

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

BEATRIZ FRAGASSE VENANCIO

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA EFICÁCIA DE TARTARATO DE KETANSERINA E
ASIATICOSÍDEO E CLOREXIDINA 1% NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM RATOS WISTAR**

UBERLÂNDIA - MG

2021

BEATRIZ FRAGASSE VENANCIO

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA EFICÁCIA DE TARTARATO DE KETANSERINA E
ASIATICOSÍDEO E CLOREXIDINA 1% NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM RATOS WISTAR**

Estudo apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.
Orientadora: Profa. Dra. Aracelle Elisane Alves.

UBERLÂNDIA – MG

2021

BEATRIZ FRAGASSE VENANCIO

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA EFICÁCIA DE TARTARATO DE KETANSERINA E
ASIATICOSÍDEO E CLOREXIDINA 1% NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM RATOS WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Uberlândia, 18 de junho de 2021.

Banca Examinadora:

Profª. Dra. Aracelle Elisane Alves

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas Mota

Universidade Federal de Uberlândia

Msc. Suzana Akemi Tsuruta

Médica Veterinária

AGRADECIMENTOS

Neste momento, tenho ainda mais certeza de como sou privilegiada por ter tanto a agradecer no final dessa trajetória tão intensa e feliz.

Em primeiro lugar, agradeço a minha família. À minha mãe, Cássia, por nunca medir esforços para que eu conquistasse tudo que sempre desejei, por ser colo e carinho e o maior e mais lindo exemplo de amor. Ao meu pai Roberto, pela força e honestidade que sempre nos ensinou, nos incentivando a sermos melhores a cada dia. Aos meus irmãos, meus grandes amores, Roberta, João e Pedro, por serem tudo que define irmandade e proteção.

Aos meus avós que certamente estão orgulhosos de me verem chegar até aqui, aonde quer que eles estejam. Às minhas tias Elza, Teresinha, Valéria e Tânia que tanto me dedicaram amor e cuidado.

Aos meus tantos e tão essenciais amigos, que estão comigo nas minhas melhores lembranças. Sem eles, tudo teria sido muito mais difícil e muito menos feliz: às minhas irmãs de mais de uma década que se fazem presentes até hoje: Ana Luísa, Carol, Gabi H. Gabi S., Isa e Maysa; à imensa família que Uberlândia e a UFU me deram: minhas gnomas Dody, Jow, Juli e Teti, comigo desde o primeiro dia da graduação, Júlio, Vitor e Lelê, com quem eu sempre pude contar, e aos meus dois irmãos de Monkey, Daniel e Hugo, as melhores e maiores surpresas que esse último de faculdade poderia ter me trazido.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Hospital Veterinário por terem sido minha casa ao longo de todos esses anos, com o maior orgulho do mundo.

Aos meus professores, em especial à minha tão querida orientadora Aracelle (a prof rs), quem me acolheu e me tornou mais uma apaixonada pelo imenso e incrível mundo da Teriogenologia. Se todos os professores fossem como a senhora, prof, a Universidade seria, com certeza, muito mais leve.

À Suzana, com quem aprendi grande parte do que sei, quem sempre confiou em mim e me apoiou, me tornando uma pessoa muito mais confiante e responsável. Obrigada, Su, por tanto carinho e paciência e por ser exemplo de profissionalismo e humanidade pra todos os seus “meninos” rs.

A todos que estiveram presentes durante a minha caminhada, meu muito obrigada.

Por fim, agradeço a Deus e a São Bento, por toda e cada benção e proteção.

Aos animais, vocês são a razão de tudo isso. Meu amor e dedicação a vocês serão sempre os maiores que eu puder oferecer.

RESUMO

O processo cicatricial é dinâmico e envolve vários processos e inúmeros componentes. É grande o número de casos de feridas cutâneas na rotina clínica cirúrgica de pequenos animais, sendo, portanto, necessário o estudo de compostos e tratamentos que acelerem a reparação tecidual. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da cicatrização de feridas em ratos wistar, utilizando soluções à base de água destilada, clorexidina 1% e a associação de tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar, machos, com peso médio de 180 gramas. Foram confeccionadas três feridas cutâneas no dorso de cada animal através de “punch”. Posteriormente, os animais foram divididos inicialmente em quatro grupos (n=10), estes determinados pelos dias de análise pós-cirúrgica (3, 5, 8, 15). Cada animal recebeu três diferentes tratamentos, sendo um em cada ferida. Os animais foram submetidos à eutanásia em 3, 5, 8 e 10 dias pós procedimento, sendo estes os intervalos de coleta de fragmentos do tecido cicatricial a serem analisados histologicamente. Os fragmentos foram divididos em três grupos, de acordo com o tratamento recebido, sendo eles: água destilada, clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Os aspectos microscópicos analisados foram: infiltrado inflamatório, polimerização de fibras colágenas, neovascularização, reepitelização e formação de crosta. Foram realizadas apenas avaliações qualitativas e análises subjetivas por um mesmo avaliador cego.

Palavras-chave: Cicatrização; Ferida Cirúrgica; Clorexidina 1%; Tartarato de Ketanserina e Asiaticosídeo.

ABSTRACT

The healing process is dynamic and involves several processes and numerous components. There are a large number of cases of skin wounds in the clinical surgical routine of small animals, therefore, it is necessary to study compounds and treatments that accelerate tissue repair. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of wound healing in Wistar rats, using solutions based on distilled water, 1% chlorhexidine and the association of ketanserin tartrate and asiaticoside. Forty male Wistar rats weighing 180 grams were used. Three skin wounds were made on the back of each animal using a punch. Subsequently, the animals were initially divided into four groups (n=10), these determined by the days of post-surgical analysis (3, 5, 8, 15). Each animal received three different treatments, one in each wound. The animals were euthanized at 3, 5, 8 and 10 days after the procedure, these being the intervals for collecting fragments of scar tissue to be analyzed histologically. The fragments were divided into three groups, according to the treatment received, whether it's distilled water, 1% chlorhexidine and ketanserin tartrate and asiaticoside. The microscopic aspects analyzed were: inflammatory infiltrate, polymerization of collagen fibers, neovascularization, reepithelialization and crust formation. Only qualitative assessments and subjective analyzes were carried out by the same blind examiner.

Keywords: Healing; Surgical Wound; 1% Chlorhexidine; Ketanserin Tartrate and Asiaticoside

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivos Gerais.....	12
2.2	Objetivos Específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Pele	13
3.2	Feridas	14
3.3	Cicatrização	14
3.3.1	Fase inflamatória	15
3.3.2	Fase proliferativa	16
3.3.3	Fase de remodelamento	17
3.3.4	Tipos de cicatrização	18
3.3.5	Fatores que podem interferir no processo cicatricial	18
4.1	Terapêutica.....	19
4.1.1	Asiaticosídeo	19
4.1.2	Tartarato de Ketanserina.....	19
4.1.3	Clorexidina 1%	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1	Local e animais.....	21
4.2	Tratamento e grupos experimentais	21
4.3	Preparo dos animais	22
4.4	Procedimento anestésico	22
4.5	Preparo do campo e procedimento cirúrgicos	23
4.6	Avaliação microscópica da cicatrização das feridas cirúrgicas.....	23
4.7	Análise estatística.....	24

5	RESULTADOS.....	25
6	DISCUSSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

A pele é considerada o maior órgão de todos os mamíferos, sendo uma estrutura complexa composta por epiderme, derme e tecido subcutâneo. Esse tecido sofre desafios ambientais constantes, sendo responsável por manter a proteção do corpo contra fatores mecânicos, químicos e biológicos, além de exercer a termorregulação e armazenar e excretar água, eletrólitos, entre outras funções (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

Danos tissulares de qualquer natureza desencadeiam de imediato uma série de eventos (BALBINO, 2005). O processo cicatricial é similar em todas as feridas e, independente de sua causa, é dinâmico, e seu desenvolvimento está diretamente relacionado às condições do organismo (CAMPOS, 2007). Cicatrização consiste em um processo que envolve diferentes fases e inúmeros componentes, no qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (HATANAKA; CURI, 2007). Clark (2005) reclassificou esse processo em três fases divididas, didaticamente, em: fase inflamatória, fase de proliferação ou de granulação e fase de remodelamento ou de maturação.

Durante estas fases, a avaliação da cicatrização de uma ferida cirúrgica pode ser feita a partir da graduação de vários parâmetros, como infiltrado inflamatório, presença de fibras colágenas e sua maturação, formação de novos vasos, reepitelização do tecido lesionado, entre outras.

Feridas cutâneas representam grande número de casos na rotina clínica de pequenos animais, decorrentes de atropelamento, mordidas, brigas, queimaduras, feridas cirúrgicas, etc. Por isso, incontáveis estudos têm buscado por compostos e tratamentos que acelerem e otimizem o processo cicatricial.

Dentre as substâncias que têm revelado contribuições positivas na cicatrização de tecido cutâneo, destaca-se a clorexidina por ser um agente antisséptico amplamente ativo tanto para bactérias Gram-positivas quanto para Gram-negativas. Apresenta a vantagem de ter ação rápida e baixa toxicidade sistêmica por não ser absorvido pela pele ou mucosas (SILVA, 2004).

Atualmente, a eficácia de um grande número de novos fármacos tem sido avaliada, e dentre eles encontra-se o tartarato de kentaserina, o qual proporcionou uma resposta inflamatória satisfatória na fase inicial do processo cicatricial e um controle mais eficiente da infecção no sítio da ferida (VITUG et al, 1986; JANSSEN et al, 1989).

O asiaticosídeo, quando associado ao tartarato de ketanserina, revela ação nas fases de proliferação e remodelamento, atuando sobre os fibroblastos e favorecendo, assim, a

síntese de colágeno tipo I. Esta combinação atua também na resistência à tração tecidual, aumentando o conteúdo de colágeno e favorecendo uma melhor reepitelização do tecido lesionado.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia dos compostos tartarato de ketanserina associado ao asiaticosídeo, e da solução de clorexidina 1% no processo cicatricial de feridas cutâneas promovidas cirurgicamente em ratos Wistar decorridos 3, 5, 8 e 15 dias de cicatrização.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar a eficácia da cicatrização de ferida cirúrgica promovida pelo tratamento tópico utilizando água destilada, clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a eficácia da cicatrização de ferida cirúrgica em animais após tratamento tópico utilizando os diferentes tratamentos em 3, 5, 8 e 15 dias de cicatrização.

