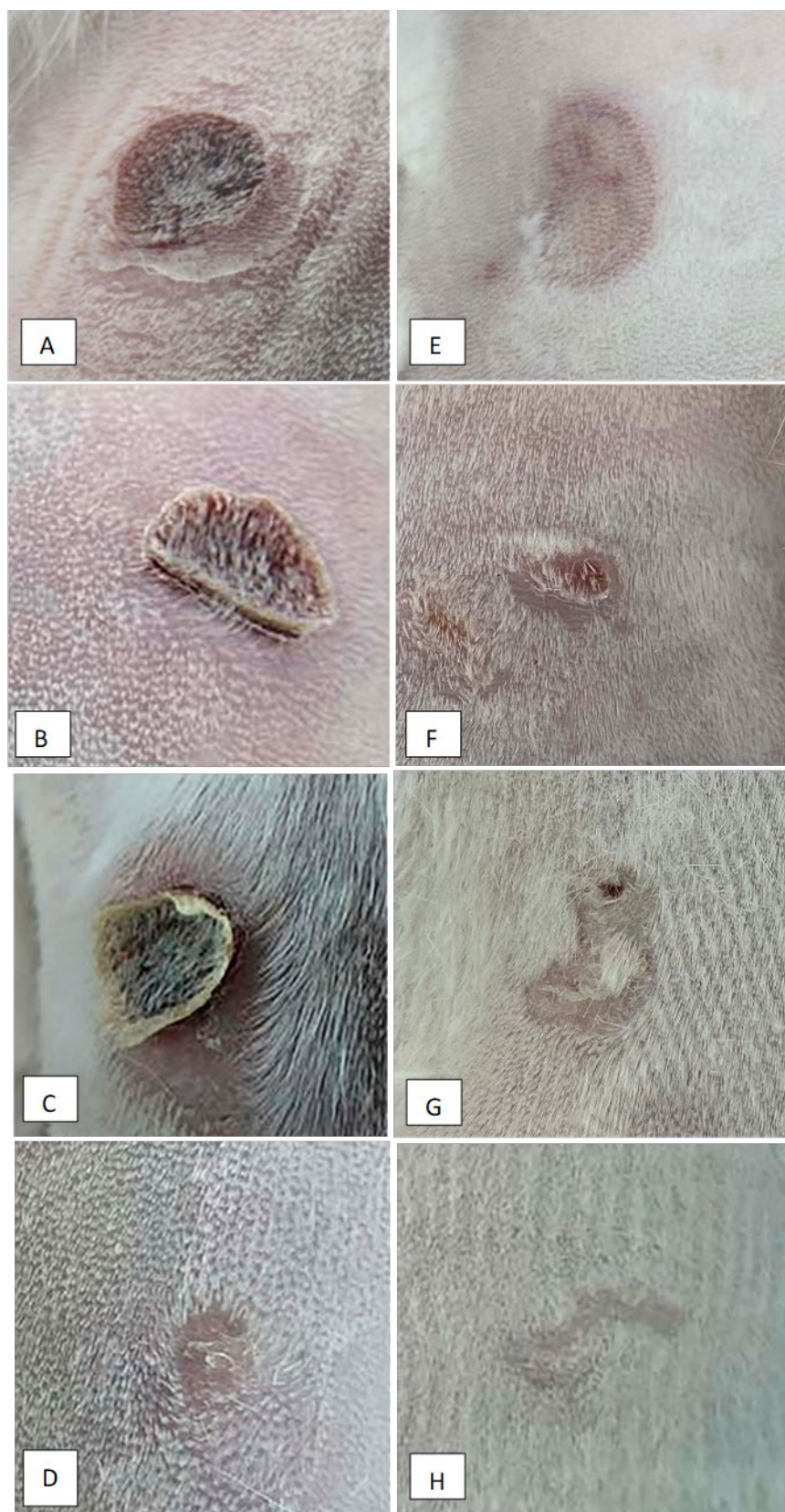


Figura 4. Avaliação macroscópica das lesões causadas por queimadura em coelhos aos 7,14,21 e 30 dias tratadas (Letras E,F,G,H) ou não (letras A,B,C,D) com biomaterial, respectivamente.

