

**QUANTIFICAÇÃO DE COLÁGENO EM FERIDAS DÉRMICAS DE COELHOS**  
**TRATADOS COM PLASMA RICO EM PLAQUETAS HETERÓLOGO GEL**

**MARIA ELISA MARIN MARQUES**

**QUANTIFICAÇÃO DE COLÁGENO EM FERIDAS DÉRMICAS DE COELHOS**  
**TRATADOS COM PLASMA RICO EM PLAQUETAS HETERÓLOGO GEL**

**MARIA ELISA MARIN MARQUES**

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

Orientadora: Rosa Maria Barilli  
Nogueira

636.089.65 Marques, Maria Elisa Marin.  
M357q           Quantificação de colágeno em feridas dérmicas  
de coelhos tratados com plasma rico em plaquetas  
heterólogo gel / Maria Elisa Marin Marques. –  
Presidente Prudente, 2016.  
35 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,  
Presidente Prudente, SP, 2016.

Bibliografia.

Orientador: Rosa Maria Barilli Nogueira.

1. Plasma rico em plaquetas. 2. Heterólogo. 3.  
Cicatrização de feridas. 4. Fibras colágenas. I.  
Título.

**MARIA ELISA MARIN MARQUES**

**QUANTIFICAÇÃO DE COLÁGENO EM FERIDAS DÉRMICAS DE COELHOS  
TRATADOS COM PLASMA RICO EM PLAQUETAS HETERÓLOGO GEL**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 22 de março de 2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Cecília Braga Laposy  
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste  
Presidente Prudente - SP

---

Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho  
Universidade Estadual Paulista - UNESP  
Presidente Prudente - SP

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a meu pai que, além de todo o apoio, sempre me incentivou a buscar a carreira de docência e à minha mãe, por sempre acreditar na minha capacidade e me transmitir sua serenidade.

Ao meu marido Xande, que demonstrou paciência e compreensão nos momentos mais difíceis, por ter me incentivado dia a dia e pelos sábios conselhos dados durante este período.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosa Maria Barilli Nogueira, por toda atenção e dedicação. Obrigada pela paciência na orientação e por transmitir seus conhecimentos. É um orgulho ter sido orientanda de uma profissional tão sábia e competente.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cecília Braga Laposy, parceira neste trabalho, que contribuiu generosamente com informações e sugestões importantes para o desenvolvimento do mesmo.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gisele Alborghetti Nai, pelo auxílio com as imagens histológicas.

À todos os professores do Mestrado em Ciência Animal, pelo conhecimento transmitido.

Ao meu professor de graduação Zeca e ao Mestre Guilherme Osaki, pela imensa ajuda com a parte histológica.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Luis Antônio Justulin Junior, pela atenciosa recepção em Botucatu e pelas valiosas informações dadas, que tiveram uma influência importante no delineamento deste estudo.

À Prof<sup>a</sup> Ma. Gabrielle Gomes dos Santos Ribeiro, que mesmo atribulada, ajudou-me com as análises estatísticas.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Francis Lopes Pacagnelli, por todas as considerações e sugestões dadas durante a banca de dissertação.

À minha amiga e sócia Valéria, pela parceria durante todo esse período e pelos agradáveis momentos que passamos juntas durante o mestrado. Neste período, nos apoiamos uma na outra. Estudamos juntas, rimos juntas e choramos juntas! Obrigada por todo o apoio e pela companhia. Sem a sua parceria essa tarefa teria sido mais árdua.

À mestranda Eveline, obrigada pela divertida companhia nas idas a Botucatu, mas principalmente por toda ajuda oferecida e prestada durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Mestre Karina Gomes Barros Abegão, pela grande ajuda prestada quando a procurei.

À minha amiga e coordenadora do Curso de Tecnologia em Estética e Cosmética Bruna, pela compreensão quando precisei me ausentar das aulas e pelo apoio concedido.

À toda minha família, meus pais, meus irmãos, meus cunhados e sobrinhos, por me apoiarem sempre e acreditarem em mim. Obrigada por todo carinho e incentivo, e por compreenderem a minha ausência nos últimos almoços em família. Amo todos vocês!

*“Para cultivar a sabedoria, é preciso força interior. Sem crescimento interno, é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. O impossível torna-se possível com a força de vontade.”*

Dalai Lama

## RESUMO

### **Quantificação de colágeno em feridas dérmicas de coelhos tratados com plasma rico em plaquetas heterólogo gel**

O plasma rico em plaquetas (PRP) tem sido amplamente estudado como um biomaterial para o tratamento de feridas, sendo o produto de fonte heteróloga indicado na impossibilidade de obtenção do sangue do próprio paciente. O presente estudo teve como objetivo, avaliar e comparar a cicatrização em coelhos e quantificar o colágeno de feridas experimentalmente induzidas, denominadas controle e tratadas, com PRP heterólogo gel. A hipótese é que este seja capaz de promover cicatrização adequada sem reações adversas, e promova aumento do colágeno e uma cicatrização mais rápida. Os aspectos clínicos cor, edema, hiperemia, exsudato, crosta, granulação e índice de retração das feridas foram avaliados nos dias 7, 14 e 17 após a lesão. A quantificação do colágeno, através da coloração com Picrosirius e avaliação sob luz polarizada, foi realizada no 17º dia. Houve presença de crosta nos dois grupos em todos os momentos avaliados, com ausência dos demais sinais clínicos. O percentual de contração da lesão e quantidade de colágeno não diferiu entre os grupos. Concluiu-se que o PRP heterólogo gel não foi capaz de aumentar a quantidade de colágeno e acelerar o processo de cicatrização tecidual, no entanto, a cicatrização foi eficiente e semelhante entre os dois grupos e não houve nenhum tipo de reação adversa local. Desta forma, apesar da escassez de estudos encontrados na literatura, o PRP heterólogo gel é uma alternativa de tratamento de feridas, na impossibilidade de uso de outras fontes de PRP.

**Palavras-chave:** Cicatrização de feridas. Fibras colágenas. Heterólogo. Plasma rico em plaquetas.

## **ABSTRACT**

### **Collagen quantification in rabbit's dermal wounds treated with heterologous platelet-rich plasma gel**

Platelet-rich plasma (PRP) has been extensively studied as a biomaterial for wound treatment, and the heterologous PRP is useful in the event that obtaining the patient's own blood is impossible. This study aimed to evaluate and compare wound healing in rabbits and quantify the collagen in experimentally induced wounds in a control group and in a group treated with heterologous PRP gel. We hypothesize that this gel is capable of promoting proper healing with no adverse reactions, increased collagen content, and faster healing. The clinical aspects of coloring, edema, hyperemia, exudation, crust, granulation and retraction index of the wounds were measured on days 7, 14, and 17 after the injury. Collagen quantification by Picrosirius staining and evaluation under polarized light was performed on the 17th day. Crust was present in both groups at all evaluated time points, with the absence of other clinical signs. The wound contraction rate and collagen quantity did not differ between groups. In conclusion, the heterologous PRP gel was unable to increase the amount of collagen and accelerate the wound healing process, however, wound healing was efficient and similar in both groups and there was no local adverse reaction. Thus, despite the scarcity of studies in the literature, the heterologous PRP gel is an effective alternative treatment for wounds in the absence of other sources of PRP.

