

Aplicación exitosa de PRP y parches de fibrina en un caso clínico de un equino deportivo

Successful PRP and fibrin glue application on a clinical case in an equine

Mondino A¹, Yaneselli K¹, Ferreira O², Maisonnave J^{1*}

1- Área de Inmunología, Departamento de Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

2- Secretaría del egresado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Montevideo Uruguay.

*Autor de correspondencia: jacmaiso@gmail.com

Veterinaria (Montevideo) Volumen 52
Nº 203 (2016) 10-17

Recibido: 2/2/2016

Aceptado: 6/4/2016

Resumen

Los equinos deportivos, son víctimas de frecuentes heridas en la región distal de los miembros y de fracturas articulares. La medicina regenerativa es un campo emergente el cual utiliza métodos alternativos para diferentes lesiones de difícil resolución con tratamiento convencional. Existen antecedentes que utilizan parches de fibrina (PF) en la reparación de heridas cutáneas y plasma rico en plaquetas (PRP) en lesiones osteoarticulares. Este trabajo tuvo por objetivo evaluar la aplicación de PRP sobre una fractura de tercer carpiano del miembro anterior derecho y la aplicación de PF en una herida de 54 cm² en la región metatarsiana del miembro posterior izquierdo de un equino Sangre Pura de Carrera (SPC). Se realizó una única aplicación PRP mediante artrocentesis intercarpiana. Sobre la herida cutánea, se realizaron 3 aplicaciones (1 por semana) de PF. Un mes post-aplicación de PRP el equino ya no evidenciaba claudicación, no manifestaba dolor ni inflamación articular y no rechazaba el apoyo. A nivel radiográfico, se observó consolidación de la línea de fractura, con remodelación ósea. A su vez, luego de la tercera aplicación de PF (3 semanas), la superficie de la herida se redujo dos tercios del tamaño original y a las 8 semanas se logró su completa resolución.

Palabras clave:

Medicina Regenerativa, PRP, parches fibrina, Equinos, Fracturas articulares, Heridas cutáneas

Summary

Distal limb wounds and joint fractures are very frequent in sport horses. Regenerative medicine is an emerging field that uses alternative methods for healing injuries that are difficult to solve with conventional treatment. Fibrin glue (FG) patches have been used for skin wound repair and platelet rich plasma (PRP) to heal musculoskeletal injuries. The aim of this work was to assess the effect of regenerative medicine therapies in a joint and skin injury on a racehorse. A female thoroughbred horse had a slab fracture in carpal III bone of the right forelimb and a 54-cm² wound in the metatarsal region of the left hind limb. PRP was applied into the intercarpal joint by arthrocentesis. Three applications (once per week) of FG were performed on the wound. A month after PRP application, the horse showed no lameness, pain or joint swelling. Radiographs showed a consolidated fracture with bone remodeling. As to the wound, after the third FG (3 weeks), its surface was reduced two-thirds of the original size and 8 weeks later, it achieved full resolution.

Keywords:

equine, regenerative medicine, PRP, fibrin glue, fracture, skin wound

Introducción

Los equinos deportivos, son víctimas de frecuentes lesiones, debido a la exigencia del entrenamiento al que son sometidos. Dentro de las lesiones más comunes, se encuentran las heridas en la región distal de los miembros y las fracturas articulares. El carpo representa la articulación lesionada con más frecuencia, en especial en caballos de carrera (Stashak 2004; Watts y Rose 2010; Iacopetti 2012).

La reparación de las heridas en equinos suele ser problemática, principalmente aquellas que ocurren de tarso o carpo hacia distal. Esto es debido a que esas regiones presentan determinadas características que dificultan la regeneración cutánea, tales como; la proximidad al suelo, que favorece la contaminación de la herida, la escasez de tejidos blandos que brinden cobertura, la gran movilidad debida a la presencia de numerosas articulaciones muy móviles y una pobre contracción de la herida relacionada a la ausencia de un panículo carnosos (Wilson 2008). Estas lesiones traen aparejadas convalecencia prolongada, pérdida de la capacidad atlética, formación de cicatrices estéticamente desagradables y pérdidas económicas para el propietario del caballo (Witte y col. 2009). Esto lleva a la búsqueda de tratamientos que aceleren y mejoren la calidad de la reparación.

En los últimos 20 años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas, entre ellas, la biología celular, lo que ha dado un notable impulso a la denominada medicina regenerativa. La misma se basa en el proceso de crear tejidos vivos y funcionales para reparar o reemplazar la función de órganos y tejidos dañados (NIH 2010). Una de las herramientas más utilizadas, desarrollada por esta rama de la medicina humana y veterinaria, es el plasma rico en plaquetas (PRP) o concentrado plaquetario el cual se define como una fracción del plasma que contiene una concentración de plaquetas de 3 a 5 veces mayor a la concentración basal de la sangre periférica, la cual oscila entre 92 y 274 x 10³ plaquetas/μL en equinos (Argüelles y col. 2006; Maia y col. 2009).