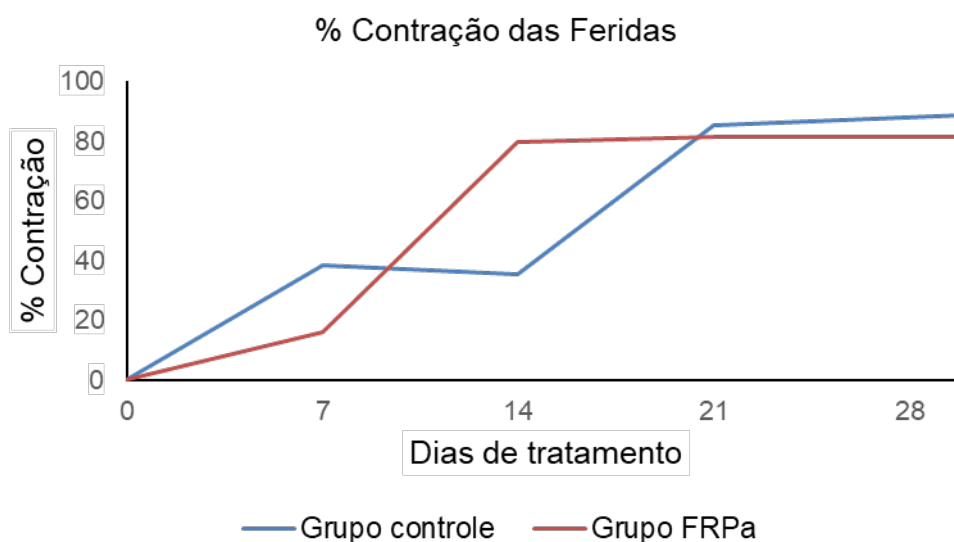


Figura 5. Porcentagem de contração das feridas provocadas por queimaduras em coelhos e tratadas com FRPa.

Com relação aos achados histopatológicos, as feridas tratadas com FRPa apresentaram um início de reepitelização aos 7 dias, diferentemente do grupo controle que teve o início mais tardio (aos 14 dias). Ambos os grupos aos 7 dias tiveram 100% das feridas com crostas, que evoluíram para ausência ao final de 30 dias de experimento (Fig.6). Em ambos os grupos não foram verificados sinais de hemorragia. Da mesma forma que as características de fibrose foram melhor evidenciadas ao final do experimento (30 dias).

