



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**Eficácia da alantoína na cicatrização de feridas cutâneas induzidas
experimentalmente em caprinos**

São Luís – MA

2019



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LEANDRO HENRIQUE VEIGA DE SOUSA

**Eficácia da alantoína na cicatrização de feridas cutâneas induzidas
experimentalmente em caprinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Linha de pesquisa: Patogênese, Epidemiologia e Controle de Doenças dos Animais.

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira

São Luís – MA

2019



LEANDRO HENRIQUE VEIGA DE SOUSA

**Eficácia da alantoína na cicatrização de feridas cutâneas induzidas
experimentalmente em caprinos**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira (orientador)

Doutor em Ciência Animal

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos (1º membro)

Doutor em Ciência Animal

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Danilo Cutrim Bezerra (2ºmembro)

Doutor em Biotecnologia

Rede de Biodiversidade e biotecnologia da Amazônia Legal- BIONORTE

Dedico este trabalho a meu pai,
Francisco Cicinato de Sousa (*in
memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente Deus, pela vida, pelas oportunidades que tem me oferecido por ter me dado à força necessária para conquistar essa vitória;

A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA);

A minha mãe, Maria Helena Veiga Silva de Sousa, minha maior fonte de inspiração;

A minhas irmãs Maíra Fernanda e Virna Emanuele, sem vocês nada disso seria possível;

A meus avós, Maria Veiga e Adão Silva e a meus tios Eliane, Agenor, Clemilton, Clemilson, Cleidson, Elisneide e Cleber que com seu amor e carinho sempre me mantiveram forte para lutar contra as adversidades;

A Sandra Maria Pinho, William Amorim e Jadhi Pinho, por todo o apoio na reta final desse trabalho;

Ao Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira, pela amizade, conselhos, acolhimento, pelo valioso tempo dedicado para solucionar meus questionamentos e pela imensa contribuição como orientador e amigo ao longo da realização desse trabalho, meu muito obrigado;

Ao prof. Dr. Hamilton Pereira Santos, pela confiança, incentivo, ensinamentos e orientação;

Ao Prof. Dr. Danilo Cutrim Bezerra por ter aceitado compor minha banca e por suas contribuições.

A meus amigos Rodrigo Fucuta e Caio Fernando, por todo o apoio e amizade ;

A Sergio Henrique Costa Junior, por toda amizade, apoio e colaboração durante esses 7 anos de convivência, meu muito obrigado;

A todos os amigos da turma de mestrado, em especial: Aline, Ana Vitória, Breno, Danielle Coutinho, Elias, Fábio Henrique, Hanna Gabriely, Rayane,Larissa, Laís, Leandro Macedo, Sarah Ingrid, Soraia, e Raquel Albuquerque, Rayana, Andressa, Helane, Thaliane,Thainar e Lester;

Aos Membros do Laboratório de Bacteriologia Cínica: Catarina, Gabriel, Jaize, Kelly, Thallys e Virna;

A Samuel Bringel e Mauro Bringel, por todo o apoio;

A Lisa Hauane por ter sido meu braço direito durante todo o experimento, Deus te colocou nesse grupo e sou grato por toda tua colaboração;

A Dorynelson Pinheiro, por ter sido meu braço esquerdo na realização deste experimento;

Aos meus amigos e colegas de mestrado, Bruno, Carol, Diego, Lucilene, Thais e Wendel, obrigado pela amizade e apoio;

Aos amigos José Ribamar “ mazinho”, Bianca Diniz”Bibi” e Carlos Souza “Carlinhos”, Eduardo “ Cowboy” e Nildiane Aguiar por sua amizade;

Ao Programa de Mestrado em Ciência Animal e todos os membros, em especial a “Fran” Francisca Canavieira.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Fotografia da pele de caprino no 2º dia pós-operatório do grupos GA,GC e GP.....	33
Figura 2 –	Fotografia da pele de caprino no 6º dia pós-operatório do grupos GA,GC e GP.....	34
Figura 3 –	Fotografia da pele de caprino no 10º dia pós-operatório do grupos GA,GC e GP.....	35
Figura 4 –	Fotografia da pele de caprino no 14º dia pós-operatório do grupos GA,GC e GP.....	36
Figura 5 –	Gráfico da média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos Grupos Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GP) no 2º, 6º, 10º e 14º dia de evolução.....	39
Figura 6 –	Gráfico do percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente após 14 dias de evolução na pele de caprinos, de acordo com o grupo experimental	39
Figura 7 –	Fotomicrografia de pele caprina no 2º, 6º, 10º e 14º dia pós-operatório nos três grupos analisados (GA, GC e GP). As lesões cutâneas evidenciam neutrófilos (seta preta); congestão vascular (CV); proliferação de fibroblastos (seta branca); neovascularização capilar (NC); reepitelização (RE);	50
Figura 8 –	Gráfico da média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos Alantoína (GA), grupo Controle (GC) e grupo Pomada (GP) no 2º, 6º, 10º e 14º dias pós-operatório.....	51
Figura 9 –	Fotomicrografia da pele de caprino onde se observa a disposição e quantidade de fibras colágenas quantificadas no 2º, 6º e 10º dias, nos três grupos experimentais (GC; GG e GP) (200µm).....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do Grupo Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GC), levando-se em consideração a formação de crostas no 2º, 6º, 10º e 14º dias do processo de cicatrização.....	37
Tabela 2 - Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do Grupo Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GC), levando-se em consideração a formação de crostas no 2º, 6º, 10º e 14º dias do processo de cicatrização.....	38
Tabela 3 - Média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos alantoína (GA), do grupo pomada (GP) e do grupo controle (GC) no 2º, 6º, 10º e 14º dia de evolução.....	38
Tabela 4 - Média por grupo das características qualitativas das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos no 2º, 6º, 10º e 14º dias de avaliação.....	49
Tabela 5 - Média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos alantoína (GA), controle (GC) e pomada (GP) no 2º, 6º, 10º e 14º dia pós-operatório.....	51

LISTA DE ABREVEATURAS

EGF - Fator de crescimento epidermal
FCs - Fatores de crescimento
FGF - Fator de crescimento fibroblástico
Fig. - Figura
GA - Grupo alantoína
GC - Grupo controle
GP - Grupo pomada
KGF- Fator de crescimento dos queratinócitos
MEC- Matriz extracelular
PDGF- Fator de crescimento derivado da plaqueta
Q.S.P- Quantidade suficiente para
S.R.D- Sem raça definida
TGF α - Fator de crescimento alfa
TGF β - Fator de crescimento transformante
VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

Sumário

CAPÍTULO 1.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Panorama da Caprinocultura	10
1.2 Cicatrização de Feridas	11
1.2.1 Fase de coagulação	14
1.2.2 Fase inflamatória.....	14
1.2.3 Fase de proliferação celular	16
1.2.4 Angiogênese	17
1.2.5 Fibroplasia	18
1.2.6 Epitelização.....	19
1.2.7 Fase de contração da ferida	21
1.2.8 Fase de maturação e remodelamento.....	22
1.3 Fatores que interferem no processo de cicatrização das feridas cutâneas.....	23
1.4 Uso da alantoína no processo de cicatrização de feridas.....	24
1.5 Justificativa.....	25
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Geral.....	26
3.2 Específicos.....	26
CAPITULO 2.....	27
ARTIGO 1.....	27
REFERÊNCIA.....	41
ARTIGO 2.....	43
REFRÊNCIA.....	54
CAPITULO 3.....	56
REFERÊNCIA.....	56

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

1.1 Panorama da Caprinocultura

A caprinocultura é uma atividade realizada em diversas regiões do mundo devido principalmente à grande capacidade de adaptação apresentada por estes animais frente às mais variadas condições edafoclimáticas. Países que apresentam baixos índices de produção de alimentos e baixa renda possuem altos índices relativos à criação de caprinos e ovinos (XIMENES & CUNHA, 2013). Os caprinos situam-se em grande maioria, nos países em desenvolvimento como a Índia, a China e o Paquistão que juntos, concentram um quantitativo de 42% do rebanho mundial e concentram-se, principalmente, em áreas secas tropicais e subtropicais, com solos pobres e pouco voltados à agricultura (MORAND-FEHR & BOYAZOGLU, 1999; EMBRAPA, 2000).

Se trata de uma atividade bastante explorada em todos os continentes, entretanto, somente em alguns países apresenta significativa exploração econômica, sendo na maioria dos casos, desenvolvida de forma extensiva, e com baixa utilização de tecnologia (EMBRAPA, 2000).

De acordo com (Monte 2008), no Brasil, a criação de caprinos e ovinos é, tradicionalmente, uma forma de subsistência nas áreas economicamente fragilizadas em razão da sua adequação às regiões áridas e semiáridas do país, fornecendo alimento e gerando renda para diversas famílias locais. Segundo (Ximenes & Cunha 2013), no Brasil, 90,83% dos caprinos concentram-se na região Nordeste, que possui cerca de 92,50% da área semiárida do País.

A região do Nordeste brasileiro possui o maior quantitativo de rebanho caprino, onde sua criação foi considerada por muito tempo uma atividade paralela e muitas vezes, apenas como forma de subsistência, normalmente com baixa produtividade e realizada por pequenos produtores com pouco capital financeiro e baixo recuso tecnológico. No entanto, na atualidade, a produção destes pequenos ruminantes vem se caracterizando como uma atividade de elevada importância cultural, social e econômica para a região, representando um papel determinante no desenvolvimento do Nordeste (COSTA et al., 2008).

Diante desta realidade, considera-se que a caprinocultura se configura como uma das alternativas agropecuárias bastante viáveis para gerar crescimento econômico e benefícios reais na região semiárida nordestina (HOLANDA JÚNIOR & MARTINS,

2007). A maioria dos animais pertencem a rebanhos de pequenos produtores e oferecem uma importante fonte de renda resultante da venda da sua carne e couro. Sabe-se que o valor da pele atinge 20% do valor do animal, consequentemente a pele constitui uma receita importante para o produtor e gera divisas para o país (NOGUEIRA FILHO, 2003).

O Estado do Maranhão apresenta grande potencialidade econômica na área da criação de caprinos e ovinos de corte e de pele, por conta da sua localização geográfica compreendida entre o semiárido e a Amazônia (BRITO et al., 2009). Esse Estado apresenta florestas tropicais, caatinga e cerrado, que são típicos do sertão nordestino, e está dividido geograficamente em 5 mesorregiões e 20 microrregiões (SEADE, 2016).

1.2 Cicatrização de Feridas

A pele é a primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos e por isso encontra-se sujeita a diversos tipos de agressões, tornando sua capacidade de reparação importante para a sobrevivência (NOGUEIRA et al., 2005). Através do rompimento tecidual nos animais vertebrados, logo se inicia as etapas de reparo, que compreende uma sequência de eventos moleculares com o objetivo de restaurar o tecido lesado (MENDONÇA & COUTINHO-NETTO, 2009).

A perda desta integridade da pele pode resultar em um desequilíbrio fisiológico substancial e, tendo como consequência a incapacidade ou mesmo a morte. A pele é constituída por duas partes, um epitélio superficial (epiderme) e uma camada fibrosa resistente (derme) que se encontram sobre um estrato de tecido conjuntivo frioso (hipoderme). Estas três camadas possuem um papel fundamental no mecanismo de proteção do corpo contra possíveis danos mecânicos, como um ferimento, e contra invasão bacteriana (WENDT, 2005; THEORET, 2009).

Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causado por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, tendo como consequência o acionamento das defesas orgânicas (CESARETTI, 1998).

As feridas podem ser produzidas por dois tipos de fatores, podendo ser os fatores extrínsecos, como no caso dos procedimentos de incisões cirúrgicas e as lesões accidentais, ou podem ser ocasionadas por fatores intrínsecos, sendo aquelas produzidas por infecção, e as úlceras crônicas, causadas devido alterações vasculares, defeitos

metabólicos e neoplasias. Os tratamentos das feridas são conhecidos desde a antiguidade, como é descrito no papiro cirúrgico de Edwin Smith, que constitui o mais antigo tipo de documento cirúrgico conhecido. Este documento, datado do ano de 1700 a. C., descreve a forma de tratamento que os cirurgiões egípcios aplicavam em feridas onde demonstra que, mesmo com diversos anos de experiência com antibióticos, o princípio cirúrgico básico não foi alterado: as feridas contaminadas devem ser tratadas de formas abertas (KNUTSON et al., 1981; WENDT, 2005).

Quando ocorre perda da continuidade dos tecidos moles levando a exposição do tecido conjuntivo, a sequência específica dos processos posteriores que se seguem, tem como único objetivo o reparo (SOARES, 2005).

O processo de cicatrização ocorre através de um mecanismo de substituição de um tecido lesado substituído por tecido conjuntivo vascularizado, podendo ter sido traumática ou necrótica (PANOBIANCO et al., 2012). Sendo assim, o processo de cicatrização tem como finalidade restabelecer a homeostasia tecidual (CAVALCANTE et al., 2012). Por isso, se faz necessário o conhecimento a respeito de tal processo, para que se possa intervir para auxiliar e acelerar a cicatrização além de promover homeostasia do organismo e o bem-estar do paciente.

O mecanismo de regeneração pode ser definido como a reconstrução de um tecido através das células que sobreviveram à um determinado tipo de lesão tecidual (SLATTER, 1998), ou seja, promovendo a restauração da forma e função do tecido. Em suma, a reparação é a substituição do tecido danificado por outro material, ao exemplo do tecido cicatricial que difere de forma estrutural, portanto, funcionalmente do tecido original (DYSON, 1997). A possibilidade de acelerar a cicatrização e consequentemente levar ao fechamento de lesões cutâneas, através de recursos químico-medicamentosos ou físicos, tem sido objeto de investigação de inúmeros pesquisadores (BEHEREGARAY, 2009).

A cicatrização dos ferimentos é de maneira dinâmica (HEDLUND, 2007) e o tratamento pode levar a necessidade de modificações durante as diferentes fases. É essencial o entendimento dos processos de cicatrização para uma abordagem de forma ponderada ao tratamento das feridas (LIPTAK, 1997; PAVLETIC, 2010).

Existem dois tipos principais de cicatrização, sendo denominadas de cicatrização por primeira intenção e cicatrização por segunda intenção (PAGANELA et al, 2009). A decisão referente ao tipo de cicatrização depende das características

peculiares de cada lesão, da quantidade de tecido lesado ou de tecido danificado, e da ausência ou presença de infecção (TAZIMA et al, 2008). A cicatrização por primeira intenção ocorre quando a união ou restauração da continuidade do tecido ocorre diretamente, sem haver produção de tecido de granulação (POLLOCK, 2011). Esse tipo de cicatrização está indicada em feridas não contaminadas, e quando há uma perda mínima de tecido, como por exemplo, em incisões cirúrgicas e algumas lacerações, com a aproximação dos bordos da ferida por meio de suturas, levando a diminuição do tempo de cicatrização, de forma a obter um melhor resultado estético (WILMINK, 2008).

As feridas que não podem ser suturadas, consideram-se que esta é denominada de cicatrização por segunda intenção (POLLOCK, 2011), podendo incluir as feridas em que houve grande perda de tecido, cujos bordos estão distantes e não permitem uma boa aposição, feridas do tipo infectadas e/ou contaminadas ou feridas ocasionadas por tração (WILMINK, 2008; PAGANELA et al., 2009; STASHAK & THEORET, 2008). Este tipo de cicatrização (onde todas as fases do processo cicatricial estão presentes) está completamente dependente da fibroplasia, neovascularização e remodelação da matriz celular, de forma a restaurar a perda de tecido pela contração e epitelização da ferida, restabelecendo assim a tensão normal do tecido e reduzindo o tamanho da cicatriz (AUER & STICK, 1999).

E ainda, alguns autores consideram um terceiro tipo de cicatrização por terceira intenção ou atraso no processo de cicatrização por primeira intenção, que ocorre mediante fatores que retardam a cicatrização da lesão após intervenção do procedimento realizado na cicatrização de primeira intenção, bem como a deiscência da ferida ou a presença de infecção (LIMA et al, 2006; TAZIMA et al, 2008) ou quando a sutura da ferida é adiada para permitir o tratamento com a ferida aberta (POLLOCK, 2011).

As etapas do processo de reparação tecidual são divididas em fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas em relação ao tempo, tendo então a: hemostasia; fase inflamatória; formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares); e consequente a remodelação (BRANSKI et al., 2005; SHIMIZU, 2005; MENDONÇA et al., 2006; ROCHA JÚNIOR et al., 2006).

Segundo Hunt (1990), o processo cicatricial é dividido em fases, sendo: fase de coagulação; fase de inflamação; fase de fibroblasia; fase de epitelização; fase de contração e fase de remodelagem. Devido à sua complexidade e interação de seus sucessivos eventos, essas fases são interdependentes e ocorrem de forma simultânea.

1.2.1 Fase de coagulação

Esta é uma fase que depende da atividade plaquetária e consequentemente da cascata de coagulação, apresentando início após o acometimento da ferida. Momentos após o dano tecidual, as alterações nas células endoteliais, a ruptura de vasos sanguíneos e o extravasamento de seus constituintes incitam compostos vasoativos a promoverem um mecanismo de vasoconstrição de maneira imediata, com o objetivo de diminuir a perda sanguínea para o espaço extravascular (KUMAR et al., 2005).