Avaliar os aspectos microscópicos da ferida cirúrgica em relação aos estágios e eventos que ocorrem durante as diferentes fases da cicatrização, sendo inclusos os seguintes parâmetros: infiltrado inflamatório, polimerização de fibras colágenas, neovascularização, reepitelização e formação de crosta; sendo os dados tabulados para avaliação seguinte.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pele

A pele é o maior órgão do corpo, recobre a superfície corporal, funcionando como uma barreira resistente e seletiva contra o meio externo, impedindo a perda de fluidos e eletrólitos, regulando a temperatura (WENDT, 2005), protegendo contra atrito além de fazer parte do sistema imunológico, sendo rica em células imunocompetentes. Essa barreira pode eventualmente sofrer danos físicos, como ferimentos ou procedimentos cirúrgicos, expondo os tecidos moles e tornando-os susceptíveis à infecção (SARANDY, 2007). O epitélio de revestimento é estratificado, composto por várias camadas de células apoiadas em um suporte de tecido conjuntivo responsável por nutrir o epitélio através de seus vasos sanguíneos.

A epiderme é a camada mais externa constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e tem como componente principal os queratinócitos, as células mais abundantes nesse epitélio. Embora em menor quantidade, outras células desempenham papel importante nas funções do tegumento, e são elas os melanócitos, as células de Langerhans e as de Merkel, responsáveis, respectivamente, pela pigmentação, reações imunitárias cutâneas e recepção de estímulos táteis (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; KONIG; LIEBICH, 2011). Formada por cinco camadas, entre elas as camadas basal e espinhosa da epiderme, as responsáveis pela constante renovação celular da pele.

A derme é a estrutura formada por tecido conjuntivo que liga à pele ao tecido subcutâneo e no qual se apoia a epiderme, fornecendo suporte físico firme. É dividida em duas camadas: papilar e reticular ou superficial e profunda, formadas por tecido conjuntivo frouxo e denso, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Na derme encontram-se os anexos da pele, grande quantidade de vasos sanguíneos, vasos linfáticos, terminações nervosas e músculo liso (músculo eretor do pelo) (SARANDY, 2007; SOUZA et al., 2009). É aqui também que estão presentes outras células componentes do sistema imune cutâneo: os linfócitos T, as células dendríticas dérmicas, os macrófagos, mastócitos e plasmócitos (ABBAS & LICHTMAN, 2005), além dos fibroblastos, considerados as principais células envolvidas no processo de cicatrização, por promoverem a formação do tecido de granulação, favorecendo a reepitelização e garantindo a manutenção da integridade do tecido conjuntivo (ARAÚJO, 2010).

Alguns autores consideram uma terceira camada e mais profunda na pele, a hipoderme. Composta por tecido conjuntivo frouxo, é responsável pelo deslizamento da derme sobre as estruturas nas quais ela se apoia, facilitando a mobilidade da pele, além de funcionar como um

depósito nutritivo de reserva e como um isolante térmico, e na proteção mecânica contra traumatismos externos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; SARANDY, 2007).

3.2 Feridas

Ferida é definida como solução de continuidade do tecido, decorrente de uma lesão gerada por agentes mecânicos (cirurgias, traumas), químicos, térmicos, bacterianos e processos neoplásicos (TAZIMA, 2008; TILLMAN, 2014), levando à perda variável de função tecidual (WENDT, 2005). O tratamento de feridas busca o fechamento rápido da lesão de forma a se obter cicatriz funcional e esteticamente satisfatória (MENDONÇA, 2009)

A extensão de perda tecidual também diz sobre a forma como esse tecido será reparado. Feridas de espessura parcial são aquelas que atingem a derme incompletamente, onde a reparação se faz pela reepitelização a partir do epitélio derivado da pele adjacente não afetada. Já as feridas de espessura total, nas quais a derme é atingida por completo, há necessidade da formação de tecido de granulação (MANDELBAUM, 2003).

Comum na rotina clínica de pequenos animais, as feridas cutâneas podem ser classificadas a partir de diversos fatores, mas devem ser preferencialmente definidas por tipo (cirúrgicas e traumáticas) e grau de contaminação (limpas, baixa contaminação, contaminadas ou sujas ou infectadas) para elaboração do protocolo terapêutico mais adequado (TILLMAN, 2014).

3.3 Cicatrização

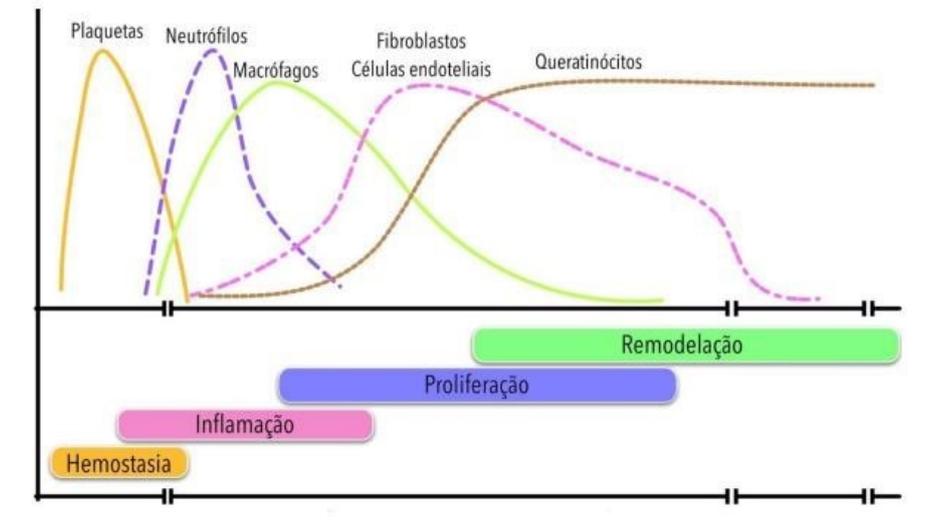
O processo de cicatrização de feridas é uma combinação de eventos físicos, químicos e celulares que restauram a continuidade do tecido após lesão a fim de recuperar sua função e estruturas normais (FOSSUM, 2015; TAZIMA, 2008). O reparo tecidual pode se dar de duas formas: pela regeneração (1) com a recuperação da atividade funcional ou pela cicatrização (2) com formação de cicatriz fibrótica e perda de função tecidual com reestabelecimento apenas da homeostasia do tecido (BALBINO, 2005).

O processo de cicatrização é mediado por citocinas e vários fatores de crescimento, liberados no leito da ferida e responsáveis pelo recrutamento, ativação e migração de diferentes tipos de células, matriz celular e proteínas.

A cicatrização é dinâmica e pode ser dividida, basicamente, em três estágios que se sobrepõem, tratando-se de uma sequência de eventos celulares, tissulares e bioquímicos

orquestrados (Figura A) (HATANAKA; CURY, 2007) que se correlacionam de forma contínua e temporal (MENDONÇA; COUTINHO, 2009), considerando os aspectos macroscópicos e histológicos predominantes em cada um deles: fase inflamatória, fase proliferativa (ou de reparo) e fase de maturação (ou de remodelamento) (BALBINO, 2005).

Figura A: cinética da migração celular e evolução temporal das fases da cicatrização.



Fonte: VENTER, 2014.

3.3.1 Fase inflamatória

Inicia-se no momento exato da lesão, como toda inflamação, uma resposta protetora do tecido (FOSSUM, 2015) e dura aproximadamente cinco dias. A hemostasia dá início a essa fase e ocorre quase concomitante ao estímulo lesivo devido a maioria das lesões causarem alterações no endotélio vascular, ocorrendo ruptura de vasos sanguíneos e extravasamento de seus constituintes, levando à agregação plaquetária e ativando a cascata da coagulação (BROUGHTON II, 2006). O coágulo formado não só se instala como uma barreira impermeabilizante que protege da contaminação (GONZALEZ et al, 2016), como também funciona como uma matriz preliminar que se estabelece para favorecer a migração de células responsáveis pelo processo de reparo para o leito da ferida (MANDELBAUM, 2003; BALBINO, 2005). As crostas se formam quando o coágulo de sangue seca, evitando uma nova hemorragia e favorecendo o avanço da cicatrização além de sua superfície (FOSSUM, 2015).

A inflamação é caracterizada pela ativação de células inflamatórias (leucócitos polimorfonucleares, macrófagos, linfócitos), excreção de mediadores químicos e de fatores de

crescimento (MANDELBAUM 2003). Os fatores de crescimento excretados pelas células dessa fase serão responsáveis por iniciar e manter a fase seguinte da cicatrização, a proliferativa.

Os mediadores químicos e alguns fatores de crescimento (PDGF e TGF-Bs, principalmente) liberados pela plaquetas ativadas e por mastócitos (BALBINO, 2005; HATANAKA; CURY, 2007) provocam vasodilatação, aumentam a permeabilidade dos vasos e favorecem a quimiotaxia de células inflamatórias, tendo papel central para a infiltração de neutrófilos, macrófagos e fibroblastos, além de exercer efeitos sobre as fases fibroblásticas e de remodelamento, atuando sobre a fibroplastia, deposição de matriz extracelular e angiogênese (HATANAKA; CURY, 2007).

Os neutrófilos aderidos passivamente ao coágulo formado migram para a superfície da ferida e são responsáveis pela fagocitose de possíveis microorganismos, sendo o tipo celular mais predominante nos dois primeiros dias de injúria. Além de fornecer proteção à ferida contra contaminação, produzem espécies reativas de oxigênio (HATANAKA; CURY, 2007) e secretam enzimas (proteases, collagenases, elastases) que ajudam a combater possíveis infecções (ARAÚJO, 2010), e possuem ação pró-inflamatória, ativando fibroblastos e queratinócitos.

Para finalizar a fase inflamatória, monócitos teciduais se infiltram no local da ferida e diferenciam-se em macrófagos que realizarão um intenso processo de debridamento, atuando como removedor fagocítico, produzindo e liberando proteases, removendo o colágeno desvitalizado e coágulos de fibrina da ferida (OLIVEIRA, 2012). Alguns fatores mitogênicos e citocinas são sintetizados pelos macrófagos, necessários para estimular a formação de tecido de granulação (ARAÚJO, 2010).

3.3.2 Fase proliferativa

Essa fase se sobrepõe à fase inflamatória e ocorre, aproximadamente, do 4º ao 14º dia pós lesão (BROUGHTON II). É composta de três eventos básicos: fibroplasia, neoangiogênese e epitelização (TAZIMA, 2008).