**Keywords:** Wound healing. Collagen fibers. Heterologous. Platelet-rich plasma.

## LISTA DE SIGLAS

PRP	- Plasma Rico em Plaquetas
FC	- Fatores de Crescimento
TGF- $\beta$	- Fator de Crescimento de Transformação-Beta
PDGF	- Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
VEGF	- Fator de Crescimento Endotelial Vascular
EGF	- Fator de Crescimento Epidérmico
%	- Porcentagem
CEUA	- Comissão de Ética em Uso de Animais
$\mu$ m	- Micrômetros
h	- Horas
M0	- Momento 0 – Dia da indução da ferida
M7	- Momento 7 – 7 <sup>o</sup> dia de cicatrização
M14	- Momento 14 – 14 <sup>o</sup> dia de cicatrização
M17	- Momento 17 – 17 <sup>o</sup> dia de cicatrização

## SUMÁRIO

1 ARTIGO CIENTÍFICO.....	10
ANEXO - DIRETRIZES PARA AUTORES.....	24

# 1 ARTIGO CIENTÍFICO

## Quantificação de colágeno em feridas dérmicas de coelhos tratados com plasma rico em plaquetas heterólogo gel

### Collagen quantification in rabbit dermal wounds treated with heterologous platelet-rich plasma gel

Maria Elisa Marin Marques<sup>1</sup>, Cecília Braga Laposy<sup>2</sup>, Mariana Lucas dos Santos Silva<sup>3</sup>, Maria Rosa Santos Breda<sup>3</sup>, Mayara Mascaro Matsumoto<sup>3</sup>, Luis Antônio Justulin Junior<sup>4</sup>, Gisele Alborghetti Nai<sup>2</sup>, Guilherme Akio Tamura Osaki<sup>5</sup>, José Carlos Silva Camargo Filho<sup>6</sup>, Rosa Maria Barilli Nogueira<sup>2\*</sup>

#### Resumo

---

O plasma rico em plaquetas (PRP) tem sido amplamente estudado como um biomaterial para o tratamento de feridas, sendo o produto de fonte heteróloga indicado na impossibilidade de obtenção do sangue do próprio paciente. O presente estudo teve como objetivo, avaliar e comparar a cicatrização em coelhos e quantificar o colágeno de feridas experimentalmente induzidas, denominadas controle e tratadas, com PRP heterólogo gel. A hipótese é que este seja capaz de promover cicatrização adequada sem reações adversas, e promova aumento do colágeno e uma cicatrização mais rápida. Os aspectos clínicos cor, edema, hiperemia, exsudato, crosta, granulação e índice de retração das feridas foram avaliados nos dias 7, 14 e 17 após a lesão. A quantificação do colágeno, através da coloração com Picrosirius e avaliação sob luz polarizada, foi realizada no 17º dia. Houve presença de crosta nos dois grupos em todos os momentos avaliados, com ausência dos demais sinais clínicos. O percentual de contração da lesão e quantidade de colágeno não diferiu entre os grupos. Concluiu-se que o PRP heterólogo gel não foi capaz de aumentar a quantidade de colágeno e acelerar o processo de cicatrização tecidual, no entanto, a cicatrização foi eficiente e semelhante entre os dois grupos e não houve nenhum tipo de reação adversa local. Desta forma, apesar da escassez de estudos encontrados na literatura, o PRP heterólogo gel é uma alternativa de tratamento de feridas, na impossibilidade de uso de outras fontes de PRP.

**Palavras-chave:** Cicatrização de feridas. Fibras colágenas. Heterólogo. Plasma rico em plaquetas.

#### Abstract

---

Platelet-rich plasma (PRP) has been extensively studied as a biomaterial for wounds treatment, and the heterologous PRP is indicated in the impossibility of obtaining the own patient blood. This study aimed to evaluate and compare wound healing in rabbits and quantify the collagen in experimentally induced wounds, denominated control and treatment, treated with heterologous PRP gel. The hypothesis is that it is capable of promoting proper healing without adverse reactions, and promote increased collagen and faster healing. The clinical aspects: coloring, edema, hyperemia, exudation, crust, granulating and retraction index of the wounds were accomplished on days 7, 14 and 17 after the injury. Collagen quantification, by Picrosirius staining and evaluation under polarized light, was held on the 17th day. Crust was present in both groups at all evaluated moments, with the absence of other clinical signs. The percentage of wound contraction and collagen quantity did not differ between groups. In conclusion, the heterologous PRP gel was unable to increase the amount of collagen and accelerate the wound healing process, however, wound healing was efficient and similar in both groups and there was not any local adverse reaction. Thus, despite the scarcity of studies in literature, the heterologous PRP gel is an alternative treatment for wounds, in the impossibility of using other sources of PRP.

45  
46 **Keywords:** Wound healing. Collagen fibers. Heterologous. Platelet-rich plasma.  
47

48 <sup>1</sup> Discente do Mestrado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista, Brasil.

49 <sup>2</sup> Docentes do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista,  
50 Brasil

51 <sup>3</sup> Discentes do Curso de Graduação da Universidade do Oeste Paulista, Brasil.

52 <sup>4</sup> Professor Assistente Doutor do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências de Botucatu,  
53 Brasil.

54 <sup>5</sup> Discente do Doutorado em Ciências da Cirurgia da Universidade Estadual de Campinas. Brasil

55 <sup>6</sup> Professor Assistente Doutor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil.

56  
57 \* Autor para correspondência

## 58 **Introdução**

59

60 Feridas podem ser provocadas por diferentes fatores e são responsáveis por causar sofrimento físico  
61 e psicológico ao indivíduo, gerando na maioria das vezes, um impacto negativo na qualidade de vida dos  
62 doentes e seus familiares, além de representar um problema no sistema de saúde pública, gerando gastos ao  
63 governo (BRASIL, 2002; ALVES; VIEIRA, 2012). Estratégias de tratamento de feridas são amplamente  
64 discutidas na literatura e envolvem um grande número de estudos baseados em variados tipos de substâncias,  
65 principalmente biomateriais (MELO; ROSA; SOUSA, 2012).

66 O processo de cicatrização envolve uma sequência de eventos celulares, moleculares e diferentes  
67 tipos de células que interagem para a reconstituição e cicatrização da ferida (MANDELBAUM; DISANTIS;  
68 MANDELBAUM, 2003; CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; REES et al., 2015). Segundo  
69 Naude (2010) a cicatrização ocorre em três fases: inflamação, proliferação e remodelação, entretanto, Guo e  
70 DiPietro (2010) e Ding e Tredget (2015) defendem que a hemostasia pode ser designada como uma fase  
71 inicial, que precede a inflamação.