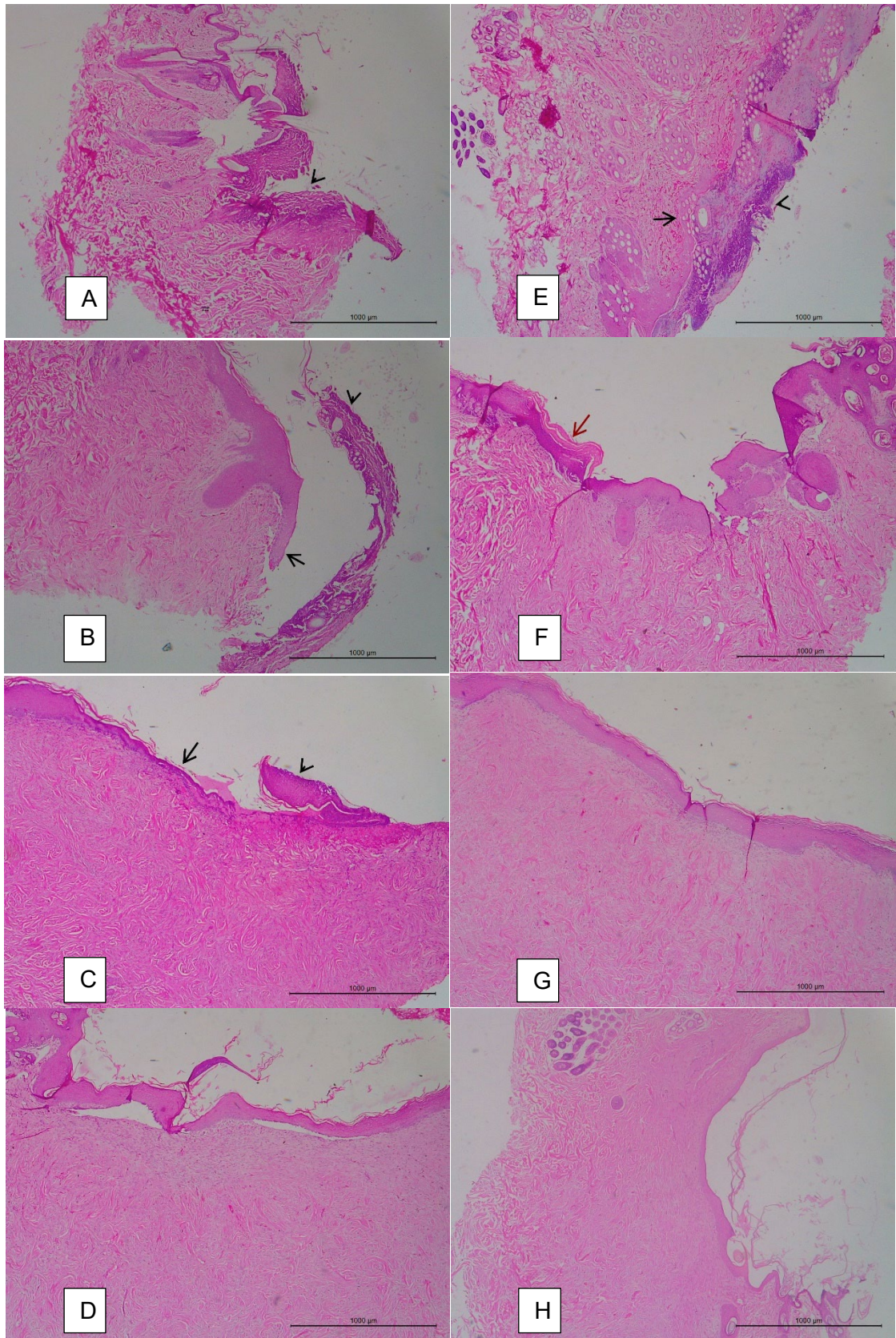


Figura 6.: Fotomicroscopia evidenciando crostas (cabeças de seta) e reepitelização (setas) das amostras de pele de coelhos submetidos a queimadura e tratados com (Letras E,F,G,H) ou sem FRPa (Letras A,B,C,D) nos dias 7,14, 21 e 30 respectivamente (Hematoxilina/Eosina, aumento de 40x).Aos 30 dias de ambos os grupos, observa-se total reepitelização (Letras A e H).

## Discussão

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que inclui várias fases sobrepostas<sup>22</sup>. A contração das feridas logo na primeira semana pos queimadura observadas no grupo FRPa, evidenciou a importância da administração deste biomaterial que tem ação imediata. Ao contrário do observado no tratamento padrão.

O restabelecimento da pré-tensão do tecido é causada principalmente por fibroblastos e miofibroblastos, começando com as forças de tração que eles impõem ao migrar para a região do trauma<sup>23</sup>. Como parte do processo de cicatrização, uma rede rica em colágeno-I é estabelecida na região lesada que estabiliza mecanicamente o tecido e protege as células e os componentes transitórios da matriz extracelular do estresse mecânico excessivo<sup>24-26</sup>. Até agora, a contração do tecido e a deposição de colágeno têm sido considerados simultâneos, mas não como um processo dependente na cura. Em nosso estudo, a porcentagem de contração foi maior nos animais tratados com biomaterial, possivelmente pelo aumento do número de fibroblastos. Ferreira et al.<sup>27</sup>, ao estudarem os efeitos da rosuvastatina associada ou não a FRP, verificaram um aumento no número de fibroblastos e aceleração do processo cicatricial em feridas induzidas experimentalmente em coelhos.