Com a presença de macrófagos no sítio da ferida produzindo e liberando mediadores químicos, a migração e ativação de fibroblastos é intensificada (BALBINO, 2005). A atuação dos fibroblastos durante a cicatrização determina o resultado do processo de reparação (TAKEO et al, 2015), sendo eles responsáveis pela produção local de colágeno e pela invasão de novos capilares. A matriz extracelular pré-formada começa a ser substituída por tecido fibroso ao

passo que colágeno, elastina e proteoglicanos são depositados pelos fibroblastos (FOSSUM, 2015). Esse processo é denominado de fibroplasia.

Para que a fibroplasia ocorra, é necessário que ocorra em paralelo a neovascularização tecidual. A indução da formação de novos vasos se dá pela baixa tensão de oxigênio no centro da ferida, pela migração e proliferação das células das margens da lesão, além da ação direta de fatores mitogênicos e quimiotáticos sobre as células do endotélio vascular. Os neovasos se originam de vasos sanguíneos existentes, com células endoteliais capilares indo em direção ao local da lesão e se unindo com outros leitos capilares (FOSSUM, 2015). A neo-angiogênese é responsável não apenas pela nutrição do tecido que está sendo formado, como também pelo aumento do aporte de células, como macrófagos e fibroblastos, para o local da ferida (TAZIMA, 2008).

Com a fibroplasia e como parte final dessa fase ocorre a formação do tecido de granulação por volta do 4º dia pós lesão (BALBINO, 2005; FOSSUM, 2015). Esse tecido é composto por macrófagos, fibroblastos, por um leito capilar, fibras colágenas, fibronectina e ácido hialurônico (TAZIMA, 2008). Entre outras funções, o tecido de granulação saudável preenche os defeitos e fornece uma superfície para migração epitelial (FOSSUM, 2015).

Assim que o tecido de granulação atinge a epiderme a reepitelização é iniciada. Quando as células epidermais são liberadas da membrana basal e das células epiteliais adjacentes elas migram para o centro da ferida sobre a matriz provisória previamente formada, depositando, no trajeto, grandes quantidades de fibronectina. Com isso, a membrana basal é restaurada (BALBINO, 2005).

Os queratinócitos têm papel fundamental na reepitelização do tecido. Localizados na camada basal da epiderme que restou, migram para recobrir a ferida, movendo-se desordenadamente até as bordas e aproximando-as.

Ao final, o tecido de granulação preenche por completo o leito da ferida, a neovascularização irriga o tecido e a circulação linfática está se reestabelecendo. A região lesada começa a receber aparência de cicatriz devido ao acúmulo de massa fibrosa gerado pela deposição de mais fibras colágenas no tecido de granulação formado (BALBINO, 2005).

3.3.3 Fase de remodelamento

A deposição organizada de colágeno é a característica mais importante desta fase, fazendo dela também a mais significativa clinicamente, representando cerca de 70% de todo processo cicatricial (CAMPOS, 2007; WATANABE, 2010). A síntese e a lise do colágeno

ocorrem simultaneamente. Com o tempo, um colágeno mais espesso (tipo I) é produzido e organizado ao longo das linhas de tensão, substituindo o colágeno tipo III, principalmente, inicial, que é reabsorvido, gerando aumento da força de tensão da ferida (CAMPOS, 2007). Esse processo ocorre lentamente e persiste por até um ano ou mais após a lesão, porém uma cicatriz totalmente madura recupera apenas 70 a 80% da resistência da pele íntegra (BALBINO, 2005).

Ao final desta fase, anexos da pele, como glândulas e folículos pilosos se regeneram parcialmente e a cicatriz se torna hipovascularizada, à medida que o número de capilares no tecido fibroso diminui (BALBINO, 2005; FOSSUM, 2015).

3.3.4 Tipos de cicatrização

A cicatrização de uma ferida pode ocorrer de três formas: por primeira, segunda e terceira intenção (BLANES, 2004), dependentes da quantidade de tecido lesado e da presença ou não de contaminação (TAZIMA 2008).

A cicatrização por primeira intenção é gerada quando as bordas da ferida são aposicionadas, sem contaminação e mínima formação de edema, como ocorre no caso de suturas cirúrgicas do ferimento (TAZIMA, 2008).

Por segunda intenção, ocorre quando há grande perda de tecido, com presença ou não de contaminação. As feridas são tratadas abertas, pois a aproximação das bordas não é possível, e fecharão por contração e epitelização do tecido, envolvendo produção extensa de tecido de granulação (BLANCK, 2008).

Por fim, a cicatrização por terceira intenção ocorre inicialmente com tratamento aberto e posterior aproximação de pele e subcutâneo. É utilizada quando há contaminação em leito da ferida, que deve ser tratada para, em seguida, ser suturada (TAZIMA, 2008).

3.3.5 Fatores que podem interferir no processo cicatricial

Diversos fatores podem interferir no processo cicatricial, dentre eles fatores ambientais, fatores sistêmicos do próprio hospedeiro e características intrínsecas do ferimento. Entretanto a interferência do cirurgião pode otimizar o resultado final (TAZIMA, 2008; FOSSUM, 2015).

A presença de materiais estranhos no ferimento, como detritos, por exemplo, pode gerar reação inflamatória intensa, interferindo na cicatrização. Em caso de presença de corpos estranhos, enzimas serão liberadas para degradá-los e destruirão a matriz cicatricial do

ferimento, prolongando a inflamação e retardando a fase de reparo do tecido (FOSSUM, 2015). O calor e a umidade favorecem a cicatrização, fatores que podem ser fornecidos pelo uso de bandagem. O grau de contaminação da ferida é provavelmente a causa mais comum de atraso na cicatrização, sendo a limpeza mecânica o cuidado mais eficiente, removendo todo tecido desvitalizado e possíveis detritos (TAZIMA, 2008). A utilização da técnica cirúrgica correta, assepsia e antisepsia são alguns dos aspectos importantes a serem observados durante o tratamento de feridas.

Entre os fatores externos, o uso de alguns fármacos, como corticosteroides, gera atrasos na cicatrização e aumenta as chances de infecção, por diminuir a resposta inflamatório e a síntese de colágeno. Medicamentos quimioterápicos também devem ser evitados após procedimentos cirúrgicos (FOSSUM, 2015).

Fatores clínicos gerais do paciente como idade, hiperatividade, infecção, oxigenação e perfusão dos tecidos, estado imunológico e nutrição podem alterar a capacidade do paciente de realizar a cicatrização com eficiência (BLANES, 2004; TAZIMA, 2008). Doenças como *diabetes mellitus* prejudicam a cicatrização da ferida em todas as suas fases, sendo agravada quando associada à neuropatias, por exemplo, propiciando a isquemia tecidual e predispondo o indivíduo a riscos maiores de desenvolvimento de novas lesões (PAGNANO, 2009; TAZIMA, 2008).

4.1 Terapêutica

4.1.1 Asiaticosídeo

O asiaticosídeo é um triterpenóide presente no extrato da *Centella asiática* (IDRUS et al, 2012). Apresenta atividades angiogênica e cicatrizante significativas, por aumentar em mais de 50% a resistência à tração tecidual, além de maximizar o conteúdo de colágeno no leito da ferida e de promover melhor epitelização (NAZARET, 2018).

4.1.2 Tartarato de Ketanserina

O tartarato de ketanserina (KTS) é um antagonista de receptores de serotonina, inibindo, portanto, eventos como a vasoconstrição e agregação plaquetária. Esse composto age na ampliação da ativação de macrófagos, proporcionando uma resposta inflamatória mais significativa na fase inicial do processo de cicatrização, sendo, então, eficiente no controle da

infecção no leito da ferida (NAZARET, 2018). Além disso, contribui para a ativação de fibroblastos, impedindo a formação excessiva de tecido de granulação (FOZ FILHO, 1999).

4.1.3 Clorexidina 1%

A solução de clorexidina em concentração de 1% atua durante o processo de cicatrização diminuindo a carga de microorganismos, promovendo lise de bactérias gram-negativas, entre elas *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella*, e contra gram-positivas, tais como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (PAYNE; BABB; BRADLEY, 1999; MENEZES et al., 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local e animais

Todos os procedimentos deste estudo foram submetidos à aprovação pela Comissão de Ética na Utilização Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia, protocolo 083/18.

O estudo foi realizado na Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR-UFU) na Universidade Federal de Uberlândia. Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos, pesando em torno de 160 a 180 gramas, hípidos, acondicionados em ambiente com temperatura em torno de 20°C, com controle de luminosidade 12 horas claro/escuro e exaustão do ar ambiente, sendo oferecidas *ad libitum* água e ração previamente autoclavados.

4.2 Tratamento e grupos experimentais

No experimento foram utilizados 40 ratos wistar machos pesando entre 160 e 180g, mantidos em caixas coletivas, dotadas de comedouros fixos e bebedouros automáticos, com água e alimentação “ad libitum”, onde foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais:

- G1: água destilada
- G2: clorexidina 1% aquosa
- G3: tartarato de ketanserina e asiaticosídeo

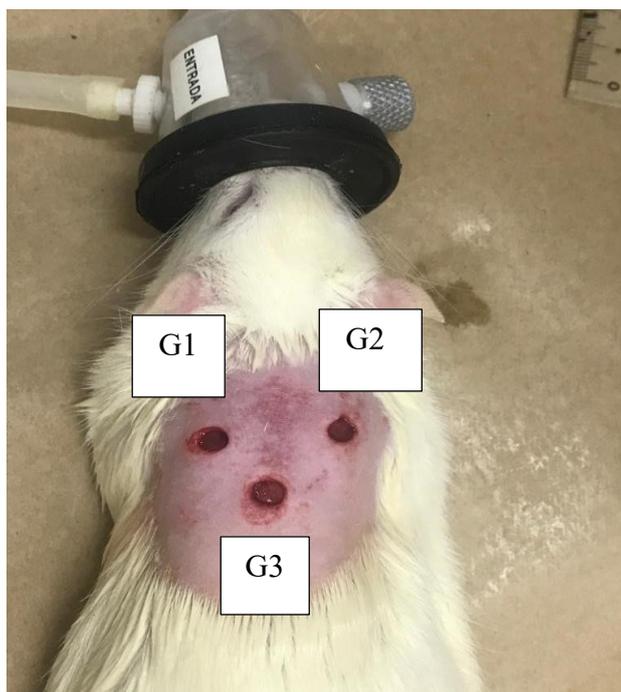
Os grupos foram divididos conforme os dias de análise, sendo dez animais avaliados em cada um dos respectivos dias pós procedimento: 3, 5, 8 e 15 dias, totalizando 40 animais.

