



MATHEUS CAMARGOS DE BRITTO ROSA

EFEITO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EM REGIÕES METATÁRSICA E GARUPA DE EQUINOS, AVALIANDO-SE OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CREME À BASE DE SEIVA DE *CROTON LECHLERI*, ASSOCIADO OU NÃO À NITROGLICERINA

**LAVRAS-MG
2022**

MATHEUS CAMARGOS DE BRITTO ROSA

**EFEITO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS
INDUZIDAS EM REGIÕES METATÁRSICA E GARUPA DE EQUINOS,
AVALIANDO-SE OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CREME À BASE DE SEIVA
DE *CROTON LECHLERI*, ASSOCIADO OU NÃO À NITROGLICERINA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Clínica, Cirurgia e Patologia Veterinária, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Djeison Lutier Raymundo
Orientador

Prof. Dr. Hugo Shisei Toma
Prof. Dr. Rodrigo Norberto Pereira
Coorientadores

**LAVRAS-MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Rosa, Matheus Camargos de Britto.

Efeito comparativo da cicatrização em feridas cutâneas induzidas em regiões metatársica e garupa de equinos, avaliando-se os efeitos da aplicação de creme à base de *Croton lechleri*, associado ou não à nitroglicerina / Matheus Camargos de Britto Rosa. - 2022.

93 p. : il.

Orientador(a): Djeison Lutier Raymundo.

Coorientador(a): Rodrigo Norberto Pereira, Hugo Shisei Toma.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Equinos. 2. Feridas. 3. Cicatrização. I. Raymundo, Djeison Lutier. II. Pereira, Rodrigo Norberto. III. Toma, Hugo Shisei. IV. Título.

MATHEUS CAMARGOS DE BRITTO ROSA

**EFEITO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS
INDUZIDAS EM REGIÕES METATÁRSICA E GARUPA DE EQUINOS,
AVALIANDO-SE OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CREME À BASE DE SEIVA
DE *CROTON LECHLERI*, ASSOCIADO OU NÃO À NITROGLICERINA**

**COMPARATIVE EFFECT OF HEALING ON SKIN WOUNDS INDUCED IN
EQUINE METATARS AND RUIN REGIONS, EVALUATING THE EFFECTS OF
APPLICATION OF CREAM BASED ON *CROTON LECHLERI* SAP, ASSOCIATED
OR NOT WITH NITROGLYCERIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Clínica, Cirurgia e Patologia Veterinária, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 01 de julho de 2022.
Prof. Dr. Flademir Wouters UFLA
Prof. Dr. José Rafael Miranda UFLA
Prof. Dr. Luis David Solis Murgas UFLA
Prof. Dr. Fernando Arévalo Batista UFMS

Prof. Dr. Djeison Lutier Raymundo
Orientador

Prof. Dr. Hugo Shisei Toma
Prof. Dr. Rodrigo Norberto Pereira
Coorientadores

**LAVRAS-MG
2022**

*À minha mãe Rejane Maria Maciel de
Carvalho. Amorosa e perseverante me educou
com o maior amor do mundo.
Dedico*

AGRADECIMENTOS

E aqui encerra-se mais um ciclo em minha vida...

Hoje quando olha para trás e me lembro do ano de 2005, quando estava com 16 anos e cursando o segundo ano do ensino médio, só um sentimento vêm ao meu coração e mente: GRATIDÃO.

Nesse ano um professor mudou a minha vida com algumas poucas e simples palavras, e decidi que eu seria Médico Veterinário e Professor.

A jornada teve início: conclusão do Ensino Médio, aprovação no vestibular de Medicina Veterinária da UFLA, graduação, residência, mestrado e, finalmente, doutorado.

Sim! Hoje posso falar: Sou Doutor!

Porém, nada seria possível sem:

Deus, que me deu o dom da vida;

Minha amada Mãezinha Rejane, que me criou com um amor e dedicação impossíveis de serem descritos;

Meu irmão Ariel e minha irmã Nayza, que foram sempre meus exemplos e alicerces de minha vida;

Meu pai José Antônio, sempre me incentivando a trilhar os caminhos dos estudos;

Minha amada companheira Maria Eduarda, por estar sempre ao meu lado a todo instante, dividindo comigo os desafios do dia a dia, compartilhando uma vida comigo, e me ensinando sobre amor, companheirismo, paciência e dedicação, além de ter sido fundamental nas análises histopatológicas do doutorado;

Meus afilhadinhos Arthuzinho e Pedrinho, que chegaram a pouco tempo e aqueceram meu coração com um amor tão lindo;

Minha cunhada Débora e meu cunhado João, por serem sempre amigos com os quais eu posso contar;

Ao Leleu e a Tia Lúcia, por me tratarem com amor e carinho sempre;

Amo muito vocês! Muito obrigado! Por tudo!

Agradeço a todos os meus professores, pois cada um deixou um ensinamento que carregou comigo em minha vida, especialmente aos orientadores que tive ao longo dos anos: Djeison Lutier Raymundo, Luciano José Pereira, Rodrigo Norberto Pereira, Fernando Arévalo Batista, Gregório Corrêa Guimarães e Renison Teles Vargas;

Agradeço aos inúmeros amigos feitos, especialmente ao Thiago, Osório, Pinguim, Mari e a Família Lua Branca, por tornarem a caminhada mais alegre;

Agradeço a todos os meus alunos que diariamente me ensinam e me incentivam a buscar sempre progredir. Meu muito obrigado especial ao Gabriel, Ivan, Rilarity, Maria Carolina, Ana Carolina e Pâmela que me auxiliaram em todo experimento do doutorado;

Agradeço a Adriana, Miriam, professora Patrícia, professor Hugo e professora Angélica pelas contribuições na confecção desta tese;

Agradeço a UFLA, onde me tornei Médico Veterinário, Mestre e Doutor;

Agradeço ao UNILAVRAS, por me emprestar sua estrutura física para realização de um experimento tão desafiador;

Agradeço ao Laerte, Antônio, Alessandra e Lilian, por tornarem a execução do experimento menos pesada;

Agradeço a Débora, Beatriz e Natália por suas contribuições no experimento;

Agradeço aos Sagrados Pais e Mães Orixás, que sustentam a minha existência e me direcionam rumo ao Amor Divino, especialmente Pai Obaluaiê, Pai Xangô, Mamãe Oxum e Pai Omolu, que foi crucial para que eu encerrasse o Doutorado;

Por fim agradeço aos meus amados Guias Espirituais que diariamente me conduzem por esta encarnação. Obrigado ao Senhor Tupinambá por me ensinar a ser firme em minhas

decisões; a Pai João por me ensinar a fazer tudo com amor, calma e serenidade; ao Senhor Sete Caveiras por me proteger e ensinar a ser disciplinado; a Senhora Maria Padilha da Almas por me ensinar a ter mais empatia e sensibilidade ao lidar com as pessoas; a Miguelzinho por me ensinar a ver a vida de forma mais alegre e leve; e ao Senhor Zé do Laço por me proteger e amparar sempre! Minha eterna gratidão a vocês meus Mestres!

Enfim, meu muito obrigado a todos, todas e todes que contribuíram de alguma forma para essa conquista!

“Para que a pressa meu filho se você tem toda a eternidade para aprender? Vai colocando tijolinho por tijolinho, mas que cada um seja colocado de forma bem-feita, com calma e, principalmente, com AMOR. Quando você se der conta meu filho, terá construído um castelo, repleto do AMOR de Deus.” (Pai João de Aruanda)

RESUMO

A cicatrização de feridas consiste em um processo dinâmico de uma sequência perfeita e coordenada de eventos celulares e moleculares que interagem reparando o tecido. Nos equinos frequentemente ocorrem ferimentos de pele, sendo a cicatrização cutânea nessa espécie de maneira mais exuberante quando comparada às demais espécies domésticas, fato que prejudica sua recuperação de feridas. As plantas medicinais podem ser utilizadas em protocolos terapêuticos para tratamento das feridas. O *Croton lechleri*, conhecido popularmente como “Sangue de Dragão”, possui atividades anti-inflamatória, antibiótica e antioxidante. Sendo assim, a planta teria potencial para ser utilizada no tratamento de feridas, auxiliando no processo de cicatrização. A nitroglicerina é um fármaco com ação vasodilatadora direta que produz relaxamento da musculatura lisa, provocando dilatação nos sistemas venoso e arterial. Com isso, possui capacidade de melhorar a vascularização de determinadas regiões, favorecendo a oxigenação. Com base nas informações supracitadas, um estudo envolvendo os mecanismos cicatriciais em equinos, bem como os possíveis efeitos do *Croton lechleri* (CL) e da nitroglicerina na cicatrização de feridas mostrou-se pertinente. Foram utilizadas seis fêmeas híbridas da espécie equina que passaram pela indução de 12 feridas cutâneas (6 na garupa e 6 no metatarso) e cada ferida recebeu um tratamento diferente (controle, com CL e nitroglicerina em diferentes concentrações), avaliando-se as características da cicatrização durante 28 dias. Sendo assim, observou-se maior eficiência da cicatrização das feridas cutâneas da região da garupa em relação às feridas cutâneas na região de metatarso, o CL auxiliou na cicatrização e a nitroglicerina reduziu a angiogênese. Conclui-se que o CL tem potencial para contribuir na recuperação de feridas, que a cicatrização nas regiões distais dos membros dos equinos é mais complexa e fatores como menor taxa de contração contribuem para a formação de tecido de granulação exuberante.