As plaquetas são os elementos dominantes da FRP, que contém moléculas de proteínas envolvidas na cascata de sinalização da cicatrização das feridas<sup>28</sup>. Estas substâncias são armazenadas em três tipos de grânulos (alfa, delta e lamda, localizados no interior das plaquetas. Os primeiros e mais abundantes são reservatórios dos fatores de crescimento responsáveis pela regeneração de tecidos moles e duros após a lesão, liberados por exocitose após ativação plaquetária<sup>29</sup>.

A fibrina estimula a migração de neutrófilos, ativação e liberação de proteases neutrofílicas que eliminam bactérias contaminantes por meio de geração de radicais de oxigênio e digestão enzimática. Este fator pode ter sido responsável pela menor formação de crostas verificados no grupo tratado, tanto no aspecto macroscópico quanto histomorfológico (Fig.4 e 6)<sup>30</sup>.

Outro fator que deve ser considerado em nosso estudo foi a utilização de uma baixa força de centrifugação relativa (máximo em 200G) no preparo de FRPa. Segundo Kumar et al.<sup>31</sup>, a baixa velocidade de centrifugação pode acarretar um significativo aumento no número total de plaquetas, leucócitos e quantidade dos fatores de crescimento, e conseqüentemente melhora na regeneração tecidual. Em

nosso experimento, utilizamos uma única centrifugação com 200 G, o que provavelmente contribuiu para a melhora na reparação tecidual observada nos animais que receberam o biomaterial.

Conclusões:

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que o uso da FRPa em lesões provocadas por queimaduras proporcionou uma cicatrização tecidual precoce sendo um biomaterial viável, barato e de fácil aplicação no tratamento de queimaduras de segundo grau.

## Referências

1. Garcia-Espinoza JA, Aguilar-Aragon VB, Ortiz-Villalobos EH, Garcia-Manzano RA, Antonio BA. Burns: definition, classification, pathophysiology and initial approach. *Gen Med* 2017;5:1000298.
2. World Health Organization (WHO). Global Health Estimates 2016: Disease burden by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva: World Health Organization; 2018.
3. Depetris N, Raineri S, Pantet O, Lavrentieva A. Management of pain, anxiety, agitation and delirium in burn patients: a survey of clinical practice and a review of the current literature. *Ann Burns Fire Disasters* 2018;31:97-108.
4. Carvalho BDP, Melchior, LMR, Santos, ER, Margarida MCA, Costa CSN, Porto, PS. Perfil epidemiológico de pacientes vítimas de queimadura atendidos em um hospital público de urgência do estado de Goiás. *Rev Bras Queimaduras* 2019;18:167-72.
5. Ozecelik U, Erci Y, Bircan HY, Aydogan C, Torkoglu S, Ozen O, Moray G, Haveral M. Effect of topical platelet-rich plasma on burn healing after partial-thickness. *Burn injury* 2016; 22:1903-09.
6. Shashank B, Bhushan M. Injectable Platelet-Rich Fibrin (PRF): The newest biomaterial and its use in various dermatological conditions in our practice: A case series. *J Cosmet Dermatol* 2021;20:1421–26.
7. Grecu AF, Lucien R, Ardelean LC, Nica O, Ciucă EM, Ciurea ME. Platelet-Rich Fibrin and Its Emerging Therapeutic Benefits for Musculoskeletal Injury Treatment. *Medicina* 2019; 55:141-52.
8. Fan Y, Perez K, Dym H. Clinical Uses of Platelet-Rich Fibrin in Oral and Maxillofacial Surgery. *Dental Clinics* 2020; 64:251-303.