Os tratamentos foram assim realizados: a limpeza das feridas realizada nos animais sem sedação, apenas com contenção apropriada, uma vez ao dia, durante os dias 3, 5, 8 e 15, de acordo com os períodos de avaliação de cada grupo, com a aplicação de gaze umedecida com a solução do respectivo grupo ao qual o animal pertence. A gaze umedecida foi colocada sobre a ferida com leve movimento de limpeza sem realização de força a fim de se evitar o debridamento de tecido cicatricial e sem permitir o extravasamento às feridas próximas da solução de limpeza embebida na gaze.

As feridas foram assim identificadas (Figura 1): ferida 1 (G1) localizada cranialmente e do lado esquerdo no dorso dos animais, utilizando para limpeza da ferida gaze estéril umedecida com água destilada, em temperatura ambiente; ferida 2 (G2) localizada paralelamente e à direita da ferida 1, com distanciamento entre elas de 3 cm, realizando a limpeza da ferida com gaze estéril umedecida com clorexidina 1%, em temperatura ambiente; e ferida 3 localizada

caudalmente às duas primeiras com distância de 3 cm, e limpeza feita com gaze estéril umedecida com solução à base de tartarato de ketanserina e asiaticosídeo (G3).

Figura 1: Imagem da distribuição dos tratamentos nas feridas cirúrgicas no dorso de ratos wistar sendo G1: Grupo 1: lesão para tratamento com água destilada; G2: lesão para tratamento com clorexidina 1%; G3: lesão para tratamento com tartarato de ketanserina e asiaticosídeo.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3 Preparo dos animais

Devido a sua fisiologia, os animais não foram submetidos a jejum hídrico e alimentar (RIVIERA, 2006).

4.4 Procedimento anestésico

A indução foi realizada utilizando a associação entre cloridrato de cetamina 10% (60 mg/kg), cloridrato de xilazina 2% (10 mg/kg) e cloridrato de tramadol (2 mg/kg), administrados em uma mesma seringa por via intramuscular.

4.5 Preparo do campo e procedimento cirúrgicos

Após administração da medicação anestésica, os animais foram posicionados em decúbito ventral e logo foi realizada tricotomia ampla com extensão de aproximadamente 3 cm de comprimento e largura na região dorso cranial e procedendo em seguida a antissepsia prévia do campo cirúrgico com álcool e polivinilpirrolidona iodo (PVPI). Foram realizadas três feridas cutâneas na região do dorso do animal com auxílio de um punch metálico de biópsia de 6 mm de diâmetro com profundidade de epiderme e pele, com distância de 3 cm entre elas, caudal e paralelamente, de acordo com estudo sobre cicatrização anteriormente realizado por Pagnano (2009).

4.6 Avaliação microscópica da cicatrização das feridas cirúrgicas

Dez animais foram submetidos à eutanásia a cada dia de análise (3, 5, 8 e 15 dias de cicatrização).

O procedimento de eutanásia foi realizado utilizando Lidocaína 2% 57 mg/kg seguido de Tiopental sódico 2,5% 150 mg/kg, ambos por via intraperitoneal. Posteriormente à realização da eutanásia e confirmação do óbito dos animais, as áreas das feridas cicatrizadas foram resseccionadas com margem de 1 cm de pele, além da margem da ferida (Figura 2), e os fragmentos colocados individualmente em recipiente com formol salina para fixação e encaminhados para estudo histopatológico, utilizando-se técnica descrita por Caputo (2008).

Figura 2: Imagem de fragmento de pele resseccionado aos 3 dias de cicatrização



Fonte: arquivo pessoal.

Após confecção, as lâminas provenientes dos diferentes tratamentos foram analisadas microscopicamente quanto à presença de infiltrado inflamatório, polimerização de fibras colágenas, neovascularização, reepitelização e presença de crostas, sendo estipulados escores de 0 a 3 (0 ausente; 1 discreto; 2 moderado; 3 intenso).

4.7 Análise estatística

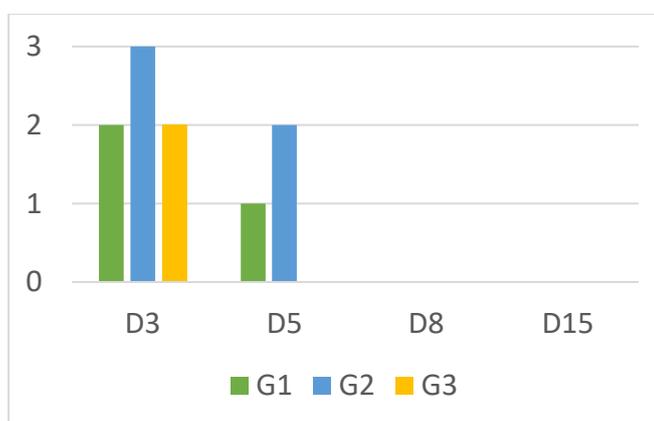
Foram realizadas apenas avaliações qualitativas e análises subjetivas por um mesmo avaliador cego.

5 RESULTADOS

Após 15 dias de análise, foi possível observar que todas as feridas completaram o processo de cicatrização e que os três tratamentos aplicados foram eficazes.

Os resultados obtidos estão descritos nos gráficos a seguir, de acordo com a pontuação em escores (de 0 a 3).

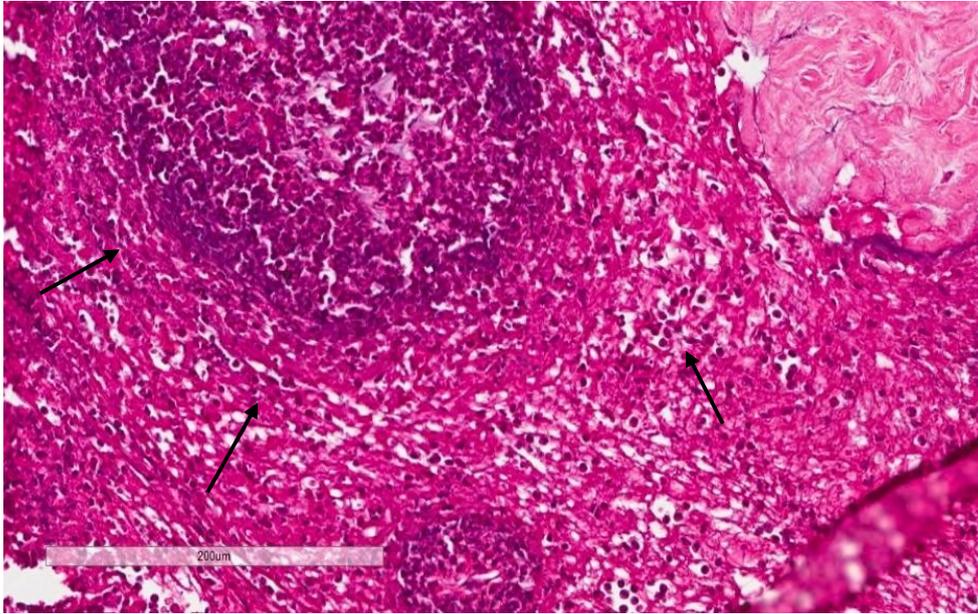
Gráfico 1: Resultados da análise do infiltrado inflamatório de fragmentos de feridas submetidas ao tratamento com água destilada (grupo controle), clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Uberlândia, 2019.



Após 3 dias da realização da ferida cirúrgica foi possível observar na análise histopatológica que os animais do grupo G2 revelaram maior infiltrado inflamatório (Figura 3) recebendo escore médio 3, seguido de presença intermediária de células inflamatórias nos animais dos grupos G1 e G3 (média de escore 2) (Figura 4).

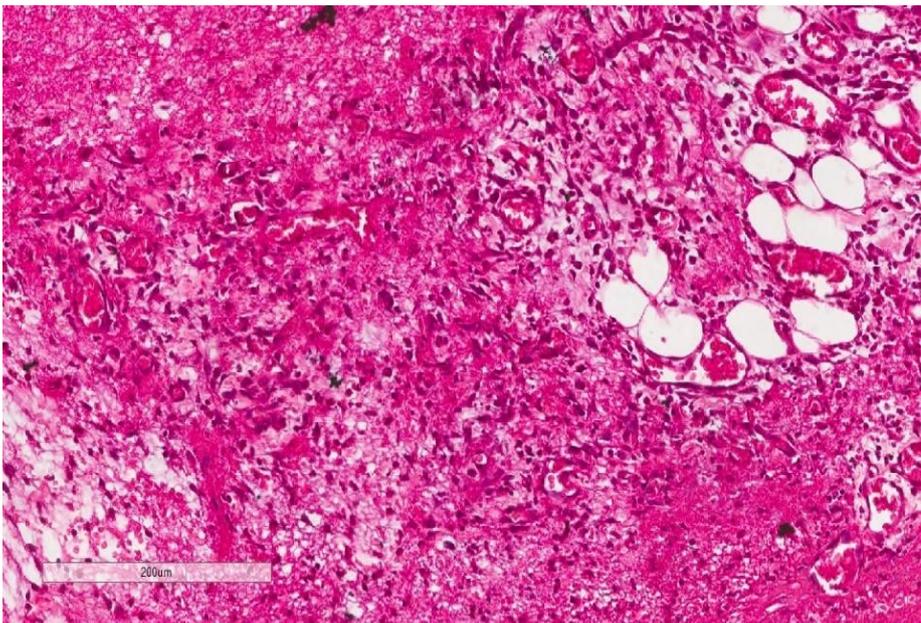
No 5º dia, a presença de infiltrado inflamatório se manteve superior nos animais do G2, desaparecendo nas feridas do G3. Após 8 dias, não há presença de inflamação na ferida em nenhum dos animais do estudo (Figura 5).

Figura 3: Fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar no 3º dia de pós-operatório, submetidos ao tratamento com clorexidina 1% (G2) evidenciando-se: intenso infiltrado inflamatório (exemplificado pelas setas pretas, e presente em toda a extensão do corte). Coloração H.E. Aumento de 14,8x. Uberlândia, 2019.