Palavras-chave: Equino. Cicatrização. Tecido de granulação. *Croton lechleri*. Nitroglicerina.

ABSTRACT

Wound healing consists of a dynamic process of a perfect and coordinated sequence of cellular and molecular events that interact to repair tissue. In horses, skin injuries often occur, and skin healing in this species is more exuberant when compared to other domestic species, a fact that impairs their recovery from wounds. Medicinal plants can be used in therapeutic protocols for wound treatment. *Croton lechleri*, popularly known as "Dragon's Blood", has anti-inflammatory, antibiotic and antioxidant activities. Thus, the plant would have the potential to be used in the treatment of wounds, aiding in the healing process. Nitroglycerin is a drug with direct vasodilating action that produces smooth muscle relaxation, causing dilation in the venous and arterial systems. Thus, it has the ability to improve the vascularization of certain regions, favoring oxygenation. Based on the above information, a study involving healing mechanisms in horses, as well as the possible effects of *Croton lechleri* (CL) and nitroglycerin on wound healing proved to be relevant. Six healthy females of the equine species were used, which underwent the induction of 12 skin wounds (6 on the croup and 6 on the metatarsal) and each wound received a different treatment (control, with CL and nitroglycerin in different concentrations), evaluating the characteristics of the healing for 28 days. Thus, there was a greater efficiency of healing of skin wounds in the croup region in relation to skin wounds in the metatarsal region, CL helped in healing and nitroglycerin reduced angiogenesis. It is concluded that the CL has the potential to contribute to wound recovery and that healing in the distal regions of equine limbs is more complex and factors such as lower contraction rate contribute to the formation of exuberant granulation tissue.

Keywords: Equine. Healing. Granulation tissue. *Croton lechleri*. Nitroglycerin.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Imagem mostrando a árvore de *Croton lechleri*, cuja seiva é conhecida popularmente como Sangue de Dragão 29

SEGUNDA PARTE

Artigo 2

Figura 1 - Tratamento A. Cicatrização das feridas induzidas nas regiões da garupa (G) e metatársica (MP). É possível observar um reparo tecidual mais eficiente em G ao longo do tempo (dias 0, 7, 14, 21 e 28) com maior contração da ferida ($p < 0,05$), menor formação de tecido de granulação e maior epitelização. Além disso, em MP é possível notar maior formação de tecido de granulação nos dias 7 e 14 75

Figura 2 - Áreas correspondentes das temperaturas superficiais mensuradas nas feridas cutâneas da garupa (G) e metatarso (MP). É observado que a temperatura é maior em todas as feridas de G em relação as feridas de MP ($p < 0,05$), independentemente do tratamento empregado ($p > 0,05$) 75

Figura 3 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 dias após indução das feridas nas regiões metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de tecido de granulação em MP em relação a G ($p < 0,05$). Coloração por Hematoxilina-eosina, 40x (MP e G) 77

Figura 4 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 dias após indução das feridas nas regiões da metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos em MP em relação a G ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Gomori, 40x (MP e G) 78

Figura 5 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 21 dias após indução das feridas nas regiões da metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de colágeno (coloração azulada) em G em relação a MP ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Masson, 40x (MP e G) 78

Figura 6 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da garupa tratadas com *C. lechleri* na concentração de 1µg/ml (tratamento D). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Gomori, 40x (MP e G) 81

Figura 7 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da garupa tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 1µ/ml (tratamento D) e 10µ/ml (tratamento E). É possível notar concentração maior de colágeno (coloração rosada) aos 21 dias em relação aos 7 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Masson, 40x (MP e G) 81

Figura 8 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da metatársica tratadas com *C. lechleri* na concentração de 1µg/ml (tratamento D). É possível notar maior concentração de células inflamatórias aos 7 dias em

relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por Hematoxilina-eosina, 40x (MP e G) 83

Figura 9 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da metatársica tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 1 μ /ml (tratamento D) e 10 μ /ml (tratamento E). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Gomori, 40x (MP e G) 83

Figura 10 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da metatársica tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 1 μ /ml (tratamento D) e 10 μ /ml (tratamento E). É possível notar concentração maior de colágeno (identificar o colágeno) aos 21 dias em relação aos 7 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Masson, 40x (MP e G) 84

Figura 11 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da metatársica tratadas com nitroglicerina na concentração de 1mg/ml (tratamento C). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricômico de Gomori, 40x (MP e G) 84

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

Artigo 2

- Tabela 1 - Grupos experimentais e seus respectivos tratamentos 69
- Tabela 2 - Efeito dos tratamentos na contração da ferida e termografia segundo o local das feridas. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). a Valores médios ± desvio padrão (DP) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). Valores de p < 0,05 foram considerados significativos 76
- Tabela 3 - Isolamento bacteriano das feridas segundo o local e tratamento. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). Frequências absolutas são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). a Teste de qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores de p < 0,05 foram considerados significativos 77
- Tabela 4 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, colágeno e contagem de vasos segundo o local das feridas. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). a Teste de Mann-Whitney. Valores de p < 0,05 (*) foram considerados significativos 79
- Tabela 5 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, contagem de vasos e colágeno nas feridas na garupa ao longo do tempo. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). a Teste de Friedman. b Teste de Wilcoxon. Valores dentro da mesma coluna com sobrescritos diferentes (a, b) indicam diferenças significativas * (p < 0,05)..... 82
- Tabela 6 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, tecido conjuntivo

fibroso, contagem de vasos e colágeno nas feridas no membro pélvico ao longo do tempo. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). a Teste de Friedman. b Teste de Wilcoxon. Valores dentro da mesma coluna com sobrescritos diferentes (a, b) indicam diferenças significativas * (p < 0,05) 85

LISTA DE ABREVIATURAS

ALE.	antígeno leucocitário equino
BCG.	bacilo de Calmette-Guérin
BID.	duas vezes ao dia
BPV.	papiloma vírus bovino
CCE.	carcinoma de células escamosas
CL.	Croton lechleri
CM.	centímetros
ELISA.	ensaio de imunoabsorção enzimática
FGF.	fator de crescimento de fibroblastos
G.	gramas
IGF-1.	fator de crescimento insulín-like
IL.	interleucina
IV.	intravenoso
KG.	quilogramas
MG.	miligramas
ML.	mililitros
NADPH.	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NO.	óxido nítrico
PCR.	reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real
PDGF.	fator de crescimento derivados de plaquetas
PH.	potencial hidrogeniônico
PMN.	polimorfonucleares
QSP.	quantidade suficiente para
TGE.	tecido de granulação exuberante
TGF- α .	fator de crescimento transformador alfa
TGF- β .	fator de crescimento transformador beta
TNF- α .	fator de necrose tumoral alfa
VEGF.	fator de crescimento endotelial vascular
VO.	via oral
μ M.	microgramas

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	18
1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Fisiopatogenia da cicatrização	20
2.1.1 <i>Coagulação</i>	20
2.1.2 <i>Inflamação</i>	20
2.1.3 <i>Proliferação</i>	22
2.1.4 <i>Contração</i>	24
2.1.5 <i>Remodelamento</i>	24
2.2 Tecido de granulação exuberante	25
2.3 <i>Croton lechleri</i>	27
2.4 Nitroglicerina	29
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
3.1 Objetivo geral	31
3.2 Objetivos específicos	31
<hr/>	
REFERÊNCIAS	32
<hr/>	
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	37
<hr/>	
ARTIGO 1 - AFECÇÕES CUTÂNEAS PROLIFERATIVAS EM EQUÍDEOS	37
1 INTRODUÇÃO	40
2 HABRONEMOSE	40
2.1 Etiologia	40
2.2 Achados epidemiológicos	41
2.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos	42
2.4 Achados histopatológicos	42
2.5 Critérios diagnósticos	42
2.6 Tratamento	43
2.7 Controle	43
3 PITIOSE	43
3.1 Etiologia	43
3.2 Achados epidemiológicos	44
3.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos	45
3.4 Achados histopatológicos	46
3.5 Critérios diagnósticos	46
3.6 Tratamento	47
3.7 Controle	47
4 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS	47
4.1 Etiologia	47