72 Na fase de hemostasia predominam vasoconstrição, liberação de plaquetas, formação do coágulo, e  
73 liberação de citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento (GUO; DIPIETRO, 2010). Segue-se então  
74 a fase inflamatória caracterizada pela infiltração de leucócitos, neutrófilos e macrófagos, responsáveis pela  
75 fagocitose de microorganismos e debridamento da ferida (DING; TREDGET, 2015). Na fase proliferativa,  
76 que se sobrepõe à fase anterior, ocorre a fibroplasia, angiogênese, formação de tecido de granulação e  
77 contração da ferida pelos miofibroblastos (REES et al., 2015). A fase de remodelação corresponde ao  
78 período em que vascularização da ferida retorna ao estado normal e, então, ocorre a remodelação do  
79 colágeno, evento que pode durar anos, segundo Guo e DiPietro (2010).

80 Para o tratamento de feridas tem-se discutido o uso do gel de plasma rico em plaquetas (PRP), um  
81 concentrado plaquetário com alta concentração de fatores de crescimento (FC) que vem sendo aplicado em  
82 diversas áreas da saúde, na expectativa de acelerar o processo de cicatrização, com uma reparação tecidual de  
83 melhor qualidade (AKHUNDOV et al., 2012; VENDRUSCULO et al., 2014). Diversos fatores de  
84 crescimento foram identificados no PRP, como o fator de crescimento de transformação-beta (TGF- $\beta$ ), fator  
85 de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de  
86 crescimento epidérmico (EGF) (WOO et al., 2014). A elevada concentração desses fatores de crescimento  
87 permite que, durante um processo de reparação de uma lesão, ocorra aumento da angiogênese, estimulação  
88 da proliferação, migração e diferenciação celular, além de estimular a formação de colágeno (PAL et al.,  
89 2012; SCLAFANI; AZZI, 2015). Durante o processo de cicatrização, a deposição de colágeno é um fator  
90 clinicamente importante para a definição da qualidade da cicatriz. O colágeno é o principal componente da  
91 matriz dérmica e desempenha um papel estrutural, apresentando propriedades mecânicas que conferem  
92 forma e organização aos tecidos (RICARD-BLUM, 2011).

93 O PRP heterólogo tem sido apresentado como uma alternativa importante e segura nos casos em que  
94 o paciente apresenta condições inviáveis ou contra-indicadas para a obtenção do próprio sangue (SHAN et  
95 al., 2013; SUZUKI; MARIMOTO; IKADA, 2013; MARCK; MIDDELKOOP; BREEDERVELD, 2014). Em  
96 estudos no nosso laboratório, Abegão et al. (2015) relataram que o PRP heterólogo gel foi capaz de

97 promover a cicatrização de feridas sem efeitos prejudiciais. Entretanto, existe a necessidade de mais estudos  
98 que possam avaliar a qualidade do tecido cicatricial em feridas tratadas com PRP heterólogo e também de  
99 quantificar a presença do colágeno. Buscou-se, então, avaliar e comparar em coelhos a cicatrização e  
100 quantificar o colágeno de feridas experimentalmente induzidas denominadas controle e tratadas com PRP  
101 heterólogo gel. A hipótese é que o PRP heterólogo gel seja capaz de promover cicatrização adequada, não  
102 induza nenhum tipo de reação adversa, promova o aumento do colágeno tecidual e acelere a cicatrização.

103

## 104 **Material e Métodos**

105

106 Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo  
107 número 2362 da Universidade de origem.

108

### 109 *Amostras, Processamento e Quantificação do Colágeno por Análise de Imagem*

110

111 Doze amostras de pele colhidas com punch de 8mm, segundo metodologia utilizada por Abegão et  
112 al. (2015) no 17º dia de cicatrização, foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10% por 24 h e,  
113 em seguida, inclusos em parafina. Neste estudo, foi realizado cortes de 5µm de espessura dos blocos  
114 parafinados e corados com Picrosirius-red F3BA, para avaliação da fração intersticial do colágeno  
115 (LATTOUF et al., 2014), através de microscopia óptica. A análise histológica foi realizada pelo mesmo  
116 patologista sem o conhecimento prévio da identificação das amostras.

117 Para a captação das imagens, utilizou-se microscópio de luz (Leica DMLB, Wetzlar, Hessen,  
118 Alemanha) com e sem polarização, acoplado a uma câmera (Leica DFC300 FX, Wetzlar, Hessen,  
119 Alemanha). As imagens observadas no microscópio foram projetadas em um monitor através de um software  
120 analisador de imagem (Leica QWin Plus, Wetzlar, Hessen, Alemanha). Foram, então, selecionados  
121 aleatoriamente 3 campos correspondentes a regiões da derme superficial – camada papilar e a derme  
122 profunda – camada reticular. As imagens foram capturadas com padronização de objetiva de aumento de 20  
123 vezes.

124

### 125 *Análise Macroscópica e Morfométrica*

126

127 Após indução experimental de feridas dérmicas na região cervical dorsal em seis coelhos,  
128 denominadas lado A-controle (tratadas com solução de cloreto de sódio 0,9%) e lado B-tratadas (uso de PRP  
129 heterólogo gel, obtido de cão) realizada em estudo de Abegão et al. (2015), os autores do presente estudo  
130 acompanharam nos dias 7 (M7), 14 (M14) e 17 (M17) por meio de avaliação clínica a cor da ferida,  
131 exsudato, crosta, edema, hiperemia e tecido de granulação, cujos escores estão indicados no Quadro 1. Para a  
132 análise morfométrica foi utilizado paquímetro digital milimetrado (DC-60 Western®) onde foi realizada a  
133 mensuração dos diâmetros maior e menor da ferida e, a partir desses elementos, foi calculada a área  
134 utilizando-se da equação matemática descrita por Prata et al. (1988):  $A = \pi \times R \times r$ , onde A = área da ferida,

135 R = raio maior, r raio menor. O cálculo do percentual de contração da ferida foi expresso por meio da  
 136 fórmula utilizada por Ribeiro et al. (2009):  $Af - Ai/Ai \times 100$ , onde  $Ai$  = área inicial da ferida (M0) e  $Af$  =  
 137 área final da ferida (M17).

138

139 **Quadro 1.** Relação dos escores aplicados aos aspectos macroscópicos analisados.