9. Schiavone G, Paradisi A, Ricci F, Abeni D. Management of androgenetic alopecia. Injectable Platelet-, Leukocyte-, and Fibrin-Rich Plasma (iL-PRF) in the Management of Androgenetic Alopecia. *Dermatol Surg* 2018; 44:1183–90.
10. Garg AK. Autologous blood concentrates. Batavia (IL): Quintessence Publishing Co. Inc.; 2018.
11. Choukroun J, Adda F, Schoeffer C, et al. PRF: an opportunity in peri-implantology. *Implantodontie* 2000; 42:55–62.
12. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, 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 Endod* 2006;101:56–60.
13. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009; 27:158–67.
14. Utomo DN, Mahyudin F, Hernugrahanto KD, Suroto H, Chilmi MZ, Rantam FA. Implantation of platelet rich fibrin and allogenic mesenchymal stem cells facilitate the healing of muscle injury: an experimental study on animal. *Int J Surg Open* 2018;11:4–9
15. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL , Dohan AJ J , Mouhyi Jr , Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:37–44.
16. Ehrenfest DMD, Peppo GMD, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukrouns platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009;27:63–9.
17. Schulz A, Schiefer JL, Fuchs PC, Kanho CH, Nourah N, Heitzmann W. Does platelet-rich fibrin enhance healing of burn wounds? Our first experiences and main Pitfalls. *Annals of Burns and Fire Disasters* 2021; XXXIV:42-52.
18. Kanashiro GP, Cassu RN. Anestesia em animais selvagens e de laboratório, in: Andrade, SF. *Manual de Terapêutica Veterinária* 2008; 728–45.
19. Dutra RC, Pittella, FF, Larcher AS, Farias P, Barbosa RE, Nádia R. Efeito cicatrizante das sementes de *Pterodon emarginatus Vogel* em modelos de

- úlceras dérmicas experimentais em coelhos. *Lat Am J Pharm* 2009; 28:375-82.
20. Sedighi A, Mehrabani D, Shirazi R. Histopathological evaluation of the healing effects of human amniotic membrane transplantation in third degree burn wound injuries. *Comp Clin Pathol*. 2016; 25:381–5.
21. Oliveira ST, Leme MC, Pippi NL, Raiser AG, Manfron MP. Formulations of comfrey (*Symphytum officinale* L.) in the healing of skin wounds in rats. *Rev FZVA* 7/8 2000; 65-74.
22. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008; 453:314-21.
23. Hinz B. The myofibroblast: paradigm for a mechanically active cell. *J Biomech* 2010; 43: 146-55.
24. Rozario T, De Simone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol* 2010; 341: 126-40.
25. Calve S, Odelberg SJ, Simon HG. A transitional extracellular matrix instructs cell behavior during muscle regeneration. *Dev Biol* 2010; 344: 259-71.
26. Mercer SE, Odelberg SJ, Simon HG. A dynamic spatiotemporal extracellular matrix facilitates epicardial-mediated vertebrate heart regeneration. *Dev Biol* 2013; 382: 457-69.
27. Ferreira NGO, Vicentini YF, Breda MRS, Nogueira RMB, Nai GA, Santarém CL. Uso de biomateriais e rosuvastatina tópica aumenta angiogênese de feridas cirúrgicas em coelhos. *Research Soc Develop* 2021; 10: e32510111327.
28. Barbon S, Stocco E, Macchi V, Contran M, Grandi F, Borean A et al. Platelet-rich fibrin scaffolds for cartilage and tendon regenerative medicine: from bench to bedside. *Int J Mol Sci* 2019; 20:1701.
29. Mihaylova Z, Mitev V, Stanimirov P, Isaeva A, Gateva N, Ishkitiev N. Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. *Acta Odontol Scand* 2017; 75:1–11.
30. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2018; 44:87–95.



31. Kumar RV, Shubhashini N. Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell Tissue Bank* 2013; 14:453–63.

## ANEXOS

### ANEXO A- NORMAS DA REVISTA ADVANCES IN SKIN & WOUND CARE

#### INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

**Advances in Skin & Wound Care**, a peer-reviewed, interprofessional journal, publishes quantitative and qualitative studies, continuing education articles, scholarly reviews of the literature, reports on innovative treatments, case series, case studies, and practical articles for skin and wound care professionals. Published articles translate knowledge into practice for all professionals involved in skin and wound management: physicians, nurses, dermatologists, surgeons, podiatrists, physical and occupational therapists, dietitians, infection control practitioners, pharmacists, biomedical engineers, researchers, academics, and administrators.