4.2	Achados epidemiológicos	48
4.3	Sinais clínicos/achados macroscópicos.....	48
4.4	Achados histopatológicos	49
4.5	Critérios diagnósticos	49
4.6	Tratamento	49
4.7	Controle	50
5	SARCOIDE	50
5.1	Etiologia	50
5.2	Achados epidemiológicos	51
5.3	Sinais clínicos/achados macroscópicos.....	51
5.4	Achados histopatológicos	52
5.5	Critérios diagnósticos	52
5.6	Tratamento	52
5.7	Controle	53
6	TECIDO DE GRANULAÇÃO EXUBERANTE	53
6.1	Etiologia	53
6.2	Achados epidemiológicos	54
6.3	Sinais clínicos/achados macroscópicos.....	55
6.4	Achados histopatológicos	55
6.5	Critérios diagnósticos	55
6.6	Tratamento	55
6.7	Controle	56
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
	REFERÊNCIAS.....	56
	ARTIGO 2 - EFEITO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EM REGIÕES METATÁRSICA E GARUPA DE EQUINOS, AVALIANDO-SE OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CREME À BASE DE SEIVA DE CROTON LECHLERI, ASSOCIADO OU NÃO À NITROGLICERINA	64
1	INTRODUÇÃO	67
2	MATERIAL E MÉTODO	68
2.1	Animais	68
2.2	Grupos	68
2.3	Procedimento cirúrgico	69
2.3.1	<i>Indução das feridas.....</i>	<i>69</i>
2.3.2	<i>Tratamento das feridas</i>	<i>70</i>
2.3.3	<i>Obtenção das amostras de biópsias cutâneas para avaliação histopatológica..</i>	<i>70</i>
2.3.4	<i>Avaliação do crescimento bacteriano nas feridas</i>	<i>71</i>
2.4	Acompanhamento dos animais.....	71
2.4.1	<i>Avaliação das funções vitais.....</i>	<i>71</i>
2.4.2	<i>Avaliação das feridas experimentalmente induzidas.....</i>	<i>71</i>
2.5	Termografia.....	72
2.6	Formulação do creme	72

2.7	Análises Estatísticas.....	74
3	RESULTADOS	74
4	DISCUSSÃO	86
5	CONCLUSÃO.....	88
	<hr/> REFERÊNCIAS.....	89
	<hr/> ANEXO A – COMPROVANTE DE APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - UFLA.....	94

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas consiste em um processo dinâmico de uma sequência perfeita e coordenada de eventos celulares e moleculares que interagem reparando o tecido (BANKS, 1992). Esse fenômeno tem início imediatamente após a lesão, sendo dividido em fases inflamatória, proliferativa e de maturação (MORI *et al.*, 2004). Ademais, a cicatrização poderá ocorrer por primeira ou segunda intenção, de acordo com o tipo de ferida, localização, contaminação e viabilidade tecidual (AUER *et al.*, 2019).

Nos equinos frequentemente ocorrem ferimentos de pele, sendo a cicatrização cutânea nessa espécie de maneira mais exuberante quando comparada às demais espécies domésticas, fato que prejudica sua recuperação de feridas (COCHRANE, 1997). Além disso, a formação de tecido de granulação exuberante é comumente observada nos membros destes animais devido, provavelmente, a taxas reduzidas de epitelização e contração da ferida (WILMINK *et al.*, 1999), menor suprimento sanguíneo e tensão de oxigênio, além de quantidades insuficientes de citocinas, o que determina uma cicatrização lenta quando comparada com outras regiões anatômicas na espécie (BERRY; SULLINS, 2003).

Por sua complexidade, a cicatrização em equinos é alvo de inúmeras pesquisas, visando encontrar meios que favoreçam a recuperação das feridas. Neste contexto, as plantas medicinais (fitoterápicos) podem ser utilizadas em protocolos terapêuticos para tratamento das feridas (SOUZA *et al.*, 2006), porém muitas preparações tópicas são ineficientes ou prejudiciais, por serem irritantes e estimularem o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante (WHITE, 1995). Contudo, *Triticum vulgare* (SOUZA *et al.*, 2006), *Stryphnodendron barbatiman*, *Calendula officinalis* e *Symphytum officinale* (MARTINS *et al.*, 2003) apresentaram efeitos benéficos na cicatrização de feridas em equinos.

O *Croton lechleri*, conhecido popularmente como “Sangue de Dragão” (POLLITOS; TOMAZELLO FILHO, 2007), possui atividades anti-inflamatória, antibiótica e antioxidante. Sendo assim, a planta teria potencial para ser utilizada no tratamento de feridas, auxiliando no processo de cicatrização (JONES, 2003). Ademais, a nitroglicerina é um fármaco com ação vasodilatadora direta que produz relaxamento da musculatura lisa, provocando dilatação nos sistemas venoso e arterial. Com isso, possui capacidade de melhorar a vascularização de determinadas regiões, favorecendo a oxigenação (EADES; STOKES; MOORE, 2006). Com base nas informações supracitadas, um estudo envolvendo os mecanismos cicatriciais em

equinos, bem como os possíveis efeitos do *Croton lechleri* e da nitroglicerina na cicatrização de feridas mostrou-se pertinente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fisiopatogenia da cicatrização

Feridas cutâneas ocorrem frequentemente em equinos e possuem importância econômica e no bem-estar dos animais (THEORET; BOLWELL; RILEY, 2016). Inicialmente a cicatrização inicia-se imediatamente ao surgimento da ferida, definida como laceração ou ruptura tecidual. Agentes mecânicos, térmicos ou químicos lesionam a pele ou outros órgãos, tecidos adjacentes e vasos sanguíneos. Isso desencadeia hemorragia, destruição endotelial e extravasamento de proteínas intra e extravasculares, processos estimuladores da hemostasia e inflamação (MEDEIROS, 1992).

2.1.1 Coagulação

Assim que surge a lesão começa o processo de vasoconstricção e formação de coágulo com intuito de cessar a hemorragia. Por meio da cascata de coagulação e ativação de plaquetas a hemostasia ocorre (SCHMAIER, 2008). Além disso, em um período de poucos minutos, ocorre a vasoconstricção através da contração da musculatura lisa endotelial, dos vasoconstritores (endotelina) liberados pelos vasos sanguíneos lesionados, das catecolaminas (epinefrina e noradrenalina) e das prostaglandinas oriundas também de células lesadas (CHILDS; MURTHY, 2017). Estímulos incrementais para a vasoconstricção ocorrem por meio da ativação plaquetária e seu papel na liberação dos mediadores bradicinina, fibrinopeptídeos, serotonina e tromboxano (EFRON *et al.*, 2005).

A formação de coágulo é fundamental na hemostasia e as plaquetas são cruciais no mecanismo. Pioneiras na resposta à lesão, as plaquetas realizam a adesão, agregação e desgranulação (SCHMAIER, 2008). A agregação plaquetária em meio à matriz de fibrina é responsável por criar um coágulo que inibe a hemorragia contínua, assim, criando uma barreira de proteção e um reservatório de moléculas liberadas pela desgranulação. Nesta última, são liberadas diversas citocinas e fatores de crescimento que estão envolvidas na hemostasia e em outras fases da cicatrização como a deposição de matriz, quimiotaxia, proliferação celular, angiogênese e remodelamento (ROZMAN; BOLTA, 2007).

2.1.2 Inflamação

Posteriormente à hemostasia surgem os mecanismos inflamatórios, evidenciados

fisicamente por eritema, calor, edema e dor. Em nível celular observam-se dilatação e aumento da permeabilidade vascular, além da migração leucocitária para o local lesado. Neutrófilos e macrófagos auxiliam no desbridamento da ferida, sendo que os macrófagos recrutam e ativam células necessárias às etapas futuras da cicatrização (FURIE; FURIE, 2008).

Apesar de inicialmente ocorrer vasoconstrição quando surge uma ferida, após um curto espaço de tempo desenvolve-se processo inverso, a vasodilatação, por intermédio de cininas, histamina, prostaglandinas e leucotrienos (CHILDS; MURTHY, 2017). Com a dilatação vascular há aumento do fluxo sanguíneo, produzindo eritema e calor, e de células de defesa para a região, além de aumentar os espaços entre as células endoteliais, o que faz crescer a permeabilidade vascular. Ademais, vários mediadores liberados, como a histamina e as prostaglandinas, aumentam a permeabilidade vascular. A vasodilatação aliada ao aumento da permeabilidade vascular dá condições para o transporte de proteínas e componentes celulares para o meio extravascular, permitindo a saída de líquidos para o espaço intersticial e formação do edema (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007).