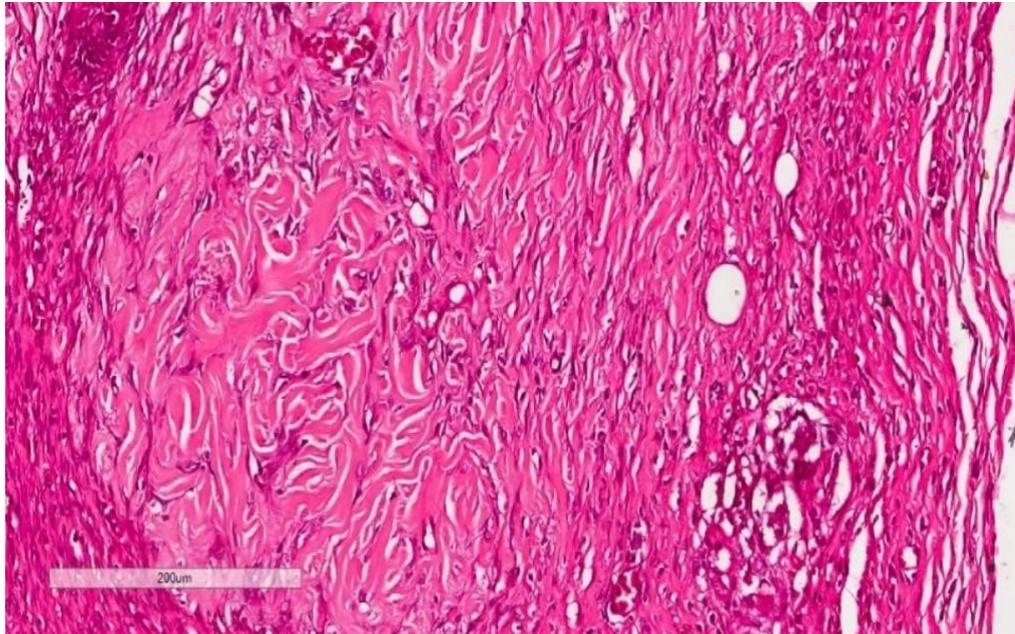
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 4: Fotomicrografias de ferida dérmica de rato Wistar no 3º dia de pós-operatório, submetido ao tratamento (G3) evidenciando-se: moderado infiltrado inflamatório escore 2 (não estando presente em toda a extensão do corte, porém em grande quantidade). Coloração H.E. Aumento de 14,8x. Uberlândia, 2019



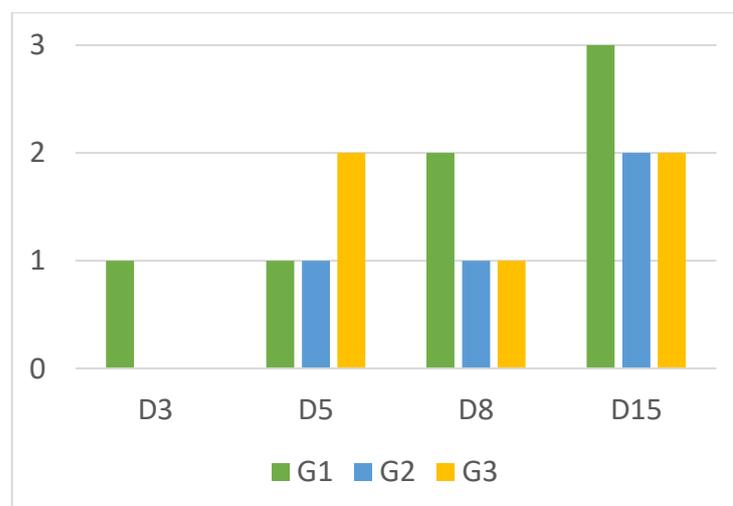
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 5: Fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar no 8º dia pós-operatório, submetida ao tratamento com água destilada (G1), evidenciando-se infiltrado inflamatório inexistente (escore 0). Coloração H.E. Aumento de 14,4x. Uberlândia, 2019.



Fonte: Arquivo pessoal.

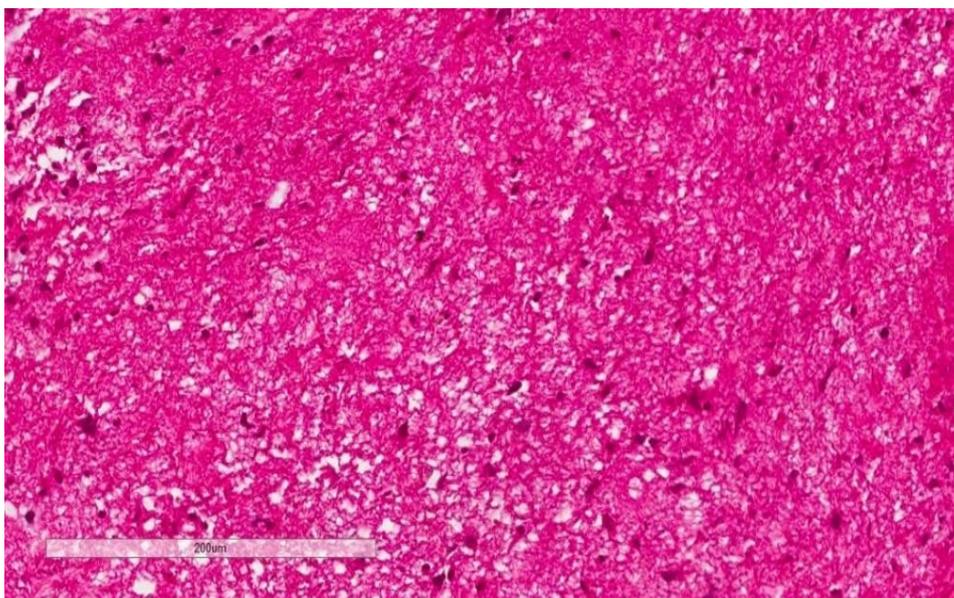
Gráfico 2: Resultados da análise de polimerização de fibras colágenas de fragmentos de feridas submetidas ao tratamento com água destilada (grupo controle), clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Uberlândia, 2019.



Com relação a formação de fibras de colágeno, aos 3 dias de cicatrização, a análise histopatológica do tecido cicatricial mostrou que os animais do grupo G1 obtiveram, com relação aos outros dois grupos, maior presença de polimerização de fibras de colágeno e

neovascularização. Entretanto, nos animais dos G2 e G3 não foi detectada polimerização de fibras colágenas e formação de novos vasos, apenas elevada quantidade de fibrina (Figura 6), revelando resultados similares.

Figura 6: fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar no 3º dia de pós-operatório, de animal do grupo G3, evidenciando-se presença de grande quantidade de fibrina, indicando imperceptível polimerização de fibras colágenas e desenvolvimento de tecido cicatricial. Coloração H.E. Aumento de 20x. Uberlândia, 2019.

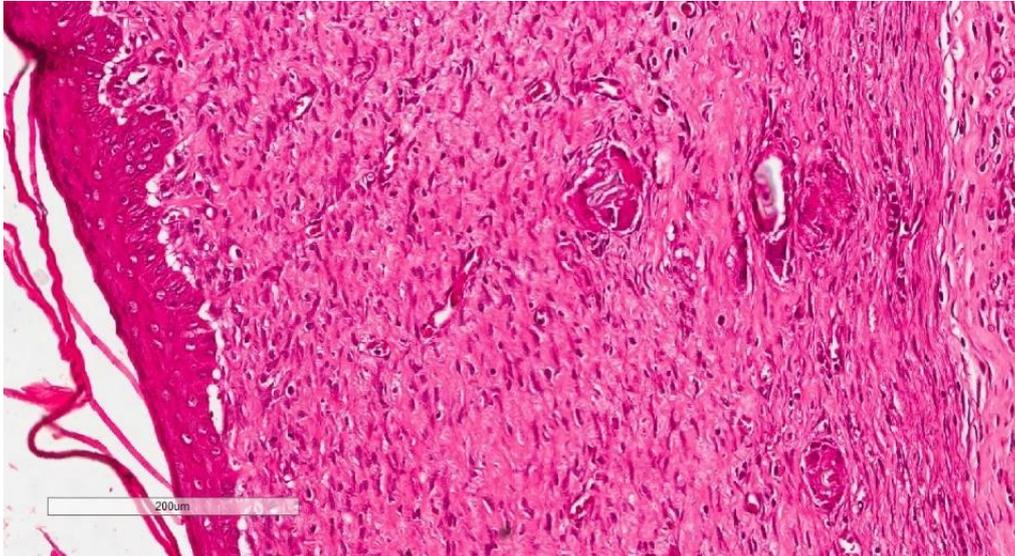


Fonte: Arquivo pessoal.

Aos 5 dias de cicatrização, foi possível observar que ocorreu multiplicação das fibras de colágeno em todos os animais, onde as feridas do G3 demonstraram reação significativamente superior, apesar do escore 2 (intermediário). Esta resposta diminuiu no 8º dia, sendo que, neste intervalo, as feridas do grupo G1 demonstraram escore superior e revelaram maior número de fibras de colágeno.

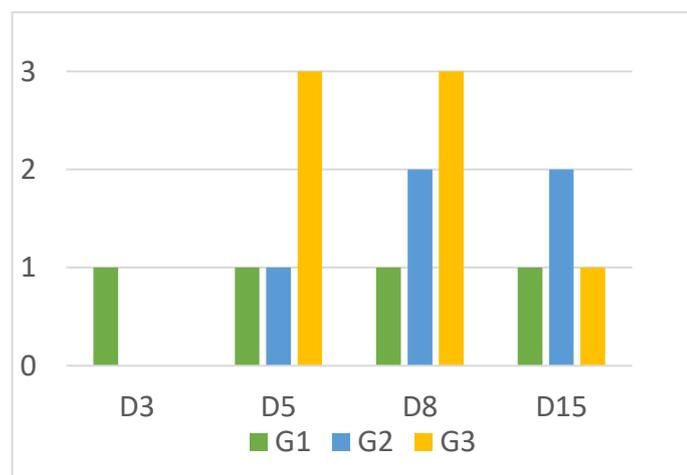
Aos 15 dias, os animais pertencentes ao G1 revelaram uma média de polimerização de fibras de colágeno com escore máximo (3) (Figura 7), enquanto os outros dois grupos receberam escore intermediário (2).