The journal welcomes submissions of original articles in all areas of skin and wound management. Manuscripts are considered for publication only if the work has not been published and is not under consideration for publication by another periodical. Manuscript submissions must be accompanied by an author profile form. All authors must reveal their affiliation(s) with organizations that have a direct or indirect financial interest in the editorial content or products that are discussed in the manuscript. Authors must state all relevant conflicts of interest in the manuscript, including financial, consultant, institutional, and other relationships that might lead to bias or a conflict of interest. If there is no conflict of interest, this should also be explicitly stated as none declared.

Direct all correspondence and questions to:

#### **Advances in Skin & Wound Care**

Two Commerce Square  
2001 Market Street  
Philadelphia, PA 19103  
Telephone: 215-521-8830  
E-Mail: [ASWCedit@wolterskluwer.com](mailto:ASWCedit@wolterskluwer.com)

#### **Manuscript Submission**

All manuscripts must be submitted electronically to [www.lwwesubmissions.com](http://www.lwwesubmissions.com).

#### **Review Process**

All submitted papers are subject to a double-blind peer review. To facilitate blinding, the body of the manuscript should not include any identifiable information, including but not limited to author names/initials, facility names, or specific locations. The initial review process takes 2 to 3 months. Reviewer comments will be shared with the authors. If substantive revision is necessary, the manuscript will be returned to the authors for rework based on feedback from the Editor(s)-in-Chief and peer reviewers. Accepted manuscripts are subject to editorial revision for clarity, punctuation, grammar, syntax, and conformity to journal style. The corresponding author will receive a copy of the final manuscript for review prior to publication.

## **ARTICLE TYPES**

### **Original Investigation**

Original Investigations are scientific feature articles that create original data and translate new findings into practice for improved patient care. These articles should be no more than 6,000 words, and the reference list should be limited to 50 or fewer key recent references.

### **Continuing (Medical) Education (CE/CME)**

A CE/CME article should review the recent literature and key concepts with an interpretation of the evidence for clinical practice. These articles should be written by practicing healthcare professionals and not employees of companies with conflicts of interest on the subject. The submission should be evidence-based and may follow a case format. The CE/CME may reflect scientific evidence, expert opinion, and/or patient preference. The presented data should discuss the impact of the author conclusions/recommendations on healthcare systems (when appropriate). These articles should be no more than 4,500 words, and the reference list should be limited to 25-40 key recent references. The article must also include Practice Points: 4 or 5 bullets that summarize the main clinical takeaways of the article.

### **Literature Reviews**

Reviews that provide a complete overview of the literature on any topic related to skin and wound care will be considered and will be subject to peer review. The text should include a structured abstract of no more than 250 words under the following headings: Objective, Data Sources, Study Selection, Data Extraction, Data Synthesis, Conclusions.

### **Case Series**

A Case Series offers readers practical information and contains reports of a series of cases that have interesting outcomes of care. Case Series are any articles describing the specifics of more than one case, up to a dozen patients. Clinical images to accompany the Series are encouraged. Case Series must clearly state within the body of the manuscript that written informed consent was provided by each subject of the case to publish the case details and associated images, if any. Submissions without this statement will be immediately returned to the author.

### **Case Report**

A Case Report offers readers practical information about a single case that may be applicable to clinical care more broadly. The case may detail a rare condition/diagnosis or an unusual outcome; clinical images to accompany the case are encouraged. Case Reports must clearly state within the body of the manuscript that written informed consent was provided by the subject of the case to publish the case details and associated images, if any. Submissions without this statement will be immediately returned to the author.

### **Letters to the Editor**

**Advances in Skin & Wound Care** encourages this type of professional exchange. Letters are reviewed by the Editor(s)-in-Chief for suitability before publication. They must be signed and will be subject to editing for style and length. Letters that question, criticize, or respond to a previously published paper will be sent to the author of that paper for a reply. Letters should be between 500 and 1,500 words in length, and should be submitted to

ASWCedit@wolterskluwer.com, NOT Editorial Manager, with the subject line "Letter to the Editor."