Após ocorrer a vasoconstrição, uma cobertura primária composta por fibrina (coágulo) restabelece a hemostase, fornecendo um ambiente para que as plaquetas secretem fatores de crescimento (FCs), citocinas e elementos da matriz extracelular (MEC) (DÁRIO, 2008). O coágulo formado atua na coaptação das bordas da ferida, isso leva a uma perda mínima de sangue e fluidos, promovendo a proteção do organismo contra a possível penetração de agentes exógenos e disponibilizando uma matriz provisória para o início da organização da ferida (BARBUL, 2006). Neste caso, os mediadores do processo inflamatório recrutam macrófagos e neutrófilos, que secretam diversos fatores específicos, que regem as fases seguintes do processo de reparação tecidual (IRION, 2005; SANTORO & GAUDINO, 2005).

1.2.2 Fase inflamatória

Esta fase tem início no momento da ocorrência da lesão, preparando a ferida para as fases seguintes de reparação, removendo possíveis microrganismos, tecidos necrosados e as substâncias estranhas ao organismo. Todos esses mecanismos envolvem respostas vasculares e celulares, cuja intensidade encontra-se diretamente relacionada com a gravidade em que se apresenta a lesão (STASHAK & THEORET, 2008). A possível ocorrência de um trauma tecidual de maneira grave ocasiona o rompimento de vasos sanguíneos no mesmo local, com o possível extravasamento de constituintes do sangue. A vasoconstrição é uma resposta de forma imediata à lesão, apresentando uma duração de tempo compreendida entre 5 a 10 minutos, com

finalidade de minimizar a hemorragia gerada pelo trauma (PAVLETIC, 2009). Devido à lesão tecidual são liberados fosfolipídios por meio das células endoteliais dos quais são transformados em ácido araquidônico e seus metabólitos responsáveis por mediar o tônus vascular, a permeabilidade dos vasos e a agregação plaquetária (STASHAK & THEORET, 2008). E ainda, prossegue com a existência da liberação local da histamina, serotonina e bradicinina que são os mediadores químicos da inflamação que provocam a vasodilatação e consequentemente um aumento do fluxo sanguíneo ao local da lesão, de forma a facilitar a diapedese de células, fluidos e proteínas através da parede do vaso para o espaço extravascular, aparecendo assim os sinais característicos da inflamação como o calor, rubor e edema (SPENCER, 2005, TAZIMA et al, 2008).

Os eritrócitos e a fibrina proveniente da hemorragia no momento da agregação plaquetária, formam coágulo, estabelecendo a hemostase e fornece o ambiente necessário para que as plaquetas secretem fatores de crescimento, citocinas e elementos da matriz extracelular. A formação do coágulo minimiza perda de sangue e fluído, protegendo o organismo de agentes exógenos causadores de infecção e disponibilizando uma matriz provisória para a organização da ferida (OLIVEIRA & DIAS, 2012). No coágulo, as proteínas do sangue encontradas possuem um grande número de locais de ligação reconhecidos por integrinas, que são receptores especiais de superfície encontrados em células inflamatórias e mesenquimais (STASHAK & THEORET, 2008).

Os mediadores bioquímicos que aumentam a permeabilidade vascular, levam a ocorrência da migração sequencial de células, facilitando a resposta inflamatória que duram cerca de três dias (TAZIMA et al, 2008), esta permeabilidade promove facilitação do extravasamento de moléculas séricas, anticorpos, sistema complemento e proteínas (OLIVEIRA & DIAS, 2012). Existem dois tipos de mediadores bioquímicos, os de ação curta representado pela histamina e a serotonina, e os de ação prolongada, que são a leucotaxina, prostaglandina e bradicinina. Dentre essas, a prostaglandina representa um dos mais importantes, devido favorecer a exsudação vascular, estimula a mitose celular e a quimiotaxia de leucócitos (TAZIMA et al., 2008).

Os primeiros tipos celulares a chegarem ao sítio de uma lesão são os neutrófilos, dos quais, além de suas atividades de produção da protease e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio ocasionando a morte de microrganismos e degradação de macromoléculas, estão envolvidos nos processos fagocíticos de microrganismos e remoção de restos celulares (BALBINO et al., 2005). Estas células também operam em

reações de formação tecidual, por meio da síntese dos fatores de crescimento e citocinas, das quais são responsáveis pela recomposição da celularidade regional e restabelecimento da homeostasia tecidual (BEER et al., 2000). Devido à meia vida curta, após o segundo dia os neutrófilos vão sendo gradativamente substituídos por monócitos, que se transformam em macrófagos na ferida (HATANAKA & CURI, 2007).

Nas primeiras 24 horas a 48 horas, ocorre o pico de atividade das células polimorfonucleares (TAZIMA et al, 2008), possuindo uma semivida curta e permanecem no local da ferida num período de tempo que varia entorno de três a cinco dias (OLIVEIRA & DIAS, 2012). Diferentemente dos neutrófilos, os macrófagos desempenham um papel importante nas fases subsequentes da etapa de cicatrização de feridas (STASHAK & THEORET, 2008). Além da capacidade fagocítica e da atuação como células apresentadoras de抗ígenos, são fontes de fatores de crescimento e mediadores bioquímicos, que por este meio, ditam e sustentam o processo de cicatrização (OLIVEIRA & DIAS, 2012). No caso dos macrófagos, estes possuem a capacidade de sintetizar e expressar várias citocinas, que além de ser de suma importância para sua sobrevivência, são as responsáveis por iniciar a formação e propagação do novo tecido, conhecido como tecido de granulação, e pela consequente angiogênese, fibroplasia e epitelização (STASHAK & THEORET, 2008). O aumento da quantidade de macrófagos no local em que se apresenta a ferida, em torno do segundo ou terceiro dia após a lesão (TAZIMA et al., 2008), deve-se a migração de monócitos, que se diferenciam em macrófagos, permanecendo num período, que variam de poucos dias a semanas. Desta maneira, a capacidade de resposta é adaptável, devido os monócitos pluripotentes transformarem-se em macrófagos, do qual as propriedades funcionais são determinadas pelas condições que estes encontram no devido local da mobilização (STASHAK & THEORET, 2008).

De acordo com Stashak & Theoret (2008), a apresentação de uma fase inflamatória prolongada, retarda a cicatrização e promove uma proliferação crônica de granulação fibroblástica, e ainda, leva a extensa fibrose do tecido lesado, de forma a retardar aa fase de contração da ferida e consequentemente perda da função.

1.2.3 Fase de proliferação celular

A fase proliferativa surge diante da regressão da inflamação, por volta do 3º ou 4º dia após a lesão, e é caracterizada pelo aparecimento de tecido de granulação. Esse

tecido de granulação é formado por três elementos que se movem dentro da ferida em simultâneo: macrófagos, são responsáveis pelo desbride da ferida, produção de citocinas e fatores de crescimento, que promovem estímulos a angiogênese e a fibroplasia; fibroblastos, que sintetizam novos componentes da matriz extracelular, agora rica em colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, este estroma substitui o coágulo rico em fibrina, fornecendo uma barreira física à infecção, e mais importante, proporciona uma superfície através da qual as células mesenquimatosas podem migrar, e novos vasos sanguíneos, que transportam o oxigênio e os nutrientes necessários ao metabolismo e crescimento das células mesenquimatosas conferem ao tecido de granulação o aspecto granular e vermelho característico (STASHAK & THEORET, 2008). Então, a fase proliferativa pode ser dividida em três eventos fundamentais: Fibroplasia, Angiogênese e Epitelização.

1.2.4 Angiogênese

A angiogênese é o crescimento de novos capilares na área da ferida (DYSON, 1997; HOSGOOD, 2006; PAVLETIC, 2010). A fase inicial desse processo envolve a liberação de colagenase pelas células endoteliais dos capilares intactos ou recentemente lesados, esta enzima é liberada em resposta aos fatores angiogênicos e degrada o colágeno da membrana basal dos capilares. Depois de ocorrer a fragmentação da membrana basal, células endoteliais começam a migrar para o espaço. Após a fragmentação da membrana basal, células endoteliais seguem migrando para o espaço perivascular da derme adjacente a ferida, formando brotamentos que crescem rapidamente em direção à superfície livre do tecido de granulação, onde eles se ramificam e se unem formando canais que correspondem ao plexo capilar superficial (DYSON, 1997). As células epiteliais destes novos capilares contêm um ativador do plasminogênio. Assim à medida que novos capilares vão crescendo num ferimento imediatamente atrás dos fibroblastos em migração, ocorre a fibrinólise e a rede de fibrina se rompe e é removida. Os estímulos mais prováveis para a angiogênese são os fatores mitogênicos e quimiotáticos produzidos pelos macrófagos, como FGF, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), TGF- β , angiogenina, angiotropina, angipectina 1 e trombospondina. A baixa tensão de oxigênio e aumento de ácido lático na ferida também são estímulos para a angiogênese através dos efeitos causados na produção de mediadores. Os novos capilares aumentam a tensão de oxigênio na ferida, o que

aumenta a fibroplasia e a atividade mitótica das células mesenquimatosas adjacentes se eleva à medida que o sangue começa a fluir. Conforme a cicatrização da ferida progride, os novos capilares entram em apoptose e a coloração da ferida anteriormente caracterizada pelo vermelho vivo do tecido de granulação, torna-se mais pálida (HOSGOOD, 2006; HEDLUND, 2007).

1.2.5 Fibroplasia

Fibroplasia é o componente do tecido de granulação que inclui os fibroblastos e a matriz extracelulares associados. Citocinas (PDGF, TGF- β E FGF) e a matriz provisória estimulam a proliferação de fibroblastos, que se originam de células mesenquimatosas indiferenciadas no tecido conjuntivo circundante. Os fibroblastos migram para o interior da ferida, à medida que a fase inflamatória diminui, através da ligação de seus receptores de integrina com fibrinas ou outros filamentos proteicos e através do esqueleto formado pela ligação entre as próprias fibrinas. Durante sua migração, os fibroblastos são seguidos pelos brotamentos dos novos capilares. As junções de integrina irão soltar-se e fazer-se ao longo do trajeto do fibroblasto, que também libera enzimas proteolíticas para facilitar sua migração através dos filamentos de fibrina. Após a migração para o interior da ferida, os fibroblastos secretam grande quantidade de fibronectina, formando uma matriz extracelular frouxa (HEDLUND, 2007; PAVLETIC, 2010).

De acordo com Hedlund (2007), além da produção de fibronectina estimulada pelo TGF- β , estas células também seriam responsáveis por sintetizar e depositar colágeno, elastina e proteoglicanas, resultando no amadurecimento do tecido fibroso.

Os fibroblastos da ferida apresentam uma aparência miofibroblástica característica, possuindo filamentos contráteis abundantes, junções intracelulares firmes e um envelope nuclear distorcido. Estes também possuem diversa quantidade de actina, uma proteína do músculo liso, além das proteínas dos filamentos intermediários, desmina e vimentina (HOSGOOD, 2006).

A matriz extracelular provisória é gradualmente substituída por uma matriz extracelular composta por colágeno. O colágeno tipo III, que é relativamente abundante em vasos e associado aos capilares do tecido de granulação, é substituído pelo colágeno tipo I, produzido pelos fibroblastos (HOSGOOD, 2006).

A molécula de colágeno é formada por glicina, prolina e outros aminoácidos. Os aminoácidos prolina e lisina devem ser hidroxilados ao serem incorporados ao colágeno pelos fibroblastos. Este processo de hidroxilação enzimática é fundamental na formação do colágeno e requer a presença de oxigênio, ferro, alfa cetoglutarato e um agente redutor como o ascorbato (vitamina C) ou riboflavina ativada pela luz. A vitamina C é essencial para uma adequada produção de colágeno, devendo-se considerar a suplementação de pacientes com mau estado nutricional, embora se saiba que em outros animais a exemplo os cães e gatos geralmente apresentam níveis adequados desta vitamina. Se o processo de hidroxilação não for completo, a molécula de colágeno não pode ser excretada pelo fibroblasto (PAVLETIC, 2010).

O colágeno é diretamente responsável pela força de tensão na ferida em cicatrização e quanto maior for a concentração de colágeno tipo I mais madura é a ferida. Um aumento na deposição de colágeno está relacionado com um aumento no número de fibroblastos e um aumento da deposição de colágeno por cada célula. A enzima colagenase, produzida por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos na ferida, é importante no controle da deposição de colágeno. O término desta fase é caracterizado pelo declínio no número de capilares e fibroblastos e pela grande deposição de colágeno (PAVLETIC, 2010).

1.2.6 Epitelização

A cicatrização é incompleta sem que ocorra a restauração da superfície epitelial (PAVLETIC, 2010). De modo geral, o epitélio é uma barreira de grande importância contra possíveis infecções externas e perdas hídricas internas (HEDLUND, 2007). Algumas alterações que iniciam a epithelização ocorrem na epiderme adjacente à ferida em poucas horas após a lesão (DYSON, 1997). A atividade que predomina inicialmente é a mobilização e migração das células epiteliais na margem da ferida, seguida pela proliferação das células epiteliais subsequentes (HOSGOOD, 2006). Após a lesão, as células epidérmicas da margem da ferida sofrem alterações fenotípicas, como a retração dos monofilamentos intracelulares, a dissolução da maioria dos desmossomos que proporcionam conexões físicas entre as células, e a formação de filamentos citoplasmáticos de actina, localizados na periferia da célula e que permitem a ela o movimento. O movimento lateral das células epidérmicas é facilitado pela falta de aderência entre estas e as células dérmicas devido à dissolução dos hemidesmossomos entre a epiderme e a membrana basal, esta dissolução é induzida pela colagenase

produzida pelas células epidérmicas. Os receptores de integrina presentes nas células epidérmicas permitem a interação destas com uma variedade de proteínas da matriz extracelular, incluindo a fibronectina e a vitronectina, as quais se encontram espalhadas no colágeno tipo I na margem da ferida em a matriz extracelular provisória que a preenche (HOSGOOD, 2006). A migração epitelial é guiada pelas fibras de colágeno (HEDLUND, 2007; PAVLETIC, 2010). O teor de água no leito da ferida aparentemente facilita a migração epitelial, pois ferida com tecidos adequadamente úmidos curam mais rapidamente do que feridas ressecadas (HANKS & SPODNICK, 2005).

As glicoproteínas hidrossolúveis encontradas na epiderme, que normalmente atuam na inibição da mitose epitelial nos tecidos normais, se encontram diminuída em ferimentos, permitindo a multiplicação das células epiteliais presentes ao redor da ferida e sua migração para o tecido de granulação adjacente. Enquanto as células epiteliais se deslocam, há a liberação de colagenase para facilitar sua migração abaixo da crosta, que será posteriormente separada da superfície da ferida devido à ação desta enzima. O contato entre as células epiteliais em todos os lados resulta na inibição de uma migração celular adicional, inibição por contato (HARARI, 1999; HOSGOOD, 2006; HEIDLUND, 2007; PAVLETIC, 2010).

Os estímulos para a proliferação e migração das células epidérmicas incluem o EGF, o TGF- α e o fator de crescimento dos queratinócitos (*keratinocyte growth factor – KGF*) produzido pelas células epiteliais, fibroblastos e macrófagos. Após a epitelização, as células epidérmicas retornam ao seu fenótipo original e tornam-se firmemente aderidas à membrana basal e à derme subjacente (HOSGOOD, 2006).

O epitélio cicatricial formado é comumente caracterizado pela sua fragilidade e pouca espessura. A camada epitelial inicial é composta por apenas uma camada de células, mas vai se espessando gradualmente conforme novas camadas de células vão se formando. O resultado disso tudo é a restauração da arquitetura epitelial escamosa estratificada normal. Em ferimentos suturados, com uma separação mínima na derme, as células epiteliais podem unir as bordas mais próximas de 48 horas (HEIDLUND, 2007; PAVLETIC, 2010). Em ferimentos superficiais, a migração das células epidérmicas ocorre imediatamente após a lesão a partir das margens da ferida e apêndices anexos, como folículos pilosos e glândulas sudoríparas. Em ferimentos mais profundos, a ferida somente poderá ser coberta pelas células epiteliais a partir das suas margens após a formação adequada do tecido de granulação e as estruturas anexas não serão regeneradas. A pigmentação ocorre devido à mitose e migração dos melanócitos

presentes na pele adjacentes à ferida no interior da epiderme em regeneração (HOSGOOD, 2006).

1.2.7 Fase de contração da ferida

A contração da ferida é compreendida pelo processo no qual a pele periférica à lesão avança de maneira centrípeta em direção ao centro da lesão (PAVLETIC, 2010). Para que inicie a contração da lesão é necessária uma quantidade significante de fibroblasto e a complexa interação de células, da matriz extracelular e mediadores, como TGF- β 1, TGF- β 2 e PDGF (HOSGOOD, 2006). A partir disso, os fibroblastos presentes na ferida desenvolvem propriedades da musculatura lisa, como proteínas contráteis (microfilamentos de F-actina) ao longo da face citoplasmática da membrana basal, sendo estes fibroblastos denominados de miofibroblástos (PAVLETIC, 2010).

As integrinas presentes nos miofibroblástos promovem a ligação destas células à rede de fibronectina e às fibrilas de colágeno na matriz extracelular. Os feixes de colágeno começam a interligar-se dentro do tecido de granulação e da camada dérmica das margens da pele. Estas ligações levam os miofibroblástos a efetuarem uma aplicação de força de tração na matriz pericelular. A manifestação desta força é apresentada assim que os miofibroblástos alinham-se com as linhas de contração evidenciadas na ferida. As margens da ferida interligadas ao colágeno, durante a contração da ferida, são literalmente arrastadas em direção ao centro do leito de granulação (PAVLETIC, 2010), o tecido adjacente estica-se e a ferida assume uma conformidade estrelada (HOSGOOD, 2006). A ferida continua contraindo-se até que haja o encontro das bordas e ocorra um feedback negativo devido ao contato entre as células das extremidades opostas resultando no encerramento do processo. A contração começa a cessar quando a tensão do tecido ao redor da ferida iguala ou excede a força de contração gerada (HARARI, 1999; HOSGOOD, 2006) ou se houver algum tipo de falha no desenvolvimento ou função dos miofibroblastos (HEDLUND, 2007). Se a contração cessar e a ferida permanecer com tecido de granulação exposto, a reepitelização continuará ocorrendo e cobrindo o restante da ferida.

