



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och  
husdjursvetenskap

# Trombocytrik plasma (PRP) som behandlingsmetod av hudsår distalt på hästens ben

## – En litteraturstudie över framställning och evidens

Platelet-rich plasma (PRP) as a treatment method for  
skin wounds on the distal part of the horses leg  
- A literature study on production and evidence

Anna Qvarfort och Angelica Gullev Adlén

Examensarbete • 15 hp

Djursjukskötare Kandidatprogram

Institutionen för kliniska vetenskaper

Uppsala 2019



# Trombocytrik plasma (PRP) som behandlingsmetod av hudsår distalt på hästens ben – En litteraturstudie över framställning och evidens

Platelet-rich plasma (PRP) as a treatment method for skin wounds on the distal part of the horses leg - A literature study on production and evidence

Anna Qvarfort och Angelica Gullev Adlén

**Handledare:** Ninnie Löfqvist, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Examinator:** Lena Olsén, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E

**Kurstitel:** Examensarbete i djuromvårdnad

**Kursansvarig inst.:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Kurskod:** EX0863 (30139)

**Program/utbildning:** Djursjukskötare Kandidatprogram

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2019

**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** häst, sår, hudsår, sårläggning, distalt på hästens ben, behandlingsmetod, trombocytrik plasma, PRP, framställningsmetoder, evidens.

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper



## Sammanfattning

Hästens ben är mycket utsatta för skador, och hudsår som uppkommer distalt på hästens ben har observerats vara mycket svårläkta. Därför är intresset stort att hitta en behandling som främjar läkningen av hudsår distalt på hästens ben, både ur ett praktiskt och ett ekonomiskt perspektiv.

En potentiell behandling är trombocytrik plasma (PRP). PRP kan appliceras antingen topiskt på ett sår eller via injicering subkutant, eller genom en kombination av dessa metoder. Inom humanvården har det observerats att PRP främjar läkningen av kroniska hudsår. Då förutsättningarna för läkning av kroniska hudsår på människor kan jämföras med förutsättningarna för hudsår distalt på hästens ben, har även hästvården blivit intresserad av användningen av PRP. Dock händer det ibland att användningen av en behandlingsmetod används kliniskt i snabbare takt än vad forskningen kan förse vetenskaplig evidens av behandlingsmetoden.

Detta kandidatarbete i djuromvårdnad syftade till att göra en litteraturstudie över framställningsmetoder av ekvint PRP med fokus på att hitta en metod som är okomplicerad för djursjukskötare att utföra. Syftet var även att undersöka den evidens som finns i dagsläget för PRP som behandlingsmetod, med fokus på behandling av hudsår distalt på hästens ben.

Det framkom att det finns en okomplicerad framställningsmetod för ekvint PRP som använder sig av basal laboratorietrustning. Dock observerades det även att teorin bakom framställningen av ekvint PRP i dagsläget är bristfällig. Bland annat saknas det vetenskapligt belagda gränsvärden för innehållet i ekvint PRP.

Angående undersökningen av ekvint PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben, observerades det att det finns få studier som undersöker effektiviteten och användningen av PRP som behandling. De studier som har utförts har motsägande resultat av användningen av ekvint PRP. Studierna i sig har utförts på mycket olika sätt, vilket gör det svårt att jämföra resultaten.

Sammanfattningsvis finns det i dagsläget indikationer på att ekvint PRP kan vara en effektiv behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben. Dock behövs fler studier både om framställningsmetoder av ekvint PRP och om ekvint PRP som behandlingsmetod.

*Nyckelord:* häst, sår, hudsår, sårläkning, distalt på hästens ben, behandlingsmetod, trombocytrik plasma, PRP, framställningsmetoder, evidens.



## Abstract

The horse's legs are highly prone to injuries, and skin wounds that occur on the lower limb of the horse have been observed to be very difficult to heal. Therefore, there is great interest in finding a treatment that promotes the healing of skin wounds on the distal part of the horse's legs, from both a practical and an economic perspective.

A potential treatment is platelet rich plasma (PRP). PRP can be administered either by topical application on a wound or by subcutaneous injections, or by a combination of these techniques. It has been observed in treatments of humans that PRP promotes the healing of chronic skin wounds. Since the conditions for healing chronic skin wounds on humans are comparable to the conditions for skin wounds on the lower limb of the horse, the use of PRP has also become a topic of interest for the horse care profession. However, sometimes treatment methods are clinically implemented before scientific evidence for the efficacy of the treatment method can be provided.

This bachelor thesis in animal nursing was aimed at making a literature study on manufacturing methods of equine PRP, focusing on finding a technique that is uncomplicated for veterinary nurses to perform. The aim was also to investigate the present evidence behind the treatment methods, focusing on distal skin wounds on the horse's legs.

It was found that there is an uncomplicated production method for equine PRP using basic laboratory equipment. However, it was also observed that the theory behind the production of equine PRP is currently inadequate. Among other things, there is no scientifically covered bounds for the content of equine PRP.

Regarding the study of equine PRP as a treatment method for skin wounds on the distal part of the horse's leg, it was observed that few studies currently exist that investigate the effectiveness and use of this treatment. The few studies that have been performed have yielded contradictory results from the use of equine PRP. The studies themselves have been performed in very different ways, which makes it difficult to compare the results of the studies.

In summary, there are currently indications that equine PRP could be an effective treatment method for skin wounds on the lower limb of the horse. However, more studies are needed both on production methods of equine PRP and on equine PRP as a treatment method.

*Keywords:* horse, wound, skin wound, wound healing, distal limb of the horse, treatment, platelet rich plasma, PRP, preparation method, evidence.





# Innehållsförteckning

<b>Tabellförteckning</b>	<b>7</b>
<b>Figurförteckning</b>	<b>8</b>
<b>Fackordlista</b>	<b>9</b>
<b>1 Inledning</b>	<b>11</b>
1.1 Syfte	12
1.2 Frågeställning	13
<b>2 Teoretisk bakgrund</b>	<b>14</b>
2.1 Sårläkningsprocessen	14
2.2 Primär och sekundärläkning	15
2.3 Läkningprocessen för sår distalt på hästens ben	15
2.4 Svallkött	16
2.5 Tillväxtfaktorer och cytokiner	17
2.6 Trombocyter och PRP	17
<b>3 Material och Metod</b>	<b>20</b>
<b>4 Resultat</b>	<b>22</b>
4.1 Tillverkning av ekvint PRP	22
4.1.1 Framställningsmetoder av ekvint PRP	22
4.1.2 Aktivering av PRP	23
4.1.3 Leukocytkoncentration i PRP	24
4.2 PRP som behandlingsmetod	25
4.2.1 Sammanfattning av relevanta experimentella studier, fallrapporten, samt översiktsartiklar	25
4.2.2 Applicering och administrering av PRP	29
4.2.3 Sammanfattande tabeller av studierna samt fallrapporten	31
<b>5 Diskussion och Reflektion</b>	<b>34</b>
5.1 Utvärdering av litteratursökningen	34
5.2 Finns det en okomplicerad framställningsmetod för PRP?	35
5.3 Evidens för PRP som behandlingsmetod av hudsår distalt på hästens ben.	36
5.3.1 PRP och sårlekning	36
5.3.2 PRP och dos	38
5.3.3 Kritik av materialet	39

5.3.4	Framtida studier och etik	40
5.3.5	Djursjukskötare och PRP	42
<b>6</b>	<b>Konklusion och Avslut</b>	<b>43</b>
	<b>Referenslista</b>	<b>44</b>
	<b>Tack</b>	<b>48</b>

## Tabellförteckning

Tabell 1. En sammanfattning av studierna samt fallrapporten; utförande, administreringsmetod samt resultat av behandling med PRP	31
Tabell 2. En sammanfattning av studierna; observationer av PRP:ns effekt under sårläkning.	32

## Figurförteckning

- Figur 1.* är en schematisk bild som visar i okomplicerade drag hur anatomiska termer för läge appliceras på häst. Med "distalt på hästens ben" menas i detta kandidatarbete området från karpaleden och hasleden ned till hoven. Directional axes in a tetrapod publicerad av Pvicalho på Wikimedia Commons år 2007, under Creative Commons Share Alike 2.5 Generic license (CC BY-SA 2.5). 11
- Figur 2.* visar fördelningen av blodceller och plasma efter centrifugering av helblod. Scheme of a bloodsample after centrifugation publicerad av Knuteknudsen på Wikimedia Commons år 2008, under Creative Commons Attribution 3.0 Unported license (CC BY 3.0). 18

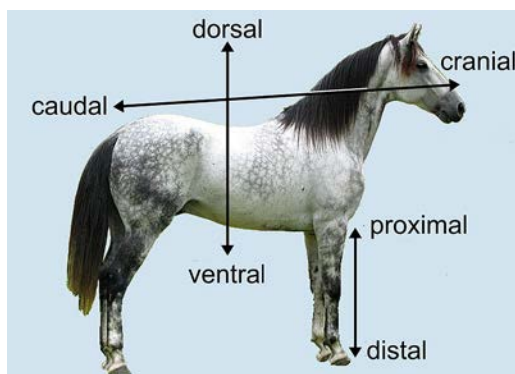
## Fackordlista

Aktiverad PRP	PRP där trombocyterna har aktiverats kemiskt för att trombocyterna ska frisätta sina förvarade tillväxtfaktorer. PRP ska aktiveras kort innan applicering för att tillväxtfaktorer inte ska förgås.
Angiogena effekter	Effekter som leder till nybildning av blodkärl från redan befintliga blodkärl
Antigen	Kroppsfrämmande ämne som orsakar en immunologisk reaktion och nybildning av antikroppar
Autolog	Från individen själv
Debridering	Avlägsnandet av skadad eller nekrotisk vävnad samt främmande objekt från ett sår eller en skada. Utförs för att främja läkning
Differentiering	Processen som gör att celler blir olika, trots samma genetiska utgångsmaterial. Till exempel fibroblaster omvandlas till myoblaster i granulationsvävnad under kontraktionsfasen.
Distalt	Längst bort från kroppens mittpunkt. I detta kandidatarbete syftar ”distalt på hästens ben” på området mellan hästens hasled och karpalled ned till hoven.
Homolog	Från en annan individ
Kommersiell framställning av PRP	Tillverkning med produkter och/eller maskiner specifikt skapade för framställning av PRP, ofta mer slutna system.
Manuell framställning av PRP	Tillverkning utan utrustning specifikt skapad för framställning av PRP, där separation av plasma och

PRP	<p>trombocyter från erythrocyterna sker med centrifugering och pipettering.</p> <p>Platelet rich plasma, eller trombocytrik plasma på svenska. En plasmaproduct bestående av plasma och trombocyter. Kan även innehålla leukocyter i olika koncentrationer.</p>
Regenerativ medicin	<p>Medicin eller terapi som främjar skapandet av vävnad för att ersätta eller återställa nativa vävnader som saknas, förlorats eller skadats</p>
Trombin	<p>Ett protein som är en del av koagulationsprocessen och som kan användas för att aktivera trombocyter i PRP</p>

# 1 Inledning

År 2016 fanns det fler hästar än mjölkkor i Sverige. Enligt Jordbruksverkets statistik var detta antal 355 500 stycken hästar (Enhäll 2017). Att äga hästar har precis som all annan djurhållning risker för komplikationer. Skador på hästen är ofta relaterade till hästens omgivning. Mest utsatt för olika trauman är hästens ben (Stashak & Theoret 2008). Om hästen blir uppskrämd är dess reaktion antingen att springa så fort och långt ifrån hotet som möjligt, eller att försvara sig med sparkar (Goodwin 2007). Potentiella risker för sår på hästens ben utgörs bland annat av stängsel, rep, tråd, taggtråd, exponerade spikar, utstickande föremål som hästen kan skrapa sig emot, sparka på, hoppa in i, trampa på eller trassla in sig i (Stashak & Theoret 2008). Statistiken visar att mer än 60% av alla sår som hästar får är placerade på benen (Stashak & Theoret 2008). Därmed är dessa sårskador vanliga att se på djursjukhus och kliniker. Dessa sår, i synnerhet de som befinner sig distalt på benen (se figur 1), är ofta svårläkta även på helt friska djur och för med sig stora risker att bilda svallkött (Carter *et al.*, 2003; Stashak & Theoret 2008).