Las plaquetas una vez activadas liberan el contenido de sus gránulos en el microambiente de la lesión. Los gránulos contienen numerosos factores de crecimiento (FC) y proteínas bioactivas, muchos de las cuales tienen un rol fundamental en la homeostasis y/o en la reparación tisular (Harrison y Cramer 1993; Reed 2002; Anitua y col. 2004). Estos factores producen modulación de la respuesta inflamatoria, promoción de angiogénesis local, atracción de fibroblastos y células madre locales al sitio de la injuria y una inducción de la producción de factores de crecimiento autocrinos por las células adyacentes al daño (Anitua 2005).

Se han descrito los siguientes FC presentes en las plaquetas: factor transformante beta (*transforming growth factor beta* TGF-β), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (*platelet derived growth factor* PDGF), factor básico de crecimiento fibroblástico (*basic fibroblastic growth factor* bFGF) factor de crecimiento de hepatocito (*hepatocyte growth factor* HGF), factor de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor* VEGF), factor de crecimiento epidérmico (*epidermal growth factor* EGF) y factor de cre-

cimiento de insulina tipo 1 (*insulin growth factor 1 IGF-1*) (Ostman y Hedlin 2001 y Reed 2002). En el caso de regeneración ósea poseen importancia los factores bFGF, VEGF, PDGF, TGF-β, IGF-1 (Farhadieh y col. 1999; Hasse y col. 2000; Tözüm y Demiralp 2003; Marx 2004; Argüelles y col. 2008). Para conseguir el efecto deseado del PRP es necesario activarlo, el término activación se refiere a 2 procesos clave que deben iniciarse: (1) Degranulación de las plaquetas para liberar los α-gránulos que contienen FC y (2) el clivaje del fibrinógeno para iniciar la formación de la matriz (Wasterlain y col. 2012). La activación puede realizarse de manera exógena mediante la adición de trombina, cloruro de calcio (CaCl₂) o la combinación de ambos (Brass 2003, Textor y col. 2013). También es posible activar el PRP mediante descongelado, Johnson y col. (2011) encontraron que luego de congelar y descongelar preparados plaquetarios, existe un aumento en la expresión de los marcadores como CD62P y CD63, lo que indica la activación plaquetaria.

Potencialmente el uso del PRP puede mejorar y acelerar la recuperación de diferentes lesiones músculo esqueléticas, demostrado en diversas lesiones en equinos (Argüelles y col. 2008; Carmona y López 2011; Iacopetti y col. 2012).

Las lesiones articulares causan claudicación y disminución del rendimiento deportivo (Stashak 2004), la literatura internacional describe la recuperación exitosa en casos de lesiones cartilagosas y artritis mediante la aplicación de PRP intraarticular en humanos (Sánchez y col. 2008; Sampson y col. 2010; Filardo y col. 2011; Kon y col. 2011), animales de laboratorio (Saito y col. 2009; Sun y col. 2010; Zhu y col. 2013) y equinos (Abellonet y Prades 2009). Se ha demostrado que los condrocitos y las células madre mesenquimales expuestas al PRP han tenido un aumento significativo en la proliferación celular y síntesis de proteoglicanos así como colágeno tipo II por parte de la matriz extracelular (Akeda y col. 2006; Mishra y col. 2009). También se ha demostrado a nivel génico, un aumento del metabolismo para la síntesis de matriz y la expresión de citoquinas catabólicas. Para patologías articulares es interesante destacar el aumento de la expresión de genes vinculados a la síntesis de matriz proteica oligomérica de cartilago (*cartilage oligomeric matrix protein*), lo cual potencialmente favorece su regeneración (Smith y col. 2006; Schnabel y col. 2009). A pesar de estos antecedentes, todavía no existe una estandarización de la aplicación de PRP en fracturas articulares en equinos. Por lo tanto, existe la necesidad de profundizar la investigación en el tema.

Por otra parte, para acelerar el proceso de reparación de heridas, para el tratamiento de hemostasia intraoperatoria, se han utilizado ampliamente parches de fibrina (PF) con resultados positivos en muchos casos (Bishara y col. 1986; Spornitz y col. 1997; Yücel y col. 2003; Murakami y col. 2009; Hermeto y col. 2012). Estos parches contienen fibrinógeno, trombina y CaCl₂. Los PF activados imitan la última fase de la cascada de la coagulación, en la que la trombina activa la conversión del fibrinógeno en monómeros de fibrina y también activa al factor XIII para que junto con el calcio, interviene en la polimerización de los monómeros de fibrina dando resistencia al coágulo (Clark, 2003). Se han experimentado terapias alternativas con gel en pacientes inmunocomprometidos, diabéticos o gerontes (Robson 1997; Rehder

y col. 2013). Se ha demostrado que tanto en los PF como en el PRP uno de los principales FC vinculados a la aceleración de la reparación de las heridas cutáneas es el VEGF, el cual, modula la angiogénesis y favorece la proliferación del endotelio (Bennett y Schultz 1993; Kliche y Waltenberg 2001; Carter 2003). Los PF han sido aprobados para hemostasis en Estados Unidos y la Unión Europea, y son también utilizados para promover la curación de heridas. En la actualidad, existen varios productos comerciales compuestos principalmente por fibrinógeno, trombina y cloruro de calcio (NaCl) (Lynn, 2002; Wilson, 2008).