Através da diapedese os leucócitos chegam até a área lesionada, pois as selectinas oferecem uma fraca ligação entre os leucócitos e as células endoteliais capilares. Dessa forma, ligações mais resistentes são feitas entre os leucócitos, integrinas de superfície e moléculas de adesão intercelular na superfície do endotélio (CHILDS; MURTHY, 2017). A quimiotaxia, processo mediado por vários fatores químicos, permite a migração celular da superfície endotelial para o espaço extravascular das feridas. Os agentes quimiotáticos incluem fatores complemento e de crescimento, leucotrienos, histamina, prostaglandinas e produtos bacterianos, que atraem linfócitos, macrófagos e neutrófilos para o local inflamado (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

Com objetivo de defender a ferida de bactérias e remover restos teciduais, entre vinte e quatro e quarenta e oito horas, os neutrófilos chegam ao local lesionado através de estímulos feitos por produtos bacterianos, fator de crescimento transformador-beta (TGF- β), prostaglandinas, interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (FURIE; FURIE, 2008). Diversas enzimas proteolíticas, como as proteases, são liberadas pelos neutrófilos, destruindo as bactérias, sendo os restos bacterianos e teciduais fagocitados por estes mesmo leucócitos. Além disso, radicais livres reativos de oxigênio produzidos pelos neutrófilos em conjunto ao cloro tornam as feridas menos susceptíveis às bactérias (HUNT, 2006). Citocinas excretadas pelos neutrófilos ajudam a manter a fase inicial do processo inflamatório, uma delas, a TNF- α , potencializa a quimiotaxia de neutrófilos e estimula fibroblastos, queratinócitos, macrófagos e fatores de crescimento necessários a produção de colágeno e neovascularização.

Posteriormente, os neutrófilos são fagocitados pelos macrófagos (EFRON *et al.*, 2005).

Em quarenta e oito a noventa e seis horas após o trauma, a ferida encontra-se com macrófagos como leucócitos predominantes e eles são cruciais para a cicatrização, pois executam funções nas fases inflamatória e proliferativa da reparação tecidual. Através da secreção de proteases e da fagocitose, os macrófagos removem tecido necrosado das feridas, além de serem fonte primária de fatores de crescimento e citocinas, auxiliando na síntese de matriz extracelular, angiogênese, remodelamento, recrutamento e ativação celular. Eles ainda participam da produção de fibroblastos e, conseqüentemente, colágeno, permanecendo na lesão até a restauração tecidual completa (CHILDS; MURTHY, 2017).

A interleucina-2 (IL-2), principalmente, atrai os linfócitos para o local da lesão e estes com duas semanas decorridas do trauma representam a maioria dos leucócitos. São responsáveis por fornecer imunidade celular para geração de anticorpos, estimulam o contato intercelular entre linfócitos e fibroblastos, e atuam como mediadores no ambiente da ferida através da secreção de linfocinas, sendo fundamentais para as fases inflamatória e proliferativa da regeneração tecidual (ROZMAN; BOLTA, 2007).

2.1.3 Proliferação

Os eventos inflamatórios permitem o desbridamento da ferida que entra na fase proliferativa da cicatrização. Neste período fibroblastos, miofibroblastos, células endoteliais e células epiteliais restabelecem a continuidade tecidual por meio da deposição da matriz, angiogênese e epitelização (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007).

A mobilização de fibroblastos para o leito lesivo é feita por linhagens celulares anteriores a ele. Primeiramente, produtos oriundos de plaquetas como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento *insulin-like* (IGF-1) e fator de crescimento epiltelial estimulam o recrutamento de fibroblastos. Além disso, fibroblastos e macrófagos também produzem fatores de crescimento que contribuem para a migração, podendo-se citar as interleucinas 1, 2 e 8 (IL-1, IL-2 e IL-8), fatores de crescimento transformador alfa e beta (TGF- α , TGF- β), TNF- α , fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), PDGF, IGF-1 e fator de crescimento fibroblástico (WERNER; GROSE, 2003; EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007). O PDGF possui importante efeito quimiotático, mitogênico, estimulador da migração de fibroblastos e da produção de colágeno. Outra população de fibroblastos presente nas feridas proliferam em menor proporção, porém produzem mais colágeno e se transformam em miofibroblastos, que sintetizam a matriz extracelular e são ricos em actina e miosina, proteínas

responsáveis pela contração muscular e que auxiliam na contração da ferida (CHILDS; MURTHY, 2017).

A matriz extracelular é basicamente um monômero de colágeno, proteoglicanos e fibronectina (SCHUGART *et al.*, 2008), que em conjunto restauram a continuidade tecidual entre as bordas da ferida. Os fatores de crescimento PDGF e TGF- β possuem importante papel na matriz extracelular, onde o TGF- β auxilia na reparação da estabilidade estrutural do tecido cicatricial ao aumentar a síntese de proteínas de adesão celular (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

Existem cerca de 20 tipos de colágeno, a proteína mais abundante no organismo animal, com dois subtipos envolvidos de maneira relevante no processo de cicatrização, os colágenos tipos I (predominante na matriz extracelular da pele íntegra) e III (fundamental nas primeiras fases da cicatrização). A síntese de colágeno se torna significativa por volta de 7 dias após o surgimento da ferida, onde fatores de crescimento e condições metabólicas da lesão estimulam fibroblastos a sintetizarem o colágeno (HUNT, 2006). Ademais, os fibroblastos são responsáveis pela produção e secreção de glicosaminoglicanos, que se agrupam a certos grupos proteicos para dar origem aos proteoglicanos, um dos principais constituintes do tecido de granulação e auxiliares na produção das fibrilas de colágeno (DIEGELMANN, 1997).

O trauma vascular proveniente das feridas origina um processo denominado angiogênese (SCHUGART *et al.*, 2008) a partir do primeiro ou segundo dia da lesão, atingindo seu ápice por volta do quarto dia. No processo ocorre migração de células endoteliais de vênulas íntegras das regiões periféricas para as margens da ferida e, assim, novos capilares são sintetizados (RAJA; GARCIA; ISSEROFF, 2007). A regulação das etapas da angiogênese são mediadas por fatores de crescimento oriundos de plaquetas (TNF- α , TGF- β , VEGF, FGF e PDGF), células endoteliais danificadas e macrófagos (RAJA; GARCIA; ISSEROFF, 2007), lembrando que a redução de pH, aumento de lactato e isquemia no ambiente da ferida inibem o processo (SCHUGART *et al.*, 2008).

O tecido de granulação é um tecido neoformado com uma rica vascularização constituído por proteoglicanos, glicoproteínas, citocinas, colágenos, constituintes do sistema complemento, fibroblastos, células inflamatórias, proteínas e muito novos vasos sanguíneos (REINKE; SORG, 2012). Ao longo do processo de reparação tecidual ele é remodelado por meio de reabsorção de água, eletrólitos, glicoproteínas, albumina e globulinas, e pela degradação de glicoproteínas como a fibronectina e o ácido hialurônico, além de haver o predomínio de colágeno tipo I em relação ao colágeno tipo III (DIEGELMANN, 1997).

2.1.4 Contração

Através do espessamento da epiderme pelas bordas da ferida o processo de epitelização restaura a barreira externa minimizando a perda de líquidos e a incursão bacteriana, processo que, mesmo imperceptível, tem início precocemente na cicatrização. Ocorre um alongamento das células basais nas margens da ferida por meio da formação de prolongamentos parecidos com pseudópodes, desfazendo-se a laminina da lâmina basal e a união realizada pelos hemidesmossomos, o que permite a migração de células epiteliais com auxílio de novas integrinas na superfície celular (CHILDS; MURTHY, 2017). Além disso, a actinmiosina produzida nos miofibroblastos e que participam do mecanismo de contração das feridas, contribuem com a migração celular na ferida em cicatrização (RAJA; GARCIA; ISSEROFF, 2007).

A movimentação das células basais ocorre paralelamente à orientação das fibras de colágeno nas feridas e as células epiteliais multiplicam e migram até encontrar as células da borda contrária, finalizando a migração. Em seguida são formadas múltiplas camadas, com as células epiteliais diferenciando-se de células alongadas para células cuboides, semelhante a células basais, quando são unidas mais uma vez por meio de hemidesmossomos na lâmina basal da epiderme. As condições metabólicas da ferida, fatores de crescimento e sinalizações celulares atuam na epitelização. Tensões reduzidas de oxigênio estimulam a produção de TGF- β , que auxilia na diferenciação de células epiteliais importantes nos processos de migração e mitogênese, este último influenciado também pelo fator de crescimento de queratinócitos. Em seguida, com a ocorrência da angiogênese eleva-se a tensão de oxigênio e, conseqüentemente, estimula a diferenciação celular, completando os eventos da epitelização (RAJA; GARCIA; ISSEROFF, 2007).