Figur 1. är en schematisk bild som visar i okomplicerade drag hur anatomiska termer för läge appliceras på häst. Med "distalt på hästens ben" menas i detta kandidatarbete området från karpalleden och hasleden ned till hoven. [Directional axes in a tetrapod](#) publicerad av Pvicalho på Wikimedia Commons år 2007, under [Creative Commons Share Alike 2.5 Generic license \(CC BY-SA 2.5\)](#).

Trombocytrik plasma, eller PRP (Platelet Rich Plasma på engelska), har nyligen blivit uppmärksammat som en möjlig behandlingsmetod inom veterinärmedicin (McLellan & Plevin 2011). I mer än 20 år har PRP använts inom humanvården som en regenerativ behandlingsmetod för att stimulera sårsläkning av kroniska och akuta

sår hos människor (Carter *et al.* 2011). På senare tid har PRP även använts alltmer inom hästvården för att förbättra regeneration av vävnader som annars har dålig läkningsförmåga, såsom senor och skelett (Hessel *et al.* 2015). Dock expanderar fältet för regenerativa terapier i en så snabb takt att bevisbaserad medicin knappt kan tillhandahålla data för att stödja kliniska tillämpningar (Dahlgren 2018).

Djursjukskötare tilldelas ofta ansvaret att utföra sårkontroll, sårvård och behandling. Därmed har djursjukskötaren en viss möjlighet att påverka vilken behandling som används. Därför krävs inte bara god kunskap om hur sårläggning sker, både normalt och vid olika komplikationer. Det är även viktigt att veta vilka möjliga behandlingar som finns och hur dessa behandlingsmetoder verkar, samt hur och när behandlingsmetoderna ska administreras. Det är väsentligt att ha kunskap om potentiella biverkningar, samt vilka indikationer och kontraindikationer som vald behandling har. Detta för att kunna ge patienten en så högkvalitativ vård som möjligt.

Även om det är veterinären som ordinerar behandling så är det nödvändigt för djursjukskötare att vara medvetna om hur behandlingen verkar för att kunna kommunicera med veterinär om huruvida behandlingen anses vara indikerad eller inte. Djursjukskötare är en del av djurhälsopersonalen så det är essentiellt för djursjukskötare att veta hur en behandling fungerar. De bör, tillsammans med veterinären, kunna förklara och motivera för djurägare varför behandlingen har rekommenderats, med kunskap om understödjande vetenskaplig evidens. Därför är det mycket viktigt att denna information finns lättillgänglig, särskilt för de behandlingar som blivit populära under kort tid.

## 1.1 Syfte

Detta kandidatarbete i djuromvårdnad är en litteraturstudie som syftar till att öka djursjukskötarens kunskap om ekvint PRP som behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben utifrån aktuell vetenskaplig evidens. Detta sker genom att granska och analysera de studier som utförts med avsikt att undersöka hur läkningsförmågan påverkas av ekvint PRP hos sår distalt på hästens ben.

Syftet är även att undersöka och diskutera om det finns en framställningsmetod av ekvint PRP som är okomplicerad att använda för djursjukskötare. Detta innefattar en undersökning av vilka metoder som finns för att tillverka ekvint PRP som djursjukhus och kliniker lättillgängligt kan använda sig av, samt evidensen bakom dessa metoder. Slutligen syftar detta kandidatarbete till att bidra till en grund för vidare forskning.



## 1.2 Frågeställning

De två centrala frågeställningarna till detta kandidatarbete är följande.

Finns det en okomplicerad metod för att producera ekvint PRP?

Vilken information och evidens finns i dagsläget för användningen av ekvint PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben?

## 2 Teoretisk bakgrund

Detta kapitel syftar till att ge kontext till varför detta kandidatarbete undersöker PRP som en potentiell behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben.

### 2.1 Sårläkningsprocessen

Sårläggning delas upp i primärläkning och sekundärläkning. Den komplicerade process som hudsår går igenom under läkningstiden delas generellt upp i fyra koordinerade och sammanhängande faser för att enkelt kunna beskriva hur läkningsprocessen sker (Theoret & Schumacher 2016). Dessa faser kallas för inflammationsfas, granulationsfas, kontraktionsfas, och epiteliseringsfas, och alla dessa faser måste ske oavsett om läkningen sker via primär- eller sekundärläkning för att såret ska läka (Stashak & Theoret 2008).

1. I inflammationsfasen sker en inflammation där makrofager och leukocyter rensar upp skadad eller nekrotisk vävnad samt främmande ämnen och mikrober (Stashak & Theoret 2008). Detta sker för att ge kroppen de bästa förutsättningarna som är möjligt för att bygga ny vävnad utan komplikationer. Inflammationsfasen och granulationsfasen överlappar ofta (Ibid.).

2. Granulationsfasen påbörjas oftast inom 12 timmar efter att såret har uppkommit, men kan inte ske om det finns en infektion eller betydande mängd nekrotisk vävnad i såret (Stashak & Theoret 2008). Under granulationsfasen fylls sårhålan med granulationsvävnad och fibroblaster för att underlätta kontraktion av såret och migration av epitelcellerna (Knottenbelt 2003).

3. Kontraktionsfasen orsakas av att fibroblasterna i granulationsvävnaden omvandlas till myofibroblaster. Dessa kontraherar och drar ihop vävnaden och därmed sårkanterna för att underlätta migrationen av epitelceller (Wilmink & van Weeren 2005).

4. Epiteliseringsfasen är en långsam process där epitelceller migrerar över sårytan från sårkanterna för att skapa ny hudvävnad. Idealiskt kan

epiteliseringsfasen ske några timmar efter traumat. Denna vävnad är i början mycket skör tills den mognat (Knottenbelt 2003).

## 2.2 Primär och sekundärläkning

Primärläkning av hudsår sker under förutsättning att sårkanterna är färska, rena och nära varandra med minimal rörelse och spänning av huden och sårkanterna. Inflammationsstadiet är kort då området som måste debrideras ofta är mycket begränsat. En liten mängd granulationsvävnad krävs för att fylla såret och kontraktionen sker ofta utan större problem då det krävs minimal migration av epitelceller. Resultatet är minimal ärrvävnad och oftast inga komplikationer under läkningsprocessen. Primärläkning är vad som eftersträvas inom all vård eftersom detta ger snabbare läkning och ger bäst återhämtning av vävnaden med minimal kosmetisk konsekvens. (Knottenbelt 2003)

Sekundärläkning sker när sårkanterna är långt ifrån varandra, eller när suturering inte är kirurgiskt eller ekonomiskt möjligt (Stashak & Theoret 2008). Vid sekundärläkning är inflammationsfasen längre då det är ett större område som måste debrideras. När sårkanterna är långt ifrån varandra behöver granulationsvävnad fylla såret, vilket innebär sämre kontraktion, innan epiteliseringen kan slutföras. Därmed tar sekundärläkning längre tid än primärläkning, och det bildas vanligen även mer ärrvävnad vid sekundärläkning än vid primärläkning (Knottenbelt 2003).

## 2.3 Läkningsprocessen för sår distalt på hästens ben

Hudsår distalt på hästens ben möter sällan alla förutsättningar som krävs för primärläkning, då huden ligger väldigt spänt över benen och utsätts för mycket rörelse (Hanson 2008). Detta leder till att sårkanterna sällan är tillräckligt nära varandra för att primärläkning ska ske. Om huden sutureras ihop så utsätts denna för dragkrafter och rörelse som kan göra att suturerna rupturerar, antingen via att materialet för suturerna går sönder eller via att sårkanterna ger vika. Därmed sker det ofta att sårkanterna inte direkt kan läka ihop (Stashak & Theoret 2008). Hudsår på hästar ökar naturligt i storlek under första veckan under granulationsfasen, men det har dokumenterats att distala sår på hästens ben ökar dubbelt i storlek under upp till två veckor på grund av att spänningen och rörelsen av huden och underliggande strukturer på hästens ben försvårar kontraktion av såret (Stashak & Theoret 2008; Hanson 2008).

Därmed läker sår på hästens distala ben oftast genom sekundärläkning. Det har dock dokumenterats att hästar har problem med sekundärläkning vid hudsår distalt på benen. Flera studier har visat att sämre blodtillförsel i hästens ben distalt jämfört

med bålen leder till sämre förutsättningar eller till och med rubbningar för både primär- och sekundär sårhäkning (Carter *et al.* 2003; Monteiro *et al.* 2009). Sämre blodtillförsel innebär en sämre sårmiljö med lägre temperatur, låg syresättning, dålig näringstillförsel samt dålig tillförsel av celler och tillväxtfaktorer som krävs för bra sårhäkning (Carter *et al.* 2003).

Standardhanteringen av hudsår distalt på hästens ben innefattar debridering, rengöring och applicering av bandage som kontinuerligt måste förnyas för att skydda hudsåret under flera veckor och ibland även månader (López & Carmona 2014). Ofta krävs även en kombination av läkemedel för att få en framgångsrik sårhäkning (Carter *et al.* 2003). Vanligen används antibiotika då en vanlig komplikation är att de öppna såren blir infekterade. De öppna hudsåren kontamineras ofta av att hästar sällan hålls i de renaste miljöerna (Stashak & Theoret 2008; Theoret & Schumacher 2016). Dessutom är det svårt att hålla såren skyddade då bandage och förband sitter väldigt dåligt på hästens ben på grund av hur dessa utsätts för frekvent rörelse (Hanson 2008). För hård eller ojämn applicering av bandage kan dessutom leda till trycksår (Theoret & Schumacher 2016).

I vissa fall är återhämtningstiden avgörande för ägarna, i synnerhet med avseende på ekonomi då kostnaden för behandling blir högre ju längre behandlingen pågår. Detta medför ofta påtryckningar på personal på djursjukhus och kliniker att ge extra sårvård för sår distalt på hästens ben för att förbättra sårhäkning, minska risken för bildningen av svallkött och minska ärrbildning (López & Carmona 2014). Därför pågår mycket forskning kring olika behandlingar för sår distalt på hästens ben då det är ett viktigt ämne ur ett kliniskt, vetenskapligt och ekonomiskt perspektiv (DeRossi *et al.* 2009).

## 2.4 Svallkött

Definitionen av svallkött är när granulationsvävnad är signifikant förhöjd ovanför sårkanterna och leder till fördröjd läkning (Bertone 1989). Specifika orsaker till svallkött är inte helt kända, men en ineffektiv inflammationsrespons tros vara en del av orsaken. Hästens initialt ineffektiva samt svaga inflammatoriska respons vid sår distalt på benen tros ligga till grund för kronisk inflammation. Ett svagt inflammations svar leder till att såret inte rensas tillräckligt av makrofager från främmande föremål och mikrober, samt nekrotisk vävnad vilket resulterar i att dessa fortsätter reta inflammationsresponsen, vilket gör att inflammationsfasen sällan avslutas utan åtgärder. En utdragen inflammation ökar spridning av fibroblaster som i sin tur ökar volymen av granulationsvävnaden istället för att kontrahera såret, vilket leder till att såret inte läker (Stashak & Theoret 2008).

Det ineffektiva inflammationssvaret tros bero på att det inte finns tillräckligt med inflammationsmediatorer, bland annat nödvändiga tillväxtfaktorer (Dart *et al.* 2005).

## 2.5 Tillväxtfaktorer och cytokiner

Tillväxtfaktorer och cytokiner är signalämnen som utsöndras av makrofager och trombocyter, och reglerar celldelning och därmed tillväxt av ny vävnad (Stashak & Theoret 2008; Carter *et al.* 2003; Random house INC. 2019). Åtskilliga studier har visat vikten av tillväxtfaktorer och cytokiner vid sårhäkning, då dessa stimulerar och organiserar alla faser av sårhäkningen (Steed 1997).

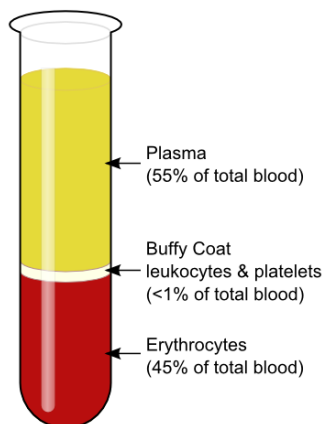
På grund av den tidigare nämnda dåliga blodcirkulationen i den distala delen av hästens ben så uppstår ofta rubbningar av tillväxtfaktorer och cytokiner vid dessa områden som inte förekommer vid sårhäkning på hästens bål (Carter *et al.* 2003; Monteiro *et al.* 2009). Det finns data som antyder en korrelation mellan rubbningar av tillväxtfaktorer samt cytokiner och problem med läkningsprocessen, som exempelvis bildningen av svallkött, vid sårhäkning distalt på hästens ben (Dart *et al.* 2005).