Caso clínico

Equino hembra, de raza Sangre Pura de Carrera (SPC) de 4 años. El animal era utilizado en competencias de turf y sufrió, una fractura en loseta completa de hueso carpiano III, en cara dorsomedial del mismo, con leve desplazamiento proximal, en su miembro anterior derecho. (Figura 1).

Previamente fue tratada con Fenilbutazona I/V a razón de 2mg/kg, aplicación de hielo en el carpo y reposo absoluto durante 3 meses, sin éxito.

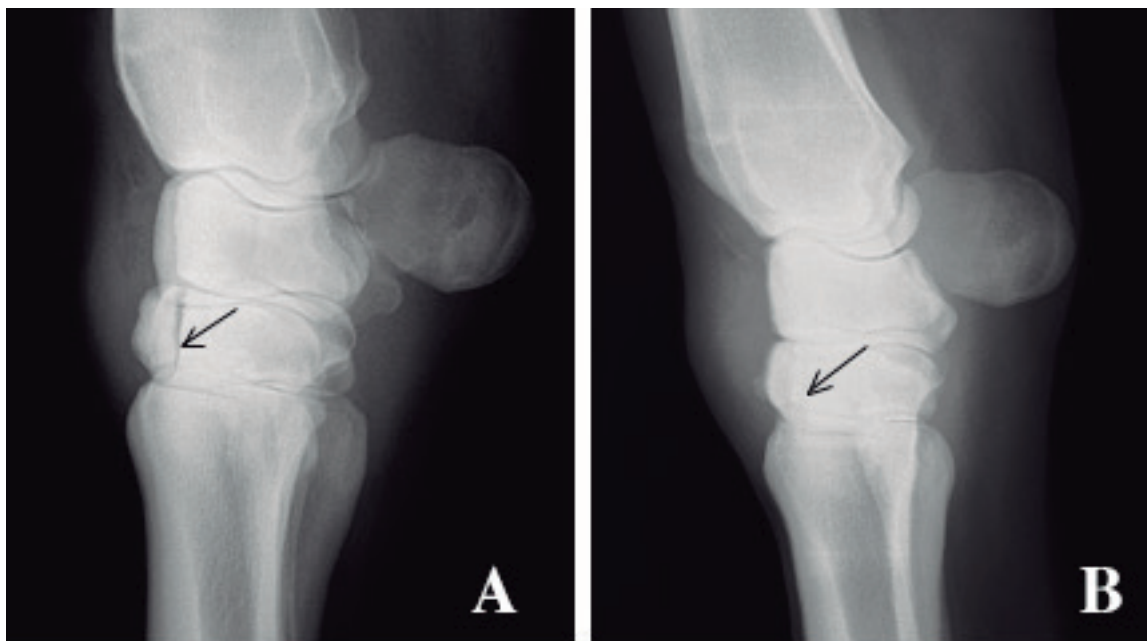


Figura 1: Rayos X lateromedial del carpo derecho. (A) previo al tratamiento regenerativo. Se observa una fractura en loseta completa de hueso carpiano III, en cara dorsomedial del mismo, con leve desplazamiento proximal, en su miembro anterior derecho (flecha). (B) 1 mes luego de la aplicación de PRP intraarticular. Se observa consolidación de la línea de fractura, con remodelación ósea.



Figura 2: Vista lateral de la herida desgarrante de la región metatarsiana del MPI (A) Día 0 del tratamiento (B) Día 15. Se observa reducción del 50% la herida y formación de islotes vasculares (C) Día 60. La herida se redujo a un 10% del tamaño original (D) Día 80, cierre completo de la herida.

Un mes posterior a la fractura, el animal sufrió un accidente con un alambrado y se realizó una herida en región metatarsiana del miembro posterior izquierdo a media distancia entre la articulación tarsometatarsiana y la meta-tarsofalangeana (Figura 2).