2.1.5 Remodelamento

A etapa final da contração da ferida corresponde ao processo de maturação do colágeno, que é iniciado na primeira semana após a lesão e pode perdurar por até 18 meses. Neste período, a matriz de colágeno passa por reabsorção e deposição contínua. Inicialmente a matriz de colágeno em uma ferida recente possui cerca de 20% de colágeno tipo III, tornando-a frágil, além das fibrilas finas e glicosadas de colágeno estarem dispostas paralelamente sem se entrelaçarem. Paulatinamente, colagenases e proteinases destroem as fibrilas de colágeno jovem e fibroblastos depositam um novo colágeno (REINKE; SORG, 2012).

O novo colágeno é mais espesso, resistente e organizado, e a lisis-oxidase faz a ligação cruzada entre as fibras de colágeno. Na maturação, fibrilas de colágeno solúveis são transformadas em colágenos insolúveis mais resistentes, havendo no processo a formação de ligações cruzadas covalentes. Progressivamente, as ligações vão surgindo, principalmente nas cadeias laterais de dois aminoácidos que sofreram hidroxilação, a lisina e a prolina. Ademais, ferro, oxigênio e ácido ascórbico são fundamentais para a maturação do colágeno, pois eles são cofatores da hidroxilação dos aminoácidos supracitados (DIEGELMANN, 1997).

Por volta de 20 dias na remodelação do tecido de granulação, a proporção de colágeno tipo I corresponde a 80%, sendo que em cerca de 3 meses o tecido em remodelamento alcança 80% da resistência do tecido original, contudo, uma ferida totalmente cicatrizada não atinge a resistência total de um tecido saudável (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006). Fatores como tipo de ferida, localização, tamanho da lesão, profundidade, tratamento empregado, estado nutricional e clínico vão influenciar na resistência final do tecido cicatrizado (REINKE; SORG, 2012).

2.2 Tecido de granulação exuberante

Supostamente, a possibilidade de origem do tecido de granulação exuberante (TGE) e a velocidade de reparação tecidual estão relacionados com a estatura do equino, pois em cavalos de grande porte crescem mais tecido de granulação e a cicatrização ocorre mais lentamente, independentemente do tamanho da lesão (BERTONE *et al.*, 1985). Outros fatores que favorecem o desenvolvimento de tecido de granulação em equinos são a movimentação e tensão na pele ao redor da lesão, o que retarda o processo cicatricial, além do desequilíbrio da síntese e degradação do colágeno e baixo suprimento sanguíneo de oxigênio (ENGELLEN *et al.*, 2004).

Quando as feridas em equinos ocorrem nas regiões distais dos membros, comumente a complicação mais observada é um distúrbio fibroproliferativo de desenvolvimento espontâneo (THEORET; WILMINK, 2013). Neste processo, são observadas inflamação crônica (WILMINK *et al.*, 1999), angiogênese excessiva (CELESTE *et al.*, 2013), além de epitelização mais lenta e cessação da contração de ferida antecipada (THEORET *et al.*, 2013).

A oclusão microvascular é mais intensa na região dos membros do que na região torácica (LEPAULT *et al.*, 2005) e há uma rede vascular menor nos membros, conseqüentemente, menor circulação sanguínea para os tecidos (DYCE; WENSING; SACK, 2010), levando à distribuição inadequada de oxigênio, estimulando a angiogênese, proliferação de fibroblastos e menor taxa de apoptose celular (WILMINK; VAN WEEREN, 2005). Assim, apesar do tecido

de granulação que frequentemente se desenvolve nas feridas na região distal dos membros dos equinos conter vários microvasos, estes podem estar parcial ou totalmente obstruídos, o que mantém um reduzido gradiente de oxigênio dentro da ferida e aumenta a angiogênese (LEPAULT *et al.*, 2005). A hipóxia eleva a produção de colágeno pelos fibroblastos e pode promover a persistência dos miofibroblastos, intensificando concomitantemente à deposição da matriz extracelular, impedindo a apoptose celular (HAKKINEN *et al.*, 1996).

A organização dos fibroblastos no interior do tecido de granulação das feridas torácicas é superior à das feridas dos membros. À medida que a ferida amadurece, os fibroblastos devem desaparecer por apoptose ou converter-se em miofibroblastos, a fim de obter a contração da ferida. Além disso, a atividade mitótica dentro do tecido de granulação de ferimentos nos membros é o dobro da encontrada em feridas corporais (WILMINK *et al.*, 1999). Por fim, o arranjo caótico dos fibroblastos dentro do tecido de granulação das feridas dos membros, em particular aqueles que apresentam fibroplasia excessiva, pode impedir a geração de forças centrípetas eficientes e ser responsável pela contração deficiente (LEPAULT *et al.*, 2005).

As feridas distais nos membros são preocupantes devido à possível perda de desempenho e valor comercial (COCHRANE, 1997). Quando comparada à cicatrização do restante do corpo, a cicatrização distal dos membros possui diferenças fisiológicas na organização da resposta inflamatória celular. Assim, a persistência da inflamação está relacionada aos tempos de cicatrização prolongados e à expressão de fatores inflamatórios como o fator de crescimento fibroblástico- $\beta 1$, que estimula a formação de tecido de granulação exuberante, inibindo a contração da ferida (WILMINK *et al.*, 1999).

A cicatrização é um processo complexo, sendo que o balanceamento dos fatores locais de uma ferida deve ser feito visando proporcionar um ambiente que contribua para o desenvolvimento cicatricial adequado. Sabendo disso, a melhora da microcirculação para oxigenação e nutrição adequadas, uma população bacteriana menor do que 10^6 microrganismo/grama de tecido e pH neutro a levemente ácido podem facilitar a contração da ferida (KNOTTENBELT, 1997).

O processo de cicatrização de feridas é estudado em diversas espécies, desde moscas até anfíbios, sendo comum pesquisas envolvendo ratos e camundongos (LÉVESQUE; VILLIARD; ROY, 2010; RAZZELL; WOOD; MARTIN, 2011), porém o mecanismo de reparo varia entre as espécies. Isto posto, em camundongos inicialmente a cicatrização ocorre por contração, enquanto humanos não possuem uma camada *Panniculus carnosus*, o que leva à reparação tecidual por meio de reepitelização da superfície da pele, havendo cicatrização da derme pela granulação do estroma, migração de miofibroblastos e contração da ferida (GREENWOOD,

2010). Complicações no reparo tecidual, como o surgimento de feridas crônicas ou alterações fibroproliferativas, dificilmente acontecem naturalmente em roedores, contudo são frequentes em humanos e equinos, que possuem processo de cicatrização parecidos (THEORET; WILMINK, 2013).

Macroscopicamente o tecido de granulação exuberante equino possui leve semelhança com os queloides humanos, pois ambos possuem crescimento fibroproliferativo exacerbado para fora das bordas da ferida. À vista disso, são diferentes da cicatrização hipertrófica que não cresce além dos limites da ferida primária (ATIYEH; COSTAGLIOLA; HAYEK, 2005). Durante o desenvolvimento da cicatrização as feridas apresentam clinicamente características de tumores benignos, com o processo de reparação tecidual sendo interrompido na fase proliferativa (HILLMER; MACLEOD, 2002).

Vários mecanismos intrínsecos e extrínsecos estão supostamente envolvidos nesse reparo aberrante que, em último caso, pode levar à fibrose. Pode-se citar fenótipos de fibroblastos diferentes em relação à cicatrização normal de feridas. Os queloides contêm fibroblastos que produzem a matriz extracelular, facilitando a deposição de colágeno em vez de se diferenciarem em fibrócitos quiescentes ou sofrer morte celular por apoptose (GHAZIZADEH, 2007). Os fibroblastos separados de queloides possuem características populacionais distintas (RUSSELL *et al.*, 2010). Outro fator é o ambiente local, gerador de impacto importante no reparo das feridas, principalmente na inflamação crônica. É possível que as citocinas inflamatórias estimulem a deposição de matriz extracelular e colágeno, levando à fibroproliferação (GHAZIZADEH, 2007).

A suscetibilidade genética à produção de queloides foi relatada em humanos (SHIH; BAYAT, 2010). Além do mais, os queloides crescem em áreas de alta tensão. Sendo assim, supõe-se que a força mecânica é um importante gatilho ao desenvolvimento do queleide (OGAWA *et al.*, 2012). Finalmente, a presença de hipóxia tecidual relativa é prejudicial à cicatrização, estimulando a angiogênese excessiva e a fibroproliferação por meio de citocinas e outros mediadores cicatriciais (LEPAULT *et al.*, 2005).