## STYLE GUIDE

### Article Organization

- **Title Page:** Should include the following:
  - The article title
  - The full name of each author, all credentials including highest academic degree, and current job/position title and affiliation, including city and state (eg, Jamie Smith, PhD, RN, Associate Professor, School of Medicine, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA) listed in publication order.
    - Please note that **Advances in Skin & Wound Care** does not designate a corresponding author for its features.
  - Any conflicts of interest and funding received for this work from any of the following organizations: National Institutes of Health (NIH), Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute (HHMI), and other(s). Funding disclosures should be specific and clearly state what support was provided, eg, study materials, travel reimbursement, editorial support, etc.
- **Abstract:** A structured abstract of no more than 250 words included within the body of the manuscript should contain the following headings: Objective, Methods, Results, Conclusions, and 6 Keywords in alphabetical order.
- **Text:** Do not number manuscript sections. The body of the manuscript may include the following:
  - Introduction (including a brief literature review, statement of the problem/clinical relevance, study objective)
  - Methods (including study design, setting, participants, inclusion/exclusion criteria, materials, procedure, etc.)
    - **Regardless of type, every manuscript involving living beings must include an ethics section that addresses institutional review/approval and/or participant/guardian consent, even if the study was exempt. Submissions that do not address this will be immediately returned to the author.**
  - Results
  - Discussion (including implications for clinical practice and limitations sections)
  - Conclusions

### References

Authors must use AMA (American Medical Association) style for references. Do not use endnotes in the text. Number each reference consecutively from the first time it is cited in the text (do not use the author's name in the text; references must be numbered). Use superscript numbers, placed after the punctuation. List all authors when there are 6 or fewer; for 7 or more, list the first 3 followed by "et al." Authors are responsible for the accuracy of all relevant citations.

- **Journal articles:** Author(s) (last name and initials, no periods), title of article (lowercase, no quotation marks), abbreviation of the journal as given in the Cumulative Index Medicus, year of publication, volume number, and inclusive pages.
  - Example: Collins L, Seraj S. Diagnosis and treatment of venous leg ulcers. *Am Fam Physician* 2010;81:989-96.
- **Publication by an organization:** Follow example format; include a hyperlink and last accessed date when applicable.
  - Example: National Pressure Injury Advisory Panel. Pressure Injury Stages. 2016. <https://npiap.com/page/PressureInjuryStages>. Last accessed October 14, 2020.
- **Book title:** Author(s) (last name and initials, no periods), title (uppercase and lowercase, no quotation marks), edition or volume, city and state/province of publication, publisher, and year.
  - Example: Lemeshow S, Hosmer DW, Klar J, Lwanga SK. Adequacy of Sample Size in Health Studies. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 2018.
- **Chapter in a book:** Follow the directions for book title, but add chapter title and editors.
  - Example: Brandeis G, Powell J, Bergstrom M. Resident assessment protocol: pressure ulcers. In: Morris JN, Hawes C, Murphey K, et al, eds. Resident Assessment Instrument Training and Resource Guide. Natick, MA: Eliot Press; 2020.

### Art Items

- Art items should be submitted as separate document(s).
- Articles should have no more than 6-8 art items, proportional to the length of the manuscript. Figures with multiple parts count as multiple items. Excess or overly long tables and figures will be published online as supplemental digital content at the discretion of the editors.
- **If using previously published material, authors are responsible for obtaining written permission from the copyright holder before submission.**
- **Tables:** Include a title for each table. Number the tables in the order in which they are referred to in the text. Any abbreviations, footnotes, and appropriate credit lines should be listed at the bottom of the table.
- **Figures:** Must be submitted as individual high-resolution electronic files in .tif, .png, or .jpg format. If a figure has multiple parts (Figure 1a, Figure 1b), each must be submitted as a separate file. Images inserted into a Word document are not acceptable. Include a title for each one. Number the figures in the order in which they are referred to in the text. **Written permission from the subject must accompany photographs.** Model release forms can be supplied if needed.