Era una herida desgarrante, de trazo transversal, superficial, aséptica y ocupaba la región por lateral, palmar y medial. Estuvo siendo tratada con lavados con yodo diarios y aplicación de antimiásico en spray durante 2 meses. Al momento que el equipo de este trabajo evaluó al animal, los cuidadores manifestaban que la herida presentaba una reparación muy lenta.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de nuevas terapias de medicina regenerativa sobre lesiones articular y cutánea en un equino deportivo. Los objetivos específicos fueron i) Evaluar el efecto de la aplicación intra-articular de PRP autólogo en la reparación de una fractura de hueso carpiano III del equino y ii) evaluar el efecto de la aplicación de PF en la reparación de una herida cutánea en la región metatarsiana del equino.

Materiales y Métodos

Extracción de sangre

El protocolo de extracción de sangre y aplicación de PRP y PF fueron previamente autorizado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CEUAFVET-PI-03/14-Exp. 111130-000126-14), UdelaR.

Para la preparación del PRP y los PF se procedió a extraer sangre del equino, realizando tricotomía del surco yugular, embrocando el área con yodopovidona y alcohol 96%. Luego se realizó la venopunción de la yugular externa con aguja 18G y fueron extraídos 100 mL de sangre periférica con anticoagulante (citrato de sodio 3,2% p/v). Fueron utilizados 50 mL de sangre periférica para la obtención de PRP y los restantes 50 mL para la obtención de plasma destinada a los PF, se realizó recuento plaquetario del PRP y plasma.

Preparación del Plasma Rico en Plaquetas

Cincuenta mL de sangre periférica se sometieron al método de doble centrifugado descrito por Argüelles y col. (2006), luego de una centrifugación inicial de 120g por 5 minutos fue extraído el sobrenadante. Al mismo, se le realizó una segunda centrifugación a 240g por 10 minutos y se tomó el 25% del infranadante incluyendo el pellet y fue congelado a -20 °C, para su conservación hasta el momento de la aplicación. Se realizó un control microbiológico para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, para ello fue sembrada una alícuota del PRP sobre una placa de agar sangre y se incubó a 37°C durante 48 horas. Previamente a ser aplicado el PRP fue activado con CaCl₂ 90 mM.

Aplicación intra-articular de PRP

El equino fue sedado con 1,1 mg/kg de xilacina intravenosos (I/V). Se procedió a realizar la tricotomía de la cara dorsal de la región carpiana, la zona fue lavada con jabón de clorhexidina y embrocada con alcohol 96% y yodopovidona al 2%. Se realizó la artrocentesis de la articulación intercarpiana utilizando una aguja 21G. Una vez dentro de la articulación, fueron extraídos 2 mL de líquido articular, el cual estaba hemorrágico y se aplicó 1,5 mL de PRP ($7,87 \times 10^8$ plaquetas) dentro de la articulación. Para prevenir posibles infecciones se aplicaron, además, 10 mg de gentamicina. Posteriormente se realizó un vendaje compresivo con algodón laminado y venda elástica, que fue retirado a las 24 h.

Preparación y aplicación de parches de fibrina

Se utilizaron 50 mL de sangre, a partir de la cual se obtuvo plasma por centrifugado simple (120g por 5 minutos) que fue destinado a la realización de parches de fibrina. El plasma obtenido fue congelado hasta el momento de ser utilizado. Para cambiar el estado físico del plasma de líquido a gel, fue adicionado 10% de CaCl₂ y posteriormente fue dispensado sobre una gasa estéril de forma cuadrangular, con una superficie de 25 cm². Se realizaron 3 aplicaciones de parches de fibrina, las semana 0, 1 y 2 del tratamiento. Se colocó sobre la herida el parche de fibrina, previo limpieza de la misma y se realizó un vendaje compresivo con algodón laminado y venda elástica. Los vendajes se retiraron a las 48 horas de haber sido colocados.

Evaluación de la evolución de los tratamientos

Se evaluó semanalmente: calor y deformación a nivel del carpo derecho (articulación fracturada), grado de claudicación y capacidad de soportar el peso al levantar el miembro homólogo. Se realizaron radiografías lateromedial y *skyline* 30° del carpo 1 y 4 meses pos tratamiento.

El largo y el ancho de la herida fueron medidos con cinta métrica y la herida fue fotografiada cada 7 días hasta el cierre completo de la misma. Se realizó medición del área de la herida en las fotografías utilizando el *software* ImageJ.

Resultados

El plasma original tenía 121×10^3 plaquetas / μ L (primer centrifugación) y fue concentrado a 525×10^3 plaquetas / μ L (segunda centrifugación). De acuerdo a estos resultados en la lesión articular fueron inyectadas $7,87 \times 10^8$ plaquetas (1,5 mL de PRP). No se detectaron signos de inflamación luego de la inoculación.

Un mes post-aplicación el paciente ya no evidenciaba claudicación, no manifestaba dolor ni inflamación articular y no rechazaba el apoyo, por lo que comenzó con entrenamiento de intensidad creciente. A nivel radiográfico, al mes de la aplicación, se observó consolidación de la línea de fractura, con remodelación ósea (Figura 3).