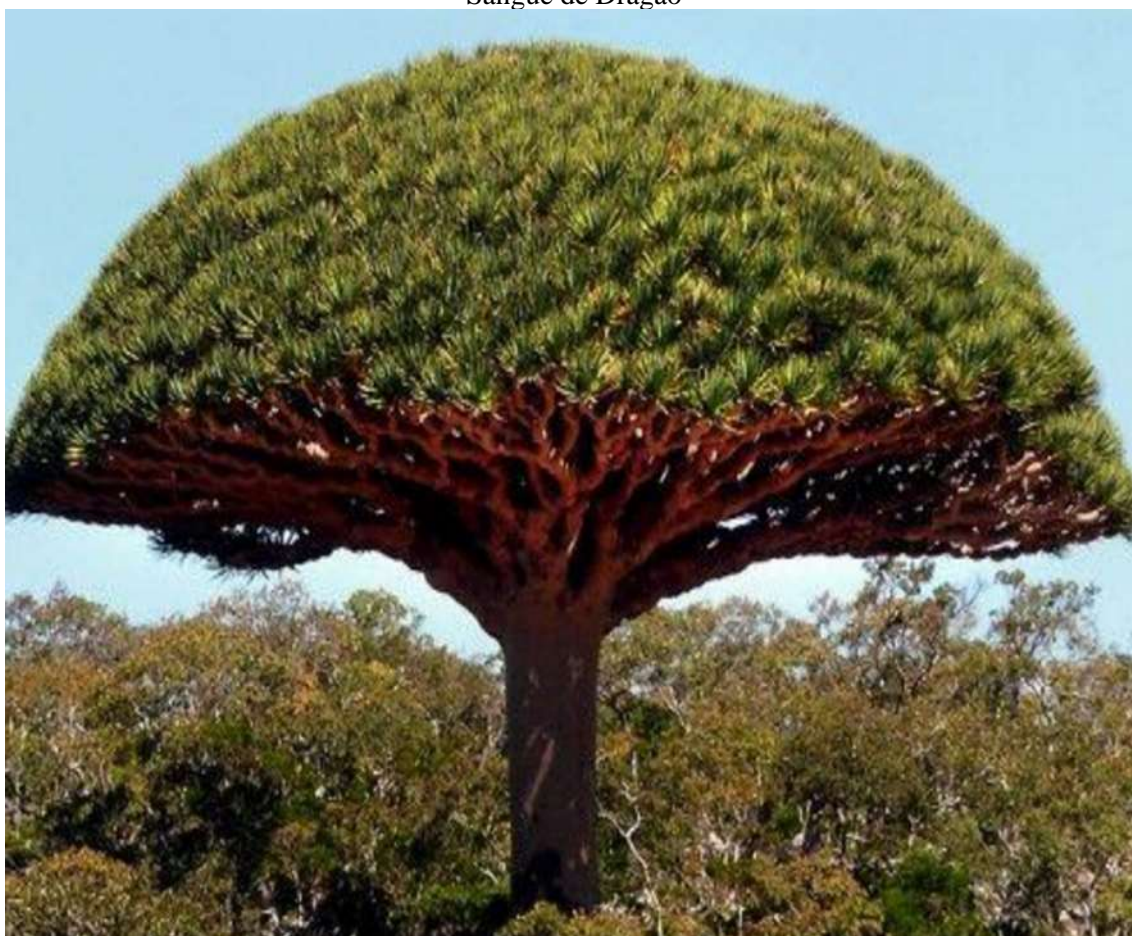
2.3 *Croton lechleri*

O uso de plantas com intuito terapêutico vem se destacando em território brasileiro (OLIVEIRA; BARROS; MOITA NETO, 2010). O conhecimento popular da Medicina vem agregando informações, por meio de observações em relação ao uso e eficácia das plantas medicinais, representando muitas vezes o único recurso terapêutico de várias comunidades com

pouco ou nenhum acesso aos serviços modernos de saúde (VALLE *et al.*, 2013). Com isso, os conhecimentos terapêuticos acumulados com o passar dos anos são importantes indicativos da ação farmacológica destas plantas, porém sem estudos científicos que comprovem tais efeitos (MACIEL *et al.*, 2002).

Dentro deste contexto está o *Croton lechleri* (CL) (Figura 1), popularmente denominado “Sangue de Dragão”, “Sangue de Drago” ou “Sangue de Grado” (POLLITOS; TOMAZELLO FILHO, 2007). Pertencente à família das *Euphorbiaceae*, o gênero *Croton* possui cerca de 1200 espécies (GOVAERTS; FRODIN; SMITH, 2000), estando distribuído nas Antilhas, Américas, África continental e Madagascar (WEBSTER, 1993). No Brasil o gênero distribui-se nos estados do Acre, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo (AZEVEDO *et al.*, 2008).

Figura 1 - Imagem mostrando a árvore de *Croton lechleri*, cuja seiva é conhecida popularmente como Sangue de Dragão



Fonte: Martins (2013)

O CL pode ser encontrado em florestas com planície de inundação, que possuem solos férteis e úmidos, bem como à margem de rios, fragmentos de florestas e em campos de cultivos

abandonados (FORERO; CHÁVEZ; BERNAL, 2000). A planta vem sendo utilizada popularmente ao longo dos tempos, tendo supostamente atividades anti-inflamatória, antibiótica e antioxidante, podendo auxiliar no processo de cicatrização (JONES, 2003). Além disso, a planta é rica em alcaloides bioativos (AMARAL; BARNES, 1997) como a Taspina, composto isolado da casca e do látex de CL, possuindo ação auxiliar na cicatrização (CAI; CHEN; PHILLIPSON, 1993), estimulando a migração de fibroblastos nas feridas (PIETERS *et al.*, 1993). Sendo assim, a planta teria potencial para ser utilizada no tratamento de feridas, auxiliando no processo de reparação tecidual (JONES, 2003).

Contudo, foi constatado que CL dificulta o crescimento radicular de raízes de *Allium cepa*, demonstrando um possível potencial tóxico. Também foi observado redução de índice mitótico indicando citotoxicidade, além de um potencial mutagênico avaliado através do alto índice de micronúcleos (ALMEIDA *et al.*, 2019). Em seres humanos, quando consumida em excesso, a planta pode causar anemia (LASZLO, 2012), constipação e, em casos extremos, cegueira (OSAKADA, 2009), não havendo relatos de efeitos colaterais em animais na literatura compilada.

2.4 Nitroglicerina

A nitroglicerina é um vasodilatador direto hidrolisado no fígado pela enzima redutase de nitratos orgânicos dependente de glutathione a um dinitrato menos ativo. As concentrações plasmáticas de nitroglicerina após aplicação tópica em humanos atingem um platô em duas horas (NICTER; SOBIESKI; EDGERTON, 1985), sendo que ao alcançar a camada média muscular da parede dos vasos a nitroglicerina é convertida em óxido nítrico (SILVA; GUIMARÃES; GUIMARÃES, 2002). Além disso, a nitroglicerina creme aplicada de forma tópica em ratos (HENDEL; LILIEN; BUNCKE, 1983; ROHRICH; CHERRY; SPIRA, 1984) e suínos (ROHRICH; CHERRY; SPIRA, 1984) é capaz de elevar o fluxo sanguíneo cutâneo nestas espécies.

O óxido nítrico (NO) é uma substância vasodilatadora potente que pode auxiliar no relaxamento vascular induzido pela acetilcolina, mantendo a perfusão fisiológica vital para os tecidos (FURCHGOTT, 1999). A enzima NO sintase, o aminoácido L-arginina e o oxigênio com NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) como cofator participam da síntese do NO (MONCADA; HIGGS, 1993). Existem diferentes tipos de NO sintase, distinguidas por diferenças em suas expressões funcionais, quantidade e duração da liberação de NO (PALMER, 1993; LOWENSTEIN; DINERMAN; SNYDER, 1994). Através de liberações de quantidades

pequenas, intermitentes e pulsáteis de óxido nítrico, a NO sintase constitutiva presente nas células endoteliais regulam o tônus vascular (FURCHGOTT, 1999). Dessa forma, em equinos com laminite induzida por sobrecarga de carboidratos os relaxamentos vasculares mediados pela acetilcolina estão reduzidos nos vasos digitais, sugerindo uma redução na produção de óxido nítrico pelas células endoteliais vasculares digitais, tornando os vasos mais susceptíveis a ação de agentes vasoconstritores (SCHNEIDER *et al.*, 1999).

Em cães e gatos a superdosagem de nitroglicerina pode ocasionar grave comprometimento do débito cardíaco devido à diminuição excessiva da pré-carga, pois o fármaco causa relaxamento direto da musculatura lisa venosa. Além disso, outros possíveis efeitos colaterais são hipotensão, depressão, letargia, náusea, azotemia pré-renal e erupções cutâneas no local de aplicação (MUZZI, 2000).