Aspectos analisados	Escore			
COR	1- rosa	2- amarelada	3- pálida	4- cianótica
EXSUDATO	1- ausente	2- presente	---	---
CROSTA	1- ausente	2- presente	---	---
EDEMA	1- ausente	2- presente	---	---
HIPEREMIA	1- ausente	2- presente	---	---
TECIDO DE GRANULAÇÃO	1- ausente	2- presente	---	---

140 **Fonte:** Elaboração dos autores

141

142 *Análise Estatística*

143

144 Para testar se houve diferença no tamanho das áreas das feridas entre os momentos, bem como entre  
 145 os grupos controle (A) e tratado (B), realizou-se o teste Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade dos  
 146 dados e teste de igualdade das variâncias, em seguida, foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-  
 147 Wallis. Os mesmos testes foram utilizados para determinar a diferença de concentração de colágeno  
 148 presentes nas feridas dos grupos (A) e (B), cujos resultados foram expressos em porcentagem. Foi utilizado o  
 149 programa Action Stat (Estatcamp, São Carlos, São Paulo, Brasil). Para todas as análises foi adotado o nível  
 150 de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

151

## 152 **Resultados e Discussão**

153

154 Neste estudo utilizou-se o PRP heterólogo gel para a cicatrização de feridas cutâneas que, segundo  
 155 Barrionuevo et al. (2015), mostra ser tão eficiente quanto fontes autóloga e homóloga. Em estudos nas áreas  
 156 de odontologia (PAL et al., 2012; FORNI et al., 2013), ortopedia (FERNÁNDEZ-SARMIENTO et al., 2013;  
 157 ZHANG et al., 2013), cirurgia vascular (LAWLOR et al., 2011) e dermatologia (BERNUZZI et al., 2010;  
 158 DEMIDOVA-RICE et al., 2012) o PRP de diferentes fontes tem sido eficiente e de baixo custo (REZENDE  
 159 et al. 2011; BARRIONUEVO et al. (2015).

160 A ausência de tecido de granulação, exsudato, edema e hiperemia em todos os momentos observados  
 161 a partir do M7 concorda com os relatos de Ribeiro et al. (2009), Abegão et al. (2015) e Barrionuevo et al.

162 (2015), os quais citam a presença destes sinais somente até o pico da fase inflamatória, ou seja, três dias após  
163 a lesão.

164 Diferentemente destes autores, Bernuzzi et al. (2010) e Ostvar et al. (2015) trataram feridas com PRP  
165 autólogo e observaram hipergranulação tecidual. Segundo Engelen et al. (2004) alguns fatores podem  
166 favorecer a formação de granulação como, por exemplo, animais de grande porte, lesões em membros  
167 inferiores, mobilidade da região, infecções e traumas.

168 Na análise morfológica, foi observada a presença de crosta seca em 16,6% do total das feridas no  
169 M7. A quantidade de feridas com crosta aumentou em M14 para 66,6% no grupo controle e 83,3% no grupo  
170 tratado, voltando a diminuir no M17 (50% grupo controle e 33,3% grupo tratado). Outros autores que  
171 trataram feridas com outros produtos, relatam um aumento significativo na formação das crostas a partir do  
172 7º dia (COSTA et al., 2014).

173 Neste estudo, em relação ao percentual de contração da lesão do grupo tratado com PRP heterólogo  
174 gel e grupo controle, não foram observados diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) na comparação  
175 entre grupos (Figura 1). Na comparação entre momentos, somente o M17 diferiu ( $p > 0,05$ ) do M0 (Figura 2).  
176 Kane et al. (2015), que utilizaram a fonte autóloga de PRP pós implante de prótese de tornozelo, relatam  
177 também ausência de diferença entre grupos para promover aceleração da cicatrização. Contrastando com  
178 esses resultados, a pesquisa de Ostvar et al. (2015) mostra que feridas tratadas com PRP autólogo, tiveram  
179 uma redução significativamente mais rápida da lesão, comparado ao controle.

180 Na microscopia de polarização, as fibras colágenas, coradas com Picrosirius, formam uma densa  
181 rede caracterizada pela propriedade birrefringente da molécula de colágeno, representadas neste estudo pelas  
182 Figuras 3G e 3H (VALENTI et al., 2010). Na literatura são encontrados outros métodos que possibilitam a  
183 observação da estrutura do colágeno como Tricrômio de Masson e Hematoxilina-eosina (DEROSSI et al.,  
184 2009; ABEGÃO et al., 2015), embora a coloração utilizada neste estudo seja considerada mais específica  
185 para a avaliação do colágeno (LATTOUF et al. 2014). Os resultados obtidos com a quantificação do  
186 colágeno estão representados na Figura 4. Comparando a porcentagem de colágeno presente nas feridas  
187 controle e tratadas, podemos dizer que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os  
188 grupos e, portanto, que o PRP heterólogo gel não interferiu na quantidade de colágeno. Este resultado  
189 corrobora com Abegão et al. (2015) que, apesar de usar técnica com menor acurácia, também não  
190 observaram aumento de colágeno utilizando PRP heterólogo gel na cicatrização de feridas em coelhos.

191 O Picrosirius tem sido utilizado a mais de 30 anos para identificação dos tipos de colágeno sob luz  
192 polarizada, onde o colágeno tipo I, de fibras espessas, apresentaria uma forte birrefringência à luz polarizada,  
193 representado pelas cores amarelo-laranja-vermelho, e o colágeno tipo III, de fibras finas, apresentaria uma  
194 fraca birrefringência, identificado pela cor verde (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979;  
195 CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; COEN et al., 2013; CAVALLO et al., 2014; NICOLAU et  
196 al., 2014). Em contestação, outros autores relatam que as cores da polarização dependem apenas da  
197 organização tridimensional da molécula e da espessura das fibras, e não da composição de tipos específicos  
198 de colágeno presente nas fibras, o que seria melhor analisado através da técnica de imuno-histoquímica  
199 (PIERARD, 1989; BORGES et al., 2007; COLEMAN, 2011; LATTOUF et al., 2014).

200 Entretanto, segundo estudos realizados por Borges et al. (2006) e Lattouf et al. (2014), a coloração  
201 com Picrosirius para analisar a quantificação, disposição e organização do colágeno em tecidos normais e  
202 patológicos, continua sendo o método mais indicado.

203 Durante a realização deste trabalho verificamos que o PRP autólogo é amplamente estudado em  
204 diversas áreas da saúde, porém existe uma escassez de estudos realizados com o PRP de fonte heteróloga,  
205 sugerindo-se dessa forma, que sejam realizadas mais pesquisas sobre a utilização do PRP heterólogo.

206 Concluiu-se que o PRP heterólogo gel não foi capaz de aumentar a quantidade de colágeno e acelerar  
207 o processo de cicatrização tecidual, no entanto, a cicatrização foi eficiente e semelhante entre os dois grupos  
208 e não houve nenhum tipo de reação adversa local. Desta forma, apesar da escassez de estudos encontrados na  
209 literatura, o PRP heterólogo gel é uma alternativa de tratamento de feridas, na impossibilidade de uso de  
210 outras fontes de PRP.

211

## 212 **Agradecimentos**

213

214 À UNOESTE (Universidade do Oeste Paulista) pelo apoio financeiro e disponibilização dos  
215 animais; ao Laboratório de Matriz Extracelular do Departamento de Morfologia do Instituto de  
216 Biociências de Botucatu – UNESP (Universidade Estadual Paulista) e ao Laboratório de Histologia  
217 e Histoquímica do Departamento de Fisioterapia – FCT/ UNESP.

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247 **Referências**

248

249 ABEGÃO, K. G. B.; BRACALE, B. N.; DELFIM, I. G.; SANTOS, E. S.; LAPOSY, C. B.; NAI, G. A.;  
 250 GIUFFRIDA, R.; NOGUEIRA, R. M. B. Effects of heterologous platelet-rich plasma gel on standardized  
 251 dermal wound healing in rabbits. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 209-215, 2015.