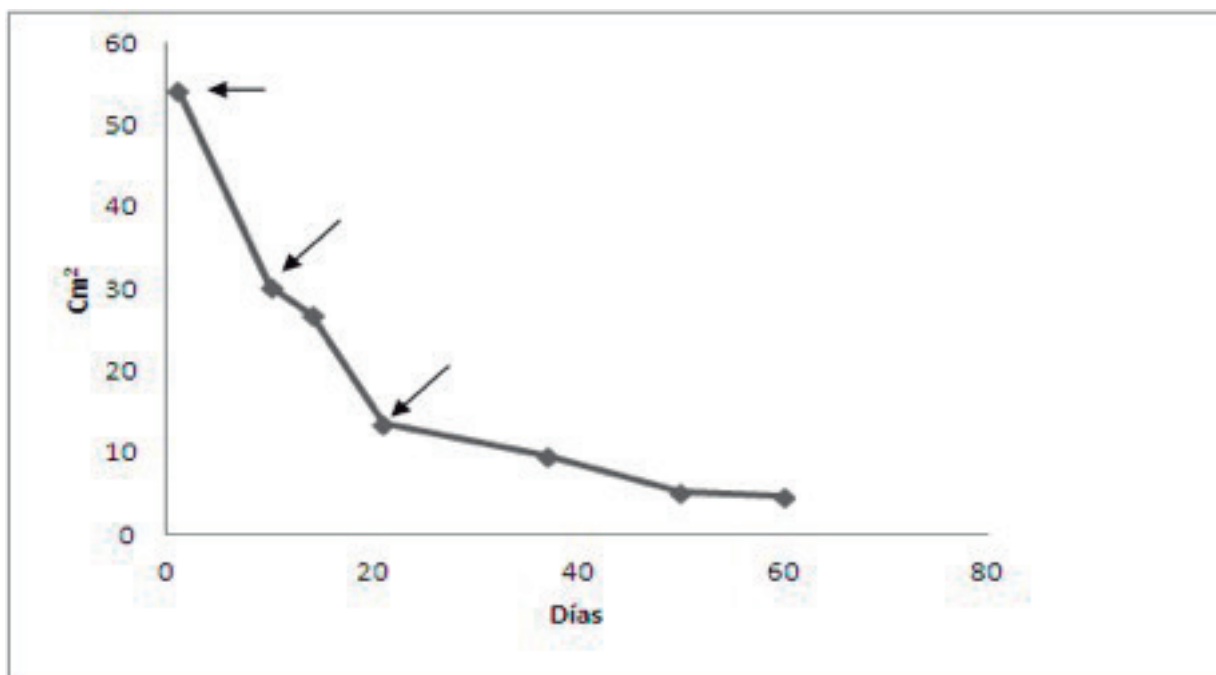


Figura 3: Evolución del área de la herida con respecto al tiempo. Las flechas indican la aplicación de los parches de fibrina.

A los 4 meses post-tratamiento el equino comenzó a realizar entrenamiento intensivo y a nivel radiológico no hubo cambios significativos, con respecto a la placa anterior. A los 7 meses el paciente vuelve a la competencia hípica deportiva.

En cuanto a la herida de piel, 1 semana luego del tercer PF, la superficie se redujo dos tercios del tamaño original y a las 8 semanas, se logró su completa resolución.

Discusión

Para denominar un concentrado plaquetario de PRP se debe obtener una concentración plaquetaria de 3 a 5 veces mayor a la concentración basal de sangre periférica (Argüelles y col. 2006; Maia y col. 2009) En nuestros resultados se obtuvo una concentración plaquetaria 4,3 veces mayor, lo que nos permite citar en el trabajo que se obtuvo PRP en concordancia con la literatura en equinos (Argüelles y col. 2006; Maia y col. 2009). En el plasma encontramos una concentración de 121×10^3 plaquetas / μL y luego de la doble centrifugación se logró concentrar a 525×10^3 plaquetas / μL en un volumen total de 1,5 mL. Esta concentración de plaquetas en el PRP es similar a lo que describieron Maia y col. (2009) quienes obtuvieron una concentración promedio de $407,5 \pm 58,8 \times 10^3$ plaquetas / μL . Según Argüelles y col. (2006) obtuvieron una concentración plaquetaria que osciló entre $138-479 \times 10^3$ plaquetas / μL en 26 equinos saludables, lo cual indica que tiene una fuerte influencia individual la concentración final del PRP y por esta razón es adecuado comparar cada muestra con la concentración basal en sangre periférica. Nuestra concentración final en el PRP fue similar a la máxima descrita anteriormente. Es importante destacar que Argüelles y col. (2006) obtuvieron 71% más concentrado el TGF- β en el PRP obtenido por el método de doble centrifugación comparado la concentración basal, esté FC participa con gran signifi-

cancia en el proceso de regeneración condrogénica. No fue medida la cantidad de TGF- β en este trabajo, pero podemos asumir que incrementó, debido al aumento marcado de la concentración plaquetaria obtenida en el PRP, que alcanza el nivel para ser usado con fines terapéuticos.