Sendo assim, aumento nas concentrações de nitroglicerina podem elevar os níveis de óxido nítrico independente da atividade da NO sintase, podendo melhorar a função microvascular (EADES; STOKES; MOORE, 2006) na recuperação de feridas em equinos e, possivelmente, inibir a formação de tecido de granulação exuberante.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de feridas em equinos é um desafio enfrentado por Médicos Veterinários em todo o mundo devido às particularidades na cicatrização da espécie. O desenvolvimento do tecido de granulação exuberante é um grande complicador e o processo de seu surgimento não é totalmente elucidado. Diante deste cenário, a presente pesquisa teve por objetivo agregar mais informações em relação aos mecanismos envolvidos na cicatrização cutânea dos equinos e verificar se há vantagens em se utilizar *Croton lechleri* e/ou Nitroglicerina para a reparação tecidual na espécie.

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do *Croton lechleri* e da nitroglicerina sobre o processo de cicatrização das feridas em equinos, e comparar o processo cicatricial em diferentes regiões anatômicas de equinos.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Avaliar possíveis propriedades anti-inflamatória e antibiótica do *Croton lechleri* na cicatrização de feridas em equinos.

3.2.2 Avaliar se há benefícios da nitroglicerina no processo cicatricial de feridas em equinos.

3.2.3 Comparar o processo cicatricial das feridas nas regiões metatársica e garupa de equinos submetidos aos tratamentos com *Croton lechleri* e nitroglicerina.

3.2.4 Avaliar os possíveis efeitos do *Croton lechleri* e da nitroglicerina na inibição do desenvolvimento de tecido de granulação exuberante em equinos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. K. V. *et al.* Avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica/genotóxica de um extrato comercial de sangue do dragão (*Croton lechleri*). **Revista Fitos**, v. 13, n. 1, p. 29-37, 2019.

AMARAL, A. C. F.; BARNES, R. A. Alkaloids of *Croton celtidifolius*. *Planta Médica. Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 141, p. 399–436, 1997.

ATIYEH, B. S.; COSTAGLIOLA, M.; HAYEK, S. N. Keloid or hypertrophic scar: the controversy: review of the literature. **Annals of Plastic Surgery**, v. 54, n. 6, p. 676–680, 2005.

AUER, J. A. *et al.* **Equine surgery**. 5. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2019.

AZEVEDO, K. A. A. *et al.* **Guia para a extração de sangue de grado (*Croton lechleri* Müll. Arg.)**: recomendações técnicas para a extração de látex de sangue de grado (sangue de dragão). Rio Branco: USAID/IPAM, 2008.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992.

BERRY, D. B.; SULLINS, K. E. Effects of topical application of antimicrobials and bandaging on healing and granulation tissue formation in wounds of the distal aspect of the limbs in horses. **American Journal Veterinary Research**, v. 64, n. 1, p. 88–92, 2003.

BERTONE, A. L. *et al.* Effect of Wound Location and the Use of Topical Collagen Gel on Exuberant Granulation Tissue Formation and Wound Healing in the Horse and Pony. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 7, p. 1438-44, 1985.

BROUGHTON, G; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7S, p. 12S-34S, 2006.

CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J. D. Diterpenes from *C. lechleri*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 1, p. 755-760, 1993.

CELESTE, C. J. *et al.* Skin temperature during cutaneous wound healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder: kinetics and anatomic-site differences. **Veterinary Surgery**, v. 42, n. 2, p. 147-153, 2013.

CHILDS, D. R.; MURTHY, A. S. Overview of Wound Healing and Management. **Surgical Clinics of North America**, v. 97, n. 1, p. 189-207, 2017.

COCHRANE, C. A. Models in vivo of wound healing in the horse and the role of growth factors. **Veterinary Dermatology**, v. 8, n. 4, p. 259-272, 1997.

DIEGELMANN, R. F. Cellular and biochemical aspects of normal wound healing: an overview. **The Journal of Urology**, v. 157, n. 1, p. 298-302, 1997.

DYCE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W. O. **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

EADES, S. C.; STOKES, A. M.; MOORE, R. M. Effects of an endothelin receptor antagonist and nitroglycerin on digital vascular function in horses during the prodromal stages of carbohydrate overload-induced laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 7, p. 1204-1211, 2006.

EFRON, D. E. *et al.* **Schwartz's principles of surgery**. 8 ed. New York: McGraw-Hill, 2005.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 514-521, 2007.

ENGELN, M. *et al.* Effects of ketanserin on hypergranulation tissue formation, infection, and healing of equine lower limb wounds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 45, p. 144-149, 2004.

FORERO, L. E.; CHÁVEZ, J.; BERNAL, H. Agrotecnología para el cultivo de sangre grado. In: MARTÍNEZ A., J. V.; BERNAL, H. Y.; CÁCERES, A. (Eds.). **Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas**. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello e CYTED, 2000, p. 157-190.

FURCHGOTT, R. F. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. **Bioscience Reports**, v. 19, n. 4, p. 235-251, 1999.

FURIE, B.; FURIE, C. Mechanisms of thrombus formation. **The New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 9, p. 9, p. 389-49, 2008.

GHAZIZADEH, M. Essential role of IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis. **Journal of Nippon Medical School**, v. 74, n. 1, p. 11-22, 2007.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; SMITH, A. R. **World Checklist and bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae)**. Kew: Royal botanic gardens, 2000.

GREENWOOD, J. E. Function of the panniculus carnosus - a hypothesis. **Veterinary Record**, v. 167, n. 19, p. 760-760, 2010.

HAKKINEN, L. *et al.* Human granulation tissue fibroblasts show enhanced proteoglycan gene expression and altered response to TGF- β 1. **Journal of Dental Research**, v. 75, n. 10, p. 1767-1778, 1996.

HENDEL, P. M.; LILIEN, D. L.; BUNCKE, H. J. A study of the pharmacologic of blood flow to acute skin flaps using xênon washout. Part I. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 71, n. 3, p.387-398, 1983.

HILLMER, M. P.; MACLEOD, S. M. Experimental keloid scar models: a review of methodological issues. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery: Incorporating Medical and Surgical Dermatology**, v. 6, n. 4, p. 354-359, 2002.

HUNT, T. K. Wound healing. In: DOHERTY, G. M.; WAY, L. W. **Current surgical diagnosis and treatment**. 12. ed. New York: McGraw-Hill, 2006.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the

treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, n. 6, p. 877-896, 2003.

KNOTTENBELT, D. C. Equine wound management: are there significant differences in healing at different sites on the body? **Veterinary Dermatology**, v. 8, p. 273-290, 1997.

LASZLO, F. **Sangue de dragão: Sangue Cicatrizante da Floresta**. Laszlo Aromaterapia, 2012.

LEPAULT, E. *et al.* Comparative study on microvascular occlusion and apoptosis in body and limb wounds in the horse. **Wound Repair Regeneration**, v. 13, n. 5, p. 520–529, 2005.

LÉVESQUE, M.; VILLIARD, E.; ROY, S. Skin wound healing in axolotls: a scarless process. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 314, p.684–697, 2010.

LOWENSTEIN, C. J.; DINERMAN, J. L.; SNYDER, S. H. Nitric oxide: a physiologic messenger. **Annals of Internal Medicine**, v. 120, n. 3, p. 227–237, 1994.

MACIEL, M. A. M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p.429-438, 2002.

MARTINS, C. M. **Seiva Sangue de Dragão (*Croton lechleri*) como meio de estocagem de dentes avulsionados**: estudo in vitro da viabilidade celular. 2013. Dissertação (Mestre em Odontologia) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2013.

MARTINS, P. S. *et al.* Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em equinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2003.

MEDEIROS, A. C. Conceituação da cicatrização das feridas cirúrgicas. **Revista de Saúde Pública**, v. 7, n. 2, p. 9-20, 1992.

MONCADA, S.; HIGGS, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. **The New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 27, p. 2002–2012, 1993.

MORI, R. *et al.* Impairment of Skin Wound Healing in β -1,4-Galactosyltransferase-Deficient Mice with Reduced Leukocyte Recruitment. **The American Journal of Pathology**, v. 164, n. 4, p. 1303-1314, 2004.

MUZZI, R. A. L. Terapêutica Cardiovascular. In: VIANA, F. A. B. **Fundamentos de terapêutica veterinária**. Belo Horizonte: FEP-MVZ UFMG, 2000, v. 1, p. 102-118. Disponível em: <https://consultadogvet.files.wordpress.com/2017/02/fundamentos-de-terapc3aautica-veterinc3a1ria.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2020.

NICHTER, L. S.; SOBIESKI, M. W.; EDGERTON, M. T.; Efficacy of topical nitroglycerin for random-pattern skin-flap salvage. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 75, n. 6, p. 847-852, 1985.

OGAWA, R. *et al.* The relationship between skin stretching/contraction and pathologic

scarring: the importante role of mechanical forces in keloid generation. **Wound Repair Regeneration**, v. 20, n, 149–157, 2012.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 282-301, 2010.