### Other

Authors should incorporate the following style considerations into their manuscripts before submission:

- **Advances in Skin & Wound Care** uses American English spellings and grammar conventions.
- Products, devices, and medications should be referred to by their generic names throughout the manuscript. At first mention, authors may place the brand name, manufacturer, and manufacturer location in parenthesis. Trademark and registration symbols should not be used.
- Do not use the first person (we, us, our); instead, third person should be used (study authors, researchers, investigators, etc).
- Spell out all abbreviations at first mention. Abbreviations should only be used for terms that appear three or more times in the text.
- Patient-first language must be used, ie, persons with diabetes, NOT diabetics.
- Please note the following statistical/special character conventions:  $P < .05$ ;  $n = 580$ ;  $\chi^2$  test; TNF- $\alpha$

### **Clinical Trials**

Manuscripts about a clinical trial must meet the International Committee of Medical Journal Editors' (ICMJE) clinical trial registration and data sharing policy.

1. As of July 1, 2018, manuscripts submitted that report the results of clinical trials must contain a data sharing statement.
2. Clinical trials that begin enrolling participants on or after January 1, 2019 must include a data-sharing plan in the trial's registration.

The ICMJE defines a clinical trial as any research project that prospectively assigns people or a group of people to an intervention, with or without concurrent comparison or control groups, to study the relationship between a health-related intervention and a health outcome. For more information, visit the ICMJE Clinical Trials site.

### **Compliance with NIH and Other Research Funding Agency Accessibility Requirements**

A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW will identify to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and will transmit the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism for this process.

### **Open Access**

Authors of accepted peer-reviewed articles have the choice to pay a fee to allow perpetual unrestricted online access to their published article to readers globally, immediately upon publication. Authors may take advantage of the open access option at the point of acceptance to ensure that this choice has no influence on the peer review and acceptance process. These articles are subject to the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

The article processing charge (APC) is charged on acceptance of the article and should be paid within 30 days by the author, funding agency, or institution. Payment must be processed for the article to be published open access. For a list of journals and pricing, please visit our [Wolters Kluwer Open Health Journals page](#).

**Authors retain copyright**

Authors retain their copyright for all articles they opt to publish open access. Authors grant Wolters Kluwer an exclusive license to publish the article and the article is made available under the terms of a Creative Commons user license. Please visit our [Open Access Publication Process page](#) for more information.

**Creative Commons license**

Open access articles are freely available to read, download, and share from the time of publication under the terms of the [Creative Commons License Attribution-NonCommercial No Derivative \(CC BY-NC-ND\) license](#). This license does not permit reuse for any commercial purposes nor does it cover the reuse or modification of individual elements of the work (such as figures, tables, etc.) in the creation of derivative works without specific permission.

**Compliance with funder mandated open access policies**

An author whose work is funded by an organization that mandates the use of the [Creative Commons Attribution \(CC BY\) license](#) is able to meet that requirement through the available open access license for approved funders. Information about the approved funders can be found here: <http://www.wkopenhealth.com/inst-fund.php>

## ANEXO B- APROVAÇÃO CEUA

08/09/2021 10:21

Certificado

### UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação  
 PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica

## Parecer Final


Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "HISTOMORFOMETRIA DAS LESÕES PROVOCADAS POR QUEIMADURAS EM COELHOS E TRATADAS COM FIBRINA RICA EM PLAQUETAS", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 6602 e tendo como participante(s) CAMILA AKEMI DERRE MITOOKA (discente bolsista), CRISTIANE GARDENIA LODE (discente), NADIELE TAISE MASSARANDUBA (técnico participante), ROSA MARIA BARILLI NOGUEIRA (docente), GISELE ALBORGHETTI NAI (docente), CECILIA LAPOSY SANTAREM (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 09/12/2020.

#### MATERIAL ARMAZENADO/DOADO

Protocolo(s)	Data Aprovação	Armazenado (local)	É doação	Detalhes armazenamento
6292	15/07/2020	UNOESTE	NÃO	Laboratório de Patologia-Campus 1

Presidente Prudente, 4 de Fevereiro de 2021.

  
 Prof. Dr. Luiz Rodrigues Garcia Jr.  
 Coordenador Científico da CPDI

  
 Prof. Dra. Adriana Falcão de Brito  
 Coordenadora da CEUA - UNOESTE