En la patologías ortopédicas, existen reportes de la aplicación de PRP en equinos, una de las lesiones más tratadas es sobre el tendón flexor superficial, según Maia y col. (2009) quienes aplicaron a 6 equinos adultos PRP a nivel tendinoso con un volumen de 2,5 mL a una concentración de $(320 - 500 \times 10^3$ plaquetas / $\mu\text{L})$, es decir, fueron aplicadas intraleSIONalmente una cantidad que osciló entre $8,0 - 12,5 \times 10^8$. Sin embargo en nuestro trabajo fueron aplicadas $7,87 \times 10^8$ plaquetas en un volumen de 1,5 mL intraarticular, lo cual fue superior a la concentración y volumen aplicado en lesiones equinas descritas anteriormente.

La aplicación de PRP activado en la articulación no produjo reacción inflamatoria que compromete la movilidad articular, lo cual coincide con lo descrito por Textor y col. (2013) quienes aplicaron un volumen total de 2,5 mL de PRP activado con 23 mg/mL de CaCl_2 sin tener compromiso de la motilidad articular. Sin embargo estos mismos autores, activaron PRP con trombina bovina 10 U/mL en 7 equinos lo que generó una inflamación intraarticular exagerada, comprometiendo la movilidad de la articulación por 96 horas post-inyección.

El retorno del equino a la actividad deportiva 7 meses luego del tratamiento, es un resultado alentador ya que, según Stashak (2004) las fracturas laminares de tercer carpiano deben tratarse con cirugía lo antes posible para no correr riesgo de enfermedad degenerativa articular y en aquellas en las que no se realiza la cirugía se debe esperar al menos 1 año para volver a la actividad deportiva. Por otro lado, Adams y Fessler (2000), señalan que el tratamiento conservador es

recomendado en fracturas no desplazadas y en equinos que no pretenden volver a correr.

Hay que tener en cuenta, además, que la lesión que presentaba este equino ya era crónica, debido a que el tratamiento regenerativo fue realizado 3 meses post - fractura. Según Abellanet y Prades (2009) quienes aplicaron PRP en equinos con patologías articulares agudas (10 casos) y crónicas (20 casos), los equinos con casos crónicos tuvieron una menor tasa de retorno a la actividad deportiva, comparado con los casos agudos. Estos datos hacen alentadores los resultados obtenidos en este trabajo.

En este trabajo se obtuvo una mejora en la cicatrización de la herida, con respecto al tratamiento tradicional, que se le estaba realizando previamente al animal. Esto coincide con algunos autores que han probado la eficacia de los PF en la reparación de heridas (Eby y col. 2001, Gogulanathan y col. 2015). Sin embargo, Branski y col. 2011 utilizaron adhesivos de fibrina en un modelo de quemaduras en cerdos y no encontraron mejoría en la tasa de contracción de las heridas y Rehder y col. (2013) por otra parte, aplicaron PF en úlceras venosas crónicas sin resultados alentadores. Las discrepancias encontradas en la literatura pueden deberse a las variadas formulaciones de GF existentes (Botti y col. 2013).

Conclusiones

La concentración plaquetaria obtenida fue 4,3 veces mayor a la de la sangre normal, lo que nos permite aseverar que en este trabajo fue utilizado PRP.

Existió una evolución clínica y radiológica favorable a la aplicación de PRP intra-articular del carpo, con resolución completa de la línea de fractura. El paciente consiguió volver a la actividad hípica deportiva, sin presentar recidiva por 2 años (hasta el momento).

La aplicación de PF cutáneo como tratamiento alternativo tuvo éxito, debido a una resolución completa de la herida cutánea

Nuevas investigaciones deben ser realizadas para evaluar la aplicación de PRP y/o PF como terapia alternativa para mejorar y acelerar los procesos regenerativos en lesiones óseas y cutáneas respectivamente.