A contração da ferida pode ser afetada pela administração de fármacos sintéticos com ação anti-inflamatória e/ou uma aplicação local de relaxantes musculares com ação na musculatura lisa (HOSGOOD, 2006; HEDLUND, 2007), interferindo no estiramento da pele que normalmente acontece de forma centrípeta. A derme e a epiderme se estreitam em resposta à tensão e, este processo estimula o crescimento por

intussuscepção da pele, que corresponde à proliferação epitelial e à deposição de colágeno apresentada dentro da pele estirada visando amortecer e reparar áreas cutâneas que se encontram sob tensão significativa (PAVLETIC, 2010). Conforme a cicatrização progride, o número de miofibroblastos diminui, correspondendo à redução na contração de ferida (HOSGOOD, 2006).

A contração da ferida deve ser diferenciada do processo patológico conhecido como contratura. Na contratura, a contração da ferida é excessiva, resultando na limitação do movimento dos tecidos subjacentes. Este evento pode ser um problema particular nos membros, onde pode haver limitações na mobilidade de articulações além da atuação como um torniquete natural, causando prejuízo na drenagem venosa da região distal do membro e edema (HANKS & SPODNICK, 2005).

1.2.8 Fase de maturação e remodelamento

O remodelamento é uma fase que dura períodos que vão de meses a anos, caracterizando-se pela reorganização da malha colágena e a cicatriz adquire maior força tênsil, aspecto empalidecido devido a ocorrência da apoptose das células dos vasos. O mecanismo de remodelamento envolve etapas sucessivas de produção, digestão e orientação das fibrilas colágenas (HOSGOOD, 2006). A forma de deposição colágena ocorre de modo aleatório, tendo como orientação a organização da fibronectina, do qual é dependente da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido. Essas fibras são subsequentemente digeridas pela enzima colagenase e novamente sintetizadas e arranjadas de acordo com a organização das fibras do tecido conjuntivo adjacentes, e resultam numa configuração mais regular da cicatriz. Ao fim desta etapa, os anexos cutâneos, como folículos pilosos e glândulas também podem sofrer regeneração (HATANAKA & CURI, 2007). Dependendo da extensão da lesão, o processo final poderá evoluir para completa regeneração ou apenas para reparação tecidual (BALBINO et al., 2005). Quando as lesões acometem apenas a epiderme, ocorre regeneração tecidual, com retorno da integridade morfológica do tecido. No entanto, quando o dano tissular é mais acentuado e se estende a porções da derme, acometendo glândulas, folículos pilosos, dentre outras estruturas, o processo resulta em reparação tecidual. Nesse caso, embora a homeostasia seja restabelecida, a atividade funcional do tecido apresenta-se comprometida e, como a região lesionada geralmente é substituída integral ou pelo menos parcialmente por tecido fibrótico, observa-se formação de cicatriz (MANDELBAUM et al., 2003; BALBINO et al., 2005; RUNGER et al., 2007).

1.3 Fatores que interferem no processo de cicatrização das feridas cutâneas

O tempo de cicatrização e as etapas de cada fase do processo, ocorrem de maneira harmoniosa, quando o organismo se encontra em condições favoráveis para responder ao insulto. Em condições adequadas uma cicatriz possui aproximadamente 80% da força de tensão da pele normal, com funcionalidade restabelecida (MANDELBAUM et al., 2003). Entretanto, frequentemente a evolução do processo cicatricial torna-se prejudicada ou mesmo impedida advinda de fatores intrínsecos ou extrínsecos, sendo estes didaticamente classificadas em fatores sistêmicos e locais (HOSGOOD, 2006).

Embora não se possa acelerar o processo de cicatrização, diversos fatores, tanto locais quanto sistêmicos, afetam adversamente o mecanismo de cicatrização das feridas (NETO, 2003). Podendo assim, levar a situações onde a cura ocorre de forma desorganizada (HALLORAN & SLAVIN, 2002).

Os fatores locais encontram-se principalmente relacionados ao movimento e à presença de resíduos dentro da ferida, tendo como exemplo: corpos estranhos, tecido necrosado, contaminação bacteriana e hipóxia tecidual. Estes fatores atuam como barreira física para o desenvolvimento de forma desordenada do tecido de granulação e deposição de colágeno, ou podem exagerar a inflamação, e consequentemente afetar a resposta inflamatória (HALLORAN & SLAVIN, 2002).

Os fatores sistêmicos são considerados as condições intrínsecas do animal, devendo ser observadas, uma vez que, em geral não podem ser completamente eliminados (MORAES et al., 2000). Os principais quesitos considerados nesse tipo de classificação são a idade, particularidades inerentes a espécie, estado nutricional, estado imunológico e uso concomitante de medicamentos, principalmente drogas imunossupressoras (STASHAK, 1999; MANDELBAUM et al., 2003; BOHLING et al., 2004).

As feridas em área com mobilidade alta, são propensas à inflamação crônica devido à perturbação repetitiva dos novos capilares, depósitos de colágeno e fragilidade do novo epitélio. Inversamente, a completa imobilização da área ferida pode levar a um arranjo desorganizado do novo colágeno dentro da ferida, diminuindo a força de tensão resultante (KNOTTENBELT, 2003).

A presença de corpos estranhos no interior da ferida é uma considerável fonte de infecção e irritação (KNOTTENBELT, 2003), mantendo a inflamação e resistindo às

tentativas de controlar a infecção (NETO, 2003). Antes de iniciar o tratamento, a presença de corpos estranhos deve ser descartada em uma ferida. Se a presença de um corpo estranho é confirmada no interior da ferida, debridamento e lavagem são necessários para garantir limpeza e umidade no leito da mesma (HENDRICKSON & VIRGIN, 2005).

Dentre os fatores locais, a infecção é a causa mais importante do retardamento da cicatrização. Deve-se considerar que toda ferida está colonizada, pois as bactérias existentes na pele podem colonizar a lesão, mas isso não significa que esteja infectada (SARANDY, 2007).

O risco de infecção aumenta quando possui um fluxo de sangue deficiente para área lesada, retardando a taxa de cura (HENDRICKSON & VIRGIN, 2005). Desta forma, reduz a perfusão tecidual, aumentando a hipóxia, interferindo no metabolismo e no crescimento celular, prejudicando a cicatrização (SARANDY, 2007). Nos fatores sistêmicos que dificultam a cicatrização, incluem estado nutricional, hipovolemia, hipotensão, hipóxia, hipotermia, infecção, trauma e uso de medicamentos anti-inflamatórios (NETO, 2003).

1.4 Uso da alantoína no processo de cicatrização de feridas

Em 1799, a alantoína (figura 6) foi isolada pela primeira vez a partir do líquido amniótico de rumíantes (BRUNEL, CAPELLE, 1947), uma substância que pertence à classe dos ureídos e que comumente é encontrada em boragináceas. Trata-se de um pó branco, cristalino, também chamado de 5-ureidohidantoina, gioxildiureido ou cordianina.

Seu uso foi noticiado na época da Primeira Guerra Mundial, quando se notou que as feridas infestadas por larvas pareciam curar-se melhor do que as não infestadas, devido à alantoína produzida por estas larvas (BERINGER, 1995). A partir de então, a alantoína passou a ser largamente empregada pelos cirurgiões para acelerar a proliferação celular em ferimentos com recuperação lenta, especialmente a osteomielite (SAITO, 1984).

Desde a década de 50, a alantoína é reconhecida e aceita pelas áreas médicas e correlatas, por seu efeito anti-irritante, queratolítico e cicatrizante (LUBOWE *et al.*, 1959). Segundo MECCA (1971), a alantoína e seus derivados possuem efeito suavizante, quando aplicados sobre a pele. Isso se deve ao fato de esta substância ligar-se à matriz da camada cornea da pele, aumentando a capacidade de ligação da queratina

com a agua, facilitando a hidratacao e amaciamento da pele. Por isso, este composto é util no tratamento de calos e hiperqueratinizacao da pele.

A porcao ureia da alantoina é a responsavel pelo efeito queratolitico e suavizante da pele, enquanto que a parte hidantoina (relacionada ao acido barbiturico) é responsavel pelo efeito anestesico e anti-irritante. Age também destoxicificando e neutralizando os agentes irritantes, alem de estimular os processos de cura que envolvem os tecidos feridos (LUBOWE *et al.*, 1959), e estimular o crescimento de tecido saudavel auxiliando na retirada dos restos de tecido necrosado (SHEKER *et al.*, 1972).

O conhecimento da fisiopatologia da cicatrização e os fatores que podem acelerá-la ou retardá-la, exigem uma melhor avaliação, para que ocorra a escolha do tratamento mais adequado. Atualmente, diversas pesquisas têm avaliado a sua importância na reabilitação funcional e no quesito estético do animal (VITORINO FILHO, 2011; BARRETO, 2011). Diferentes alternativas existentes, permitem acelerar o processo de cicatrização de uma ferida. Independente da escolha utilizada, o método selecionado deve propiciar um ambiente que seja favorável, permitindo progressão espontânea para não retardar o processo de reparação (PAGANELA *et al.*, 2009).

Devido a todas essas propriedades, a alantoina é empregada no tratamento de inúmeras afecções da pele, dermatites diversas e problemas de hiperqueratinizacao da pele.

1.5 Justificativa

Com a modernização e avanço na medicina veterinária, novos meios para se contornar as fases relacionadas à cicatrização foram desenvolvidos. A forma encontrada para se evitar uma cicatrização longa e dolorosa é através da utilização de fármacos ou fitoterápicos. Sabe-se que na rotina clínica de ruminantes e dentro das fazendas é feita a utilização de fármacos contendo alantoína em sua composição para acelerar o processo cicatricial. De acordo com (Araújo *et al.* 2010), ao realizarem estudo do perfil cicatricial da alantoina em ratos, seus resultados demonstraram que o mecanismo de cicatrização deste fármaco, ocorre via controle da resposta inflamatória e estímulos à proliferação fibroblástica e síntese de matriz extracelular, demonstrando ser capaz de melhorar e acelerar o processo de reconstituição da pele.

Considerando o importante papel das feridas cutâneas como porta de entrada para doenças nos animais, a escassez de dados quanto à eficácia da alantoína na

cicatrização de ferimentos em caprinos e sua indicação terapêutica apenas para equinos, cães e gatos é que se propõe esse estudo.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Geral:

- Avaliar o efeito cicatrizante da alantoína em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos.

2.2 Específicos:

- Avaliar o tempo de cicatrização em feridas tratadas com alantoína, feridas tratadas com solução salina a 0,9% e pomada cicatrizante constituída de Cloreto de laurildimetilbenzil amônio a 35%;
- Descrever as características macroscópicas das feridas induzidas durante o processo de cicatrização;
- Avaliar nas fases de cicatrização aspectos microscópicos como: número de neutrófilos e de macrófagos, congestão vascular, edema, proliferação de fibroblastos; formação de fibras de colágeno, reepitelização e neoformação capilar;
- Quantificar o colágeno tecidual durante o processo de cicatrização em diferentes tempos.

CAPÍTULO 2

ARTIGO 1

Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente em caprinos

Macroscopic evaluation of experimentally induced wounds in goats

Leandro Henrique Veiga de SOUSA²; Helder de Moraes PEREIRA³

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar o efeito cicatrizante da alantoína em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos, e apresenta como objetivo específico avaliar o tempo de cicatrização em feridas tratadas com alantoína, feridas tratadas com solução salina a 0,9% e pomada cicatrizante constituída de Cloreto de laurildimetilbenzil amônio a 35%, bem como, descrever as características macroscópicas das feridas induzidas durante o processo de cicatrização. Foram utilizados 15 animais da espécie caprina, fêmeas, SRD, com idade variando de 12 a 48 meses. Para a realização das feridas, os animais foram pesados, em seguida foi realizada tricotomia da fossa paralombar direita. O protocolo anestésico empregado foi anestesia local infiltrativa em L invertido com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstrictor. Apenas dois dos cinco animais apresentaram formação de crostas no 2º dia de avaliação no GP, enquanto o GA apresentou três animais e o GC quatro. Do 6º ao 14º dia os animais do GA apresentaram um padrão homogêneo, com pouca variação individual na evolução da formação de crosta, ao mesmo tempo em que, o GC e GP apresentaram um bom padrão na produção de crostas, porém, com muita variação individual. Macroscopicamente a alantoína em relação aos demais grupos experimentais apresentou efeito cicatricial satisfatório, podendo ser indicada como alternativa no tratamento de feridas cutâneas em caprinos. A alantoína se destacou por apresentar boa adesão à lesão cutânea do animal devido a sua forma farmacêutica, propriedade repelente, indução da formação de crostas e capacidade de reepitelização do tecido.

Palavras chave: Caprino. Cicatrização. Avaliação macroscópica. Alantoína.

ABSTRACT

The aim of the present study is to evaluate the healing effect of allantoin in experimentally induced goats skin wounds, and its specific objective is to evaluate the healing time in allantoin treated wounds, 0.9% saline treated wounds and healing ointment, consisting of 35% lauryl dimethylbenzyl ammonium chloride, as well as describe the macroscopic characteristics of the wounds induced during the healing process. Fifteen female SRD goats were used, ranging in age from 12 to 48 months. For the accomplishment of the wounds, the animals were weighed, then was performed

trichotomy of the right paralumbar fossa. The anesthetic protocol employed was local L-infiltrated reverse anesthesia with 2% lidocaine hydrochloride with vasoconstrictor. Only two of the five animals presented crust formation on the 2nd day of evaluation in the GP, while the GA presented three animals and the CG four. From day 6 to day 14 GA animals showed a homogeneous pattern, with little individual variation in the evolution of crust formation, while the CG and GP showed a good pattern in the production of crusts, but with a lot of individual variation. . Macroscopically, allantoin in relation to the other experimental groups presented satisfactory healing effect and may be indicated as an alternative in the treatment of skin wounds in goats. Allantoin stood out for its good adhesion to the animal's skin lesion due to its pharmaceutical form, repellent property, induction of crust formation and tissue reepithelialization capacity.

Keywords: Caprine. Healing. Macroscopic evaluation. Allantoin

INTRODUÇÃO

Os animais podem estar expostos a traumatismo e assim lesionarem o maior órgão existente, a pele, desencadeando soluções de continuidade com perdas extensas de tecido, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional (PAIXÃO et al., 2008).

As feridas lacerantes, úlceras e correções cirúrgicas de defeitos cutâneos exigem tratamento especializado para se obter o retorno funcional e anatômico esperado da região. A extensão da perda cutânea dificulta a aproximação das bordas, ocorrendo o que conhecemos como cicatrização por segunda intenção, que é um processo mais lento, produzindo muitas vezes cicatrizes extensas e elevação do custo do tratamento (TENÓRIO et al., 1999).

A cicatrização é um fenômeno pela qual o organismo tende a reparar uma porção lesada. Envolve a integração de um conjunto de respostas químicas, físicas e biológicas que caracterizam-se por agregação plaquetária, coagulação sanguínea, formação de fibrina, reação inflamatória ao trauma, proliferação vascular e recomposição da cobertura superficial, garantindo assim, homeostasia do organismo (SINGER & CLARK, 1999).

Existe uma maneira considerada eficaz de estudo do processo de cicatrização, que é através da observação dos eventos ocorrentes após uma ferida produzida na pele, pois nesse momento ocorrerá uma interrupção de tecido em maior ou menor extensão, podendo afetar a pele, mucosa ou órgãos (FONTANA, 1996).

O processo de cicatrização pode ser classificado em três fases: inflamatória, proliferativa ou fibroplasia, e modelação ou remodelação (PHILIPS, 2002; ANDRADE, 2003; PEREIRA, 1998). No entanto, outros autores classificam esse processo de uma forma mais completa, dividindo em cinco fases principais: Coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (MANDELBAUM et al., 2003).

A fase inflamatória se inicia por uma constrição capilar imediata à ferida, objetivando uma coagulação intravascular, sendo sucedida por uma dilatação capilar com o aumento de permeabilidade vascular produzida por mediadores inflamatórios, que permitem a passagem do plasma, eritrócitos e leucócitos do sangue para o local da ferida. As plaquetas se aderem e agregam formando um coágulo que restaura a homeostasia. Coágulo, fibrina e exsudato preenchem a ferida formando uma matriz

sobre a qual fibroblastos e células endoteliais neoformadas constituirão o tecido de granulação (CORSI et al., 1994).

A segunda fase do processo de cicatrização é a fibroplasia ou reparação, que é caracterizada pelo aparecimento de uma população celular específica, os fibroblastos (GRINNEL et al., 1981). Com a presença local de macrófagos derivados de monócitos, produzindo e liberando mediadores químicos, a migração e a ativação de fibroblastos é intensificada.

As fases finais do processo cicatricial são constituídas pela contração e aumento da resistência da cicatriz. A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida aberta, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão (VAN WINKLE JÚNIOR, 1967), sendo provocada pelos filamentos de actina dos miofibroblastos, pois quando há produção de colágeno e arranjo das suas moléculas, os miofibroblastos diminuem em número, quando se observa a relação do mecanismo de contração com a maturação do colágeno (ANDERSON, 1996).