252

253 AKHUNDOV, K.; PIETRAMAGGIORI, G.; WASELLE, L.; DARWICHE, S.; GUERID, S.; SCALETTA,  
 254 C.; HIRT-BURRI, N.; APLEGATE, L. A.; RAFFOUL, W. V. Development of a cost-effective method for  
 255 platelet-rich plasma (PRP) preparation for a topical wound healing. *Annals of Burns and Fire Disasters*,  
 256 Palermo, v. 25, n. 4, p. 207-213, 2012.

257

258 ALVES, P.; VIEIRA, M. Ensino em feridas: formação pré-graduada em enfermagem. *Journal of Tissue*  
 259 *Regeneration and Healing*, Porto, v. 1, n. 1, p. 4-9, 2012.

260

261 BARRIONUEVO, D. V., LAPOSY, C. B., ABEGÃO, K. G., NOGUEIRA, R. M., NAI, G. A., BRACALE,  
 262 B. N., DELFIM, I. G. Comparison of experimentally-induced wounds in rabbits treated with different  
 263 sources of platelet-rich plasma. *Laboratory Animals*, Londres, v. 49, n. 3, p. 209-214, 2015.

264

265 BERNUZZI, G., TARDITO, S., BUSSOLATI, O., ADORNI, D., CANTARELLI, S., FAGNONI, F.,  
 266 ROSSETTI, A., AZZARONE, M., FICARELLI, E., CALEFFI, E., GAZZOLA, G., FRANCHINI, M.  
 267 Platelet gel in the treatment of cutaneous ulcers: the experience of the Immunohaematology and Transfusion  
 268 Centre of Parma. *Blood Transfusion*, Milão, v. 8, n. 1, p. 237-247, 2010.

269

270 BORGES, L. F., GUTIERREZ, P. S., MARANA, H. R. C., TABOGA, S. R. Picrosirius-polarization staining  
 271 method as an efficient histopathological tool for callagenolysis detection in vesical prolapse lesions. *Micron*,  
 272 Oxford, v. 38, n. 1, p. 580-583, 2007.

273

274 BRASIL. Ministério da Saúde. Atenção Básica. Manual de condutas para úlceras neurotróficas e traumáticas.  
 275 Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Brasília: 2002.

276

277 CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. *Arquivos Brasileiros*  
 278 *de Cirurgia Digestiva*, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

279

280 CAVALLO, J. A., ROMA, A. A., JASIELEC, M. S., OUSLEY, J., CREAMER., J., PICHERT, M. D.,  
 281 BAALMAN, S., FRISELLA, M.M. Remodeling characteristics and collagen distribution in synthetic mesh  
 282 materials explanted from human subjects after abdominal wall reconstruction : an analysis of remodeling  
 283 characteristics by patient risk factors and surgical site classifications. *Surgical Endoscopy*, Berlim, v. 28, n.  
 284 6, p. 1852-1865, 2014.

285

286 COEN, M., MENEGATTI, E., SALVI, F., MASCOLI, F., ZAMBONI, P., GABBIANI, G., BOCHATON-  
 287 PIALLAT, M. L. Altered collagen expression in jugular veins in multiple sclerosis. *Cardiovascular*  
 288 *Pathology*, Nova Iorque, v. 22, n. 1, p. 33-38, 2013.

289

290 COLEMAN, R. Picrosirius red staining revisited. *Acta Histochemica*, Jena, v. 113, n. 1, p. 231-233, 2011.

291

292 COSTA, F. L. S.; TIUSSI, L. D. ; NASCIMENTO, M. S. ; CORREA, A. C. S. ; YASOJIMA, E. Y. ; PIRES,  
 293 A. A. P. Diclofenac topical gel in excisional wounds maintain heal quality and reduce phlogistic signals.  
 294 *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 328-333, 2014.

295

296 DEMIDOVA-RICE, T. N.; WOLF, L. ; DECKENBACK, J. ; HAMBLIN, M. R. ; HERMAN, I. M. Human  
 297 platelet-rich plasma and extracellular matrix-derived peptides promote impaired cutaneous wound healing in  
 298 vivo. *Plos One*, São Francisco, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2012.

299

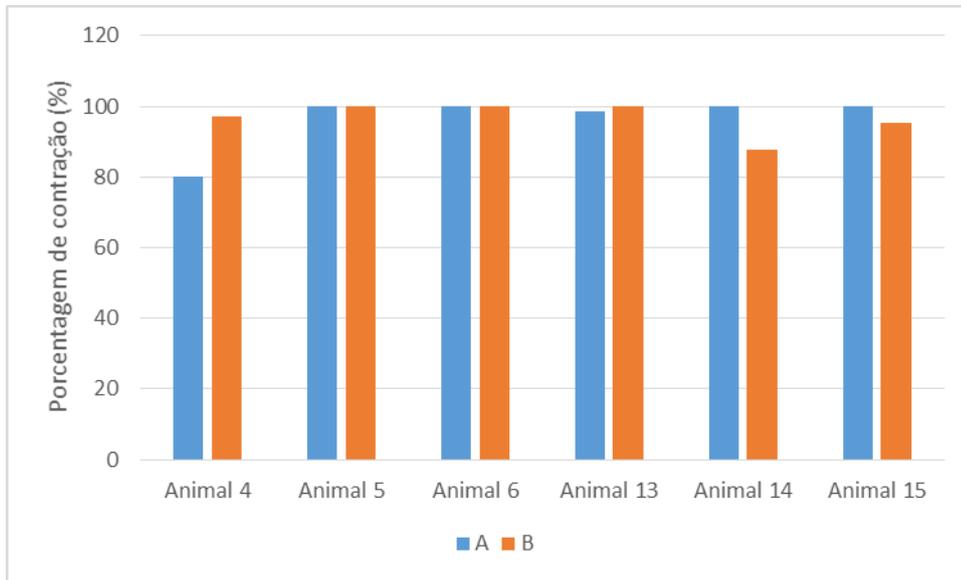
300 DEROSSI, R.; COELHO, A. C. A. O.; MELLO, G. S.; FRAZÍLIO, F. O.; LEAL, C. R. B.; FACCO, G. G.;  
 301 BRUM, K. B. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cirúrgica*  
 302 *Brasileira*, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 276-281, 2009.