## 2.6 Trombocyter och PRP

Trombocyten har stor betydelse för sårhäkningsprocessen. Den är väsentlig vid kroppens första reaktion när en skada som förstör hud och/eller annan vävnad sker då den är ansvarig för koagulation vid blödningar (Leise 2018). Dessutom bidrar trombocyten under de första sju dagarna av läkningsprocessen med att utsöndra den komplexa gruppen tillväxtfaktorer och cytokiner som är väsentlig för naturlig sårhäkning, samt proteiner som har antiinflammatoriska, anabola och angiogena effekter (Carter *et al.* 2003; Marx 2004; López & Carmona 2014). För att skapa produkter som innehåller tillväxtfaktorer och cytokiner är därför trombocyten en lättillgänglig och rik källa (Carter *et al.* 2003).

Preparatet PRP är en plasmaproduct som består av blodplasma med en hög koncentration av trombocyter. PRP framställs genom att antikoagulantia först tillsätts direkt vid uppsamling av helblod (Marx 2004). PRP:n kan vara autolog eller homolog (Pereira *et al.* 2019). Nästa moment i tillverkningen av PRP är att separera erythrocyter och oftast även leukocyter från helblodet genom antingen manuella metoder eller genom kommersiella metoder. Manuella metoder använder oftast en enkel laboratorisk centrifug och blodprovsvör (Fontenot *et al.* 2012). Vid centrifugering lägger sig erythrocyterna i botten av blodprovsvör. Över

erythrocyterna bildas ett lager av leukocyter och trombocyter som skiljer erythrocyterna ifrån blodplasman (Dhurat & Sukesh 2014). Se figur 2.



Figur 2. visar fördelningen av blodceller och plasma efter centrifugering av helblod. [Scheme of a bloodsample after centrifugation](#) publicerad av Knuteknudsen på Wikimedia Commons år 2008, under [Creative Commons Attribution 3.0 Unported license \(CC BY 3.0\)](#).

Trombocytkoncentrationen beror på centrifugeringskraften (Dhurat & Sukesh 2014). Medan antalet trombocyter kan variera så är målet att koncentrationen av trombocyter ska vara högre än i helblod då antalet trombocyter i koagulationen vid såret påverkar graden av sårhäkning (Marx 2004). Med hjälp av pipett kan trombocyterna och

plasman manuellt avlägsnas ifrån erythrocyterna och kombineras (Dhurat & Sukesh 2014). Vid en ytterligare centrifugering kan leukocyter avlägsnas (Ibid.). PRP kan även som tidigare nämnts framställas genom att använda kommersiella metoder, som använder sig av bland annat instrument speciellt tillverkade för att producera PRP (Fontenot *et al.* 2012). Efter att trombocyterna koncentrerats i plasman tillsätts antingen trombin, kalciumklorid eller kalciumglukonat, eller en kombination av två av dessa ämnen för att aktivera trombocyterna innan applicering (Carter *et al.* 2003). Aktiveringen av trombocyterna leder till att de degranulerar vilket frisätter trombocytens förvarade tillväxtfaktorer och cytokiner (Ibid.). Det finns ännu ingen standardisering för aktiveringen av trombocyterna i PRP (Textor & Tablin 2012). Processen som aktiverar trombocyterna omvandlar även den trombocytrika plasman till en gel (Landesberg *et al.* 2000). Resultatet blir ett substrat med hög koncentration av olika tillväxtfaktorer och cytokiner (Carter *et al.* 2003).

Antalet leukocyter i preparatet kan variera. Koncentrationen av leukocyter beror på metoden som används vid separationen av blodceller och plasma. Dessutom finns ännu ingen konsensus om huruvida leukocyter bör finnas med i PRP eller inte (Fontenot *et al.* 2012).

Teorin bakom användningen av PRP är att behandlingsmetoden drar nytta av de naturliga synergistiska och kumulativa effekterna som sker när tillväxtfaktorer och cytokiner tillsätts till ett sår (Dart *et al.* 2005).

PRP har använts i humanvården sedan 1970-talet och har blivit mer populärt att använda sedan 1990-talet (Amable *et al.* 2013). Det har gjorts flera studier som undersöker läkningsförmågan med PRP på människor (López & Carmona 2014). Det finns flera publikationer om användning av PRP vid ett flertal kirurgiska

ingrepp (Lacci & Dardik 2010). Dessutom har applikationen av tillväxtfaktorer erhållna från trombocyter visat sig främja läkning vid kroniska hudsår på människor (Dart *et al.* 2005). Det har observerats att kroniska icke läkande hudsår hos människor saknar de nödvändiga tillväxtfaktorerna för att kunna läka (Suryanarayan *et al.* 2014).

Då kroniska hudsår på människor är jämförbara med hudsår distalt på hästens ben med avseende på avsaknad av nödvändiga tillväxtfaktorer så representerar användningen av PRP en potentiell enkel och ekonomisk metod att behandla hudsår distalt på hästens ben (Carter *et al.* 2003; López & Carmona 2014).

### 3 Material och Metod

Detta kandidatarbete baseras på en litteraturstudie. Vid insamlandet av information användes väletablerade sökmotorer för vetenskaplig forskning för att hitta relevanta vetenskapligt granskade artiklar och studier. Noggrant utvalda böcker användes också.

Sökmotorer som användes var främst Google Scholar, Scopus, Web of Science samt Sveriges Lantbruksuniversitetets egen sökmotor vid namn Primo, med sökorden "wound", "wound healing", "horse", "limb", "plasma", "platelet-rich plasma" och "PRP" ensamma eller i olika kombinationer. Fokus låg på material som ansågs relevant för undersökningen och diskussionen av evidensen för ekvint PRP som potentiell behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben. Detta resulterade i mycket begränsat antal material. Åtskilliga artiklar hittades genom att följa citeringar och referenser på studier och artiklar till originalmaterialet. Under litteratursökningen för evidensen av ekvint PRP hittades med samma sökord även material som ansågs vara relevanta för detta kandidatarbetes andra frågeställning, det vill säga om det finns en okomplicerad framställningsmetod av ekvint PRP. Åtskilliga studier och artiklar om bland annat framställningsmetoder hittades även genom att följa citeringar och referenser i studier och artiklar till originalmaterialet.

Böcker valdes utifrån att något av följande kriterier uppfylldes:

- Innehöll information om sårhäkning
- Innehöll information om sårhäkning på häst
- Innehöll information om tillverkning av plasma och/eller PRP
- Innehöll information om användning av plasma och/eller PRP

Böcker hittades genom manuell sökning i Biblioteket hos Sveriges Lantbruksuniversitet i Uppsala. Böcker som användes uppfyllde bara någon av de två första kriterierna då information om plasma och/eller PRP inte kunde hittas i vad som fanns tillgängligt.



En bok valdes bort för att den ansågs vara utdaterad. Sökresultat från sökmotorerna som valdes bort handlade antingen om fel djurslag, fokuserade på ämnen som var irrelevanta för detta kandidatarbetes frågeställningar såsom exempelvis användningen av ekvint PRP för läkning av skelett/senor/muskler hos häst, var på annat språk än engelska eller svenska, eller saknade tillgänglig fulltext. Åtskilliga studier om PRP som behandlingsmetod för sårläkning på häst valdes bort för att dessa inte utfördes distalt på hästens ben.

Endast åtta studier och artiklar hittades som ansågs vara relevanta för detta kandidatarbete då dessa undersökte och diskuterade användningen av PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben. Studierna och artiklarna är uppdelade i fyra experimentella studier, en fallrapport, samt tre översiktsartiklar. Alla dessa var publicerade på engelska. I resultatet introduceras och sammanfattas kort de fyra experimentella studierna samt fallrapporten vilka undersöker PRP som behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben. För dessa har fokus i detta kandidatarbete lagts på resultatet av användningen av PRP, hur PRP:n tillverkades och aktiverades. Hur PRP:n administrerades i de olika studierna och fallrapporten har också uppmärksammats och sammanfattats kort under sin egen underrubrik. Här har fokus lagts på administreringsmetoden, mängd och status av PRP som gavs vid varje behandlingstillfälle, frekvens och totalt antal behandlingstillfällen, samt om PRP:n analyserades innan användning. Studierna och fallrapporten sammanfattas även översiktligt i Tabell 1.

Varje översiktsartikel som ansågs relevant har undersökt olika behandlingsmetoder med fokus på behandlingens antiseptiska egenskaper, regenerativa funktioner, respektive användningen av eller påverkan/manipulationen av mängden tillväxtfaktorer i såret. Åtskilliga behandlingsmetoder presenteras kort och förklaras, varav PRP har sitt eget stycke i varje artikel. Översiktsartiklarna refererade till åtskilliga studier som författarna av detta kandidatarbete granskade i syfte för att finna mer material. De studier som ansågs vara relevanta hade redan hittats genom litteratursökningen. I resultatet har fokus vid varje översiktsartikel lagts på att presentera information som inte har tagits upp eller diskuterats i de experimentella studierna, fallrapporten eller de andra översiktsartiklarna. Informationen från översiktsartiklarna användes främst i kapitlet 5.3 av detta kandidatarbete för att analysera studierna samt fallrapporten. Dessutom ger översiktsartiklarna en inblick om hur PRP har generellt uppfattats som potentiell behandling, vilket även analyseras i kapitlet 5.3.

## 4 Resultat

### 4.1 Tillverkning av ekvint PRP

#### 4.1.1 Framställningsmetoder av ekvint PRP

Vid framställning av PRP kan autologt blod användas från individen som ska behandlas, Marx (2004) anser att homolog PRP inte är likvärdigt eller användbart, då homolog PRP kan ge immunologiskt negativa effekter eftersom cellerna är antigena och har ett överflöd av cellmembran. Homologt PRP kan därmed enligt Marx (2004) ge falskt negativa resultat som PRP-behandling om trombocyterna inte kan frigöra sina bioaktiva tillväxtfaktorer (Ibid). I en senare studie som Pereira et al (2019) genomförde framkom tvärtom att homologt ekvint blod från en donator inte gav några negativa reaktioner för patienten som behandlades. En statistiskt signifikant minskning av läkningstid kunde också ses (Ibid).

Framställning av PRP varierar och det finns ingen standard för PRP i varken metod, trombocyt- eller leukocyt-koncentration inom humanvården eller veterinärmedicin för häst. Dessa metoder varierar mellan enkel och dubbel centrifugering av vanliga blodprovsrör i en standard laboratorisk centrifug, samt kommersiella set för PRP framställning som kräver speciell utrustning och maskiner (Fontenot et al. 2012; Hessel et al. 2015). Dessa kommersiella metoderna är mer slutna, vilket kan minska risk för bakteriell kontamination (Ibid). Det finns även en specifik metod skapad för häst som använder sig av gravitation där helblodet passerar genom det slutna systemet genom ett cellfilter för att separera trombocyterna, denna metod kräver inte en centrifug och kan därmed fylla en funktion vid behandling i fält (Hessel et al. 2015).