Para uma boa avaliação da cicatrização de feridas, os testes morfométricos são empregados para a mensuração do diâmetro da área lesionada, a fim de estabelecer um parâmetro comparativo entre a medida inicial e as demais obtidas durante a evolução do processo. Dessa forma, torna-se possível a determinação da taxa de contração da lesão (CARDINAL et al., 2009). A morfometria pode ser realizada pela medição direta da área da ferida durante exame físico ou necroscópico, ou ainda, por meio de exame ultrassonográfico, tomografia computadorizada, ressonância magnética e, mais atualmente, por meio da utilização de softwares de mensuração na projeção digital de imagens (RABELO et al., 2005; GUL et al., 2007; MENEZES et al., 2008).

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Experimental Animal da Universidade Estadual do Maranhão (CEEA/UEMA), apresentando o protocolo de Nº 18/2018 para uso de animais em pesquisa científica.

Foram utilizados 15 animais da espécie caprina, fêmeas, SRD, com idade variando de 12 a 48 meses, provenientes do rancho Bringel localizado no bairro Maracanã, na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão.

Os animais selecionados foram submetidos a um confinamento com o período de 60 dias, onde foi realizado o exame clínico, protocolo de vermiculação e diagnóstico

de gestação. O Volumoso disponibilizado para os animais era composto de Capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*) fornecidos picados em forrageiras, e capim estrela africana (*Cynodon Plectostachyus*), que era fornecido em cestos. Ao final do dia era disponibilizado em seus cochos uma mistura concentrada composta de 20% de farelo de soja, 15% de ureia, 19% de milho moído, 30% de sal comum e 15% de sal mineral.

Foram utilizados três tratamentos nas feridas com o intuito de compará-las, onde o primeiro grupo foi tratado com um fármaco que contém em sua composição alantoína 3,0g associada a óxido de zinco 3,0g em veículo q.s.p. 100g, o segundo grupo foi tratado com um fármaco composto de Cloreto de Lauril dimetil benzil amônio a 35% e o terceiro grupo foi tratado com uma solução salina a 0,9%.

Os animais foram distribuídos em três grupos experimentais de cinco animais, assim denominados:

- Grupo Alantoína (GA) – animais tratados com 1g de alantoína 3,0g associado a óxido de zinco 3,0g em veículo q.s.p. 100g.
- Grupo Pomada cicatrizante (GP) – animais tratados com 1g de pomada alopatíca a base de Cloreto de Lauril dimetil benzil amônio a 35%.
- Grupo Controle (GC) – animais tratados com 1,5 mL de solução salina a 0,9%.

Para a realização das feridas, os animais foram pesados, em seguida foi realizada tricotomia da fossa paralombar direita. O protocolo anestésico empregado foi anestesia local infiltrativa em L invertido com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstrictor na dose de 7mg/kg de peso vivo. Posteriormente foi realizada assepsia local com álcool iodado. Foi realizada a demarcação individual na fossa paralombar direita em cada animal e posteriormente foram efetuadas as incisões circulares com diâmetro de 2,5cm utilizando um bisturi. Durante o procedimento cirúrgico foi seguido rigorosamente a hemostasia da ferida com gaze estéril. Por fim, iniciou-se o tratamento tópico dos animais nos três grupos experimentais por 14 dias a cada 24 horas. As avaliações macroscópicas foram realizadas no 2º dia, 6º dia e 10º dia e 14º dia.

As feridas da fossa paralombar direita foram avaliadas macroscopicamente e mensuradas nos dias determinados até a reepitelização, perfazendo um total de 225 observações. Foram avaliados os seguintes aspectos: hemorragia (presente ou ausente), crosta (parcial ou total, exuberante ou não exuberante, seca ou com secreção); tecido de

granulação (presente ou ausente), tumefação, cor e crescimento de pelos na área adjacente à ferida e epitelização.

As áreas das feridas foram mensuradas diariamente e calculadas utilizando-se a fórmula , $A = \pi.R.r$ onde $\pi = 3,14$; R= raio maior da lesão; r=raio menor para quantificação da contração da área da ferida.

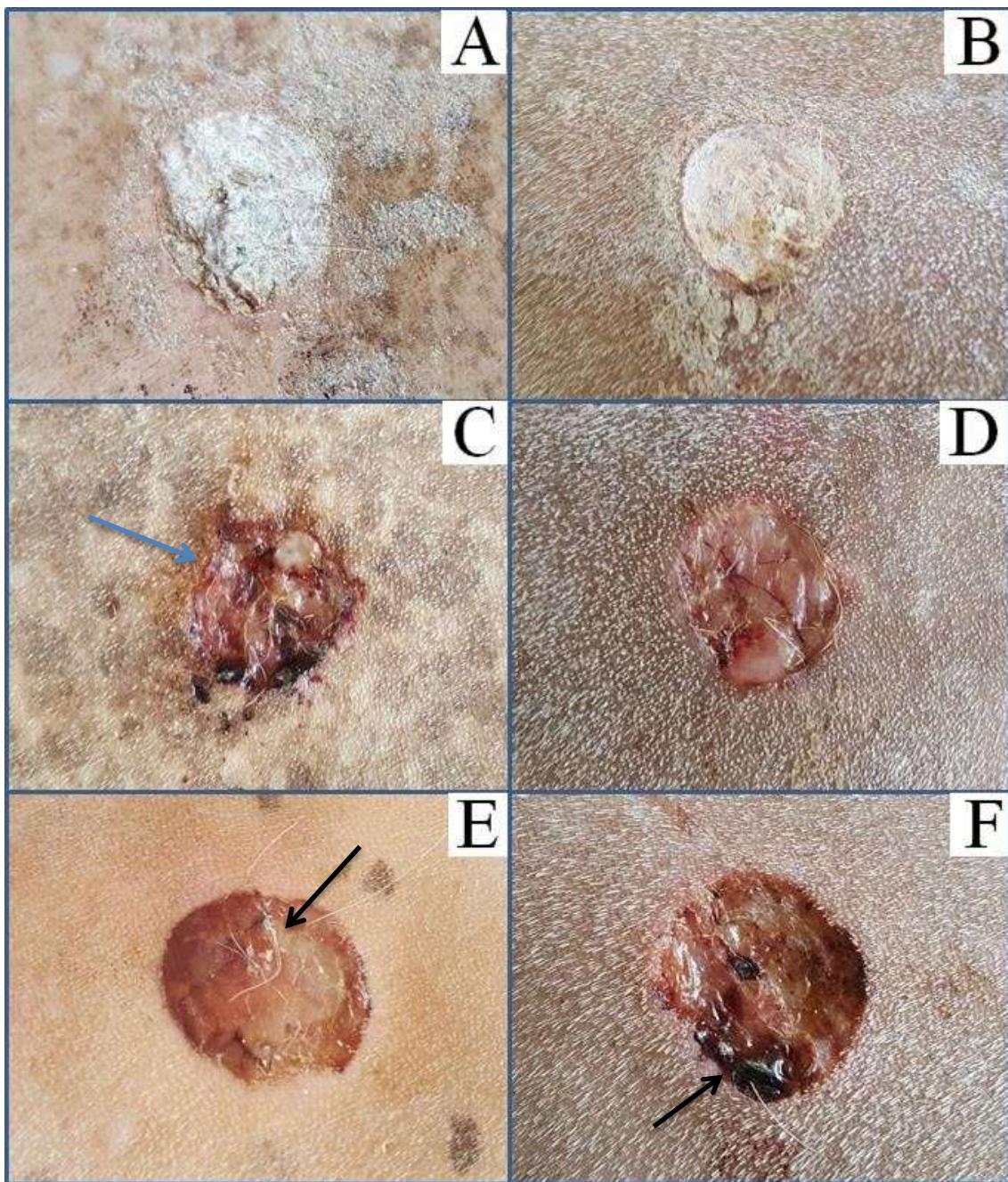
A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa Minitab 19, os gráficos foram gerados pelo programa Excel (Microsoft Office 2016) e o delineamento experimental foi em blocos casualizados. Foi realizado ainda teste de comparação de médias para as áreas mensuradas nos grupos experimentais e teste de T pareado com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADO

Na avaliação macroscópica observou-se que no 2º dia as características entre os três grupos obtiveram alguns resultados semelhantes. Os animais do grupo da alantoína (GA) apresentaram feridas com bordas regulares, ausência de exsudato e de pontos hemorrágicos, ausência de reepitelização e presença de crosta parcial como mostra a **figura 1** (A e B). As observações realizadas nas feridas dos animais no grupo da pomada evidenciaram bordas irregulares, com presença de pontos hemorrágicos, ausência de reepitelização e crosta parcial conforme a **figura 1** (C e D). Nas feridas cutâneas dos animais tratados no grupo controle observou-se a presença de crostas parciais, pontos hemorrágicos, ausência de exsudato e com bordas regulares **figura 1** (E e F). Os animais de todos os grupos não apresentaram edema, tumefação ou alteração na cor da pele nas proximidades da ferida.

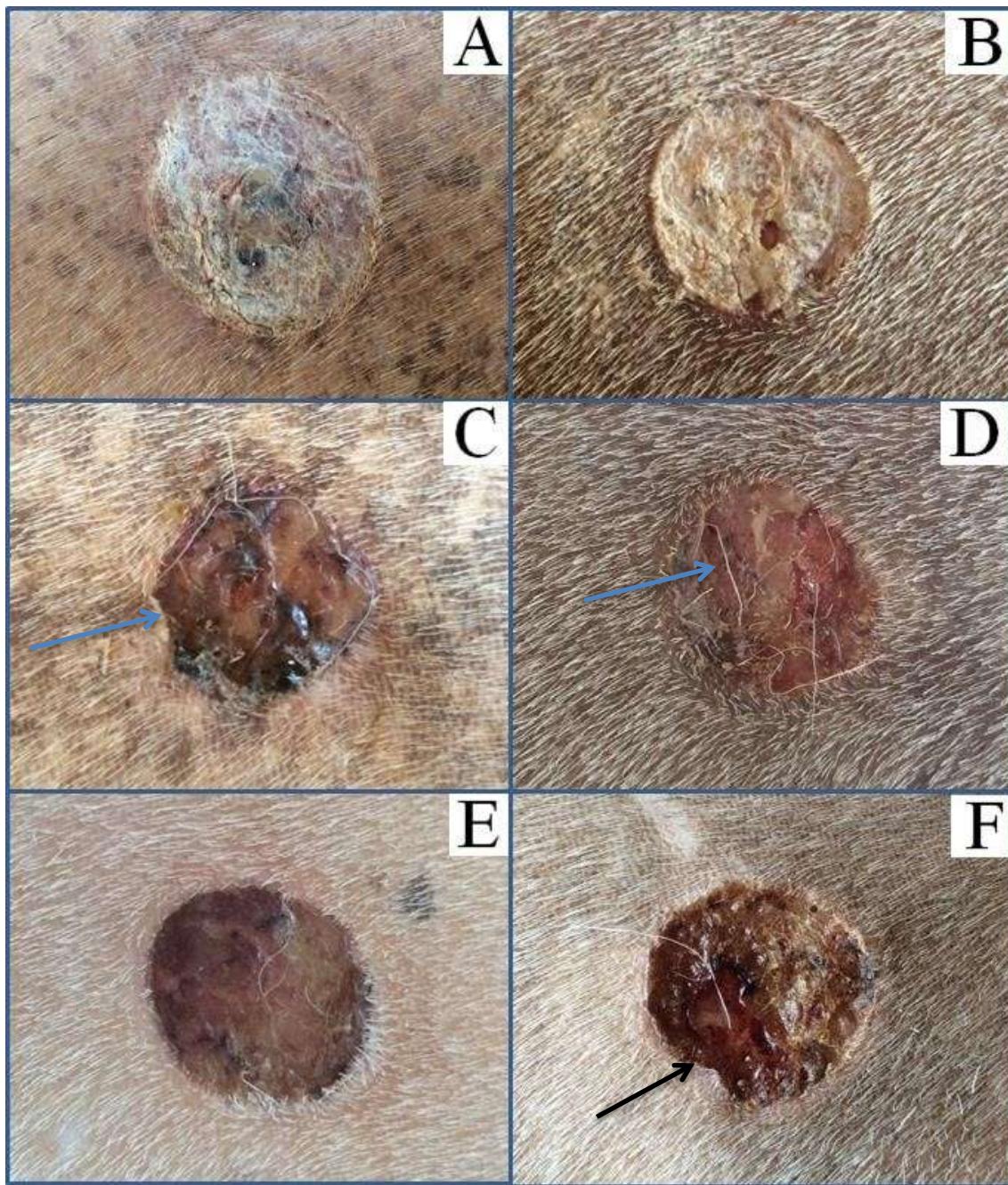
No 2º dia, o GA não apresentou corpos estranhos aderidos à superfície da ferida, havendo presença de pelos somente nos GP e GC. Em um animal foi notado a presença de pequenos fragmentos de resíduos proveniente do ambiente. Não houve presença de infecção ou traumas até o segundo dia do pós-operatório que pudessem prejudicar o processo de cicatrização, como pode ser observado na **figura 1**.

Figura 1 – Contração das feridas no 2º dia pós-operatório, dos grupos GA (A e B), GC (C e D) e GP (E e F).



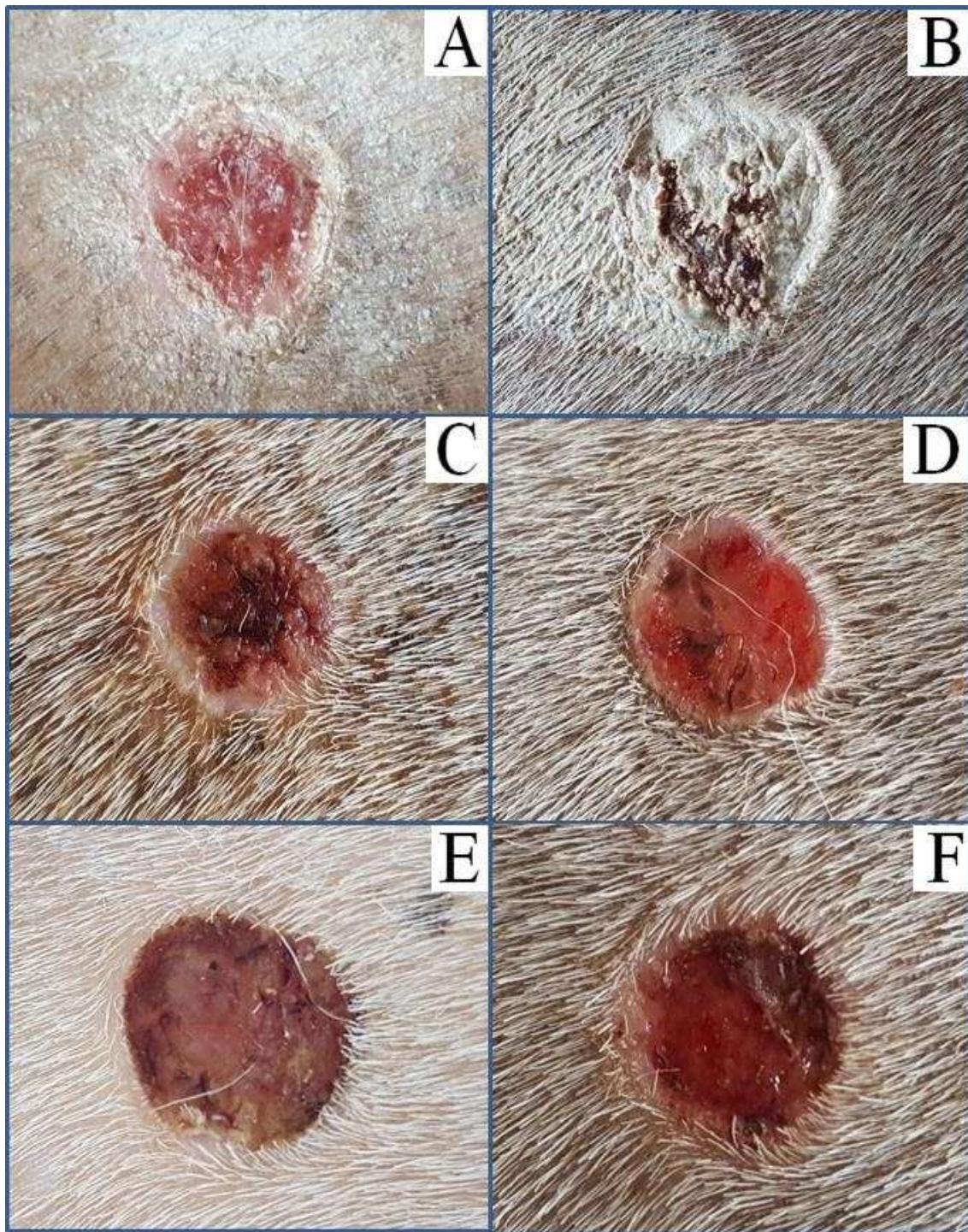
No 6º dia da avaliação do GA, as feridas permaneceram com as bordas regulares, ausência de pontos hemorrágicos e exsudatos **figura 2** (A e B). Os animais do GP apresentaram feridas com bordas irregulares, presença de pontos hemorrágicos e crostas parciais **figura 2** (C e D). No GC as feridas apresentaram-se com bordas regulares e com presença de crostas, ausência de exsudato e hemorragia **figura 2** (E e F). Observou-se também o crescimento de pelos ao redor das feridas.

Figura 2 – Contração das feridas no 6º dia pós-operatório, dos grupos GA (A e B), GC (C e D) e GP (E e F).