Figura 7: Fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar no 15º dia de pós-operatório, de animal do grupo G1 evidenciando-se grau máximo de fibras colágenas (escore 3), representando intenso processo de cicatrização tecidual. Coloração H.E. Aumento de 14,4x. Uberlândia, 2019.



Fonte: Arquivo pessoal.

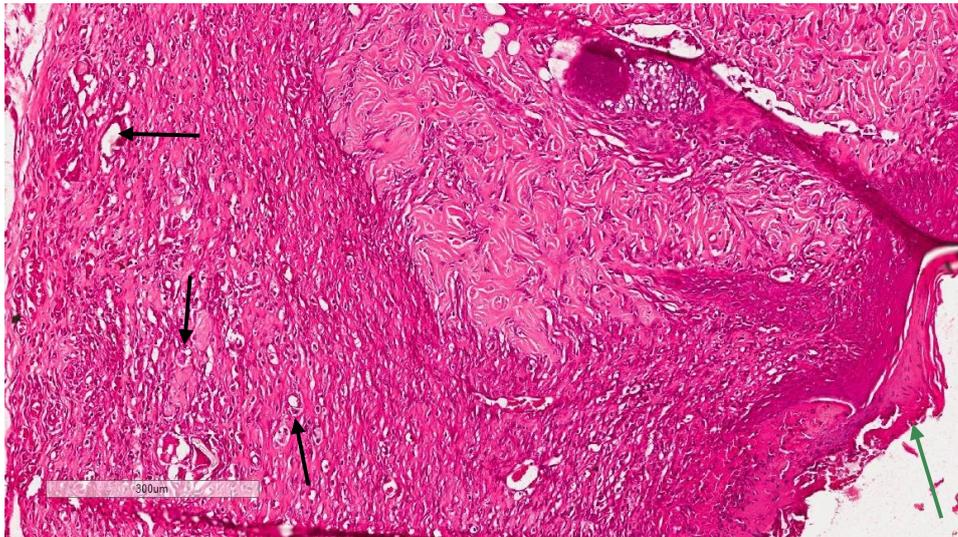
Gráfico 3: Resultados da análise da neovascularização de fragmentos de feridas submetidas ao tratamento com água destilada (grupo controle), clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Uberlândia, 2019.



A formação de novos vasos foi detectada neste estudo primeiramente em G1 em quantidade mínima (escore 1) aos 3 dias de cicatrização (Figura 8). Aos 5 e 8 dias, o grupo tratado com tartarato de ketanserina e asiaticosídeo apresentou escore máximo quanto a este

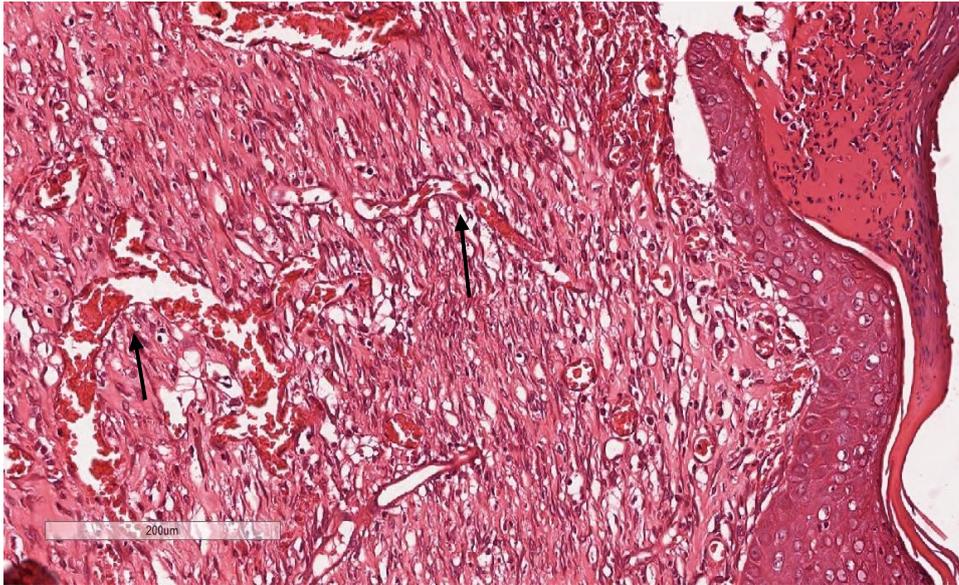
parâmetro, demonstrando vantagem no amadurecimento da ferida cirúrgica em relação aos demais grupos (Figura 9). Entretanto, no 15º dia, o mesmo grupo revelou significativa diminuição da neovascularização (escore 1) (Figura 10).

Figura 8: Fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar, no 8º dia pós-operatório de animal tratado com água destilada, evidenciando-se baixo grau de neovascularização; presença de pequenos capilares (setas pretas); nota-se formação de fina crosta fibrino-leucocitária (escore 1) (seta verde). Coloração H.E. Aumento de 14,6x. Uberlândia, 2019.



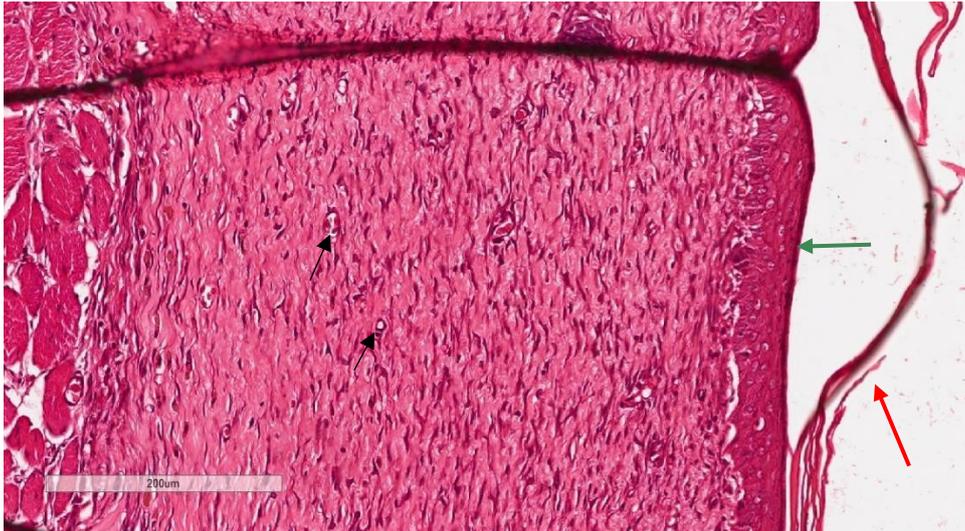
Fonte: Arquivo Pessoal

Figura 9: Fotomicrografia de ferida dérmica de rato Wistar no 8º dia pós-operatório, em animal tratado com tartarato de ketanserina e asiaticosídeo (G3), evidenciando-se intenso grau de neovascularização, com presença de vasos maiores (setas). É possível identificar um tecido de granulação mais maduro, com começo de polimerização de fibras colágenas entremeadas entre as células, demonstrando início da formação da cicatriz. Coloração H.E. Aumento de 14,2x. Uberlândia, 2019



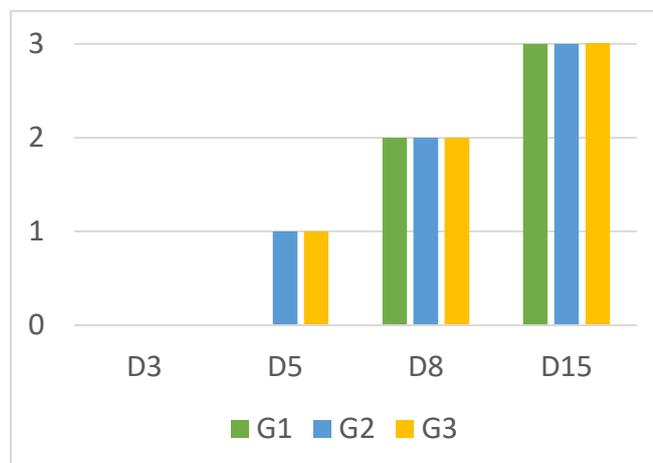
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10: fotomicrografia em ferida dérmica de rato Wistar no 15º dia pós-operatório, em animal tratado com tartarato de ketanserina e asiaticosídeo, evidenciando-se diminuição do grau de neovascularização (escore 1) com mínima presença de micro vasos (setas pretas), reepitelização completa (seta verde) e desprendimento da crosta (seta vermelha), indicando resolução completa da ferida cirúrgica. Coloração H.E. Aumento de 14,2x. Uberlândia, 2019.



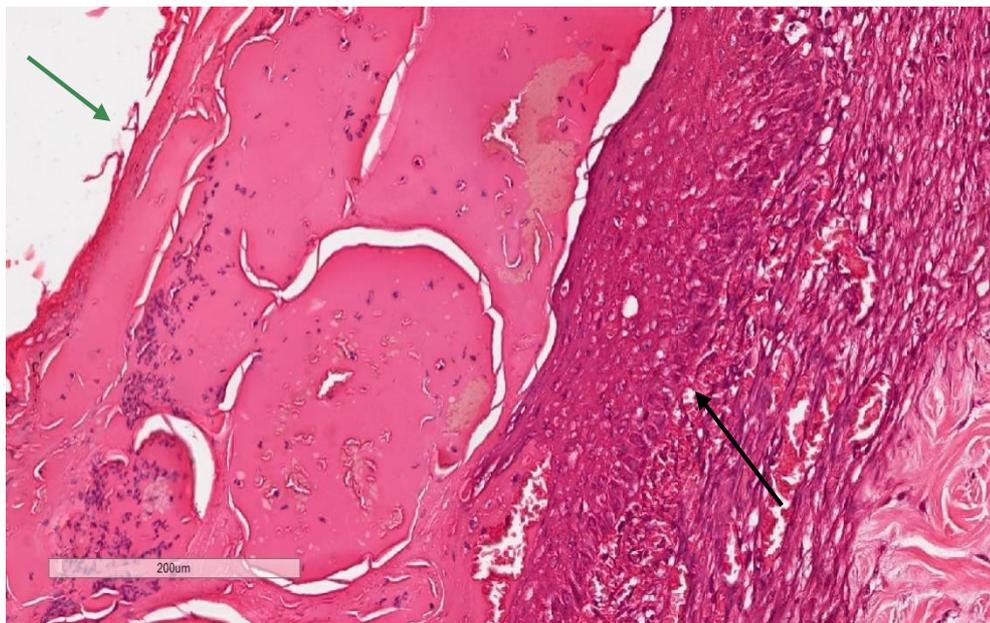
Fonte: Arquivo pessoal.