I en studie av Fontenot et al (2012) undersöktes olika manuella framställningsmetoder för att utvärdera koncentrationsnivåer av trombocyter och

leukocyter, samt bakteriologisk säkerhet vid manuell framställning av PRP från hästblod. Den påvisade att en kommersiell metod inte var signifikant bättre än en manuell rörmetod med konformad botten och med en vanlig blodrörs-centrifug. Den kommersiella metoden gav fler acceptabla resultat i andel leukocyter i 96,1% av proverna med ett gränsvärde av  $< 30\ 000\ \mu\text{L}$ . Manuell framställning i studien hade inte heller någon statistiskt signifikant risk för bakteriell kontamination, dock bestod studien enbart av metoder med en omgång centrifugering och separation istället för två, för att minimera den bakteriella kontaminationsrisken. Andelen leukocyter ansågs vara oacceptabelt högt i två av tre centrifugerade rörmetoder, och den kommersiella metoden gav fler prover inom acceptabla värden. (Ibid)

En liknande studie utförd av Hessel et al (2014) jämförde däremot enbart en manuell metod med fyra kommersiella, där författarna anser att blod från häst kräver lägre centrifugeringshastighet för att separera hematocyterna, något som minskar risk för hemolys (Heireman et al. 2017). Hessel et al (2014) observerade även att hematologiska och biokemiska egenskaper varierade markant beroende på vilken av de olika system och tekniker som användes för att producera PRP för hästar. Dessa skillnader kan påverka kliniska resultat och ytterligare studier behövs för att utvärdera deras inflytande på kvaliteten på läkningsförmågan. Trots detta så har PRP blivit en vanlig behandlingsmetod inom ortopedisk sjukvård för häst i form av injektion eller applicering muskulärt, synovialt, i ligament och senor. (Ibid) Hessel et al (2014) menar att djursjukvården inte bör förlita sig på tillverkarens uppgifter för mänskliga patienter när kliniken skall välja den lämpligaste metoden för hästar.

I studien av Fontenot et al (2012) observerades en 155% till 258% ökning av trombocyter jämfört med helblod. Inom humanmedicinen varierar den rekommenderade trombocyt-koncentrationen mellan 300% till 500% högre i PRP jämfört med helblod. Men då hästar har bland den lägsta trombocyt mängden hos däggdjur, med medelantal av  $142\ 000/\mu\text{L}$  jämfört med människans  $200\ 000\ /\mu\text{L}$ , så kan denna rekommendation vara felaktig för djurslaget. Hos människor har även studier påvisat att högt antal trombocyter i plasmaprodukter inte är bättre än måttliga, utan kan ha skadliga effekter. Idag finns dock inga vetenskapligt grundade artspecifika rekommenderade värden för behandling av häst. (Ibid)

#### 4.1.2 Aktivering av PRP

Effekten av PRP beror på att alfa-granulater, vilken är en komponent i trombocyter, innehåller tillväxtfaktorer som sekreras genom cellväggen vid koagulation eller vid aktivering av trombocyterna (Marx, 2004). Inom 10 minuter frigörs 70% av trombocytens lagrade tillväxtfaktorer och 90% inom en timme (Suryanarayan et al 2014). Efter sekretionen binder tillväxtfaktorerna direkt till cellmembranen i såret via transmembrana receptorer. Felaktigt framställt PRP kan

därmed ge missvisande resultat om antikoagulantia inte används, om trombocyterna skadas, aktiveras för lång tid innan applikationen eller inte aktiveras optimalt. (Marx. 2004) Därför bör PRP aktiveras precis före användning, snarare än i förväg, för att undvika onödig förlust av tillväxtfaktorer. I en studie av Textor och Tablin (2012) jämfördes de vanligaste aktiveringsmetoderna av PRP, så som bovint trombin, autologt trombin, kalciumklorid samt frysning och upptining. Baserat på resultatet av studien rekommenderade författarna inte autologt trombin för aktivering av PRP, då det gav signifikant sämre aktivering än andra metoder. Bäst resultat uppmättes med kalciumklorid som även ansågs vara en lättproducerad och kliniskt användbar metod. Motsägelsefullt anser Dahlgren (2019) i sin översiktsartikel att kalciumglukonat är bäst för att aktivera trombocyterna då denna inte bildar utfällningar av salter i PRP:n vilket ibland förekommer vid användning av kalciumklorid. Dahlgren (2019) håller ändå med Textor och Tablin (2012) att kalciumklorid fortfarande är bättre än trombin.

Eftersom framställning av PRP är okomplicerat i utförande och inte regleras med läkemedelslagar, så har PRP används utan tillräcklig vetenskaplig forskning kring variabler vid framställning och aktivering som kan påverka resultatet. Det krävs vidare grundläggande forskning för att optimera PRP som medicinsk behandlingsprodukt (Textor & Tablin 2012).

#### 4.1.3 Leukocytkoncentration i PRP

Leukocytmängden i PRP gör att PRP kan klassas in i olika kategorier, leukocytrik PRP (L-PRP) och leukocytfattig PRP (P-PRP) (Källa). Låg leukocyt mängd är dock kontroversiellt då det inte finns kliniska studier som jämför leukocytrik och leukocytfattig PRP menade Fontenot et al (2012). Leukocyter har positiv inverkan på kataboliska cytokiner och den antimikrobiella effekten av PRP, samt stimulerar frisättningen av tillväxtfaktorer (Ibid). Utan tillgång till laboratorisk automatiserad cell-separator är det svårt att framställa leukocytfattig PRP, eftersom leukocyter och trombocyter delvis finns i samma sektion efter centrifugering, vilket resulterar i att många icke-automatiserade metoder innehåller olika koncentrationer av leukocyter (Dohan Ehrenfest *et al.* 2009)

## 4.2 PRP som behandlingsmetod

### 4.2.1 Sammanfattning av relevanta experimentella studier, fallrapporten, samt översiktsartiklar

Bara ett fåtal experimentella studier har hittills genomförts för att undersöka om teorin bakom PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben fungerar i praktiken, och resultaten av dessa studier är tvetydiga. Dessa experimentella studier har gemensamt att hudsår skapades kirurgiskt och sterilt distalt på benen på de hästar som användes. Dessa hästar agerade även som sina egna kontroller genom att åtminstone ett av hudsåren som placerades på hästen antingen bara fick basal sårvård eller ingen vård alls.

I den experimentella studie som Carter et al. (2003) utförde användes en häst som behandlades topikalt med PRP genom att applicera PRP:n på en gasbindsdyna som sedan placerades över hudsåren med bandage. Hudsåren gavs även basal sårvård och behandling av PRP vid varje bandagebyte, vilket i början skedde var fjärde dag och efter dag 28 var åttonde dag. Carter et al. (2003) framställde PRP:n via en kommersiell metod där en blodcellsseparator användes för att skilja trombocytorna och plasman från erytrocyterna. Trombocytorna aktiverades med trombin. För att undvika bildningen av svallkött så bandagerades såren efter dag 28 av studien med material som tillät luftning av såren.

Histologiska prover togs från hudsåren dag 7, 36 och 79 efter att såren skapats. Carter et al. (2003) observerade och bedömde läkningsprocessen genom dessa prover. I första och andra histologiska proverna observerades låg till måttlig inflammation hos såren som behandlades med PRP jämfört med kontrollsåren. Trots detta observerade Carter et al. (2003) även att hudsåren som behandlades med PRP läkte snabbare jämfört med kontrollsåren som antingen behandlades med saltlösning eller inte fick någon behandling alls, och Carter et al. (2003) drog slutsatsen att PRP accelererar och främjar läkningsprocessen hos hudsår distalt på hästens ben.

Pereira et al. (2019) kom fram till en liknande slutsats i sin studie där åtta hästars hudsår blev tilldelade en utav fyra olika behandlingar, i kombination med basal sårvård. Dessa fyra behandlingar var: subkutana injektioner av autolog PRP runt sårkanterna, subkutana injektioner av homolog PRP runt sårkanterna, topikal applicering av autolog PRP på hudsåret, samt subkutana injektioner av saltlösning runt sårkanterna som kontroll. Bandage byttes varje dag. Resultatet av de tre behandlingarna med PRP jämfördes med varandra, med lätt fokus på homolog PRP då ett av studiens syften var att undersöka om homolog PRP kunde användas utan komplikationer. Pereira et al. (2019) framställde PRP:n via en manuell centrifugeringsmetod där konformerade blodprovsvör centrifugerades två gånger under produktionen.

Histologiska prover togs från hudsåren dag 15 och 30 efter att behandling påbörjats. Pereira et al. (2019) observerade och bedömde läkningsprocessen genom dessa prover, samt från observationer ifrån tre veterinärer. Veterinärerna bedömde läkningsprocessen genom att observera hudsåren var 15:e dag. Kontrollsår observerades ha högst frekvens vid bildandet av svallkött, följt av sår som behandlats topikalt med autolog PRP, följt av sår som behandlats med homolog eller autolog PRP via injektioner. Sår som behandlats topikalt med autolog PRP observerades även ha högre frekvens av en mild inflammationsreaktion i det andra histologiska provet jämfört med andra behandlingsgrupper och kontrollsåren.

Skillnad i läkningstid observerades vara statistiskt signifikant till fördel för de hudsår som behandlades med PRP jämfört med kontrollsåren. Störst statistisk signifikans i skillnad av läkningstid observerades hos hudsåren som behandlats topikalt med autolog PRP i både kliniska och histopatologiska utvärderingar. Då homolog PRP inte observerades visa en negativ reaktion vid behandlingen av hudsår föreslår Pereira et al. (2019) att homolog PRP ska rekommenderas till hästar vars cirkulation kan vara påverkad eller komprometterad.

Till skillnad från resultatet av Carter et al. (2003) och Pereira et al. (2019) visar resultaten från två andra experimentella studier utförda av Monteiro et al. (2009) och Moradi et al. (2013) att PRP inte var gynnsamt för läkningen av distala hudsår på häst.

Monteiro et al. (2009) kallar sin studie för en förstudie. Monteiro et al. (2009) använde en manuell centrifugeringsmetod med blodprovsvör kommersiellt designade för framställning av PRP vid produktionen av den autologa PRP:n som användes vid behandlingen. PRP:n aktiverades med kalciumklorid och humant trombin och applicerades topikalt på hudsåren hos sex hästar. Basal sårvård gavs också.

Histologiska prover togs från sår A en vecka efter att behandling påbörjats, och från sår B och C efter att dessa var helt läkta. Sår B och C bedömdes subjektivt under sår-läkningsprocessen i samband med bandagebyte, vilket skedde minst en gång i veckan. Monteiro et al. (2009) bedömde sår-läkningsprocessen genom att jämföra sårets area, och jämförde procent av minskning av sårytan mellan kontrollsår och behandlade sår. Monteiro et al. (2009) kunde påvisa att prevalensen av svallkött var högre hos såren som behandlats med PRP, samt att läkningen var statistiskt signifikant sämre än kontrollsåren, framförallt de tre första veckorna efter att såren skapats. Medelvärde av läkningstiden för PRP-behandlade sår var 72 dagar, medan medelvärdet för kontrollsår var 62 dagar. Monteiro et al. (2009) avslutar med att PRP istället kan vara indicerat vid sår med större vävnadsförlust, samt kroniska sår som kan dra nytta av en extern källa av tillväxtfaktorer för att accelerera läkningen.

Moradi et al. (2013) utförde studien med autolog PRP framställd manuellt på samma sätt som Monteiro et al. (2009) och använde denna på hudsåren hos fyra hästar. Dock jämfördes PRP:n inte bara med kontrollsår utan även med två ytterligare behandlingar. PRP:n aktiverades med kalciumklorid samt bovint trombin.

Histologiska prover togs dag 10, 20 och 30, i samband med bandagebyte. Sår-läkningsprocessen observerades genom dessa prover, genom kliniska bedömningar som skedde vid bandagebyte, samt genom mätning av sårytan. Resultatet visade även här att svallkött uppkom vid topikal behandling med PRP, samt att ingen skillnad i sår-läkningstiden noterades. Sår som behandlats med PRP observerades ha statistisk signifikant bättre epitelisering än andra behandlingsgrupper och kontrollsår. Däremot hade sår som behandlats med PRP statistiskt signifikant sämre kontraktion än kontrollsår, samt att PRP-behandlade sår bildade signifikant mer exsudat än kontrollsår. Moradi et al. (2013) observerade även att inflammationen hos sår behandlade med PRP var allvarligare jämfört med kontrollsår. Slutsatsen som Moradi et al. (2013) kommer fram till är att användningen av PRP för att påskynda läkning av hudsår distalt på hästens ben inte bör rekommenderas, då tillväxtfaktorerna bedömdes skapa svallkött, inflammation och exsudat, vilket ansågs förlänga läkningsprocessen.

Under litteratursökningen hittades även en fallrapport skriven av López och Carmona (2014) där ett åtta månader gammalt föl med en två månader gammal kronisk och förorenad skada distalt på bakbenet behandlades med autolog PRP i kombination med kirurgi och basal sårvård. PRP:n tillverkades med en manuell metod och aktiverades med kalciumglukonat och injicerades subkutant i sårkanterna. Efter detta lades såret om med fuktig kompress samt Robert Jones-bandage. Sista administreringen av PRP skedde topikalt. López och Carmona (2014) observerade inga komplikationer efter operation eller efter PRP behandlingarna. Svullnaden från skadan minskade successivt och såret var helt läkt en månad efter operation.