303

- 304 DING; J.; TREDGET, E. E. The role of chemokines in fibrotic wound healing. *Advances in Wound Care*,  
305 New Rochelle, v. 4, n. 11, p. 673-686, 2015.  
306
- 307 ENGELEN, M.; BESCHE, B.; LEFAY, M. P.; HARE, J.; VLAMINK, K. Effects of ketanserin on  
308 hypergranulation tissue formation, infection, and healing of equine lower limb wounds. *The Canadian*  
309 *Veterinary Journal*, Guelph, v. 45, n. 1, p. 144-149, 2004.  
310
- 311 FERNÁNDEZ-SARMIENTO, J. A., DOMÍNGUEZ, J. M., GRANADOS, M. M., MORGAZ, J.,  
312 NAVARRETE, R., CARRILLO, J. M., GÓMEZ-VILLAMANDOS, R. J., MUÑOZ-RASCÓN, P., de las  
313 MULAS, J. M., MILLÁN, Y., GARCÍA-BALLETBÓ, M., CUGAT, R. Histological study of the influence  
314 of plasma rich in growth factors (PRGF) on the healing of divided achilles tendons in sheep. *The Journal of*  
315 *Bone and Joint Surgery*, Boston, v. 95, n. 3, p. 246-255, 2013.  
316
- 317 FORNI, F., MARZAGALLI, M., TESEI, P., GRASSI, A. Platelet gel: applications in dental regenerative  
318 surgery. *Blood Transfusion*, Milão, v. 11, n. 1, p. 102-107, 2013.  
319
- 320 GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, Chicago, v. 89, n.  
321 3, p. 219-229, 2010.  
322
- 323 JUNQUEIRA, L. C. U., BIGNOLAS, G., BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization  
324 microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochemical Journal*, Londres, v.  
325 11, n. 1, p. 447-455, 1979.  
326
- 327 KANE, J. M.; COSTANZO, J. A.; RAIKIN, S. M. The efficacy of platelet-rich plasma for incisional healing  
328 after total ankle replacement using the agility total ankle replacement system. *Foot and Ankle International*,  
329 Baltimore, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2015.  
330
- 331 LATTOUF, R., YOUNES, R., LUTOMSKI, D., NAAMAN, N., GODEAU, G., SENNI, K.,  
332 CHANGOTADE, S. Picrosirius red staining a useful tool to appraise collagen networks in normal and  
333 pathological tissues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, Baltimore, v. 62, n. 10, p. 751-758, 2014.  
334
- 335 LAWLOR, D. K., DeROSE, G., HARRIS, K. A., LOVELL, M. B., NOVICK, T. V., FORBES, T. L. The  
336 role of platelet-rich plasma in inguinal wound healing in vascular surgery patients. *Vascular and*  
337 *Endovascular Surgery*, Glen Head, v. 45, n. 3, p. 241-245, 2011.  
338
- 339 MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concept and  
340 auxiliary resources – Part 1. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 393-410,  
341 2003.  
342
- 343 MARCK, R. E.; MIDDELKOOP, E.; BREEDDERVELD, R. S. Considerations on the use of platelet-rich  
344 plasma, specifically for burn treatment. *Journal of Burn Care and Research*, Hagerstown, v. 35, n. 3, p. 219-  
345 227, 2014.  
346
- 347 MELO, F.; ROSA, P.; SOUSA, S. A oxigenoterapia hiperbárica e a pessoa com ferida por queimadura  
348 térmica. *Journal of Tissue Regeneration and Healing*, Porto, v. 1, n. 1, p. 19-24, 2012.  
349
- 350 NAUDE, L. The practice and science of wound healing: history and physiology of wound healing.  
351 *Professional Nursing Today*, v. 14, n. 3, p. 17-21, 2010.  
352
- 353 NICOLAU, J. A. Z., FARIA, P. F., MARQUES, L. O., HOEPERS, D. F., ROCHA, A. D., SOBRAL, A. C.  
354 L. Análise do efeito do estradiol e progesterona tópicos na cicatrização de feridas em ratos. *Surgical and*  
355 *Cosmetic Dermatology*, v. 6, n. 2, p. 126-129, 2014.  
356
- 357 OSTVAR, O.; SHADVAR, S.; YAHAGHI, E.; AZMA, K.; FAYYAZ, A. F.; AHMADI, K. Effect of  
358 platelet-rich plasma on the healing of cutaneous defects exposed to acute to chronic wounds: a clinic-  
359 histopathologic study in rabbits. *Diagnostic Pathology*, Londres, v. 10, n. 85, p. 1-6, 2015.  
360

- 361 PAL, U. S.; MOHAMMAD, S.; SINGH, R. K.; DAS, S.; SINGH, N.; SINGH, M. Platelet rich growth factor  
362 in oral and maxillofacial surgery. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, Lucknow, v. 3, n.2, p. 118-123,  
363 2012.
- 364  
365 PIERARD, G. E. Sirius red polarization method is useful to visualize the organization of connective tissues  
366 but not the molecular composition of their fibrous polymers. *Matrix*, Stuttgart, v. 9, n. 1, p. 68-71, 1989.
- 367  
368 PRATA, M. B.; HADDAD, C. M.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M. J.; MOURA, L. A.; TRABULSI, L.  
369 R. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São  
370 Paulo, v. 3, n. 2, p.43-48, 1988.
- 371  
372 REES, P. A.; GREAVES, N. S.; BAGUNEID, M.; BAYAT, A. Chemokines in wound healing and as  
373 potencial therapeutic targets for reducing cutaneous scarring. *Advances in Wound Care*, New Rochelle, v. 4,  
374 n. 11, p. 687-703, 2015.
- 375  
376 REZENDE, M. U.; SILVA, R. B. B.; BASSIT, A. C. F.; TATSUI, N. H.; SADIGURSKY, D.; BOLLIGER  
377 NETO, R. Effect of platelet-rich plasma on impact-induced chondrocyte apoptosis. *Acta Ortopédica*  
378 *Brasileira*, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 102-105, 2011.
- 379  
380 RIBEIRO, G.; MARTINS, C. B., SILVA, M. A. G.; BORGES, V. P.; LACERDA NETO, J. C. Uso tópico  
381 de ketanserina na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. *Arquivos Brasileiros de Medicina*  
382 *Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 61, n. 1, p. 144-148, 2009.
- 383  
384 RICARD-BLUM, S. The collagen family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, Woodbury, v. 3, n.1,  
385 p.1-19, 2011.
- 386  
387 SCLAFANI, A. P.; AZZI, J. Platelet preparations for use in facial rejuvenation and wound healing: a critical  
388 review of current literature. *Aesthetic Plastic Surgery*, Nova Iorque, v. 39, n. 1, p. 495-505, 2015.
- 389  
390 SHAN, G. Q.; ZHANG, Y. N.; MA, J.; LI, Y. H.; ZUO, D. M.; QIU, J. I.; CHENG, B.; CHEN, Z. L.  
391 Evaluation of the effects of homologous platelet gel on healing lower extremity wounds in patients with  
392 diabetes. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, Thousand Oaks, v. 12, n. 1, p. 22-29, 2013.
- 393  
394 SUZUKI, S.; MARIMOTO, N.; IKADA, Y. Gelatin gel as a carrier of platelet-derived growth factors.  
395 *Journal of Biomaterials Applications*, Lancaster, v. 28, n. 4, p. 595-606, 2013.
- 396  
397 WOO, S. H.; JEONG, H. S.; KIM, J. P.; KOH, E. H.; LEE, S. U.; JIN, S. M.; KIM, D. H.; SOHN, J. H.;  
398 LEE, S. H. Favorable vocal fold wound healing induced by platelet-rich plasma injection. *Clinical and*  
399 *Experimental Otorhinolaryngology*, Seoul, v. 7, n.1, p. 47-52, 2014.
- 400  
401 VALENTI, D. M. Z., SILVA, J. A., TEODORO, W. R., VELOSA, P. A., MELLO, S. B. V. Avaliação da  
402 histoarquitetura do colágeno no tecido cutâneo após a utilização tópica da argila em ratos. *Revista Brasileira*  
403 *de Ciências da Saúde*, v. 8, n. 23, p.22-31, 2010.
- 404  
405 VENDRUSCULO, C. P., ALVES, A. L. G., BROSSI, P. M., BACCARIN, R. Y. A. Autologous conditioned  
406 serum and platelet-rich plasma in equine orthopedic therapeutics. *Semina. Ciências Agrárias*, Londrina, v.  
407 35, n. 5, p. 2607-24, 2014.
- 408  
409 ZHANG, J., MIDDLETON, K. K., FU, F. H., IM, H., WANG, J. H. HGF mediates the anti-inflammatory  
410 effects of PRP on injured tendons. *Plos One*, São Francisco, v. 8, n. 6, p. 1-12, 2013.