Gráfico 4: Resultados da análise da reepitelização de fragmentos de feridas submetidas ao tratamento com água destilada (grupo controle), clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Uberlândia, 2019.



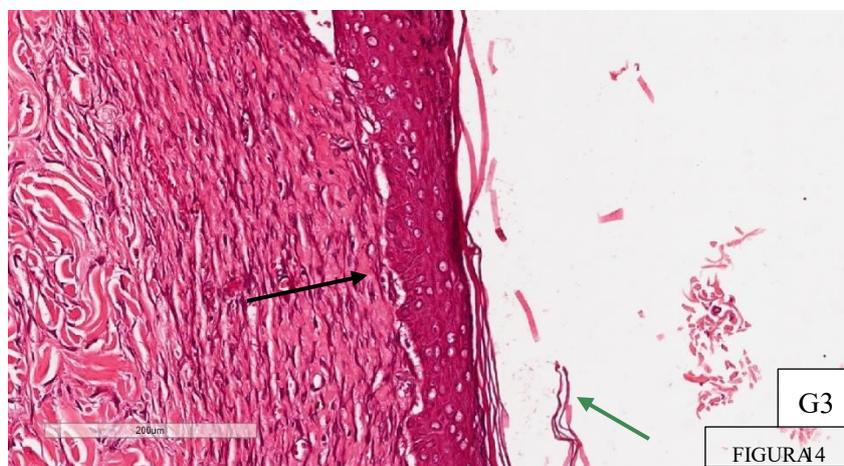
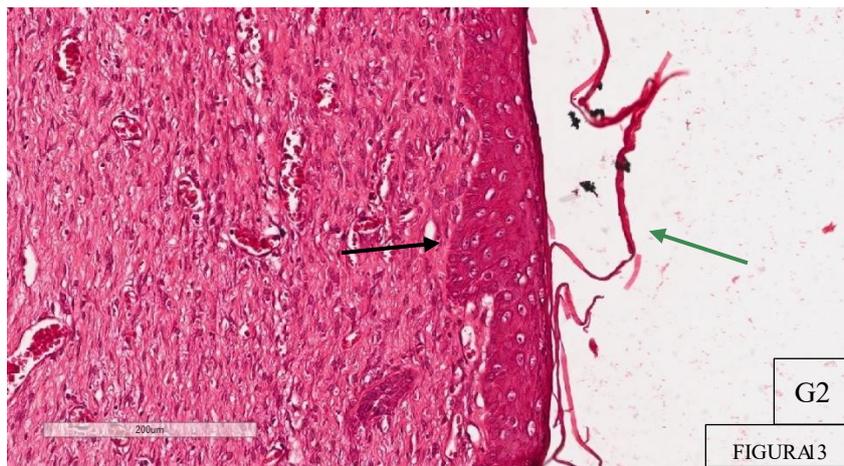
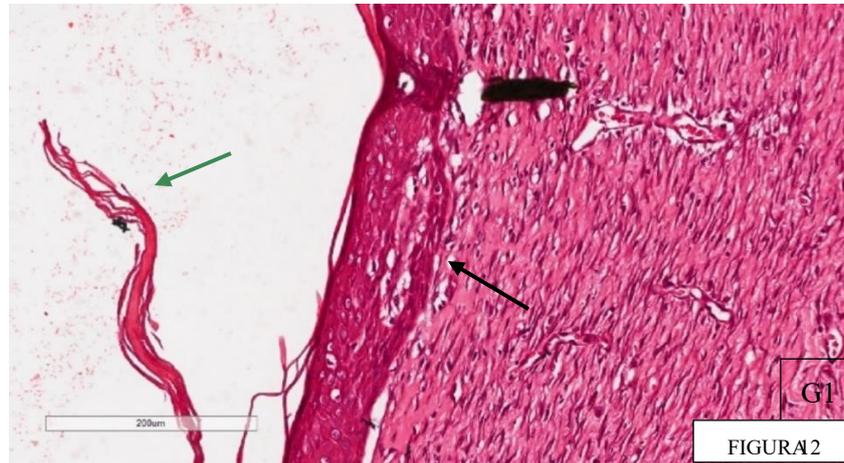
Com relação a reepitelização, este processo iniciou-se primeiramente nas feridas tratadas no G2 e G3 (Figura 11) com escore mínimo (1) após 5 dias de cicatrização, ambos apresentando resultados significativamente similares. Entretanto, os três tratamentos demonstraram reepitelização de grau intermediário (escore 2) no 8º dia de ensaio, alcançando escore máximo (3) após 15 dias de cicatrização (Figuras 12, 13, 14).

Figura 11: Fotomicrografia em ferida dérmica de rato Wistar no 5º dia pós-operatório, em animal do grupo G3, evidenciando-se início da formação de novo epitélio sobre o leito da ferida (seta preta); e presença de crosta fibrino-leucocitária em graduação máxima (seta verde). Coloração H.E. Aumento de 14,8x. Uberlândia, 2019



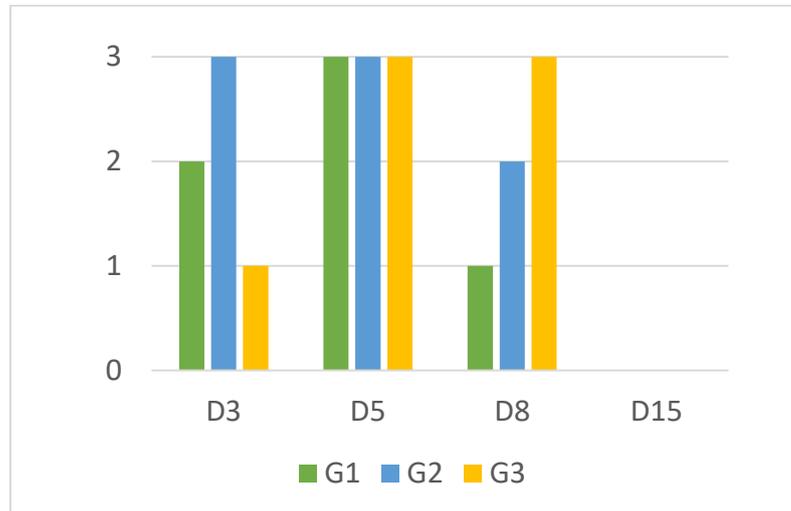
Fonte: Arquivo pessoal.

Figuras 12 (G1), 13 (G2), 14 (G3): Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas dérmicas de ratos Wistar dos três grupos no 15º dia pós operatório, ilustrando o máximo grau de reepitelização do leito da ferida (setas pretas); importante destacar que as crostas se desprenderam totalmente (setas verdes), estando o epitélio totalmente restaurado. Aumentos de 14,6x. Uberlândia, 2019.



Fonte: Arquivo pessoal.

Gráfico 5: Resultados da análise da presença de crostas fibrino-leucocitárias de fragmentos de feridas submetidas ao tratamento com água destilada (grupo controle), clorexidina 1% e tartarato de ketanserina e asiaticosídeo. Uberlândia, 2019.



A análise de formação de crostas fibrino-leucocitárias foi superior (escore 3) nos animais tratados em G2 após 3 dias de experimento, seguido de forma decrescente pelas feridas tratadas em G1 e G3, nesta ordem. O grau máximo de formação de crosta foi alcançado nos três grupos após o 5º dia (Figura 11). No 8º dia, o escore de G3 se manteve, porém decresceu nos animais tratados nos grupos restantes (em G1 – Figura 8). Após 15 dias, nenhuma ferida apresentava crosta (Figuras 12, 13, 14).

6 DISCUSSÃO

A cicatrização consiste em uma série de eventos celulares e moleculares que promovem a reepitelização e reconstituição do tecido lesado (FALEIRO et al., 2009). O processo é complexo e pode ser dividido em três fases que se sobrepõem: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelamento. Cada uma dessas fases tem um período médio de duração, sendo um grande desafio à ciência otimizar este processo (NETO et al., 2006).

Neste estudo, a infiltração de células inflamatórias se deu, em média, em grau máximo no 3º dia no grupo tratado com Clorexidina 1%, se apresentando em grau intermediário em G1 e G3, sem diferença significativa entre eles. No 5º dia, o infiltrado inflamatório em G2 regrediu, ainda se mantendo maior em comparação aos outros grupos analisados. Neste mesmo período, em G3 não foi detectada mais nenhuma resposta inflamatória (escore 0). Após 8 dias, o infiltrado de células inflamatórias não é mais detectado nas feridas dos grupos analisados.

Já descrita por inúmeros autores e de acordo com os resultados deste estudo, a reação inflamatória de feridas ocorre imediatamente após a lesão e tende a se manter por 4 a 6 dias (BROUGHTON II, 2006), em média, em todo processo cicatricial, sendo uma resposta protetora ao tecido lesionado, levando a, entre outros mecanismos, ativação de células inflamatórias que têm como função combater agentes invasores e realizar a fagocitose de produtos gerados pela lise tecidual (HATANAKA; CURY, 2007).

Amoras (2013) aponta a clorexidina como uma substância antisséptica com efeitos farmacológicos comprovadamente benéficos, ação bactericida e bacteriostática satisfatórias. Porém, segundo Gelape (2007), a clorexidina pode alterar o processo de cicatrização, danificando e reduzindo a força de tensão dos tecidos, podendo ainda causar irritação da pele e reações alérgicas, fato este que pode justificar a presença de maior infiltrado inflamatório nos 3º e 5º dias de análise.

Estudando os efeitos do asiaticosídeo, Somboonwong et al. (2012) observaram o efeito cicatrizante pela inibição da inflamação. Assim como foi observado nas avaliações realizadas no 3º dia de cicatrização deste estudo, Vitug et al (1986) e Janssen et al (1989) relataram que a vasodilatação promovida pelo tartarato de ketanserina amplia a ativação de macrófagos, proporcionando uma resposta inflamatória mais satisfatória na fase inicial do processo cicatricial e um controle mais eficiente da infecção no sítio da ferida.