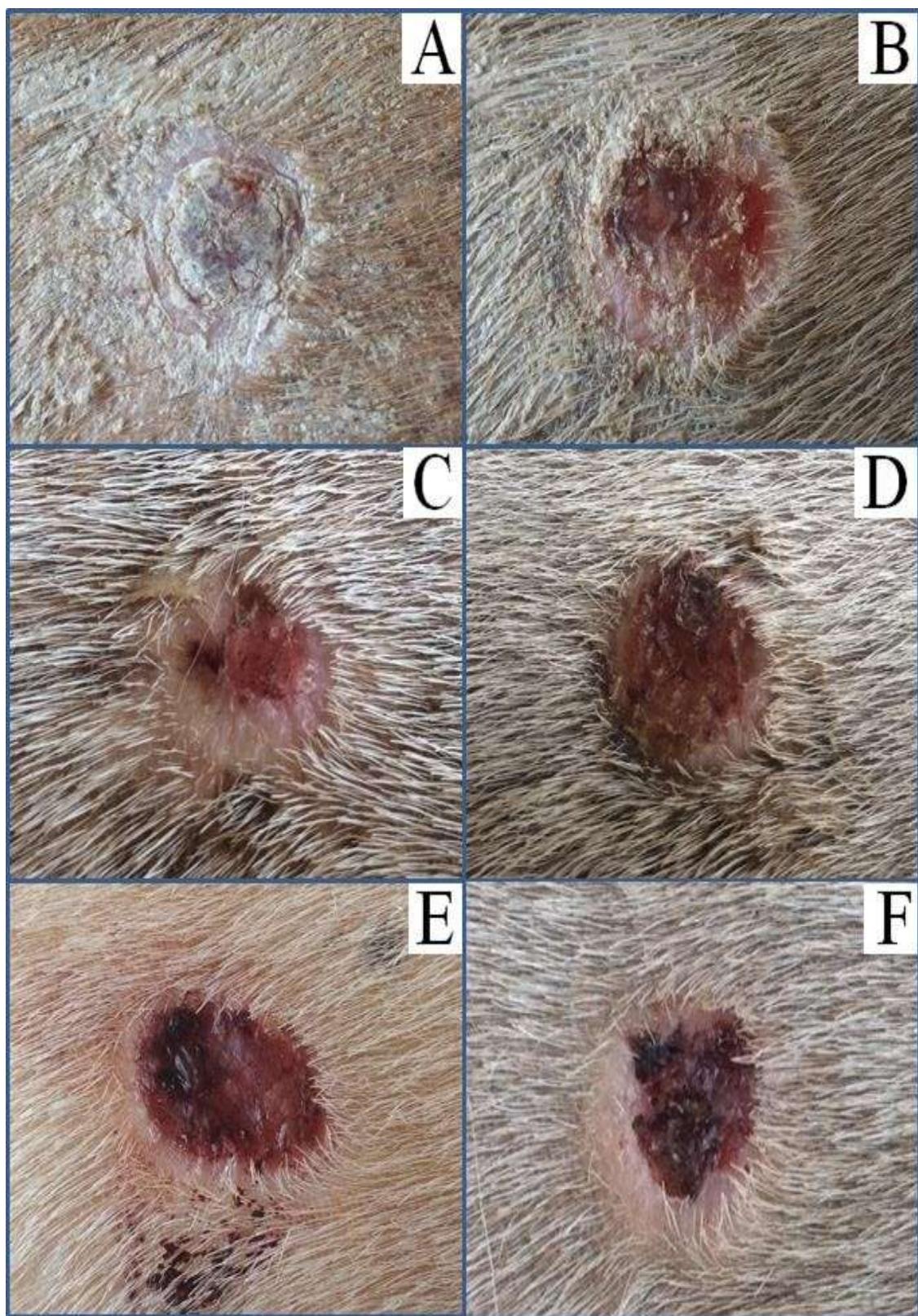
Ao 10º dia do pós-operatório, observou-se a diminuição das feridas no GA, com permanência da regularidade das bordas, aspecto avermelhado na superfície da lesão, ausência de corpos estranhos aderidos, exsudato e pontos hemorrágicos **figura 3** (A e B). Os GP e GC apresentaram lesões com aspecto avermelhado, presença de corpos estranhos e pontos hemorrágicos, ausência de exsudato, com dois animais de cada grupo apresentando bordas regulares e três animais apresentando bordas irregulares.

Figura 3 – Contração das feridas no 10º dia pós-operatório, dos grupos GA (A e B), GC (C e D) e GP (E e F).



No 14º dia notou-se que todos os animais do GA apresentaram reepitelização parcial, crostas totais, ausência de pontos hemorrágicos, exsudato e corpo estranho. Os animais dos grupos GC e GP apresentaram reepiteização parcial, presença de crosta exsudato e pontos hemorrágicos, bem como corpo estranho aderido a superfície da ferida conforme demonstrado na **figura 4**.

Figura 4 – Contração das feridas no 14º dia pós-operatório, dos grupos GA (A e B), GC (C e D) e GP (E e F).



Ao final das avaliações os animais do grupo controle diferente dos animais dos grupos alantoína e pomada, apresentaram sensibilidade excessiva nas proximidades das bordas das feridas no 2º, 6º e 10º dias.

Apenas dois dos cinco animais apresentaram formação de crostas no 2º dia de avaliação no GP, enquanto o GA apresentou três animais e o GC quatro. Do 6º ao 14º dia os animais do GA apresentaram um padrão homogêneo, com pouca variação individual na evolução da formação de crosta, ao mesmo tempo em que, o GC e GP apresentaram um bom padrão na produção de crostas, porém, com muita variação individual, como pode ser observado na **tabela 1**.

Tabela 1 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do Grupo Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GC), levando-se em consideração a formação de crostas no 2º, 6º, 10º e 14º dias do processo de cicatrização.

DIAS	ANIMAIS	FORMAÇÃO DE CROSTA		
		GA	GC	GP
2º DIA	1	++	++	+
	2	+	+	+
	3	+	++	+
	4	++	++	++
	5	++	++	++
6º DIA	1	++	++	+++
	2	++	++	+++
	3	++	+++	+++
	4	++	++	++
	5	++	++	++
10º DIA	1	+	++	+++
	2	++	+	+
	3	++	+++	+
	4	++	++	++
	5	++	++	+++
14º DIA	1	+++	+++	+++
	2	+++	+++	+++
	3	++	+++	+++
	4	+++	+++	+++
	5	+++	++	+

+ = sem crosta; ++ = crosta parcial (1/3 da ferida); +++ = crosta completa

A reepitelização das feridas se deu inicio a partir do 6º onde o GA destaca-se por apresentar um padrão homogêneo enquanto os demais grupos apresentam variações individuais quanto a essa característica, como observado na **tabela 2**.

Tabela 2 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do Grupo Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GC), levando-se em consideração a formação de crostas no 2º, 6º, 10º e 14º dias do processo de cicatrização.

DIAS	ANIMAIS	REEPITELIZAÇÃO		
		GA	GC	GP
2º DIA	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	4	+	+	+
	5	+	+	+
6º DIA	1	++	++	+
	2	++	+	++
	3	++	++	++
	4	++	+	++
	5	++	+	+
10º DIA	1	++	++	++
	2	++	++	++
	3	++	++	++
	4	++	++	++
	5	++	++	++
14º DIA	1	++	++	++
	2	++	++	++
	3	++	++	++
	4	++	++	++
	5	++	++	++

+ = sem reepitelização; ++ = reepitelização parcial (1/3 da ferida); +++ = reepitelização completa;

Tabela 3 - Média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos alantoína (GA), do grupo pomada (GP) e do grupo controle (GC) no 2º, 6º, 10º e 14º dia de evolução.

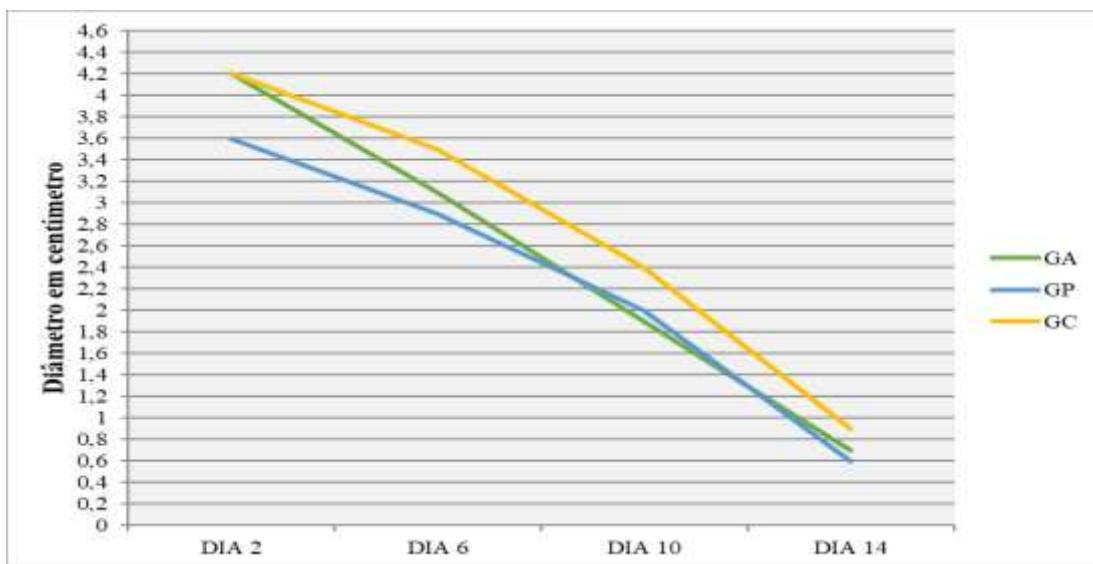
	GRUPOS	DIAS			
		2º	6º	10º	14º
Alantoína	Média	4,164 ^a	3,145 ^a	1,937 ^{ab}	0,736 ^a
	Desvio padrão	(0,439)	(0,367)	(0,326)	(0,1135)
Pomada	Média	3,576 ^a	2,873 ^a	2,024 ^a	0,573 ^a
	Desvio padrão	(0,666)	(0,364)	(0,468)	(0,281)
Controle	Média	4,2 ^a	3,501 ^a	2,357 ^a	0,895 ^a
	Desvio padrão	(1,062)	(0,943)	(1,052)	(0,470)

Valor de p<0,05

Média seguidas de letras diferentes entre colunas diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95% (p<0,05).

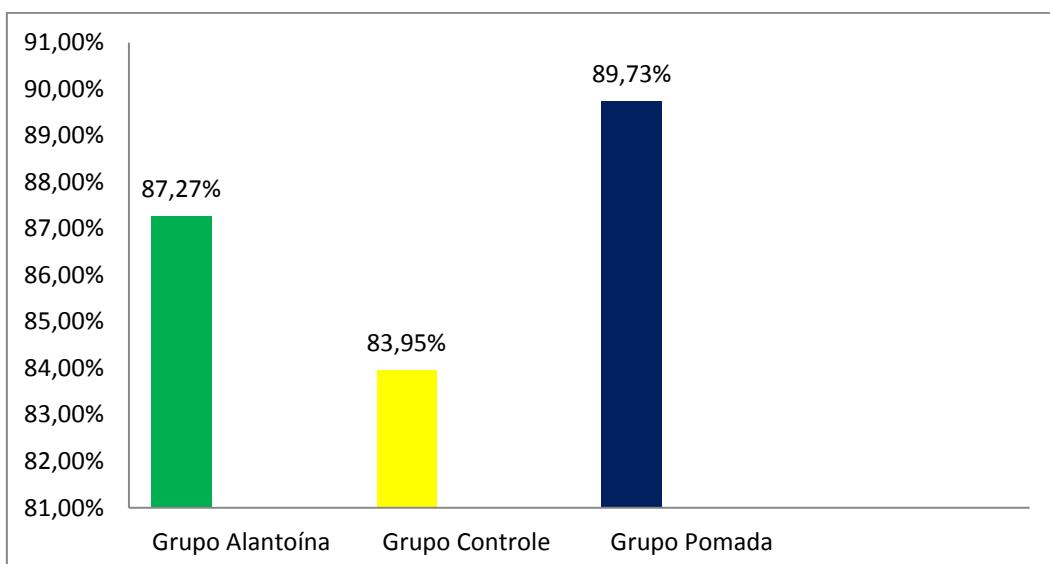
Podemos observar as diferenças médias em centímetros nas contrações mensuradas no 2º, 6º, 10º e 14º dias, dos três grupos experimentais, representadas na **figura 5**.

Figura 5. Gráfico da média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos Grupos Alantoína (GA), Grupo Pomada (GP) e Grupo Controle (GC) no 2º, 6º, 10º e 14º dia de evolução.



Com relação a contração média das feridas observou-se que o grupo tratado com alantoína, apresentou um valor de 87,27%, o grupo da pomada 89,73% e o grupo controle equivalente a 83,95%, conforme demonstrado na **Figura 6**.

Figura 6 – Gráfico do percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente após 14 dias de evolução na pele de caprinos, de acordo com o grupo experimental.



DISCUSSÃO

A utilização da alantoína para indução da cicatrização se fez bastante eficiente, de forma que apresentou características que pudessem repelir a presença de insetos, evitando possíveis parasitas que causassem algum prejuízo tecidual. Durante todo o experimento, os animais tratados com alantoína não apresentaram reações de incômodo, o que a campo vem a facilitar a promoção do manejo dos animais pelos criadores. De acordo com Carriconde (1997), a alantoína é responsável pelo efeito cicatrizante e adstringente, pois estimula a formação do tecido de granulação, tornando-o um produto de grande importância.

Em todos os grupos o processo de reepitelização ocorreu de forma centrípeta, no entanto, este processo foi mais acentuado nos grupos controle e pomada, causando o efeito irregular nas bordas das feridas, corroborando com os resultados de Van Wikle Júnior (1967) e Corsi (1994), segundo esses autores a contração da ferida na fase é caracterizada por um movimento centrípeto que tem sua força partindo das bordas no sentido centro da ferida, contribuindo para seu fechamento efetivo. Não se observou qualquer sinal de reação tecidual excessiva, porém observou-se desincômodo divergindo dos resultados relatados por Hedlund (2002).

No grupo alantoína as feridas encontravam-se recobertas por uma fina camada aderida que diminuía o contato com o meio externo, observou-se que essa característica foi responsável pela regularidade das bordas nas feridas desses animais e serviu também para potencializar o processo de fibroplasia que foi notado primeiramente neste grupo. Kent lloyd (1992) relatou que a baixa tensão de oxigênio e o acúmulo de fibrina no centro da lesão estimulam a multiplicação e migração centrípeta dos fibroblastos pela malha de fibrina, sugerindo que a alantoína favoreceu o processo de fibroplasia.

A formação das crostas nos grupos alantína, pomada e controle é explicada através do processo onde ocorre deposição de fibrina e restos leucocitários apresentando aspectos mais espessos. No grupo pomada e no grupo controle estas crostas apresentaram-se exuberantes sugerindo que a formação de fibrina possa ter formados matrizes de maior densidade que contribuiu para atrair polimorfonucleares principalmente neutrófilos para a área da lesão, processo semelhante foi descrito por Maldebaum (2003).

Com relação à redução da área da ferida, observaram-se resultados mais significativos em animais tratados com alantoína e pomada cicatrizante . No grupo GP observou-se um maior percentual médio de contração (87,27%) estes resultados podem ter ocorrido devido ao mecanismo de contração que juntamente com a epitelização, caracteriza a cicatrização, conforme descrito por Corsi et al. (1994) e Anderson (1996).

Com esses resultados através da observação macroscópica diária e a mensuração do halo das lesões a cada 4 dias, foi possível notar que a retração centrípeta foi beneficiada, nos primeiros dias, pelo tratamento com alantoína, seguido pelo tratamento com a pomada alopática.

Estaticamente falando, os animais tratados com alantoína apresentaram resultados semelhantes aos tratados com a pomada em relação aos aspectos macroscópico, sendo que a alantoína apresentou melhores resultados na fase inflamatória e de modelação e a maior média de contração das feridas foi observada no grupo pomada.

CONCLUSÃO

Macroscopicamente a alantoína em relação aos demais grupos experimentais apresentou efeito cicatricial satisfatório, podendo ser indicada como alternativa no tratamento de feridas cutâneas em caprinos. A alantoína se destacou por apresentar boa adesão à lesão cutânea do animal devido a sua forma farmacêutica, propriedade repelente, indução da formação de crostas e capacidade de reepitelização do tecido.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. **Practice March**, v.18, p. 115- 128, 1996.
- CARDINAL, M.; EISENBUD, D.E.; ARMSTRONG, D.G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Denmark, v.17, p.173-178, 2009.
- CARRICONDE, C. Confrei. *Symphytum officinale L. De Volta às Raízes*, v. 12, n. 63, p. 13, 6-8, 1997.
- CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v. 84, p. 17-24, 1994.
- FONTANA, C. Fisiologia da cicatrização de feridas. **Patologia clínica**, v.1, n.1, p.3-32, 1996.
- GRINNEL, F.; BILLIGHIAM, R.E.; BURGESS, L. Distribuition of fibronectin during wound healing in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 76, p.181-189, 1981
- HEDLUND, C.S. Cirurgia do sistema tegumentar. In: Fossum T.W. (ed.). *Cirurgia de Pequenos Animais*. Roca, São Paulo. p.121-148, 2002.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-415. 2003.

Paixão, S. F. Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 2008.

PHILIPS, L.G. Cicatrização de feridas. In: SABISTON, D.C. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. Brasil: Guanabara Koogan. p.139-153, 2002.