Denna fallrapport skrevs på grund utav den oväntade snabba läkning som López och Carmona (2014) observerades i detta fall. Vanligtvis hade läkningen förväntats ta längre tid, kosta mer och fölet hade möjligen behövt hudtransplantation. López och Carmona (2014) nämner och refererar de två tidigare nämnda experimentella studierna av Monteiro et al. (2009) och Moradi et al. (2013). Studien av Monteiro et al (2009) konkluderade att PRP kunde vara indicerat vid stor vävnadsförlust på benen och vid kroniska sår, vilket fallrapporten av López och Carmona (2014) bekräftar.

Tre översiktsartiklar som redogör om PRP som behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben hittades också. I översiktsartikeln skriven av Dart et al. (2005) hävdas det att produkter som innehåller trombocyter har ett klart övertag över

produkter som endast innehåller individuella cytokiner, eftersom produkter som innehåller trombocyter har både cytokiner och andra tillväxtfaktorer lättillgängliga och i höga koncentrationer. Dart et al. (2005) refererar studien utförd av Carter et al. (2003) och dess resultat som indikerade att PRP accelererade sårhäkning hos sår distalt på hästens ben. Dart et al. (2005) menar att studien av Carter et al. (2003) talar för att PRP kan vara en effektiv metod att ersätta väsentliga tillväxtfaktorer i sår distalt på hästens ben, där en obalans av dessa tillväxtfaktorer kan förekomma.

I översiktsartikeln skriven av Leise (2018) lägger författaren vikt på hur PRP kan innehålla varierande mängd leukocyter, vilket enligt författaren kan begränsa dess användning som behandlingsmetod. Vid hög koncentration av leukocyter så tros PRP:n vara proinflammatorisk, vilket kan inducera ett nytt inflammationssvar eller stärka ett redan befintligt inflammationssvar. Detta kan vara önskvärt eller inte beroende på vilken fas sårhäkningen befinner sig i. Det indikerar att användningen av PRP med hög koncentration av leukocyter kan ha fördelaktiga effekter vid behandling av sår som utvecklar svallkött då utvecklingen av svallkött i sår distalt på hästens ben tros bero på ett försämrat inflammationssvar. Även Leise (2018) refererar till studien utförd av Carter et al. (2003). Utifrån detta kommer Leise (2018) fram till slutsatsen att PRP bör användas för att manipulera inflammation och sårmiljö, vilket kan leda till förbättrad och snabbare läkning hos hudår distalt på hästens ben.

I översiktsartikeln skriven av Dahlgren (2018) anser författaren att det kan vara fördelaktigt för sårhäkningen att ha leukocyter i PRP. Detta för att leukocyterna kan underlätta debridering av såren, producera och bidra med ytterligare en fysiologisk blandning av tillväxtfaktorer och cytokiner som är essentiella vid sårhäkning, samt bidra med viktiga antibakteriella egenskaper. Dahlgren (2018) påpekar att studier för PRP-behandling på häst är mycket få och begränsade, samt att de ofta bara är fallrapporter eller små fallserier. Inga stora, kontrollerade kliniska studier har gjorts än. Dahlgren (2018) diskuterar kort den experimentella studien utförd av Carter et al. (2003) och kommenterar att denna studie endast innehöll en enda häst. Därför anser Dahlgren (2018) att resultatet som Carter et al (2003) påvisar måste beaktas med försiktighet vid tillämpning till hästpopulationen som helhet.

Dahlgren (2018) menar att sammantaget misslyckas studierna av Carter et al. (2003) och Monteiro et al. (2009) att visa en fördelaktig effekt av att använda PRP för all sårhäkning hos häst, trots att det finns en logisk teoretisk grund för användningen av PRP. Dahlgren (2018) konkluderar att frekvens och tidpunkt för applicering av och föredragen beredningsmetod för PRP i stor utsträckning är okänd när det gäller häst. Potentialen för bildning av svallkött bör övervägas baserat på beskaffenheten hos det individuella såret samt individen som skall behandlas.



#### 4.2.2 Applicering och administrering av PRP

PRP kan appliceras topikalt på såret, injiceras i såret eller injiceras subkutant runt om i sårkanterna. De experimentella studierna samt fallrapporten som användes i denna litteraturstudie använder sig antingen av en av dessa administreringsmetoder eller av en kombination. Den vanligaste administreringsmetoden är topikalt eller injektioner subkutant runt om i sårkanterna. Följande stycken fokuserar på hur PRP administrerades i de fyra experimentella studierna samt i fallrapporten.

Carter et al. (2003) administrerade PRP genom att applicera 3 mL på en gasbindsdynga som sedan placerades över hudsåren med bandage. Första behandlingen med PRP skedde två dagar efter att såren skapats. Såren skapades i en vertikal kolumn med 3 sår lateralt och 2 sår medialt hos varje framben, samt 2 sår på varje bakben. Såren tilldelades behandling slumpmässigt. PRP administrerades tillsammans med bandagebyte var fjärde dag tills efter dag 28 då PRP administrerades var åttonde dag. Det framkom inte när PRP:n aktiverades och om PRP:n var färsk. Det är oklart om studien och därmed behandlingen, pågick tills hudsåren var helt läkta då sista histologiska provet togs dag 79 efter att såren hade placerats, och det framkom inte om hudsåren då var helt läkta eller inte. Antal appliceringar av PRP angavs inte, och det är omöjligt att uträkna då det inte anges om studien avslutades efter dag 79, bara att sista histologiska provet togs dag 79. Carter et al (2003) använder ingen blindning på personerna som observerade de histologiska proven.

PRP:n som användes i behandlingen av hästen i studien var inte autolog, utan framställdes utav blod från hästar i grannskapet. PRP:n som analyserades med fokus på mängden tillväxtfaktorer tillverkades av blod från hästar lokalt i närheten samt från en hästhjord i Pennsylvania, som alla var blodgivare, och inte från hästen i experimentet. För tillväxtfaktorerna användes analysmetoder ämnade för människor, efter tillverkarens anvisningar. Monteiro et al. (2009) administrerade 1,5 mL autolog PRP topikalt. Första behandlingen av PRP skedde åtta dagar efter att såren skapats. Tre sår skapades på varje framben där ett framben blev behandlat och det andra agerade som kontroll. Såren delades in i A, B och C. Sår A behandlades en gång med PRP tillsammans med sår B och C, som behandlades ytterligare en vecka senare. PRP:n aktiverades direkt innan den administrerades till sårytan. PRP:n analyserades två gånger under studiens gång med fokus på antalet trombocyter i PRP:n jämfört med helblod samt koncentrationen av tillväxtfaktorn TGF- $\beta$ 1 i PRP jämfört med i serum. Det angavs inte vilka analysmetoder som användes. De två personer som undersökte de histologiska proverna var blindade.

Moradi et al. (2013) administrerade 2 mL aktiverad autolog PRP topikalt till varje sår som tilldelades denna behandling. PRP:n administrerades endas en gång under studiens gång, och detta skedde en dag efter att såren skapats. Det framkom

inte om PRP:n aktiverades kort innan administrering. Det angavs inte om PRP:n analyserades innan applikationen samt vilka analysmetoder som användes. Personen som undersökte de histologiska proven var blindad. Det är oklart om studien pågick tills såren var helt läkta då sista histologiska provet togs dag 30 efter att såren hade placerats, och det framgår inte om såren då var färdigläkta.

I fallrapporten från López och Carmona (2014) injicerades aktiverad autolog PRP subkutant med en halv centimeters mellanrum i sårkanterna, och sista administreringen applicerades PRP topikalt på såret. PRP:n var alltid färsk och aktiverades kort innan administrering. Första behandling med PRP skedde åtta dagar efter operationen som avlägsnade svallkött samt en exponerad nekrotisk benbit. Efter detta administrerades PRP tre gånger varannan vecka. När aktiverad PRP injicerades var volymen 5–7 mL för varje sår och skedde runt sårkanterna. Det angavs inte hur mycket PRP som gavs topikalt. Innehållet i PRP:n som användes analyserades och genomsnittet av trombocyter, leukocyter, samt två olika tillväxtfaktorer fastställdes. För tillväxtfaktorerna användes analysmetoder ämnade för människor, efter tillverkarens anvisningar. Det finns inkonsekvenser i rapporten angående behandlingens längd, och därmed hur många gånger PRP administrerades. I fallrapporten observerade López och Carmona (2014) att såret som behandlades hade förminskats avsevärt fyra veckor efter operation och var nästan färdigläkt sex veckor efter operationen, och avslutar med att såret var fullständigt läkt fyra veckor efter operation. Om såret var nästan färdigläkt sex veckor efter operation skulle sammanlagda antal appliceringar av PRP vara sju.

Pereira et al. (2019) administrerade antingen autolog PRP subkutant runt sårkanterna via injektioner, autolog PRP topikalt, eller homolog PRP subkutant runt sårkanterna via injektioner. Mängden som administrerades var 10 mL av vald behandling för varje sår. Hudsåren fick sin tilldelade behandling tre gånger, med 15 dagars mellanrum. Första dos av PRP administrerades direkt efter att hudsåren skapats. PRP och helblod analyserades med fokus på antalet trombocyter per dL. Det angavs inte vad Pereira et al (2019) använde för att aktivera den autologa och homologa PRP:n, eller om dessa ens aktiverades innan applicering. De tre veterinärer som observerade såren var blindade för behandlingarna. Det är oklart om studien pågick tills såren var helt läkta då sista histologiska provet togs dag 30 efter att såren hade placerats, och sista behandlingen gavs dag 45 efter operation.

#### 4.2.3 Sammanfattande tabeller av studierna samt fallrapporten

Tabell 1. En sammanfattning av studierna samt fallrapporten; utförande, administreringsmetod samt resultat av behandling med PRP

Källa	Typ av studie	Antal individer och sår	administrering	behandlingstillfällen	Resultat av behandling
Carter et al. (2003)	Experimentell, pågick under minst 81 dagar, precis tid angavs inte	1 individ, 14 kirurgiska sår varav 5 behandlades med PRP	3 mL homolog PRP topikalt, inleddes 2 dagar efter operation	Var 4:e dag till dag 28, efter dag 28 var 8:e dag, oklar sammanlagt antal administreringar	Positivt, accelererad läkning jämfört med kontrollsår
Monteiro et al. (2009)	Experimentell, pågick under minst 99 dagar, precis tid angavs inte	6 hästar, 36 kirurgiska sår varav 18 behandlades med PRP	1,5 mL autolog PRP topikalt, inleddes 8 dagar efter operation	1-2 gånger beroende på om såren var A eller B och C, med 1 veckas mellanrum	Negativ, förlängd läkning jämfört med kontrollsår
Moradi et al. (2013)	Experimentell, pågick under minst 31 dagar, precis tid angavs inte	4 hästar, 48 kirurgiska sår varav 12 behandlades med PRP	2 mL autolog PRP topikalt, Inleddes 1 dag efter operation	1 gång	svårt att tyda, tolkas av författarna av detta kandidatarbete att det inte var någon större skillnad mellan sår behandlade med PRP och kontrollsår
Lópes och Carmona (2014)	Fallrapport, pågick under 36-50 dagar, precis tid angavs inte	1 häst (föl), 1 kronisk sår som behandlades med PRP	Oklar mängd autolog PRP topikalt + 5-7 mL autolog PRP subkutant, Inleddes 8 dagar efter operation	3 gånger varannan vecka, oklar sammanlagt antal administreringar	Positiv, läkning av kroniskt sår

Källa	Typ av studie	Antal individer och sår	administrering	behandlingstillfällena	Resultat av behandling
Pereira et al. (2019)	Experimentell, pågick under minst 45 dagar, precis tid angavs inte	8 hästar, 32 kirurgiska sår varav 24 behandlades med 1 av 3 PRP-behandlingar (8 sår/behandling)	10 mL autolog PRP subkutant ELLER 10 mL homolog PRP subkutant ELLER 10 mL autolog PRP topikalt,	3 gånger med 15 dagars mellanrum	Positiv, accelererad läkning jämfört med kontrollsår

Tabell 2. En sammanfattning av studierna; observationer av PRP:ns effekt under sårsläkning.