411 **Figura 1.** Avaliação do percentual de contração das feridas nos diferentes animais dos grupos controle (A) e  
412 tratado (B).



413

414 **Fonte:** Elaboração dos autores.

415

416

417

418

419

420

421

422

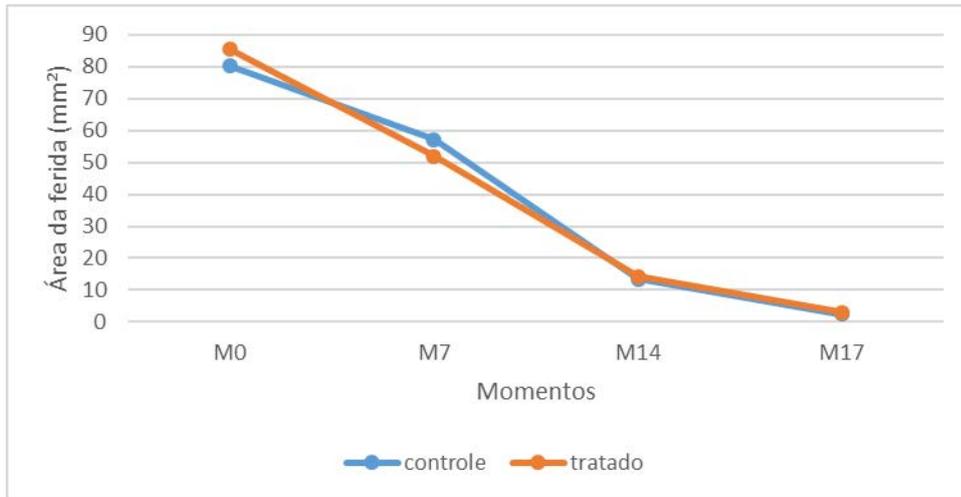
423

424

425

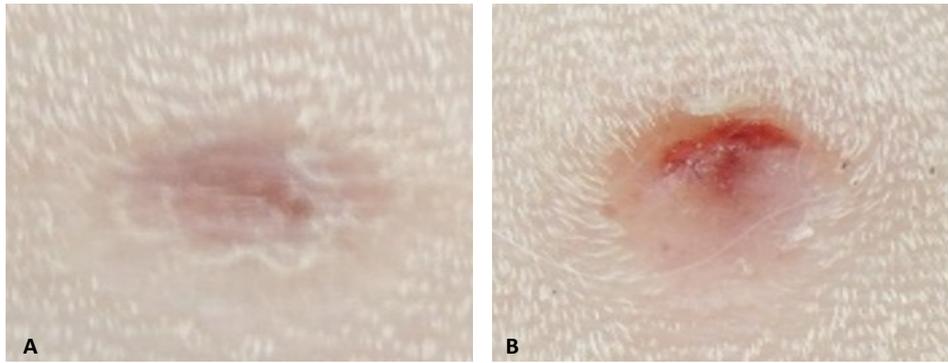
426

427 **Figura 2.** Evolução do tamanho da área da ferida em todos os momentos de avaliação para os animais dos  
428 grupos controle e tratado.

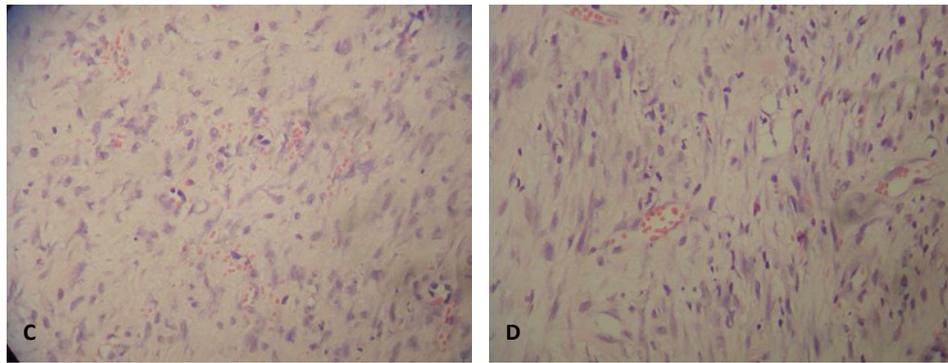


444 **Figura 3.** Aspecto das feridas no 17º dia. À direita, imagens da lesão não tratada e à esquerda, imagens da  
445 lesão tratada com PRP heterólogo gel. Imagens macroscópicas das lesões: A e B – Cicatrização de ambas as  
446 lesões. Fotomicroscopia das lesões (Hematoxilina-eosina, aumento de 400x): C - neovascularização discreta  
447 e moderado número de fibroblastos; D - neovascularização discreta, discreto infiltrado inflamatório e grande  
448 número de fibroblastos. Coloração de Picosirius (aumento de 200x): E e F – notar fibras colágenas coradas  
449 em vermelho. Avaliação da coloração de Picosirius à luz polarizada (aumento de 200x): G e H – notar  
450 birrefringência das fibras colágenas em vermelho.