SINGER, A.J.; CLARK, R.A.F. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. **Neural Engineering Journal Medical**, 34, p.378-46, 1999.

TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v.29, n.2, p.297-303, 1999.

VAN WINKLE JR., W. Wound contraction. **Surgery Gynecology Obstetrícia.**, v.125, p.131-42, 1967.

ARTIGO 2

Avaliação miacroscópica de feridas induzidas experimentalmente em caprinos

Macroscopic evaluation of experimentally induced wounds in goats

Leandro Henrique Veiga de SOUSA²; Helder de Moraes PEREIRA³

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar o efeito cicatrizante da alantoína em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos, e apresenta como objetivo específico avaliar o tempo de cicatrização em feridas tratadas com alantoína, feridas tratadas com solução salina a 0,9% e pomada cicatrizante constituída de Cloreto de laurildimetylbenzil amônio a 35%, bem como, Quantificar o colágeno tecidual durante o processo de cicatrização em diferentes tempos. Foram utilizados 15 animais da espécie caprina, fêmeas, SRD, com idade variando de 12 a 48 meses. Para a realização das feridas, os animais foram pesados, em seguida foi realizada tricotomia da fossa paralombar direita. O protocolo anestésico empregado foi anestesia local infiltrativa em L invertido com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstrictor. Quanto à quantificação das fibras de colágeno realizada no pós-operatório, os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos alantoína (GA), pomada (GP) e controle (GC) no 2º, 6º e 10º, mas no 14º dia houve diferença estatística. Foi observado o aumento da deposição destas fibras em todos os grupos avaliados, especialmente do 2º ao 6º dia, com consecutiva diminuição nos grupos GP e GC do 10º ao 14º dia. Microscopicamente a alantoína em relação aos demais grupos experimentais apresentou efeito cicatricial satisfatório, podendo ser indicada como alternativa no tratamento de feridas cutâneas em caprinos. A alantoína se destacou por estimular a produção de fibras colágeno, acelerar o crescimento de tecido conjuntivo e promover a reepitelização.

Palavras chave: Caprino. Ferida. Cicatrização. Alantoína. Picrossirius Red.

ABSTRACT

The aim of the present study is to evaluate the healing effect of allantoin in experimentally induced goats skin wounds, and its specific objective is to evaluate the healing time in allantoin treated wounds, 0.9% saline treated wounds and healing ointment. It consists of 35% lauryl dimethylbenzyl ammonium chloride as well as, Quantify tissue collagen during the healing process at different times. Fifteen female SRD goats were used, ranging in age from 12 to 48 months. For the accomplishment of the wounds, the animals were weighed, then was performed trichotomy of the right paralumbar fossa. The anesthetic protocol employed was local L-infiltrated reverse anesthesia with 2% lidocaine hydrochloride with vasoconstrictor. Regarding the quantification of collagen fibers performed postoperatively, the results showed that

there was no statistical difference between the allantoin (GA), ointment (GP) and control (CG) groups on the 2nd, 6th and 10th, but on the 14th day statistical difference. Increased deposition of these fibers was observed in all groups evaluated, especially from the 2nd to the 6th day, with consecutive decrease in the GP and CG groups from the 10th to the 14th day. Microscopically, allantoin in relation to the other experimental groups presented satisfactory healing effect and may be indicated as an alternative in the treatment of goats skin wounds. Allantoin stood out for stimulating collagen fiber production, accelerating connective tissue growth and promoting reepithelialization.

Keywords: Caprine. Wound. Healing. Allantoin Picrossirius Red

INTRODUÇÃO

As peles dos caprinos apresentam boa cotação no mercado externo, pois se caracterizam pela grande resistência, flexibilidade e pela beleza, sendo utilizadas para vestuário, calçados e luvas. (BARROS & SIMPLÍCIO, 2001). Porém, devido seus hábitos e manejos empregados, esses animais são submetidos constantemente a situações que ameacem a integridade de sua pele. Esses traumatismos desencadeiam soluções de continuidade com perdas de tecidos, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional (FRANCO ET ALL., 2013). Alguns tipos de lesões exigem tratamento especializado para se obter retorno funcional e anatômico da região. A extensão da perda cutânea dificulta ou até mesmo impossibilita a aproximação das bordas, ocorrendo a cicatrização por segunda intenção, que é um processo mais lento, produzindo muitas vezes cicatrizes extensas, retracção cicatricial e elevação do custo do tratamento (SANTOS ET ALL., 2007).

A cicatrização é definida como um processo que ocorre logo após a lesão de um tecido e o mesmo é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (PANOBIANCO ET AL., 2012). Para que ocorra a cicatrização um conjunto de eventos físicos e bioquímicos ocorrem com o intuito de reparar o dano (PAGANELA ET AL., 2009). A expressão reparação tecidual é usada para descrever o processo de restauração de uma perda tecidual, onde esta falha será recoberta por tecidoconjuntivo cicatricial (FOWLER, 1999)Os eventos que desencadeiam a cicatrização são dependentes de mediadores bioquímicos, descritos em diferentes fases, que correspondem aos principais episódios observados em determinado período de tempo (LIMA ET AL., 2012).

As etapas do processo de reparação tecidual são divididas em fases e, apesar de não possuírem limites muito distintos, sobrepõem-se em relação ao tempo, caracterizadas pela hemostasia; fase inflamatória; formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular e, por conseguinte, a remodelação (BRANSKI et al., 2005; SHIMIZU, 2005; MENDONÇA et al., 2006; ROCHA JÚNIOR et al., 2006).

Os fenômenos hemostáticos se iniciam logo após a ferida ser formada, ocorrendo inicialmente uma vasoconstrição mediada por prostraglandinas, epinefrina e norepinefrina e dentro de 5 a 10 minutos há um aumento da permeabilidade vascular que causam os primeiros sinais da inflamação: dor, calor, rubor e edema (BALSA & CULP, 2015). A agregação plaquetária permite a formação de uma cobertura primária composta por fibrina que reestabelece a homeostase e fornece um ambiente para que as

plaquetas secretam fatores de crescimento (FCs), citocinas e elementos da matriz extracelular (MEC) (Dário, 2008).

A fase inflamatória da cicatrização, considerada por outros autores como fase de desbridamento (BALSA & CULP, 2015), é caracterizada basicamente pela presença de células inflamatórias no tecido cicatricial (NETO, 2003). O processo de inflamação caracteriza-se por migração celular intensificada, como leucócitos e polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos (MANDELBAUM ET AL., 2003). Os monócitos, que se transformam em macrófagos em resposta à matriz extracelular, são essenciais para o processo de cicatrização, pois, são responsáveis por sintetizar e secretar fatores de crescimento para formação e remodelação do tecido (BALSA & CULP, 2015). Segundo Balsa e Culp (2015), a fase de reparo compõe-se de três processos distintos: a fibroplasia, angiogênese e epitelização.

Durante a maturação das fibras, o conteúdo de proteoglicano altera-se, ocorre desidratação e o número de ligações cruzadas bem como o diâmetro das fibras de colágeno aumenta, que leva ao incremento da birrefringência. Assim, as fibras de colágeno tipo I jovens, muito finas, com birrefringência fraca, aparecem em cor verde, e as fibras colágenas tipo III tornam-se avermelhadas em um estágio mais maduro Szendrői, et al, (1984). Atualmente, diversas pesquisas têm avaliado os fatores que podem acelerar ou retardar a fisiopatologia da cicatrização em virtude de sua importância na reabilitação funcional e no quesito estético do animal (VITORINO FILHO, 2011; BARRETO, 2011). Nesse contexto, é comum a administração de fármacos que auxiliam o processo de cicatrização, seja na atrofia do tecido de granulação ou aumento na força de contração (BALSA & CULP, 2015).

A alantoína tem sido largamente citada na literatura por inúmeras propriedades farmacológicas, como atividade anti-irritativa, anti-inflamatória (RODE, 2002), estimulação da atividade mitótica, dentre outros (ARAÚJO et al., 2010), incluindo cicatrização de feridas (TOLEDO et al., 2003). Além disso, a alantoína é a base de produtos cicatrizantes rotineiramente utilizados nas fazendas apesar de possuir prescrição terapêutica apenas para equinos e cães e gatos. No entanto, pouco se sabe sobre as propriedades cicatrizantes da alantoína para o tratamento de feridas em pequenos ruminantes, apesar de ser utilizada com esta finalidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Experimental Animal da Universidade Estadual do Maranhão (CEEA/UEMA), apresentando o protocolo de N° 18/2018 para uso de animais em pesquisa científica. Sua realização aconteceu na propriedade Bringel, localizada no bairro Maracanã, na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão.

Foram utilizados 15 animais da espécie caprina, fêmeas, SRD, com idade variando de 12 a 48 meses. Estes foram mantidos por 60 dias em confinamento antes do inicio do experimento, e foram submetidos a exame clínico, protocolo de vermifugação e diagnóstico de gestação.

A alimentação disponibilizada para os animais era composta por Capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*) fornecidos picados em forrageiras, e capim estrela africana (*Cynodon Plectostachyus*), que era fornecido em cestos. Ao final do dia era disponibilizada aos animais em seus cochos uma mistura concentrada composta de 20% de farelo de soja, 15% de ureia, 19% de milho moído, 30% de sal comum e 15% de sal mineral.

Para o tratamento das feridas foi utilizado um produto comercial a base de alantoína 3,0g associada a óxido de zinco 3,0g e veículo q.s.p. 100g, outro produto com Cloreto de Lauril dimetil benzil amônio a 35% como principal princípio ativo e solução salina a 0,9%. Os animais foram distribuídos em três grupos experimentais de cinco animais, assim denominados:

- Grupo Controle (GC) – animais tratados com 1,5 mL de solução salina a 0,9%.
- Grupo Alantoína (GA) – animais tratados com 1g de alantoína.
- Grupo Pomada cicatrizante (GP) – animais tratados com 1g de pomada alopática.

Para a realização das feridas, os animais foram pesados, em seguida foi realizada tricotomia da fossa paralombar esquerda. O protocolo anestésico empregado foi anestesia local infiltrativa em L invertido com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstrictor na dose de 7mg/kg de peso vivo. Posteriormente foi realizada assepsia local com álcool iodado. Foi realizada a demarcação individual na fossa paralombar esquerda em cada animal e posteriormente foram efetuadas as incisões circulares com diâmetro de 2,5cm utilizando um bisturi. Durante o procedimento cirúrgico foi seguido rigorosamente a hemostasia da ferida com gaze estéril. Por fim, iniciou-se o tratamento

tópico nos animais nos três grupos experimentais por 14 dias a cada 24 horas. As avaliações microscópicas foram realizadas no 2º dia, 6º dia e 10º dia e 14º dia, onde foram retirados segmentos de pele com margem de 0,8 cm² do bordo da ferida utilizando um punch dermatológico com o auxílio de bisturi e conservados em coletores contendo solução de formol a 10% por um período de 24h. Após a fixação, os segmentos foram desidratados em solução de álcool a 70%.

Os segmentos de pele foram inseridos em cassetes histológicos e desidratados em soluções crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90%, álcool absoluto I e II) e, em seguida, diafanizados em xanol e incluídos em parafina histológica. Os cortes histológicos foram realizados a 5µm de espessura em micrótomo rotativo Leica RM2125 RTS e, posteriormente, as lâminas foram coradas em Hematoxilina de Weigert e Eosina (HE) para análise morfológica e coradas pela solução de Picrosírus Red (Sirius Red + Ácido pícrico) (Montes e Junqueira, 1991) para análise morfométrica das fibras colágenas.

As lâminas coradas em HE foram avaliadas através de um analisador de imagem computadorizado Leica Qwin D-1000, versão 4.1 (Cambrigde, UK) do laboratório de Cultura Celular do Centro de Ciências Agrárias/Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), selecionando 10 campos de 5.900µm² /lâmina. Para a análise morfométrica das fibras colágenas, foi utilizado o processador de imagem Image J, com o distribuidor FIJI, versão Madison, com base na densidade das fibras de colágeno.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados. Realizou-se ainda teste de comparação de médias para as áreas mensuradas nos grupos experimentais, por meio do teste de T pareados com intervalo de confiança de 95%. Todas as análises foram avaliadas através do Software Minitab versão 2019.

RESULTADOS

Morfologicamente, em relação ao número de neutrófilos que é um componente característico da fase inflamatória, o grupo controle apresentou maior quantidade em comparação com o grupo da pomada cicatrizante e grupo alantoína, conforme a **tabela 4**. No entanto, com a progressão dos dias do processo cicatricial, a quantidade de neutrófilos no grupo da alantoína foi reduzida. O grupo da pomada cicatrizante e o grupo controle também obtiveram variações na sua quantidade de neutrófilos.

Observou-se que a partir do 6º dia de avaliação, o processo de proliferação fibroblástica encontrava-se de forma acentuada nos grupos da alantoína e da pomada

cicatrizante, indicando que ambas são capazes de estimular a produção de fibroblastos, característica da fase de fibroplasia, ao passo que a quantidade avaliada no grupo controle foi inferior aos outros dois grupos.

Em relação à neoformação capilar, o grupo da alantoína foi o único a apresentar quantidade moderada no 14º dia pós-operatório.

Foi observada a presença de hemorragia no grupo controle e da pomada cicatrizante, em todos os dias de avaliação.

A reepitelização ocorreu de forma moderada na maior parte dos dias avaliados no grupo da alantoína, permanecendo constante com pouca variação dentro do grupo. Nos grupos controle e grupo da pomada cicatrizante, a reepitelização apresentada demonstra que houve grande variação individual durante o processo cicatricial.

Em todos os dias de avaliação, o grupo controle e da pomada cicatrizante, apresentaram quantidade moderada de edema, ao mesmo tempo em que, tal componente microscópico não foi observado no grupo da alantoína.

Após avaliação qualitativa não paramétrica constatou-se que não houve diferença estatística entre os grupos sobre os critérios avaliados, mas, observou-se maior proliferação fibroblástica e reepitelização nos grupos da alantoína (GA) e no grupo da pomada (GP)

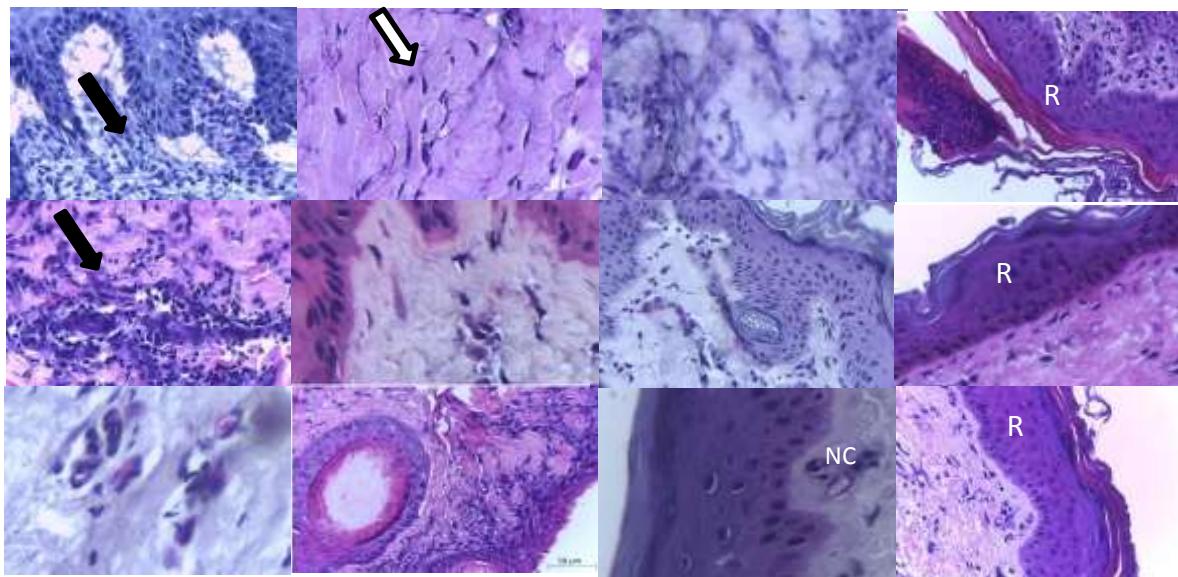
Tabela 4: Média por grupo das características qualitativas das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos no 2º, 6º, 10º e 14º dias de avaliação.

Grupos / dias	Neutrófilos		Macrófagos		Congestão	Edema	Proliferação	Neoformação	Reepitelização	Hemorragia
	Vascular	Fibroblástica						Capilar		
GA2	++	+	+	+	++	+	++	++	+	
GA6	++	+	+	+	+++	+	+++	+++	+	
GA10	++	+	+	+	++	+	++	++	+	
GA14	+	+	++	+	+++	++	++	++	+	
GC2	+	+	+	+	++	+	+	+	++	
GC6	++	+	+	+	+	+	++	++	+++	
GC10	++	+	+	++	++	+	+	+	++	
GC14	+++	+	+	+	++	+	+++	+++	++	
GP2	+	+	+	++	++	+	+	+	++	
GP6	+	+	+	++	+++	+	+++	+++	++	
GP10	++	+	+	++	++	+	+	+	++	
GP14	++	+	+	+	+++	+	+++	+++	++	

+ = Ausência; ++ = Não acentuada/moderada; +++ = Acentuada/completa

Com relação ao número de macrófagos, observou-se ausência ou quantidade não significativa destas células do 2º ao 14º dia de avaliação nos três grupos experimentais.