Sårsläkning	Observerat av Carter et al. (2003)	Observerat av Monteiro et al. (2009)	Observerat av Moradi et al. (2013)	Observerat av Pereira et al. (2019)
Inflammationsfas - en inflammation sker, makrofager och leukocyter rensar såret	Kraftigare inflammation dag 7 och 36 hos sår behandlade med homolog PRP topikalt jämfört med kontrollsår.	Ingen kraftig inflammation observerad hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollsår, tros bero på otillräcklig dos autolog PRP topikalt.	Kraftigare inflammation dag 10, 20 och 30 hos sår behandlade med autolog PRP topikalt jämfört med kontrollsår	Kraftigare inflammation dag 30 hos sår behandlade med autolog PRP topikalt, ingen större inflammation sedd för subkutana injektioner.
Granulationsfas - Granulationsfas – sårhålan fylls med granulationsvävnad, kan överlappa med inflammationsfasen	Oklart om mer eller mindre tillväxt av granulationsvävnad skedde hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollsår. Däremot fanns fler differentierade celler i behandlade sår jämfört med kontrollsår.	Sår behandlade med PRP hade större frekvens av att bilda svallkött jämfört med kontrollsår	Mer tillväxt av granulationsvävnad hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollsår. Behandlade sår hade större frekvens av att bilda svallkött jämfört med kontrollsår	Ingen skillnad i tillväxt av granulationsvävnad mellan behandlingsgrupperna och kontrollsår dag 15 och 30. Autolog PRP topikalt hade större frekvens av att bilda svallkött jämfört med subkutana injektioner, men mindre än kontrollsår.

Sårläkning	Observerat av Carter et al. (2003)	Observerat av Monteiro et al. (2009)	Observerat av Moradi et al. (2013)	Observerat av Pereira et al. (2019)
Kontraktionsfas - fibroblaster i granulationsvävna den omvandlas till myoblaster som kontraherar sårkanterna	Ingen information angiven	Sämre kontraktion vecka 1-3 hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår. Efter vecka 3 ingen större skillnad mellan behandlade sår och kontrollår	Sämre kontraktion hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår	Ingen information angiven
Epiteliseringsfas - epitelceller vandrar från sårkanter till sårets mittpunkt och skapar ny hudvävnad	Bättre epitelisering hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår	Ingen information angiven	Bättre epitelisering hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår	Ingen information angiven
Läkningstid	Förkortad läkningstid hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår	Förlängd läkningstid hos sår behandlade med PRP jämfört med kontrollår	Otydligt, men tolkas av författarna till detta kandidatarbete att ingen större skillnad av sårläkningstid mellan sår behandlade med PRP och kontrollår	Förkortad läkningstid hos sår behandlade med PRP jämfört med de flesta kontrollår, autolog PRP topikalt hade större frekvens av förkortning av läkningstid

## 5 Diskussion och Reflektion

I resultatet från denna litteraturstudie framkommer det att det finns flera olika framställningsmetoder för PRP, och innehållet av hematologiska och biokemiska egenskaper hos PRP:n påverkas av vilken metod som används. Det framkommer även att då framställningen av PRP kan vara okomplicerad beroende på metod, så används PRP på kliniker utan grundlig vetenskaplig evidens av sagda metoder. Det framkom även att de experimentella studierna och fallrapporten utfördes annorlunda, samt att resultatet av användningen av PRP varierade. Se tabell 1.

I detta kapitel diskuteras först styrkor och svagheter hos metoden för insamlandet av material. Efter detta diskuteras de två centrala frågeställningarna för detta kandidatarbete. Först diskuteras om det finns en okomplicerad framställningsmetod för ekvint PRP, och slutligen diskuteras den vetenskapliga evidensen som hittades under litteratursökningen av PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben.

### 5.1 Utvärdering av litteratursökningen

En styrka som framkom under litteratursökningen var att valda sökord var precisa och ledde till det urval av studier och artiklar som behövdes för att svara på detta kandidatarbetes frågeställningar. Sökorden gav inte bara ett urval för undersökningen av PRP som behandlingsmetod för hästar, utan även material om framställningen och teorin bakom PRP.

Sökmotorerna som valdes och användes var tillförlitliga och ledde till vetenskapligt granskat material. Urvalet av studierna och artiklarna skedde allt eftersom frågeställningen och syftet till kandidatarbetet utvecklades under arbetets gång.

Urvalet av studierna och artiklarna som hittades för att undersöka PRP som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben var mycket begränsat. Många

av författarna till litteraturen refererar till varandra, troligtvis för att det finns så få studier och undersökningar utförda. Detta belyser vikten av att mer information och studier om ämnet behövs. Trots detta anser författarna av detta kandidatarbete att de frågor som ställts kunde besvaras, åtminstone övergripande. Om mer litteratur funnits så hade störst fokus i urvalet av material legat på experimentella studier för mer tillförlitligt resultat och vetenskaplig relevans.

## 5.2 Finns det en okomplicerad framställningsmetod för PRP?

Manuella centrifugeringsmetoder för framställning av PRP är med en standard centrifug och blodrör, då dessa metoder oftast är mest praktiska och ekonomiska för kliniker med tillgång till basal laboratorieutrustning. Om dessa metoder utförs på ett hygieniskt sätt är risken för kontamination av PRP liten, även om de inte är strikt aseptiska. (Fontenot *et al.* 2012) När Fontenot et al (2012) undersökte några av dessa metoder framkom det att dessa metoder hade väldigt spridda resultat i trombocyt och leukocyt-mängd, där centrifugeringstid, rörform och centrifugeringkraft gav signifikanta skillnader. Då antalet trombocyter påverkar mängden tillväxtfaktorer och cytokiner i PRPn, och antalet leukocyter kan påverka inflammationsrespons så bör mängden av dessa i PRPn kontrolleras beroende på hur PRPn ska användas. Fontenot et al (2014) ansåg att leukocytvärdet var oacceptabelt högt för de manuella centrifugering metoderna. När Fontenot et al (2012) utförde sin studie för att jämföra olika framställningsmetoder så använde författarna sig av terapeutiska värden för antal trombocyter och leukocyter som utgick från referensintervall utan vetenskaplig grund. Om Fontenot et al (2012) är korrekt och mängden leukocyter har effekt som kan vara positiva respektive negativa vid olika tillstånd och behandlingar bör mängden utvärderas för specifika användningsområden där olika värden har potentiellt gynnande effekt, men utan vetenskapligt bekräftade intervall går det inte att dra slutsatser om varken metod eller utförande. (Ibid) Frågan är då om resultatet som Fontenot et al (2014) kommer fram till kan appliceras till hästar. Hittills är de terapeutiska värden för trombocyter och leukocyter ännu inte helt fastställda för djurslaget häst (Fontenot *et al.*, 2012).

Innan framställningsmetoder fullt kan utvärderas eller rekommenderas borde därmed vidare studier utföras för att undersöka vilka dessa gränsvärden är. Dessutom bör leukocyternas effekt vid applikation i olika stadium av läkningsprocessen undersökas vidare för att utvärdera om dessa bör finnas med i innehållet av PRP, då ingen studie om detta kunde hittas under litteratursökningen. Exakta gränsvärden för leukocytfattig och leukocytrik plasma kunde inte hittas. Om det inte finns standardiserade värden är därmed risken att både leukocytrik och

leukocytfattig PRP enbart går under benämningen PRP, trots att dessa teoretiskt kan ha signifikant olika egenskaper beroende på användningsområde och önskad effekt.

Det var även oklart i studien av Fontenot et al (2012) om en centrifugeringsmetod gav konsekventa resultat angående innehållet av trombocyter och leukocyter vid framställningen av PRP. Det vore både opraktiskt och dyrt om varje PRP-dos måste analyseras innan användning. Tills studier har utförts där det undersöks om en centrifugeringsmetod som använder sig av basal laboratorieutrustning kan få en konsekvent mängd trombocyter och leukocyter inom terapeutiska värden så bör manuella centrifugeringsmetoder för produktion av PRP användas med försiktighet.

Sammanfattningsvis så finns det praktiska och även ekonomiska framställningsmetoder av PRP i form av manuella centrifugeringsmetoder som använder sig av basal laboratorieutrustning, men det saknas studier för att dessa ska kunna användas utifrån vetenskaplig evidens.

### 5.3 Evidens för PRP som behandlingsmetod av hudsår distalt på hästens ben.

I resultatet av denna litteraturstudie framkom det att forskningen ännu inte är helt överens om PRP som behandlingsmetod. Med bara fyra experimentella studier samt en fallrapport att använda som evidens, där två studier samt fallrapporten fått goda resultat vid användningen av PRP medan två studier har fått sämre resultat, så går det inte att ge ett enkelt svar på om PRP är lämplig som behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben.

#### 5.3.1 PRP och sårhäkning

För att rekapitulera från rubrik 2.1; sårhäkningsprocessen så går ett hudsår igenom fyra faser för att såret ska läka. Dessa är inflammationsfasen, granulationsfasen, kontraktionsfasen samt epiteliseringsfasen.

Vanligtvis har hästen ett dåligt inflammationssvar distalt på benen, vilket ofta leder till kronisk inflammation och ökar tendensen hos såret att bilda svallkött. En kraftig inflammation gör att makrofager och leukocyter rensar såret mer ordentligt, vilket gör att inflammationen kan avslutas då den inte retas av kvarblivna främmande föremål eller mikrober. En kraftigare inflammation kan därmed vara önskvärd på hästens ben i det akuta skedet. Vid inflammationsfasen har Carter et al. (2003), Moradi et al. (2013), samt Pereira et al. (2019) observerat att PRP som appliceras topikalt leder till en kraftigare inflammationsrespons som är ihållande i åtminstone 30-36 dagar. Se tabell 2. Pereira et al. (2019) observerade ingen kraftig



inflammation hos de sår som fick subkutana injektioner av autolog eller homolog PRP. Monteiro et al. (2009) var ensam om att inte observera en kraftigare inflammation i sår behandlade med PRP topikalt, och diskuterade att detta kunde bero på att tillväxtfaktorerna i PRP:n som användes var i en otillräcklig dos för att ge en mer kraftig inflammationsrespons. Något som ytterligare kan ha påverkat en frånvaro av kraftig inflammation hos Monteiro et al. (2009) är att Monteiro et al. (2009) påbörjade behandlingen av PRP en vecka efter att de kirurgiska sårerna skapats för att simulera ett ”naturligt” sår som kommer in till klinik för behandling. PRP:n tillfördes alltså inte i det akuta skedet hos Monteiro et al. (2009) jämfört med de andra studierna som påbörjade behandling högst en dag efter att hudsårerna skapades. Se tabell 1. I inflammationsfasen kan även leukocytrik PRP vara önskvärd, då dessa enligt Leise (2018) kunde göra PRP:n proinflammatorisk. Samtidigt kan leukocyter bidra med en antibakteriell effekt enligt Dahlgren (2018), vilket kan vara fördelaktigt om såret redan har en inflammation på grund av infektion. Tyvärr analyserade ingen av studierna PRP:n med avsikt att klargöra leukocytkoncentrationen. Det är därmed oklart hur stor betydelse leukocytkoncentrationen hade för studiernas resultat.

Vid granulationsfasen observerades det av Monteiro et al. (2009), Moradi et al. (2013), samt Pereira et al. (2019) att de sår som behandlades med PRP topikalt hade större tendens att bilda svallkött. Pereira et al. (2019) noterade att sår som behandlats med subkutana injektioner av PRP hade lägre tendens att bilda svallkött. Monteiro et al. (2009) resonerar att tendensen att bilda svallkött vid topikal administrering av PRP kan bero på att en för lång exponering av tillväxtfaktorer topikalt på hudsår kan leda till upplagring av kollagen, vilket kan leda till svallkött. Vid granulationsfasen kan därför förmodligen subkutana injektioner av PRP vara fördelaktigt, då bildningen av svallkött försämrar sårets möjlighet att kontrahera. I granulationsfasen är det inte önskvärt med en inflammationsrespons då denna gör att fibroblasterna utökas utan att omvandlas till myoblaster, vilket ofta leder till bildning av svallkött och oförmåga att kontrahera sårkanterna. I granulationsfasen borde i teorin leukocytfattig PRP vara mer lämplig, då denna är mindre proinflammatorisk.