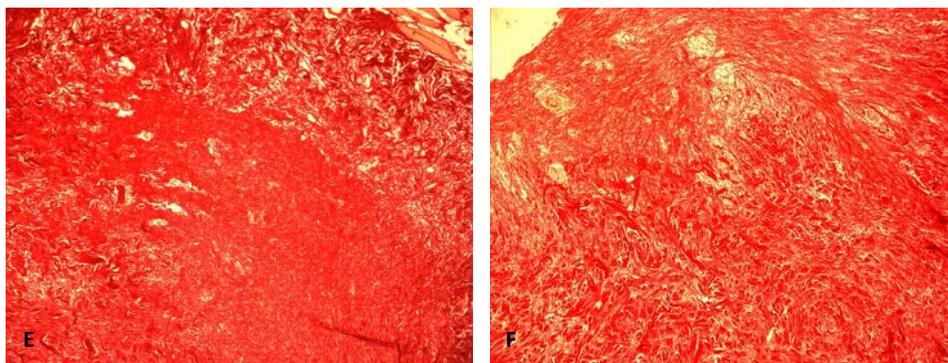
451



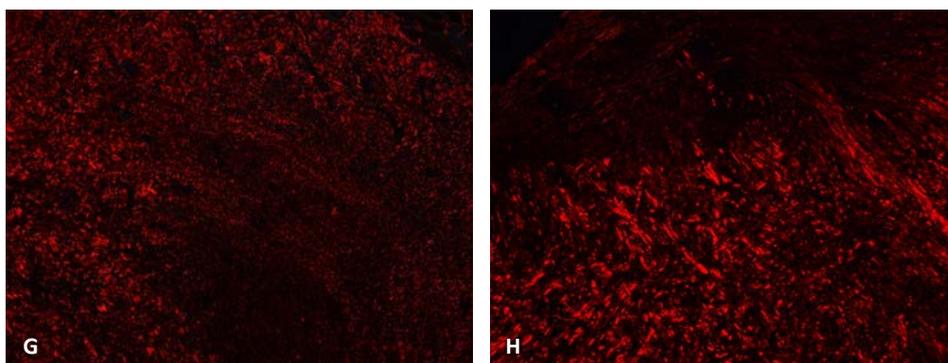
452



453

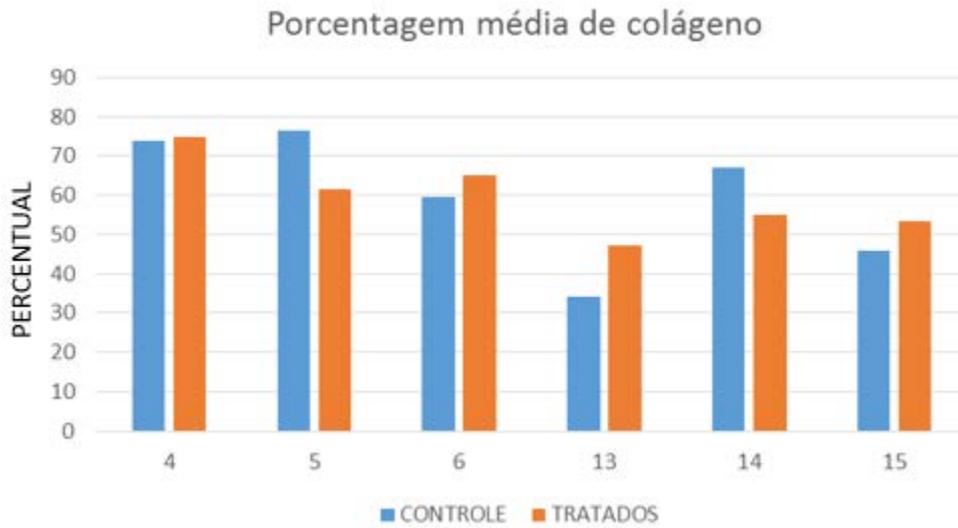


454



455 **Fonte:** Elaboração dos autores.

456 **Figura 4.** Porcentagem de colágeno das feridas controle e nas tratadas com PRP heterólogo gel, após  
457 coloração com Picosirius e observação sob polarização.



458

459 **Fonte:** Elaboração dos autores.

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

**ANEXO - DIRETRIZES PARA AUTORES**

**ATENÇÃO AUTORES:**

Considerando a grande quantidade de artigos para avaliação, INFORMAMOS QUE A REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS (TODAS AS ÁREAS: AGRONOMIA; ZOOTECNIA; MEDICINA VETERINÁRIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS) ESTARÁ INDISPONÍVEL PARA RECEBIMENTO DE ARTIGOS NO PERÍODO DE: 01 DE DEZEMBRO DE 2015 A 29 DE FEVEREIRO DE 2016.

RECOMENDAMOS QUE OS AUTORES CONSULTEM ATENTAMENTE AS DIRETRIZES, POIS NÃO SERÃO ACEITOS TRABALHOS QUE NÃO ESTEJAM RIGOROSAMENTE DE ACORDO COM AS NORMAS.

A partir de 19/02/2015, a Taxa de Submissão de novos artigos será de 100,00. Em caso de rejeição do artigo, esta taxa não será devolvida.

Artigos submetidos a partir de 19/02/2015 e aceitos para publicação terá o valor da Taxa de Publicação (trabalhos aprovados) reajustado de acordo com o número de páginas do manuscrito:

Até 10 páginas: R\$ 300,00

De 11 a 15 páginas: R\$ 400,00

De 16 a 20 páginas: R\$ 500,00

De 21 a 25 páginas: R\$ 600,00

Em caso de aceite do artigo para publicação, o valor pago de R\$ 100,00 referente à taxa de submissão, não será deduzido da taxa de publicação.

O comprovante de depósito deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar

Depósito em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, em uma das três contas abaixo:

Banco do Brasil (001)

Agência: 1212-2

Conta corrente: 43509-0 - Brasil

Caixa Econômica Federal (104)

Agência: 3076

Conta corrente: 0033-4

Operação: 003 - Brasil

Itaú (341)

Agência: 3893

Conta corrente: 29567-9 - Brasil

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente traduzidos para o inglês.

Os artigos enviados para a revista até dezembro/2013 que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o documento comprobatório dessa correção na página de submissão em “Docs. Sup.”

#### OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias, é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação;
- b) Não tenha sido realizado o cadastro completo de todos os autores nos metadados de submissão; Exemplo: Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função
- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “Docs. Sup.” no ato da submissão;
- e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)
- f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

RESTRIÇÃO POR ÁREA:

PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;
- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

## PARA A ÁREA DE VETERINÁRIA

a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

### Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

### Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

*Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas* serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em “Docs Supl.” na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

**Observação:** Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: Fonte: IBGE (2014), ou Source: IBGE (2014).

## Preparação dos manuscritos

### Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. Material e Métodos... *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.
6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.
7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

### Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha<sup>-1</sup>. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L<sup>-1</sup>, e não g.L<sup>-1</sup> ou gL<sup>-1</sup>.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

#### 8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que .....
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes. A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

#### Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados e discussão (podem ser incluídas tabelas e figuras), conclusão e referências bibliográficas.

#### Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

#### Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do

autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

6. *Numero de autores*: Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.
3. Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.

Utilize o botão "incluir autor"

1. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "editar metadados" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A identificação de autoria do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.
2. Efetuar o pagamento da [Taxa de Submissão de artigos](#) e anexar o comprovante como documento suplementar “Docs. Sup.”

#### Declaração de Direito Autoral

Os Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

#### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina:	Ciências	Agrárias
Londrina	-	PR
ISSN		1676-546X
E-ISSN		1679-0359

[semina.agrarias@uel.br](mailto:semina.agrarias@uel.br)

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Informo que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, ESTANDO CIENTE que a formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DO MÉRITO.
3. Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.

Utilize o botão "incluir autor"

4. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "editar metadados" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

5. A identificação de autoria do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB).

O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.

7. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.
8. Deve ser incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas
9. [Taxa de Submissão de novos artigos](#)

### Declaração de Direito Autoral

Os Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.