Figura 7: Fotomicrografia de pele caprina no 2º, 6º, 10º e 14º dia pós-operatório nos três grupos analisados (GA, GC e GP). As lesões cutâneas evidenciam neutrófilos (seta preta); congestão vascular (CV); proliferação de fibroblastos (seta branca); neovascularização capilar (NC); reepitelização (RE);



Quanto à quantificação das fibras de colágeno realizada no pós-operatório, os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos alantoína (GA), pomada (GP) e controle (GC) no 2º, 6º e 10º, mas no 14º dia houve diferença estatística. Foi observado o aumento da deposição destas fibras em todos os grupos avaliados, especialmente do 2º ao 6º dia, com consecutiva diminuição nos grupos GP e GC do 10º ao 14º dia, conforme a Tabela 5.

Observou-se que as médias de colágeno no grupo da alantoína (GA) apresentaram valores maiores que as médias do grupo controle (GC) e grupo da pomada (GP) nos quatro dias de avaliação e, que, apesar da diminuição destas fibras no 10º, as médias do grupo da alantoína (GA) mantiveram-se maiores em comparação aos outros dois grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos alantoína (GA), controle (GC) e pomada (GP) no 2º, 6º, 10º e 14º dia pós-operatório.

Dias		Grupos		
		GA	GC	GP
2º Dia	Média	40,84 ^a (10,49)	29,61 ^a (1,14)	35,67 ^a (8,90)
	Desvio Padrão			
6º Dia	Média	51,85 ^a (8,66)	33,84 ^a (19,66)	37,05 ^a (7,9)
	Desvio Padrão			
10º Dia	Média	49,55 ^a (17,21)	25,99 ^a (14,40)	29,23 ^a (10,32)
	Desvio Padrão			
14º Dia	Média	61,72 ^a (17,81)	13,66 ^b (13,66)	35,62 ^{ab} (11,55)
	Desvio Padrão			

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente com intervalos de confiança de 95% ($p<0,05$).

Figura 8 - Gráfico da média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos Alantoína (GA), grupo Controle (GC) e grupo Pomada (GP) no 2º, 6º, 10º e 14º dias pós-operatório.

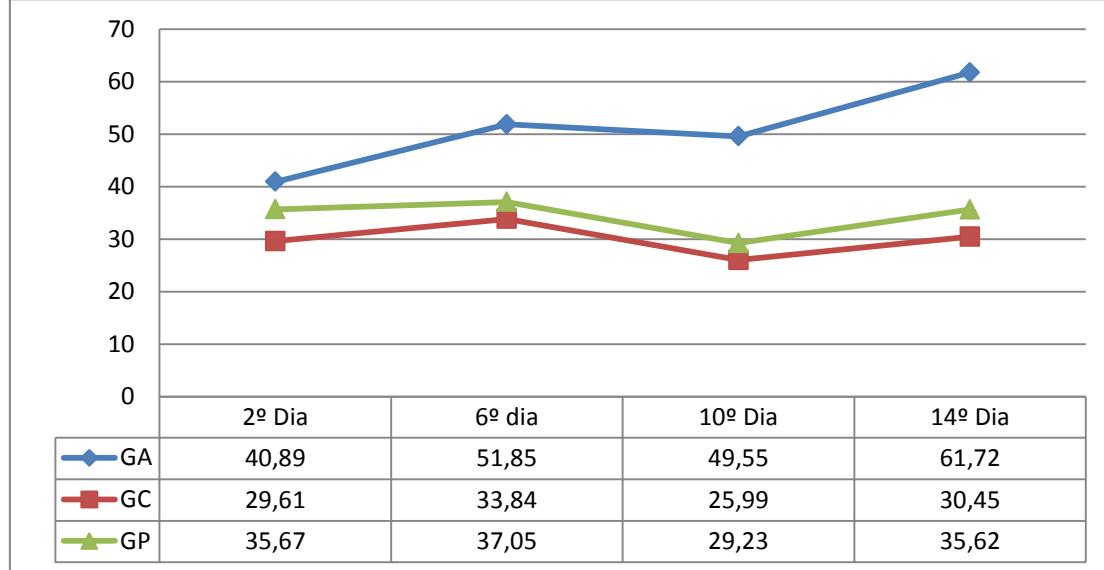
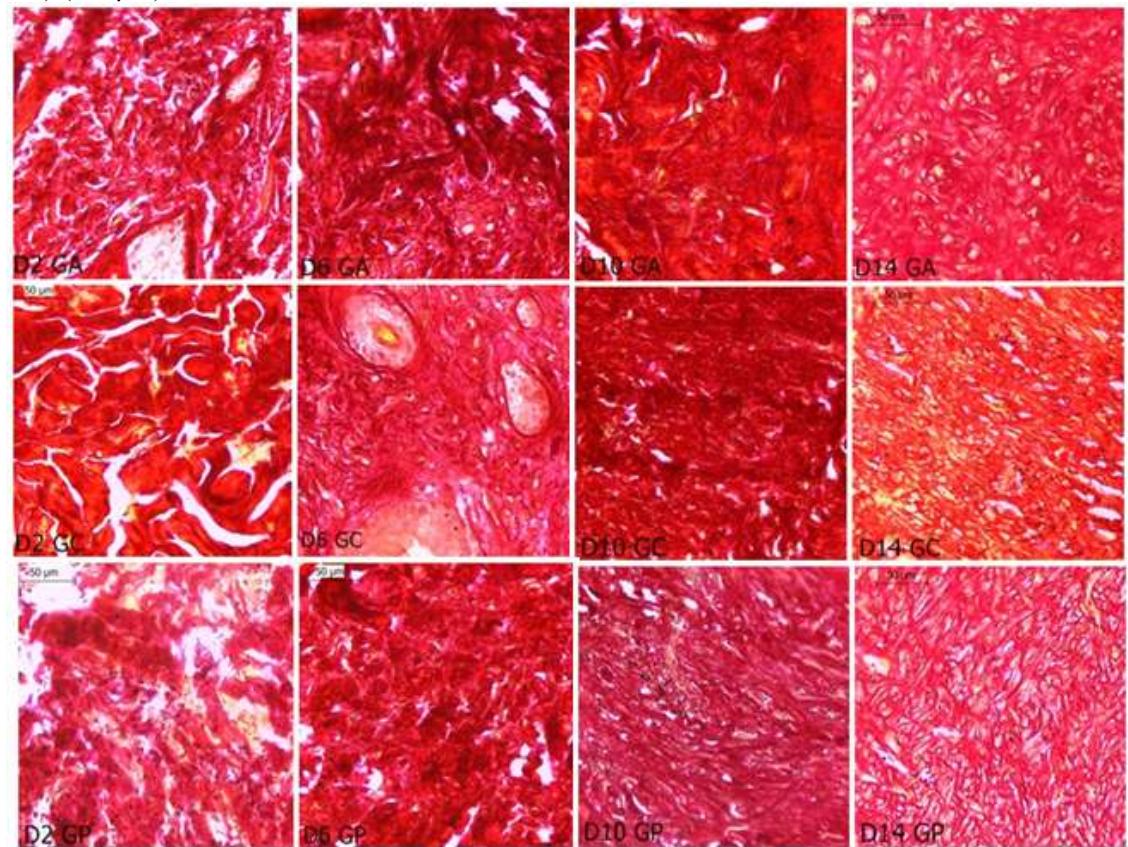


Figura 9 - Fotomicrografia da pele de caprino onde se observa a disposição e quantidade de fibras colágenas quantificadas no 2º, 6º e 10º dias, nos três grupos experimentais (GC; GG e GP) (200 μ m).



DISCUSSÃO

Para testar o efeito cicatricial da alantoína a espécie escolhida foi a caprina, sendo os animais S.R.D, levando-se em consideração que são animais que estão propícios à lesões na pele, devido seus hábitos e ao sistema de produção a qual são submetidos, podem adquirirem feridas abertas, segundo Tenório et al. (1999).

A quantificação de neutrófilos demonstrou que a presença de neutrófilos nos três grupos experimentais nos dias iniciais evidenciam uma resposta inflamatória aguda, processo semelhante foi descrito por Corsi et al. (1994) e Curi et al. (2005). A presença de neutrófilos se faz importante dada a sua função fagocitária na remoção de células e agentes infecciosos.

Além disso, a avaliação histológica revelou que as feridas dos animais dos três grupos apresentaram característica de respostas inflamatória aguda caracterizada pela presença de células polimorfonucleares, congestão vascular e edema, semelhantes aos descritos por Corsi et al, (1994) e Malbebaum et al. (2003).

Observou-se uma redução constante no número de neutrófilos no grupo da alantoína, ao contrário do observado no grupo controle e da pomada. Esses resultados podem indicar que o grupo da alantoína apresentou uma resposta inflamatória menor que os demais grupos, corroborando com os resultados encontrados por Rahal et al. (2003) e Potmes et al. (1997). De acordo com Maldebaum et al. (2003), a apresentação de uma fase inflamatória prolongada retarda o processo de cicatrização.

Segundo Curi et al. (2005) e Maldebaum et al. (2003), com o surgimento de células polimorfonucleares, seguindo do surgimento de células mononucleares, indica que o processo cicatricial evoluiu da fase inflamatória para a fase de proliferação.

Os macrófagos, ao contrário do papel desempenhado pelos neutrófilos, são os elementos mais críticos nesse processo, pois caracterizam a regressão da inflamação e iniciam a fase proliferativa da cicatrização, segundo Clark (1996) e Di Pietro (1995).

Foi observado que do 10º ao 14º dia pós-operatório a quantidade de fibroblastos aumentou significativamente no grupo da alantoína e da pomada, demonstrando que o processo se encontrava na fase proliferativa. Segundo Grinnel et al.(1981) Guildli Neto (1992); Franco et al., (2003); Eckersley e Dudley(1988), essa fase é caracterizada pela presença de macrófagos, fibroblastos e formação de novos vasos, que constituem o tecido de granulação.

Além da presença acentuada de fibroblastos, o grupo da alantoína apresentou valores médios de deposição de fibras colágenas superiores em comparação com os grupos controle e da pomada em todos os dias avaliados. Esses resultados sugerem que, além do processo cicatricial se encontrar na fase de maturação, a deposição dessas fibras na matriz extracelular propiciou a reepitelização das feridas, visto que a migração epitelial é guiada pelas fibras de colágenos (HEDLUND, 2007; PAVLETIC, 2010). Esses resultados foram similares aos encontrados por Araújo et al. (2010), ao avaliar a eficácia da alantoína na cicatrização de feridas em ratos e por Jorge et al. (2008).

A grande quantidade de deposição de fibras colágenas promovida pela alantoína evidencia seu potencial de estimular a síntese da matriz extracelular, acelerar o crescimento de tecido conjuntivo e promover a reepitelização das feridas, conforme descrito por Fedosov et al. (2017). Araujo et al., (2010) relata que ação cicatricial da alantoína se dá através da resposta à regulação de células inflamatórias por inibição da quimiotaxia de células imunes na área da ferida, estimulação da proliferação de fibroblastos e síntese da matriz extracelular, este dado corrobora com os encontrados no presente estudo.

A alantoína possui indicação terapêutica relatada na literatura para cicatrização de feridas em cães, gatos e equinos e, apesar de ser largamente utilizada a campo em ruminantes, não foram encontrados trabalhos sobre o seu efeito cicatrizante em feridas cutâneas em caprinos.

CONCLUSÃO

Microscopicamente a alantoína em relação aos demais grupos experimentais apresentou efeito cicatricial satisfatório, podendo ser indicada como alternativa no tratamento de feridas cutâneas em caprinos. A alantoína se destacou por estimular a produção de fibras colágeno, acelerar o crescimento de tecido conjuntivo e promover a reepitelização.

REFERÊNCIA

- ARAÚJO, L. U. et al. Perfil do processo de cicatrização induzido pela alantoína. **Acta Cirúrgica Brasileira** – Vol. 25 (5) 460, 2010.
- A.S. Durmus, M. Yaman, H.N. Can **Effects of extractum cepae, heparin, allantoin gel and silver sulfadiazine on burn wound healing: an experimental study in a rat model** Veterinarski Medicina, 57, 2012 (6): 287–292.
- BARRETO, F. M. **Uso do gel mucilaginoso das folhas de Aloe vera L. na terapêutica de feridas cutâneas aspectos clínicos e histológicos**. Teresina; 115f. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI; 2011.
- CLARK, R. S. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. **Am. J. Méd. Sci.**, v. 306, p. 42- 48, 1993.
- CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v. 84, p. 17-24, 1994.
- CURI, R.; PEREIRA, L.M.; BALBINO, C. A. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 1, p. 27-46, 2005.
- DI PIETRO, L.A. Wound healing: the role of macrophage and other immune cells. **Shock**, v. 4, p. 233-40, 1995.
- ECHERSLEY, J.R.; DUDLEY, H.A.F. Wound and wound healing. **British Medical Bulletin**, v. 44, n. 2, p. 423-436, 1988.
- Fedosov P.A., Nikolaevsky V.A., Chernov Y.N., Buzlama A.V., Slivkin A.I., Provotorova S.I. **Preclinical study of the efficacy and safety of wound healing gel containing chitosan, taurine and allantoin**. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. Vol. 3, №2 (2017): 14-28
- FONTANA, C. Fisiologia da cicatrização de feridas. **Patologia clínica**, v.1, n.1, p.3-32, 1996.
- GRINNEL, F.; BILLIGHIAM, R.E.; BURGESS, L. Distribuition of fibronectin during wound healing in vivo. **J. invest. Dermatol.**, v. 76, p.181-189, 1981.
- GUIDUGLI NETO, J. The effect of rottgen radition of the capillary sprontsonal profissional loops of granulation tissue II: ultrastrusal aspects. **Rev. Odontolog.** v. 6, p. 66-71, 1992.
- HEDLUND, C. S. Surgery of the integumentary System. In: FOSSUM, T. W. **Small animal surgery**. 3 ed. Missouri: Mosby Elsevier, cap. 15, p. 161 – 259; 2007.

- Jorge, A.E.; ECHAZARRETA, C.M. Medical uses of honey. **Biomed**, v. 7, p. 43-49, 2008.
- Lima R.O.L., Rabelo E.R., Moura V.M.B.D., Silva L.A.F., Tresvenzol L.M.F. 2012. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. Revista CFMV. Ano XVIII. 56:53-59
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Brás Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-415. 2003.
- Mendonça A.C., Ferreira A.S., Barbieri C.H., Thomazine J.A. & Mazzer N. 2006. Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas totais em ratos. *Acta ortop. bras.* 14(3):152-157.
- Paixão, S. F. Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Estadual do Mranhão, São Luis, 2008.
- Panobianco M.S., Sampaio B.A.L, Caetano E.A., Inocenti A. & Gozzo T.O. 2012. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. *Rev. Rene.* 11:15-22
- PAVLETIC, M.M. **Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery**. 3. Ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
- PARAVENTII, V.R. **Estudo comparativo da atividade da própolis e da geléia real como agentes antimicrobianos na terapêutica periodontal**, 2004. 88 f. Tese (Mestrado em Biotecnologia). – Faculdade de Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes.
- POTMES,T.J; BOSCH, M.M.M; DUTRIEX, R; VAN BEARE J; HOEKSTRA,M.J. Speeding up the healing of burns with honey. Na experimental study with histological assessment of wound biopsies. Bee Products: Properties, Applications and Aphitherapy. New York, 1997, p.27-37.
- Rocha Junior A.M., Oliveira R.G., Farias R.E., Andrade L.C.F & Aerestrup F.M. 2006. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. *An. Bras. Dermatol.* Rio de Janeiro, 81(2):150-156.
- Rocha Junior M. B.; HADDADA, M.C.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; OURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas. Estudo experimental em rato. **Acta. Cirurgica. Brasileira**, n.3, p.43-48, 2003.
- RAHAL, S.C.; BACARENSE, A.P.F.R.L.; TANAKA, C.Y.; GRILLO, T.P.; LEITE, C.A.L.
- Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Archives of veterinary Science**, v.8, p.61-67, 2003.
- SANTOS, J.M.; VIANNA, C.A.L.; GAMBA, M.A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.20, n.2, 2007.
- Shimizu T. 2005. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the skin. *Journal of Dermatological Science*. 37:65-73.
- TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 29, n.2, p.297-303, 1999
- VITORINO FILHO, R. N. L. **Uso de polissacarídeo extraído da casca de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas.** Teresina. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI. 2011.

CAPÍTULO 3

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. **Practice March**, v.18, p. 115- 128, 1996.
- ANDRADE, E. **Efeito do uso tópico do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas:** estudo controlado em ratos, 59 f Tese (Dissertação de Mestrado Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Paraná, Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão, 2003.
- ARAÚJO, L. U. et al. Perfil do processo de cicatrização induzido pela alantoína. **Acta Cirúrgica Brasileira** – Vol. 25 (5) 460, 2010.
- AUER, J.A.; STICK, J.A. Wound Managemen. **Equine Surgery**. 2, 936-938, 1999.
- BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, p.27-51, 2005.
- BARBUL, A. History of wounds healing, p.25-78. In: BRUNICARDI, F.C.; SEYMOUR, I.; SCHWARTS, D.L.; DUN D.K. & ANDERSEN R.E., Schwartz's Surgery. **Companion handbook**, Ontario, 2006.
- BARRETO, F. M. **Uso do gel mucilaginoso das folhas de Aloe vera L. na terapêutica de feridas cutâneas aspectos clínicos e histológicos.** Teresina; 115f. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI; 2011.
- BEER, H.D.; FASSLER, R.; WERNER, S. Glucocorticoid-regulated gene expression during cutaneous wound repair. **Vitamins and Hormones**, New York, v.59, p.217-239, 2000.
- BEHEREGARAY, W. K. A eletroacupuntura na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: 2009.
- BOHLING, M.W.; HENDERSON, R.A.; SWAIM, S.F.; KINCAID, S.A.; WRIGHT, J.C. Cutaneous wound healing in the cat: a macroscopic description and comparison with cutaneous wound healing in the dog. **Veterinary Surgery**, Philadelphia, v.33, n.6, p.579-587, 2004.
- BRANSKI, R.C., ROSEN, C.A., VERDOLINI, K. & HEBDA P.A. Biochemical markers associated with acute vocal fold wound healing: a rabbit model. **Journal of Voice**. 19(2):283289, 2005.
- BRITO, D. R. B. et al. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da Microrregião do Alto Mearim e Grajaú, no Estado do Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 967-974, jul./set. 2009.
- CARDINAL, M.; EISENBUD, D.E.; ARMSTRONG, D.G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Denmark, v.17, p.173-178, 2009.
- CARRICONDE, C. Confrei. *Sympytum officinale L.* **De Volta às Raízes**, v. 12, n. 63, p. 13, 6-8, 1997.
- CAVALCANTE, L.C., Moreira M.C., Mota O.M.L., Turatti E., Viana F.A.C. & Pereira S.L.S. Efeito da pedra umes no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. **Brazilian Journal Periodontology**. 22(1):69-73, 2012.
- CESARETTI, I.U.R.. Processo fisiológico de cicatrização da ferida. **Revista Pelle Sana**. 2:10-2; 1998.