Bibliografía

1. Abellanet I, Prades M. (2009). Intra-articular platelet rich plasma (PRP) therapy: evaluation in 42 sport horses with OA. Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association; Sep 24-29. Guarujá, SP, Brazil.
2. Adams SB, Fessler JF. (2000). Atlas of equine Surgery. En; W.B. Ed. Saunders Co. Philadelphia. pp. 279-283.
3. Akeda K, An HS, Okuma M, Attawia M, Miyamoto K, Thonar EJ, Lenz ME, Sah RL, Masuda K. (2006) Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage* 14:1272-1280.
4. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis* 91:4-15.
5. Anitua E, Andia I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zaldueño M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. (2005). Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res* 23:281-286.
6. Argüelles D, Carmona JU, Pastor J, Iborra A, Viñals L, Martínez P, Bach E, Prades M (2006). Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets. *Res Vet Sci* 81:237-245.
7. Argüelles, D, Carmona JU, Climent F, Muñoz E, Prades M. (2008) Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in five horses. *Vet Rec* 162:208-211.
8. Bennett NT, Schultz GS (1993). Growth factors and wound healing. Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg* 166:74-81.
9. Bishara S, Zeitler D, Kremenak C. (1986). Effects of a Fibrin-Sealant Wound Dressing on the Healing of Full-Thickness Wounds of the Hard Palate: Preliminary Report. *Cleft Palate J* 23:144-152.
10. Botti G, Pascali M, Botti C, Bodog F, Gentile P, Cervelli V. (2013) Comparison of commercial fibrin sealants in facelift surgery: a prospective study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 7:273-280.
11. Branski L, Mittermayr R, Herndon DN, Jeschke MG, Hofmann M, Masters OE, Norbury WB, Traber DL, Tangl S, Redl H. (2011) Fibrin sealant improves graft adherence in a porcine full-thickness burn wound model. *Burns* 37:1360-1366.
12. Brass LF (2003). Thrombin and platelet activation. *Chest* 124:18-25.
13. Carmona J, López C (2011). Autologous Platelet Concentrates as a Treatment for Shoulder Injury in a Horse. *J Equine Vet Sci* 31:506-510.
14. Carter CA, Jolly DG, Worden CE, Hendren DG, Kane CJ. (2003). Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol* 74:244-255.
15. Clark R. (2003). Fibrin glue for wound repair: facts and fancy. *J Thromb Haemost* 90:1003 -1006.

16. Eby JB, Navarro RA, Dunkelman A, Lichtman J, Fishbein MC, Aronowitz JA, Kulber DA. (2001). The effect of fibrin sealant on the healing of laser-resurfaced skin. *Aesth Surg J* 21:509-517.
17. Farhadieh RD, Dickinson R, Yu Y, Gianoutsos MP, Walsh WR. (1999). The role of transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and basic fibroblast growth factor in distraction osteogenesis of the mandible. *J Craniofac Surg* 10:80-86.
18. Filardo G, Kon E, Buda R, Timoncini A, Di Martino A, Cenacchi A, Fornasari PM, Giannini S, Marcacci M. (2011). Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:528-535.
19. Gogulanathan M, Elavenil P, Gnanam A, Krishnakumar Raja VB. (2015). Evaluation of fibrin sealant as a wound closure agent in mandibular third molar surgery-a prospective, randomized controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg* 44:871-875.
20. Harrison P, Cramer EM. (1993). Platelet alpha-granules. *Blood Rev* 7:52-62.
21. Hasse M, Porksen S, Schultze A, Feyerabend T. (2000). Effect of bFGF on regeneration of distracted mandibles after radiation. *Mund Kiefer Gesichtschir* 4:423-427.
22. Hermeto L, De Rossi R, Benites de Páuda S, Jardim E, Santana A. (2012). Estudo comparativo entre a cola de fibrina e o plasma rico em plaquetas em enxertos cutâneos em cães. *Acta Cir Bras* 27:789-794.
23. Hu J, Zou S, Li J, Chen Y, Wang D, Gao Z. (2003). Temporospatial expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg* 31:238-243.
24. Iacopetti I, Perazzi A, Ferrari V, Busetto R. (2012). Application of Platelet-Rich Gel to Enhanced Wound Healing in the Horse: A Case Report. *J Equine Vet Sci* 32:123-128.
25. Johnson LN, Winter KM, Reid S, Hartkopf-Theis T, Marks DC. (2011). Cryopreservation of buffy-coat-derived platelet concentrates in dimethyl sulfoxide and platelet additive solution. *Cryobiology* 62:100-106.
26. Kliche S, Waltenberg J. (2001). VEGF receptor signaling and endothelial function. *IUBMB Life* 52:61-66.
27. Kon E, Mandelbaum B, Buda R, Filardo G, Delcogliano M, Timoncini A, Fornasari PM, Giannini S, Marcacci M. (2011). Platelet-Rich Plasma Intra-Articular Injection Versus Hyaluronic Acid Viscosupplementation as Treatments for Cartilage Pathology: From Early Degeneration to Osteoarthritis. *Arthroscopy* 27:1490-1501.
28. Lynn M. (2002). Hemostasis: bloodless management of multiple trauma - state of the art. *Memorias del Simposio Internacional de Trauma de la Medicina Prehospitalaria a la Unidad de Cuidados Intensivos*. 2001. Jul 27-28; Santiago de Chile, Chile..
29. Maia L, De Souza MV, Ribeiro JI, de Oliveira AC, Silveira Alves GE, dos Anjos Benjamin L, Sancler Silva YFR, Zandim BM, Lopes Moreira J. (2009). Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Induced Tendinopathy in Horses: Histologic Evaluation. *J Equine Vet Sci* 29:618-626.
30. Marx RE (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 62:489-496.
31. Mishra A, Tummala P, King A, Lee B, Kraus M, Tse V, Jacobs CR. (2009). Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Eng Part C Methods* 15:431-435.
32. Murakami M, Tono T, Okada K, Yano H, Monden T (2009). Fibrin glue injection method with diluted thrombin for refractory postoperative digestive fistula. *Am J Surg* 198:715-719.
33. NIH.gov. NIH Regenerative Medicine. Actualizado 2010. Disponible en: [http://report.nih.gov/nihfactsheets/Pdfs/RegenerativeMedicine\(NIBIB\).pdf](http://report.nih.gov/nihfactsheets/Pdfs/RegenerativeMedicine(NIBIB).pdf). Consultado: 28 de enero de 2015.
34. Ostman A, Heldin CH. (2001). Involvement of platelet-derived growth factor in disease: Development of specific antagonists. *Adv Cancer Res* 80:1-37.
35. Reed GL. (2002). Platelet secretion. En: Michelson AD, Ed. *Platelets*. Elsevier Science, San Diego; 181-195.
36. Rehder J, Faccio CA, de Paula Leite MB, Cipriano MA, Guillaumon AT, Xavier FR, Puzzi MB. (2013). A Comparative Study of Cell Therapy and Fibrin Glue Applied to Chronic Venous Ulcer. *Procedia Eng* 59:85-91.
37. Robson MC. (1997). The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound Repair Regen* 5:12-17.
38. Saito M, Takahashi KA, Arai Y, Inoue A, Sakao K, Tonomura H, Honjo K, Nakagawa S, Inoue H, Tabata Y, Kubo T. (2009). Intraarticular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee. *Clin Exp Rheumatol* 27:201-207.
39. Sampson S, Reed M, Silvers H, Meng M, Mandelbaum B. (2010). Injection of platelet-rich plasma in patients with primary and secondary knee osteoarthritis: a pilot study. *Am J Phys Med Rehabil* 89:961-969.
40. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I (2008). Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. *Clin Exp Rheumatol* 26:910-913.
41. Schnabel LV, Lynch ME, van der Meulen MC, Yeager AE, Kornatowski MA, Nixon AJ. (2009). Mesenchy-