Endast Monteiro et al. (2009) samt Moradi et al. (2013) uppmärksammade kontraktionen hos sårerna som observerades. Båda studier noterade att sår som behandlats med PRP hade sämre kontraktion jämfört med kontrollsår, troligtvis beroende på svallköttbildningen.

Däremot gav topikal applicering av PRP en snabbare epiteliseringsfas, enligt observationerna från Carter et al. (2003), Moradi et al. (2013) samt Pereira et al. (2019). Se tabell 2. Frågan är om en bättre epitelisering kan uppväga risken för bildningen av svallkött. Det kan argumenteras att ju snabbare epiteliseringen sker desto mindre såröppning som riskerar att bilda svallkött.

PRP som ges topikalt efterliknar förmodligen mer naturligt fördelningen av tillväxtfaktorer som trombocyter ger vid en sårskada. Då trombocyterna finns i koagulerat blod täcks hela såret av dem och därmed får såret en jämn fördelning av tillväxtfaktorer. Vid basal sårvård torkas detta lager av koagulerat blod ofta bort för att undvika bakterietillväxt under bandageringen. Detta kan vara anledningen till att topikal applicering av PRP ger förkortat läkningstid jämfört med subkutana injektioner, då de subkutana injektionerna inte har samma ”naturliga” fördelning av tillväxtfaktorerna som finns i PRP:n jämfört med topikal administrering av PRP. Detta kan även vara en möjlig anledning till att Monteiro et al. (2009) och Moradi et al. (2013) fick sämre resultat av PRP i form av fördröjd läkningstid, då de administrerade PRP:n vid färre behandlingstillfällen samt i mindre volym jämfört med Carter et al. (2003), López och Carmona (2014) samt Pereira et al. (2019). Se tabell 1. En större dos skulle teoretiskt sett leda till både fler leukocyter, om PRP:n inte görs leukocytfattig med flit, samt fler tillväxtfaktorer. Därmed verkar en inflammationsrespons vara beroende på dosen av PRP som administreras.

Det kan även reflekteras över ifall det var aktiveringsämnet för PRP:n som orsakade sämre sårsläkning hos Monteiro et al. (2009) och Moradi et al. (2013) då dessa använde humant, respektive bovin, trombin för att aktivera trombocyterna i PRP:n. Både Textor och Tablin (2012) och Dahlgren (2019) menar att kalciumklorid respektive kalciumglukonat är bäst att använda för aktiveringen av trombocyterna då dessa ämnen ger bättre frisättning av tillväxtfaktorer, samt ger biologisk säkerhet. Dock använde sig Carter et al. (2003) också av trombin och fick ett positivt resultat. Intressant nog är det inte angivet vilket sorts trombin som Carter et al. (2003) använde för aktiveringen av PRP:n. Det är även intressant att det inte anges vilket ämne som Pereira et al. (2019) använde för att aktivera PRP:n.

### 5.3.2 PRP och dos

Frågan är vad det då var som gjorde att studierna från Carter et al. (2003), Pereira et al. (2019), samt fallrapporten från López och Carmona (2014), fick ett positivt resultat, d.v.s. accelererad läkning, vid användningen av PRP. Det enda dessa studier hade gemensamt var att de administrerade PRP mer än två gånger, samt i större volym jämfört med Monteiro et al. (2009) och Moradi et al. (2013). Det är möjligt att dosen av PRP som tillsätts påverkar hur effektiv PRP:n är. Dock för att kunna fastställa den dos av PRP som är mest effektiv krävs det att framställning samt gränsvärden för innehållet i PRP standardiseras, vilket ännu inte har skett. Tills detta inträffat kan framtida studier använda informationen om framställning, dos, behandlingsmetoder samt resultat från föregående studier, och strukturera studiens utförande baserat på detta. Det är därför nödvändigt att studier anger volym av PRP per sår och applikation. Om en dos i en studie diskuteras vara för liten för att vara

effektiv så kan nästa studie undersöka effekten av en större dos. Dessutom krävs denna information för att kunna återskapa och därmed validera resultatet hos en studie. Det är mycket möjligt att Pereira et al. (2019) gjorde på detta sätt, då Pereira et al. (2019) hade möjlighet att undersöka studierna från Carter et al. (2003), Monteiro et al. (2009), Moradi et al. (2013), samt fallrapporten av López och Carmona (2014), och bygga på informationen som de tidigare studierna gav.

### 5.3.3 Kritik av materialet

För att få bästa möjliga empiriska resultat bör experimentella studier vara: kliniska, kontrollerade, randomiserade, dubbelblind, samt använda sig av en stor grupp individer för att tillförlitligt kunna applicera eventuella resultat på en större population.

Med detta i åtanke bör resultaten som Carter et al. (2003) samt López och Carmona (2014) kommer fram till angående användningen av PRP som behandlingsmetod ifrågasättas, då studien samt fallrapporten endast har en individ som behandlades. I fallrapporten från López och Carmona (2014) var såret hos fölet som behandlades två månader gammalt och förorenat jämfört med de sterilt kirurgiskt gjorda såren som de experimentella studierna behandlade. Det är svårt att återskapa resultatet när ett specifikt fall används, särskilt när fall sällan använder sig av strikt kontroll av möjliga variabler på samma sätt som experimentella studier ofta gör. Det finns även oklarheter i hur behandlingen med PRP utfördes i fallrapporten. Se tabell 1. Dessutom var individen i fallrapporten mycket yngre än individerna som användes i de experimentella studierna, och detta kan ha haft en påverkan på läkningsförmågan. Frågan är om resultatet av användningen av PRP från fallrapporten bör användas som vetenskaplig grund för behandlingen då detta inte var en klinisk studie. Frågan är även om det går att återskapa resultatet från Carter et al. (2003). Som Dahlgren (2018) påpekade bör resultatet av studien från Carter et al (2003) användas med försiktighet då en individ orimligt kan representera en hel population. Det blir även svårt att återskapa studien och få samma resultat, eftersom det inte går att visa om den accelererade läkningen som Carter et al. (2003) observerade vid användningen av PRP beror på själva behandlingen av PRP eller på att hästen som användes hade en oväntat bra läkningsförmåga, eller en annan variabel som inte framkom. Dessutom har Carter et al. (2003) inte tillkännagett att studien använde sig av blindning, till skillnad från Monteiro et al. (2009) samt Moradi et al. (2013) som hade blindning hos de som undersökte de histologiska proven. Pereira et al. (2019) hade blindning hos de tre veterinärer som undersökte såren under studiens gång.

Trots detta så har studien av Carter et al. (2003) använts som ett positivt exempel för användning av PRP av Leise (2018). Både studien av Monteiro et al. (2009) samt

Moradi et al. (2013) publicerades innan översiktsartikeln gavs ut, utan att nämnas. Detta kan ses som en form av selektionsbias, i och med att bara ett positivt resultat för användningen av PRP presenteras och de mer negativa resultaten ignoreras. Det är intressant att Leise (2018) och Dahlgren (2018) gav ut översiktsartiklar samma år, men ändå har olika åsikter angående PRP. Leise (2018) är positivt inställd till PRP och refererar Carter et al. (2003), medan Dahlgren (2018) refererar både Carter et al. (2003) samt Monteiro et al. (2009) och är mer kritisk till användningen av PRP.

#### 5.3.4 Framtida studier och etik

Medan Monteiro et al. (2009), Moradi et al. (2013) samt Pereira et al. (2019) kunde påvisa statistisk signifikans för åtskilliga värden vid användning av autolog PRP topikalt så motsäger dessa varandra. Pereira et al. (2019) såg signifikant förkortning av läkningstid för sår som behandlades topikalt med autolog PRP, medan Moradi et al. (2013) noterade att autolog PRP topikalt inte främjade sårsläkningen och Monteiro et al. (2009) observerade en förlängning av läkningstid hos sår som behandlades topikalt med autolog PRP. Om en förlängd läkningstid beror på dosen av PRP som Monteiro et al. (2009) förmodade, så kan Pereira et al. (2019) ha påvisat att en större dos av autolog PRP topikalt är mer effektiv.

Studien av Pereira et al. (2019) har ett stort antal individer, blindning hos de tre veterinärer som gjorde en subjektiv bedömning av hudsåren medan dessa läkte, samt ett resultat som indikerar att autolog PRP som ges topikalt, samt autolog eller homolog PRP som ges subkutant, kan vara en effektiv behandling. Om resultatet av Carter et al. (2003) samt López och Carmona (2014) ifrågasätts för att studien respektive fallrapporten endast behandlade en individ, så är Pereira et al. (2019) den enda studie som tillförlitligt indikerar att PRP kan vara en effektiv behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben. Dock räcker inte resultatet från endast en studie för att validera effektiviteten hos en potentiell behandling. För att PRP ska kunna ses som en medicinsk behandlingsprodukt krävs fler studier där effektiviteten och evidensen hos PRP som sårsläkningsprodukt fastställs.

Likafullt som fler studier i ämnet behövs måste först de etiska problemen, d.v.s. om det är rätt och rimligt med att utsätta fler friska individer för skada och smärta i syfte för att undersöka en behandling vars effektivitet är osäkert, vägas upp mot de fördelar som kan framkomma om PRP visar sig vara en effektiv behandlingsmetod som kan förkorta lidandet hos framtida individer. En etisk nämnd måste därför godkänna planeringen av framtida studier innan dessa får utföras.

Istället för att utforma en studie så som Carter et al. (2003), Monteiro et al. (2009), Moradi et al. (2013) samt Pereira et al. (2019), där friska individer utsätts för skada, så skulle en möjlighet kunna vara att göra studier på kliniker och i fältet

där hästar som redan har en akut eller kronisk skada behandlas med PRP för att undersöka effektiviteten av PRP. Detta alternativ är etiskt korrekt i och med att individer inte måste skadas för studiens ändamål, och samtidigt etiskt problematiskt för både hästar och djurägare med tanke på att det ännu inte är fastlagt om PRP accelererar eller fördröjer läkning. Detta kan leda till lidande för hästarna och ekonomiska påfrestningar för djurägarna om det visar sig att behandling med PRP leder till fler komplikationer än förmåner. Ett annat problem med detta alternativ är att det blir svårt att kontrollera variabler såsom i en klinisk experimentell studie.

En annan möjlighet kunde vara att använda hästar som ska avlivas på grund av dålig prestation, kanske för bland annat oläkande hälta, i studier. Fortfarande finns etiska problem då sårsläkningen på benen tar längre tid än sårsläkning på bålen vilket kan leda till extra utdraget lidande om hästen redan har en oläkande skada eller ett annat problem som sänker prestation. Även här blir det svårare att kontrollera variabler, då det finns många orsaker som sänker prestationen hos en häst i den mån att det är bättre för djurägaren att avliva hästen. Individerna i studien skulle alltså inte vara helt friska, vilket kan påverka läkningsförmågan och därmed resultatet av studien.

Innan fler studier utförs på hästar bör först studier som undersöker och standardiserar framställning och innehåll av PRP utföras. Efter detta kan studier som undersöker hur mängden av PRP som administreras vid varje behandlingstillfälle kan påverka läkningsförmågan hos hudsår vara av intresse, då detta kan vara en faktor till om PRP främjar sårsläkning eller inte. Då PRP innehåller aktiva substanser i form av tillväxtfaktorer och även leukocyter så bör dosen av PRP, samt koncentrationen av tillväxtfaktorer och leukocyter, ha betydelse för behandlingens effektivitet.

För att studierna skall få så bra styrka för orsakssamband som möjligt, bör studien vara experimentell med double blind om möjligt, innehålla tillräckligt många individer för att få ett statistiskt signifikant resultat, samt ha striktare kontroll av variabler. Detta för att kunna ge ett enhetligt, validerat och reliabelt svar på om PRP kan användas som behandling för hudsår distalt på hästens ben med god effekt.