- COELHO, M.C.O.; REZENDE, C.M.F.; TENÓRIO, A.P.M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.297303, 1999.
- CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v. 84, p. 17-24, 1994.
- COSTA, R. G; ALMEIDA, C. C.; PIMENTA FILHO, E. C.; HOLANDA JÚNIOR, E. V.; SANTOS, N. M. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida do estado da Paraíba-Brasil. **Arquivos de Zootecnia**; v. 57, n. 218, p 195-205, 2008.
- DÁRIO, G.M. **Avaliação da atividade cicatrizante de formulação contendo argila medicinal sobre feridas cutâneas em ratos**. Dissertação de mestrado, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 78p; 2008.
- DIAS, T.G. **Estudo farmacognostico de Porangaba (Cordia ecaliculata Vell. Boraginaceae) e identificação de suas adulterações**. Dissertação de mestrado em Fármaco e Medicamentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 107p. 2004.
- DYSON, M. Advances in wound healing physiology: the comparative perspective. **Veterinary Dermatology**. [S.I.] v. 8, n. 4, p. 227-233, dec. 1997. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 06 de outubro de 2018.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (Sobral, CE). II Plano Diretor da Embrapa Caprinos 2000-2003. Brasília: **Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia**. 36p. 2000.
- FONTANA, C. Fisiologia da cicatrização de feridas. **Patologia clínica**, v.1, n.1, p.3-32, 1996.
- FREITAS, M.C., MEDEIROS, A.B.F., GUEDES, M.V.C., ALMEIDA, P.C., GALIZA, F.T. & NOGUEIRA, J.M. Úlcera por pressão em idosos institucionalizados: Análise da prevalência e fatores de risco. **Revista Gaúcha Enfermagem**. 32(1):143-150; 2011.
- GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.L.; TÂMBARA, E.M.; TERNÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M.; AGULHAM, M.Â.; ARAÚJO, A.C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B.; GRINNEL, F.; BILLIGHIAM, R.E.; BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 76, p.181-189, 1981.
- GUL, N.Y.; TOPAL, A.; CANGULT, I.T.; YANIK, K. The effects of tripeptide copper complex and helium-neon laser on wound healing in rabbits. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 19, n.1, p.7-14, nov. 2007.
- HALLORAN, C.M. & SLAVIN, J.P. Pathophysiology of Wound Healing. **Surgery (Oxford)**. **The Medicine Publishing Company Ltd.** 5(1):i-v, 2002.
- HANKS, J.; SPODNICK, G. Wound healing in veterinary rehabilitation patient. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. [S.I.] v. 35, n. 6, p. 1453-1471, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 14 de novembro de 2018.
- HARARI, J. Cirurgia de pequenos animais. 1 ed. Porto Alegre: **Artmed**, 1999.
- HATANAKA, E.; CURI R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira Farmacologia**. 88(2):53-8; 2007.
- HEDLUND, C.S. Cirurgia do sistema tegumentar. In: Fossum T.W. (ed.). **Cirurgia de Pequenos Animais**. Roca, São Paulo. p.121-148, 2002.
- HEDLUND, C. S. Surgery of the integumentary System. In: FOSSUM, T. W. **Small animal surgery**. 3 ed. Missouri: Mosby Elsevier, cap. 15, p. 161 – 259; 2007.

- HENDRICKSON, D. & VIRGIN, J. Factors that affect equine wound repair. **Veterinary Clinics Equine**, 21:33–44, 2005.
- HOLANDA JUNIOR, E. V.; MARTINS, E. C. Análise da produção e do mercado de produtos caprinos e ovinos: o caso do território do sertão do Pajeú em Pernambuco. In: **VII Congresso Brasileiro de Sistemas de Produção**, 2007, Fortaleza. Agricultura familiar, políticas públicas e inclusão social, 2007.
- HOSGOOG, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v.36, n.4, p.67-685, 2006.
- HUNT, T. K. Basics principles of wound healing. **Journal of Trauma**, Baltimore, v. 30, suppl. 12, p. 122-128, 1990.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**. 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm>>. Acesso em: 09 de outubro de 2018.
- IPEA. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**. Brasília: Rio de Janeiro, p. 7-8., 2012.
- IRION, G. Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores/Glenn L.Irion; tradução João Clemente Dantas do Rego Barros. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, p.390; 2005.
- JOHNSTON, D. E. Skin and subcutaneous tissue. In: BOJRAB, M.J. (Ed.). **Pathophysiology in small animal surgery**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p. 405.
- KNOTTENBELT, D.C. Handbook of equine wound management. **University of Liverpool**, UK: WB Saunders. 2003.
- KNUTSON, R.A.; MERBITZ, L.A.; CREEKMORE, M.A.; SNIPES, H.G. Use of sugar end povidone-iodine to enhance wound healing: five year's experience. **Southern Medical Journal** . v.74, n. 11, p. 1329-1335, nov, 1981.
- KUMAR, V, Abbas AK, Fausto N. Bases patologicas das doenças. Robbins e Cotran – **Patologia**,7a ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2005
- LAUAND, F.; FÉRES, O.; ROCHA, J.J.; CAMPOS, A.D.; CARVALHO, F.G. Efeito da hipovolemia sobre a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, Rio de Janeiro, v.24, n.4, p.317-321, 2004.
- LIMA, I.; SANTOS, J.; MARINS, R.; RIBEIRO, T. **Caderno de Enfermagem em Ortopedia**, 2006. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderno_enfermagem_ortopedia.pdf>. Acesso em: 09 de novembro de 2018.
- LIPTAK, J. M. An overview of the topical management of wounds. **Australian Veterinary Journal**, [S.1.], v. 75, n. 6, p. 408-413, jun. 1997. Disponível em: <<http://animalcancersurgeon.com>>. Acesso em: 06 de outubro de 2018.
- LOPES, G.C.; SANCHES, A.C.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; HERNANDES, L.; MELLO, J.C.P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polypyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wound in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.99, n.2, p.256-272, 2005.
- MALHEIROS FILHO, J. R. et al. Produção, qualidade do leite e índices fisiológicos de cabras Alpinas no semiárido no período chuvoso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 7, p. 762-768, 2014.
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-415. 2003.

- MARTINS, N.L.P.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M.; HEIBEL, M.; BALDEZ, R.N.; OLIVEIRA, R.M.; ARRUDA, E.C.M. Extrato de *Passiflora e dulcis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.21, n.3, p.55-65, 2006.
- VASCONCELOS, P.R.L.; MOREIRA, H.; MAZZA, M.; NASSIF, P.A.N.; WALLBACH, T.Z. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu). Estudo comparativo em ratos. **Acta cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.21, n.3, p.66-75, jun. 2006.
- MENDONÇA, A.C., FERREIRA, A.S., BARBIERI, C.H., THOMAZINE, J.A. & MAZZER N. Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas totais em ratos. **Acta ortopédica brasileira**. 14(3):152-157, 2006.
- MENDONÇA, R.J. & COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiro Dermatologia**. 84(3):257-262; 2009.
- MENEZES, F.F.; COELHO, M.C.O.C.; LEÃO, A.M.A.C. Avaliação clínica e aspectos histopatológicos de feridas cutâneas de cães tratadas com curativo temporário de pele. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v.2, n.4, p.1-3, 2008.
- MONTE, H. L. B. D. **Gestão técnico-econômica da produção de leite de cabra nos cariris paraibanos**. 2008. 201 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, Areias, 2008.
- MORAES, S.P.; CHAVES, F.R.; BANCI, S.; ROVER, P.A.; GEORGETTI, F.; REIS NETO, J.A. Zinco e cromo na cicatrização de feridas em ratos normais e diabéticos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v.27, n.6, p.394-399, 2000.
- MORAND-FEHR, P.; BOYAZOGLU, J. Present state and future outlook of the small ruminant sector. **Small Ruminant Research**. v.34, p.175-188, 1999.
- NETO, J.C.L. **Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos**. 2003. Disponível em: <<http://br.merial.com/pdf/arquivo8.pdf>>. Acesso em: 21 de outubro de 2018.
- NOGUEIRA FILHO, A. Ações de fomento do Banco do Nordeste e potencialidades da caprino-ovinocultura, p.43-55. **Anais do 2º Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte**, João Pessoa, 2003.
- NOGUEIRA, R.M.B., Kitamura E.A. & Aguiar O.M. Estudo clínico da reparação tecidual de feridas cutâneas de cães tratados com papaína e colagenase. **Nosso Clínico**. 8(43):25-28; 2005.
- OLIVEIRA, A.A.P; LIMA, V.P.M.S. Aspectos econômicos da caprinovinocultura tropical brasileira. 1. **Anais Sobral**. Embrapa CNPC, 1994.
- OLIVEIRA, I.V.P.M., DIAS, R.V.C. Cicatrização de Feridas: Fases e Fatores de Influência. **Ata Veterinária Brasilica**; v.6, nº4, 267-271., 2012.
- PAGANELA, J. C.; RIBAS, L. M.; SANTOS, C. A.; Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Pelotas – RS, v. 104, p. 569-572, 2009.
- PAGANELA, J.C.; RIBAS, L.M.; SANTOS, C.A.; FEIJÓ, L.S.; NOGUEIRA, C.E.W.; FERNANDES, C.G. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 104, 13-18, 2009.
- PANOBIANCO, M.S., Sampaio B.A.L, Caetano E.A. Inocenti A. & Gozzo T.O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. **Revista Rene**. 11:15-22, 2012.

- PAVLETIC, M.M. **Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery**. 3. Ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
- PAVLETIC, M.M. Basic Principles of wound Healing. **Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery**, 3, 18 -29., 2009.
- PEREIRA, F.E.L. Alterações do intertíscio. In: BRASILEIRO, F.B.G. **Patologia Geral**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koognan,. P. 62-65, 1998.
- PHILIPS, L.G. Cicatrização de feridas. In: SABISTON, D.C. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. Brasil: Guanabara Koogan. p.139-153, 2002.
- POLLOCK, P.J. An approach to wounds in horses. **Proceedings of the 12th International Congress of the World Equine Veterinary Association – WEVA 2011**. Ace Internet Publisher: International Veterinary Information Service, Ithaca NY, 2011.
- QUEMELENTE, B.S.; MORITA, A.B.P.S.; BALBI, A.T. Utilização da solução hipertônica de cloreto de sódio em ferida hipergranulada. **Revista de enfermagem**. Apr/June;3(2):31723, 2009.
- RABELO, R.E.; SANT'ANA, F.J.F.; PAULO, N.M.; ROMANI, A.F.; SILVA, L.A.F.; VIU, M.A.O.; ALVES, C.B.; LIMA, C.R.O.; SILVA, O.C. Emprego do compósito látex, poliamida e polilisina a 0,1% na correção cirúrgica de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteiros. **Acta Scientiae Veterinariaen**, Poto Alegre, v.33, n.2, p.169-175, mar. 2005.
- ROCHA JUNIOR, A.M., OLIVEIRA, R.G., FARIAS, R.E., ANDRADE, L.C.F & AERESTRUP, F.M. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **Anais Brasileiro Dermatologia**. Rio de Janeiro, 81(2):150-156; 2006.
- RODE, D. Comfrey toxicity revisited. **Trends in pharmacological sciences**. 23(11):497-499, 2002.
- RUNGER, T.M.; QUINTANILLA-DIECK, M.J.; BHAWAN, J. Role of cathepsin K in the turnover of the dermal extracellular matrix during scar formation. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v.127, p.293-297, 2007.
- SANTANA, L.A.; GOMES, F.G.; KAJIWARA, J.K.; FRADE, M.A.C. Quantificação de áreas de úlceras de perna através de um programa de análise de imagem (ImageJ). In:
- CONGRESSO BRASILEIRO DE INFORMÁTICA EM SAÚDE, 11., 2008, Campos do Jordão. **Anais eletrônicos**, Campos do Jordão, 2008.
- SANTORO, M.M. & GAUDINO G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelialization during wound healing. **Experimental Cell Research**. 304:274-286, 2005.
- SANTOS, E. et al. A eficácia das soluções de limpeza para o tratamento de feridas: uma revisão sistemática. **Revista de Enfermagem**. Série IV - n°8 - abr./mai./jun., pp.133-144 2016.
- SARANDY, M.M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) em ratos wistar**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 49p, 2007.
- SEADE. **Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados. A Agropecuária do Estado do Maranhão**. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/setec/arquivos/pdf/agropecuaria_ma.pdf>. Acesso em: 14 de novembro de 2018.

- SHIMIZU, T. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the skin. **Journal of Dermatological Science**. 37:65-73, 2005.
- SINGER, A.J.; CLARK, R.A.F. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. **Neural Engineering Journal Medical**, 34, p.378-46, 1999.
- SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2 ed. V. 1 São Paulo: Manole, 1998.
- SOARES, F.L.R. **Reparação de feridas cutâneas tratadas com vitamina c, laser e associação de vitamina c e laser: Estudo histológico em ratos**. [Dissertação-Mestrado] Universidade de Marília (UNIMAR), 2005.
- SPENCER, M.B. Molecular and cellular aspects of Wound Healing. **The North American Veterinary Conference (NAVC)**, 94-96, 2005.
- STASHAK, T.S. **Equine Wound Management**. Philadelphia: Lea & Febiger, 236p; 1999.
- STASHAK, T.S.; THEORET, C. Management of severely infected wounds. **Equine Wound Management 2**, 543-553, 2008.
- SWAIM, S. F. Wound healing. In: SWAIM, S. S. (Ed.). **Surgery of traumatized skin: management and reconstruction in the dog and cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1980, p. 70.
- TAZIMA, M.F.; VICENTE, Y.A.; & MORIYA, T.; BIOLOGIA DA FERIDA E CICATRIZAÇÃO. **Medicina (Ribeirão Preto, Online)**, 41(3), 259-264, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v41i3p259-264>>. Acesso em: 09 de novembro de 2018.
- TEIXEIREIRA, V.P.A.; PEREIRA, S.A.L.; RODRIGUES, D.B.R.; LINO JÚNIOR, R.S.; OLIVEIRA, F.A.; CASTRO, E.C.C.; REIS, M.A. **Textos didáticos: Técnicas de morfometria – princípios básicos e aplicações da morfometria**. In: **FACULDADE DE MEDICINA DO TRIÂNGULO MINEIRO - UFTM**. Webmaster, REIS, M.A.; TEIXEIRA V.P.A.; REZENDE, R.S.R.; ANTUNES, M.P.; Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, 2005.
- TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v.29, n.2, p.297-303, 1999.
- TERKELTAUB, R. A.; GINSBERG, M. H. Platelets and response to injury. In: CLARK, R.A.F.; HENSON, P.M. (Ed.). **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York: Plenum Press, p. 3-33, 1998.
- THEORET, C. Tissue engineering in wound repair: the three “R”s – repair, replace, regenerate. **Veterinary Surgery**. [S.l.], v. 38, n. 8, p.905-013, dec.; 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 13 de outubro de 2018.
- TOLEDO, A. C. O.; DUARTE, M. R.; NAKASHIMA, T. Análise farmacognóstica da droga e do extrato fluido das folhas de *Sympytum officinale* L. (Boraginaceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 13 supl 2, p. 01-02, 2003.
- TYRONE, J.W.; MARCUS, J.R.; BONOMO, S.R. Transforming growth factor β_3 promotes fascial wound healing in a new animal model. **Archives of Surgery**, Chicago, v.135, n.10, p.1154-1159, 2000.
- VAN WINKLE JR., W. Wound contraction. **Surgery Gynecology Obstetrics**, v.125, p.131-42, 1967.
- VITORINO FILHO, R. N. L. **Uso de polissacarídeo extraído da casca de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas**. Teresina. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI. 2011.

WENDT, S.B.T. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais. **Universidade Federal do Paraná**. Curitiba, 2005. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/>>. Acesso em: 13 de outubro de 2018.

WILMINK, J.M. Differences in wound healing between horses and ponies. **Equine Wound Management in Stashack & Theoret**, 2,29-44, 2008.

XIMENES, L. J. F.; CUNHA, A. M. **Setor de peles e de couros de caprinos e de ovinos no Nordeste**. Banco do Nordeste, Ano VI, n. 1, 22 p. mar. 2013. Disponível em: <http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ire_ano6_n1.Pdf>. Acesso em: 05 de outubro de 2018.