Em todos os animais foi possível observar a formação de fibras de colágeno. Aparentemente essa multiplicação ocorre de maneira mais precoce nos animais do G1 aos 3 dias de experimento, sendo ultrapassada pelo tratamento ofertado ao G3 no 5º dia. Aos 8 e 15

dias de cicatrização, o G1 volta a oferecer melhores condições de polimerização de fibras de colágeno, comparado aos outros grupos. Condizente com este estudo, Fossum (2015) cita que a quantidade de colágeno atinge seu pico máximo dentro de 2 ou 3 semanas após a lesão.

A presença de fibras colágenas está de acordo com Campos (2007), que relatou em seu estudo o aumento progressivo da maturação destas fibras, com seu início logo no primeiro dia pós lesão, ainda durante a fase inflamatória da cicatrização, que se estende até o 12º e 15º dias, acompanhando o aumento do número de fibroblastos, responsáveis pela síntese de colágeno.

No mesmo trabalho, Campos (2007) descreve que, nas duas últimas fases da cicatrização, a partir do 4º dia até a resolução ferida por completo, o colágeno tipo 1 continua a ser depositado pelos fibroblastos de maneira mais organizada. Hatanaka e Curi (2007) citam que, com o aumento do número de fibroblastos produzindo colágeno, a matriz extracelular formada inicialmente passa a ser substituída por tecido conjuntivo mais forte e elástico, aumentando a força tênsil da ferida.

A formação de novos vasos (neoangiogênese) é consequente da formação de tecido de granulação, e se inicia com escore mínimo primeiramente nas feridas do G1, se mantendo com a mesma graduação até o final do estudo. A substância utilizada nos animais do grupo G3 parece estimular e acelerar melhor este processo aos 5 e 8 dias de cicatrização, favorecendo o amadurecimento da ferida mais cedo que nos outros grupos. Importante observar que após 15 dias esta neovascularização diminuiu nos animais de G3 e se manteve estável no outros dois grupos, sugerindo que os animais pertencentes ao G3 apresentam, conseqüentemente, menor formação de tecido de granulação, o que pode retardar o processo cicatricial, analisando este parâmetro isoladamente.

De acordo com Mendonça (2009), a angiogênese é parte da fase proliferativa da cicatrização que tem início por volta do 4º dia após a lesão e se estende até o final da segunda semana do processo cicatricial, fase esta em que o tecido de granulação é formado, dado que corrobora com os resultados obtidos neste estudo.

A presença da neovascularização acompanha o crescimento da polimerização de fibras colágenas neste estudo, sendo a primeira necessária para que a segunda aconteça de forma satisfatória, como descreveu Hatanaka e Curi (2007).

A redução do processo de neovascularização e consequente formação de tecido de granulação ao 15º dia no G3 pode ser explicada por Foz Filho (2003) que afirma que a ação bloqueadora aos receptores de serotonina faz com o que o tartarato de ketanserina contribua para a estimulação fibroblástica, evitando a formação excessiva de tecido de granulação.

A reepitelização pareceu iniciar aos 5 dias, primeiro nos animais tratados com clorexidina 1% e tartarato de kentaserina e asiaticosídeo. Todos os grupos alcançaram reepitelização máxima no 15º de experimento. A água destilada (G1) então pareceu oferecer ambiente igualmente favorável à reepitelização, apesar de não conter nenhum agente específico.

Assim como constataram Beleña e Lacovara (1993), foi notado neste estudo que o asiaticosídeo possui ação nas fases de proliferação e remodelamento, atuando sobre os fibroblastos e favorecendo, assim, a síntese de colágeno tipo I. Em estudo realizado por Shukla et al. (2009), verificou-se que o uso tópico de asiaticosídeo em feridas cutâneas confeccionadas por “punch” em cobaias gerou um aumento de mais de 50% na hidroxiprolina, aminoácido constituinte do colágeno, e na mesma proporção na resistência à tração tecidual, aumentando o conteúdo de colágeno e favorecendo uma melhor reepitelização.

Com relação à avaliação de presença de crosta, foi observada formação em grau máximo nos animais tratados com clorexidina 1%, no 3º dia de estudo. Todos os grupos alcançaram escore máximo no 5º dia de cicatrização. Após 15 dias, nos três grupos a crosta se soltou por completo, não sendo verificada em nenhum deles.

Segundo Fossum (2015), as crostas são resultado do coágulo formado no momento inicial pós estímulo lesivo, durante a hemostasia, que se seca. De acordo com Pope (1996) a espessura da crosta pode interferir no processo cicatricial, por diminuir a oxigenação local e a reepitelização. Entretanto, Ribeiro et al (2008) cita que a presença da crosta funciona como uma proteção ao ferimento e possibilita que a cicatrização avance além da sua superfície. O mesmo autor ainda menciona em seu estudo que a desagregação precoce da crosta favorece o desenvolvimento de microorganismos favorecendo, como consequência, a contaminação da ferida.

Comparando aos autores citados, nesta pesquisa não foi percebida relação da presença de crosta com contaminação do sitio da ferida cirúrgica, porém é possível associar com o desenvolvimento do processo cicatricial, onde o grupo que apresentou menor formação de crostas pareceu iniciar a cicatrização antes dos restantes.

CONCLUSÃO

Foi possível observar que todas as feridas completaram o processo de cicatrização e que os três tratamentos aplicados foram eficazes. Porém, os animais tratados com clorexidina e água destilada apresentaram melhores respostas do que os animais tratados com tartarato de ketanserina e asiaticosídeo.

AGRADECIMENTO:

OS AUTORES AGRADECEM À EMPRESA OURO FINO SAÚDE ANIMAL PELA DOAÇÃO DA SUBSTÂNCIA TARTARATO DE KETANSERINA E ASIATICOSÍDEO (REGEPIL®).

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p. 580, 2005. Acesso em: 30 mar. 2021.

ARAÚJO, A.K.L. **Aspectos Morfológicos do Processo de Cicatrização Induzido por *Ouratea sp.*** Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** vol. 41, n. 1, jan./mar., 2005.

BLANCK, M. Fisiopatologia das feridas, **Imprensa Pelayo**. Espanha, p.261-276, 2008.

BLANES, L. Tratamento de feridas. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo, 2004.

CAPUTO, L. F. G. Manual da disciplina de Histotecnologia do curso técnico de Pesquisa em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008.

CLARK, R. A. F.: Wound repair. In: Kumar, Robbins, Cotran: Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Ed. Saunders, p.112, 2005.

DHAWAN, B. N. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 65, p. 1–11, 1999.

FALEIRO, C. C.; ELIAS, S. T. H.; CAVALCANTI, L. C.; CAVALCANTI, A. S. S. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. Natureza on line 7 (2): 56- 60. 2009. [on line] <http://www.naturezaonline.com.br>

FOZ FILHO, R. Feridas cutâneas. **Revista Saúde Equina**, v. 10, p. 10-11, 1999.

GONZALEZ, A. C. O.; ANDRADE, Z. A.; COSTA, T. F.; MEDRADO, A. R. A. P. Wound healing - A literature review. **An Bras Dermatol.**; 91(5):614-20, 2016

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 538 p.

IDRUS, R. B. H. et al. Aqueous extract of *Centella asiatica* promotes corneal epithelium wound healing in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 333-338, 2012.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos Animais Domésticos. Texto e Atlas Colorido**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 788p.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **An Bras Dermatol.**, v.78, n.4, p. 393-410, 2003. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2008; 41 (3): 259-64.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO NETTO, J., Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol.*; 84(3):257-62, 2009.

MENEZES, M. A. J. et al. Cuidados locais com as feridas das queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 9, n. 2, p. 54–59, 2010.

NAZARET, T.L. Estudo para avaliação da ação e eficácia da formulação de tartarato de ketanserina (0,345%) e asiaticosídeo (0,20%), aplicada via tópica, no processo de cicatrização de lesões cutâneas em cães. **Universidade Estadual Paulista**. Jaboticabal, 2018.

NETO, M. L. C. B. et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 17–22, 2006.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C.; Cicatrização de Feridas: fases e fatores de influência. [Wound healing: stages and influencing factors]. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.

PAGNANO, L. de O. Análise da cicatrização na pele de coelhos após tratamentos de feridas com biomateriais associados à fração de proteína do látex natural da seringueira (*hevea brasiliensis*). 2009. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária.) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009. Pelotas, 2014. – Orientadora Márcia de Oliveira Nobre.

PAYNE, D. N.; BABB, J. R.; BRADLEY, C. R. An evaluation of the suitability of the European suspension test to reflect in vitro activity of antiseptics against clinically significant organisms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 7–12, 1999.

POPE, E.R. Cicatrização de pele, p.178-183. In: Bojrab M.J. (Ed.), *Mecanismo da moléstia na cirurgia dos pequenos animais*. 2ª ed. Manole, São Paulo, 1996.

RIBEIRO, R.V.; BARROS, W.M.; SEGUNDO, A.S.. Influência do sumo de *Chenopodium ambrosioides* L. (erva de Santa Maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem Wistar. In: XX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil & X Congresso Internacional de Etnofarmacologia, 2008, São Paulo. Atividade Farmacológica, 2008.

RIVERA, E. A. B. Analgesia em animais de experimentação. **Animais de laboratório: criação e experimentação**, p. 247, 2006.

SARANDY, M. M. In: **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) em ratos wistar**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa. Defesa: Lavras, 2007.

SHUKLA, A.; RASIK, A. M.; JAIN, G. K.; SHANKAR, R.; KULSHRESTHA, D. K.; SOUZA T.M., FIGHERA R.A., KOMMERS G.D. & BARROS C.S.L. [**Histological aspects of canine and feline skin as a tool for dermatopathology.**] Aspectos histológicos da pele de cães e gatos como ferramenta para dermatopatologia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(2):177-190.

Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil, 2009.

TAZIMA, M. F. G. S., VICENTE, Y. A. M. V. A., MORIYA, T. **Biologia da ferida e cicatrização**. Simpósio: fundamentos em clínica cirúrgica. **Medicina**, v. 41, n.3, p. 259-264, 2008.

TILLMANN, M. T. **Caracterização citotóxica e cicatricial dos extratos de *Triticum aestivum* e *Copaifera sp.*** / Mariana Teixeira Tillmann. – 59f.: il. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Área de concentração: Clínica médica de pequenos e grandes animais. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária.

VENTER, N. G. Uso de plasma rico em plaquetas em queimaduras – Modelo experimental em ratos / Neil Grant Venter. – 2014. 75 f.

WATANABE, C. B.; Magnetoterapia na cicatrização de feridas / Camila Bongiovanni Watanabe - Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2010.

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://hdl.handle.net/1884/10498>>.