Samtidigt bör de tre R:en för djurförsök (ersätta, minska, förfina; från engelskans Replace, Reduce, Refine) hållas i åtanke vid utformningen av dessa studier (Jönsson 2019). Ersätta står för att om möjligt ska djurfria försöksmetoder ersätta djurförsök. För framtida studier som undersöker om PRP är en effektiv behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben, är det osannolikt att hästar kan ersättas med något annat, med tanke på att sårsläkningen distalt på hästens ben är så problematisk och speciell jämfört med andra djur. Minska står för metoder som minskar antalet djur i försöket. Framtida studier bör därför endast använda det antal individer som behövs för att kunna påvisa statistisk signifikans för eventuella resultat. Förfina står för metoder som gör försöken så skonsamma som möjligt för försöksdjuren. Detta

innebär att individerna i framtida studier bör få bra smärtlindring när kirurgiskt gjorda sår skapas och att personalen i studien noggrant kontrollerar och åtgärdar om individerna känner smärta.

Oavsett hur framtida studier utformas så kommer det vara en etisk balansgång mellan att orsaka skada och lidande på kort sikt, och att hitta en möjlig behandling som i framtiden kan främja både hästar, djurägare samt djursjukhus och kliniker.

### 5.3.5 Djursjukskötare och PRP

Då det finns så få studier som undersöker effektiviteten hos PRP som behandlingsmetod för sår distalt på hästens ben så har PRP i dagsläget låg vetenskaplig evidensgrad. På grund av detta går det ännu inte att fastlägga eller att föreslå eventuella rutiner för djursjukskötare om behandling med PRP ska ske.

Om PRP hade bättre evidens så hade det varit logiskt att gå vidare till och utveckla på vilken roll djursjukskötaren skulle ha i utförandet av denna behandling. Djursjukskötaren skulle troligtvis vara personen som tog helblodet från patienten på ett hygieniskt sätt, antagligen via en redan sittande PVK i halsvenen. Djursjukskötaren skulle kunna framställa PRP:n själv via en manuell centrifugeringsmetod, där endast basal laboratorieutrustning behövs, med liten risk för kontamination om hygienen iakttogs. Alternativt, om djursjukhuset hade fler resurser, kunde kommersiella metoder nyttjas. Då kunde även analysering av PRP:n ske. Detta skulle däremot kosta mer än den manuella centrifugeringsmetoden, i utbyte mot mer tillförlitligt innehåll av PRP:n. Efter att PRP:n aktiverats skulle djursjukskötaren kunna applicera den antingen topikalt eller subkutant via injektioner, återigen med fokus på hygien. PRP:n skulle då appliceras vid bandagebyten och endast efter att såret fått basal sårvård.

Tills evidensen har blivit bättre genom validerade och tillförlitliga kontrollerade kliniska tester, bör PRP ses som alternativ medicin där effektiviteten av PRP som behandlingsmetod inte är garanterad. Därför bör PRP inte rekommenderas som behandling av djursjukskötare. Detta på grund av djursjukskötarens skyldighet att följa lagen för verksamhet inom djurens hälso- och sjukvård, 2 kap. 1 §, som fastslår att djursjukskötare ska arbeta i överensstämmelse med vetenskap och beprövad erfarenhet (SFS 2018:1193). Trots detta används PRP enligt Hessel et al. (2014) i nuläget på djursjukhus och kliniker. Det är dock otydligt vilka kliniker i vilka länder som Hessel et al. (2014) syftar på. Därför är det oklart om PRP används i svenska kliniker i dagsläget. Det hade varit intressant att få reda på svenska djursjukskötares generella kunskaper av PRP som behandlingsmetod, om PRP används i svenska djursjukhus och hästkliniker, samt vad PRP:n då används till. Författarna av detta kandidatarbete uppmuntrar framtida djursjukskötarstudenter till att utforska och undersöka användningen av PRP som behandlingsmetod vidare i framtiden.

## 6 Konklusion och Avslut

Sammanfattningsvis är teorin bakom PRP som sårhelingsprodukt lovande för hudsår distalt på hästens ben och det finns indikationer till att behandlingen kan fungera. Dock finns ännu inte någon klar enighet från de studier och artiklar som har utforskat effektiviteten av PRP hos hudsår distalt på hästens ben. Fler studier som undersöker effektiviteten av PRP som behandlingsmetod krävs.

Det finns okomplicerade framställningsmetoder för ekvint PRP som djursjukskötare enkelt kan använda sig av. Dock behövs vidare forskning om bland annat vetenskapligt påvisade gränsvärden för optimalt innehåll i PRP för häst, innan metod och framställning fullständigt kan utvärderas och rekommenderas. Tills det utförts fler kliniska studier som ger tydlig evidens att PRP är en effektiv behandlingsmetod, bör PRP ses som alternativ medicin. På grund av detta bör därför PRP inte rekommenderas av djursjukskötare som behandlingsmetod för hudsår distalt på hästens ben på djursjukhus och kliniker. Detta kandidatarbete i djuromvårdnad syftar till att ses som inspiration för vidare studier i ämnet.

## Referenslista

- Amable, P., Carias, R.B., Teixeira, M.V., da Cruz Pacheco, Í., Corrêa do Amaral, R.J., Granjeiro, J. & Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 4 (3), s. 67. DOI: <https://doi.org/10.1186/scrt218>.
- Bertone, A.L. (1989). Management of Exuberant Granulation Tissue. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 5 (3), ss. 551–562. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30574-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30574-6).
- Carter, C.A., Jolly, D.G., Worden, C.E., Hendren, D.G. & Kane, C.J.M. (2003). Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, vol. 74 (3), ss. 244–255. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-4800\(03\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0014-4800(03)00017-0).
- Carter, M.J., Fylling, C.P. & Parnell, L.K.S. (2011). Use of Platelet Rich Plasma Gel on Wound Healing: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Eplasty*, vol. 11. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174862/>. [2019-04-22].
- Dahlgren, L.A. (2018). Regenerative Medicine Therapies for Equine Wound Management. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 34 (3), ss. 605–620. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.009>.
- Dart, A.J., Dowling, B.A. & Smith, C.L. (2005). Topical treatments in equine wound management. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 21 (1), ss. 77–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.003>.
- DeRossi, R., Coelho, A.C.A. de O., Mello, G.S. de, Frazílio, F.O., Leal, C.R.B., Facco, G.G. & Brum, K.B. (2009). Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cirurgica Brasileira*, vol. 24 (4), ss. 276–281. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502009000400006>.
- Dhurat, R. & Sukesh, M. (2014). Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, vol. 7 (4), ss. 189–197. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>.



- Enhäll, J. (2017). Hästar och anläggningar med häst, 2016. Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/Amnesomraden/Statistik,%20fakta/Husdjur/JO24/JO24SM1701/JO24SM1701.pdf>. [2019-04-01].
- Fontenot, R.L., Sink, C.A., Werre, S.R., Weinstein, N.M. & Dahlgren, L.A. (2012). Simple tube centrifugation for processing platelet-rich plasma in the horse. *The Canadian Veterinary Journal*, vol. 53 (12), ss. 1266–1272. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3500116/>. [2019-02-12].
- Goodwin, D. (2007). Horse Behaviour: Evolution, Domestication and Feralisation. I: Waran, N. (red) *The Welfare of Horses*. Dordrecht: Springer, ss. 1–18. Tillgänglig: [https://doi.org/10.1007/978-0-306-48215-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-0-306-48215-1_1). [2019-04-18].
- Hanson, R.R. (2008). Complications of Equine Wound Management and Dermatologic Surgery. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 24 (3), ss. 663–696. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.10.005>.
- Heireman, L., Van Geel, P., Musger, L., Heylen, E., Uyttenbroeck, W. & Mahieu, B. (2017). Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clinical Biochemistry*, vol. 50 (18), ss. 1317–1322. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.09.013>.
- Hessel, L.N., Bosch, G., Weeren, P.R. van & Ionita, J.-C. (2015). Equine autologous platelet concentrates: A comparative study between different available systems. *Equine Veterinary Journal*, vol. 47 (3), ss. 319–325. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.12288>.
- Jönsson, J.-I. (2018). *3R – Replace, Reduce, Refine | Djurförsök. Djurförsök.info*. Tillgänglig: <https://www.djurforsok.info/alternativa-metoder/3r-replace-reduce-refine/> [2019-06-11]
- Knottenbelt, D., (2003). *Handbook of equine wound management*. London: Elsevier Science Limited.
- Lacci, K.M. & Dardik, A. (2010). Platelet-Rich Plasma: Support for Its Use in Wound Healing. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, vol. 83 (1), ss. 1–9. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844688/>. [2019-04-07].
- Leise, B.S. (2018). Topical Wound Medications. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 34 (3), ss. 485–498. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.006>.
- López, C. & Carmona, J.U. (2014). Platelet-Rich Plasma as an Adjunctive Therapy for the Management of a Severe Chronic Distal Limb Wound in a Foal. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 34 (9), ss. 1128–1133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2014.06.007>.
- Marx, R.E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, vol. 62 (4), ss. 489–496. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2003.12.003>.
- McLellan, J. & Plevin, S. (2011). Does it matter which platelet-rich plasma we use? *Equine Veterinary Education*, vol. 23 (2), ss. 101–104. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00185.x>.
- Monteiro, S.O., Lepage, O.M. & Theoret, C.L. (2009). Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in

- horses. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 70 (2), ss. 277–282. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.2.277>.
- Moradi, O., Ghamsari, S.M., Dehghan, M.M., Sedaghat, R. & Akbarein, H. (2009). Effects of Platelet Rich Plasma (PRP) and Platelet Rich Growth Factor (PRGF®) on the Wound Healing of Distal Part of Limbs in Horses. *Iranian Journal of Veterinary Surgery (IJVS)*, vol. 8 (18), s. 8. Tillgänglig: [http://www.ivsajournals.com/?\\_action=articleInfo&article=3633](http://www.ivsajournals.com/?_action=articleInfo&article=3633). [2019-02-12].
- Pereira, R.C. da F., De La Côte, F.D., Brass, K.E., da Silva Azevedo, M., Gallio, M., Cantarelli, C., Dau, S.L., Cezar, A.S. & Inkelmann, M.A. (2019). Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 72, ss. 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.10.009>. Random house INC. (2019). Growth factor. *The random house unabridged dictionary*. Tillgänglig: <https://www.dictionary.com/browse/growth-factor>. [2019-03-12].
- SFS 2018:1193. *Lag (2009:302) om verksamhet inom djurens hälso- och sjukvård Svensk författningssamling 2009:2009:302 t.o.m. SFS 2018:1193 - Riksdagen*. Stockholm. Riksdagsförvaltningen. Tillgänglig: [https://www.riksdagen.se/sv/dokument-lagar/dokument/svenskforfattningssamling/lag-2009302-om-verksamhet-inom-djurens-halso\\_sfs-2009-302](https://www.riksdagen.se/sv/dokument-lagar/dokument/svenskforfattningssamling/lag-2009302-om-verksamhet-inom-djurens-halso_sfs-2009-302). [2019-05-01].
- Stashak, T. och Theoret, C., (2008). *Equine wound management*. 2:e uppl. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Steed, D.L. (1997). THE ROLE OF GROWTH FACTORS IN WOUND HEALING. *Surgical Clinics of North America*, vol. 77 (3), ss. 575–586. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(05\)70569-7](https://doi.org/10.1016/S0039-6109(05)70569-7).
- Suryanarayan, S., Budamakuntla, L., Khadri, S.S. & Sarvajnamurthy, S. (2014). Efficacy of autologous platelet-rich plasma in the treatment of chronic nonhealing leg ulcers. *Plastic and Aesthetic Research*, vol. 1 (2), s. 65-69. DOI: <https://doi.org/10.4103/2347-9264.139703>.
- Textor, J.A. & Tablin, F. (2012). Activation of Equine Platelet-Rich Plasma: Comparison of Methods and Characterization of Equine Autologous Thrombin. *Veterinary Surgery*, vol. 41 (7), ss. 784–794. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2012.01016.x>.
- Theoret, C.L. & Schumacher, J. (2016). *Equine Wound Management*. New York: John Wiley & Sons, Incorporated. Tillgänglig: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=4717388>. [2019-03-12].
- Wilmink, J.M. & van Weeren, P.R. (2005). Second-intention repair in the horse and pony and management of exuberant granulation tissue. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 21 (1), ss. 15–32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.014>.



## Tack

Stort tack till våra kurskamrater, som genom att bidra med konstruktiv kritik hjälpte till med att utforma och förbättra detta kandidatarbete.

Stort tack även till alla som gav stöd, råd och konstruktiv kritik till oss under skrivandet av detta kandidatarbete. Anna vill framförallt tacka sin familj.