-
- mal stem cells and insulin-like growth factor-I gene-enhanced mesenchymal stem cells improve structural aspects of healing in equine flexor digitorum superficialis tendons. *J Orthop Res* 27:1392-1398.
42. Smith JJ, Ross MW, Smith RK (2006). Anabolic effects of acellular bone marrow, platelet rich plasma, and serum on equine suspensory ligament fibroblasts in vitro. *Vet Comp Orthop Traumatol* 19:43-47.
 43. Spotnitz WD, Falstrom JK, Rodeheaver GT (1997). The role of sutures and fibrin sealant in wound healing. *Surg Clin North Am* 77:1-19.
 44. Stashak TS (2004) El pie en Claudicación. En: Stashak TS, editor. Adams: Claudicación en el Caballo. 5th ed. Buenos Aires: Inter-médica pp. 910-923.
 45. Sun Y, Feng Y, Zhang CQ, Chen SB, Cheng XG. (2010). The regenerative effect of platelet-rich plasma on healing in large osteochondral defects. *In Orthop* 34:589-597.
 46. Textor JA, Willits NH, Tablin F. (2013). Synovial fluid growth factor and cytokine concentrations after intra-articular injection of a platelet-rich product in horses. *Vet J*; 198:217-223.
 47. Tözüm TF, Demirapl B. (2003). Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc* 69:664.
 48. Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. (2012). Contents and Formulations of Platelet-Rich Plasma. *Oper Tech Orthop* 22:33-42.
 49. Watts EJ, Rose M. (2010). Platelet-derived growth factor acts via both the Rho-kinase and p38 signaling enzymes to stimulate contraction in an in vitro model of equine wound healing. *Domest Anim Endocrinol* 38:253-259.
 50. Wilson DA. (2008). New and innovative approaches to wound closure. En: Stashak TS, Theoret CL, Ed. *Equine Wound Management* 2a ed. Ames: Black Well Publishing; 225-235.
 51. Witte SH, Lewis JA, Eggleston RB, Kietzmann M, Baumer W, Mueller E. (2009). Application of exogenous esterified hyaluronan to equine distal limb wounds. *J Equine Vet Sci* 29:198-205.
 52. Yücel EA, Oral O, Olgac V, Oral CK (2003). Effects of fibrin glue on wound healing in oral cavity. *J Dent* 31:569-575.
 53. Zhu Y, Yuan M, Meng HY, Wang AY, Guo QY, Wang Y, Peng J. (2013). Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage* 21:1627-1637.