OSAKADA, A. **Desenvolvimento inicial de sangue-de-dragão (*Croton lechleri* Mull. Arg.) sob diferentes classes de solos, corretivos e níveis de luminosidade na Amazônia Central**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.

PALMER, R. M. The discovery of nitric oxide in the vessel wall. **The Archives of Surgery**, v. 128, p. 396–401, 1993.

PIETERS, L. *et al.* Isolation of dihygrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton* sp) as an inhibitor of cell proliferation. **Journal Natural Products**, v. 56, n. 6, p. 889-906, 1993.

POLLITOS, P. A. Z.; TOMAZELLO FILHO, M. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) No Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 177-179, 2007.

RAJA, S. K.; GARCIA, M. S.; ISSEROFF, R. R. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 2849–2868, 2007.

RAZZELL, W.; WOOD, W.; MARTIN, P. Swatting flies: modelling wound healing and inflammation in *Drosophila*. **Disease Models & Mechanisms**, v. 4, p. 569–574, 2011.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, v. 49, n. 1, p. 35–43, 2012.

ROHRICH, R. J.; CHERRY, G. W.; SPIRA, M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin Ointment. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 73, n.6, p. 943-948, 1984.

ROZMAN, P.; BOLTA, Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and softtissue injuries. **Acta Dermatovenerologica Alpina Panonica et Adriatica**, v. 16, n. 4, p. 156-165, 2007.

RUSSELL, S. B. *et al.* Epigenetically altered wound healing in keloid fibroblasts. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 130, n. 10, p. 2489–2496, 2010.

SCHMAIER, A. The elusive physiologic role of Factor XII. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 9, 3006-3009, 2008.

SCHNEIDER, D. A. *et al.* Palmar digital vessel relaxation in healthy horses and in horses given carbohydrate. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, p. 233–239, 1999.

SCHUGART, R. C. *et al.* Wound angiogenesis as a function of oxygen tension: a

- mathematical model. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 105, n. 7, p. 2628-2633, 2008.
- SHIH, B.; BAYAT, A. Genetics of keloid scarring. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, n. 5, p. 319–339, 2010.
- SILVA, P. R.; GUIMARÃES, I. C. B.; GUIMARÃES, A. C. Farmacologia da angina do peito. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 672-684.
- SOUZA, D. W. *et al.* Ensaio da aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 9-13, 2006.
- THEORET, C. L. *et al.* Equine exuberant granulation tissue and human keloids: a comparative histopathologic study. **Veterinary Surgery**, v. 42, n. 7, p. 783-789, 2013.
- THEORET, C. L.; BOLWELL, C. F.; RILEY, C. B. A cross-sectional survey on wounds in horses in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 64, n. 2, p. 90-94, 2016.
- THEORET, C. L.; WILMINK, J. M. Aberrant wound healing in the horse: naturally occurring conditions reminiscent of those observed in man. **Wound Repair Regen**, v. 21, p. 365–371, 2013.
- VALLE, J. S. *et al.* Diversidade genética de populações naturais de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] por RAPD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 47-53, 2013.
- WEBSTER, G. L. A provisional synopsis of the section of the genus *Croton* (*Euphorbiaceae*). **TAXON**, v. 42, p. 793-823, 1993.
- WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 8, v. 35-70, 2003.
- WHITE, G. W. Maltodextran, NF powder: A new concept in equine wound healing. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 15, p. 296-298, 1995.
- WILMINK, J. M. *et al.* Differences in second-intention wound healing between horses and ponies: histological aspects. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 1, p. 61–67, 1999.
- WILMINK, J. M.; VAN WEEREN, P. R. Second-Intention Repair in the Horse and Pony and Management of Exuberant Granulation Tissue. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 21, p. 5–32, 2005.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 - AFECÇÕES CUTÂNEAS PROLIFERATIVAS EM EQUÍDEOS

Matheus Camargos de Britto Rosa¹
Maria Eduarda de Souza Teixeira Campos²
Djeison Lutier Raymundo³

¹ Professor Adjunto I, Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

² Mestranda em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

³ Professor Adjunto, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

RESUMO

Os equídeos são animais de comportamento agitado, com reações bruscas que favorecem o surgimento de lesões, principalmente em seus membros. Outros fatores, como instalações e pastagens inapropriadas, facilitam a ocorrência de traumas e feridas. Estas lesões podem se tornar afecções graves, que dificultam a reparação tecidual podendo levar a formação de tecido de granulação exuberante. Além do tecido de granulação exuberante os equídeos podem desenvolver outras doenças proliferativas cutâneas de importância clínica e econômica como o sarcoide, carcinoma de células escamosas, pitiose e habronemose. As afecções proliferativas possuem gravidade variável, podendo inclusive levar o animal ao óbito devido a complicações secundárias. Diante dos desafios terapêuticos, da complexidade envolvida no desenvolvimento dessas doenças e dos prejuízos econômicos causado por elas, a presente revisão bibliográfica teve como objetivo reunir as principais informações relacionadas às afecções proliferativas cutâneas de equídeos para auxiliar Médicos Veterinários e demais profissionais da área.

Palavras-chave: Lesões. Pele. Equinos.

ABSTRACT

Equidae are animals of agitated behavior, with sudden reactions that favor the appearance of lesions, mainly in their limbs. Other factors, such as inappropriate facilities and pastures, facilitate the occurrence of trauma and wounds. These lesions can become serious conditions, which make tissue repair difficult and can lead to the formation of exuberant granulation tissue. In addition to exuberant granulation tissue, equids can develop other cutaneous proliferative diseases of clinical and economic importance, such as sarcoid, squamous cell carcinoma, pythiosis and habronemosis. Proliferative disorders have variable severity, and can even lead to death due to secondary complications. Faced with the therapeutic challenges, the complexity involved in the development of these diseases and the economic losses caused by them, this bibliographic review aimed to gather the main information related to equine cutaneous proliferative disorders to assist Veterinarians and other professionals in the área.

Keywords: Injuries. Skin. Horses.

1 INTRODUÇÃO

Os equídeos são animais que geralmente possuem comportamento agitado, com reações bruscas que favorecem o surgimento de lesões, principalmente em seus membros (DUQUE *et al.*, 2007). Outros fatores, como instalações e pastagens inapropriadas, facilitam a ocorrência de traumas e feridas. Estas lesões podem se tornar afecções graves devido às suas particularidades no processo de cicatrização nestas espécies, que dificultam a reparação tecidual podendo levar a formação de tecido de granulação exuberante (CASTON, 2012).

Além do tecido de granulação exuberante os equídeos podem desenvolver outras doenças proliferativas cutâneas de importância clínica e econômica como o sarcoide (MAULDIN; PETERS-KENNEDY, 2016), carcinoma de células escamosas (GUEDES *et al.*, 2016), pitiose (BECEGATTO *et al.*, 2017) e habronemose (EL-DEEB *et al.*, 2018).

As afecções proliferativas possuem gravidade variável, podendo inclusive levar o animal ao óbito devido a complicações secundárias. Diante dos desafios terapêuticos, da complexidade envolvida no desenvolvimento dessas doenças e dos prejuízos econômicos causado por elas, a presente revisão bibliográfica teve como objetivo reunir as principais informações relacionadas às afecções proliferativas cutâneas de equídeos para auxiliar Médicos Veterinários e demais profissionais da área.

2 HABRONEMOSE

2.1 Etiologia

Nematódeos do gênero *Habronema* pertencem à ordem Spirurida, com três espécies relevantes na Medicina Veterinária; *Habronema microstoma*, *Habronema muscae* (THOMASSIAN, 2005) e *Draschia megastoma* (PUGH; HU; BLAGBURN, 2014), causadoras da Habronemose em equídeos, enfermidade que possui as formas conjuntival, cutânea e gástrica (GASTHUY; VAN HEERDEN; VERCRUYSSSE, 2004). A doença nos equinos é conhecida popularmente pelos nomes “ferida de verão”, “câncer do pântano” e “bursattee” (RADOSTITS *et al.*, 2021).

As fêmeas de *Habronema* sp. fazem postura de ovos embrionados, que são liberados nas fezes, com eclosão e liberação das larvas de primeiro estágio (L₁). Uma vez no ambiente, as L₁ podem ser ingeridas por larvas de *Musca domestica* ou *Stomoxys calcitrans*, hospedeiros intermediários, com o desenvolvimento das larvas de *Habronema* sp. concomitante ao das moscas. Posteriormente, o hospedeiro intermediário adulto pode depositar a larva infectante

(L₃) em feridas cutâneas (habronemose cutânea) ou da região ocular (habronemose ocular, frequentemente restrita à pele da comissura, sem atingir a conjuntiva) dos equídeos, ou estes podem ingerir a L₃ (habronemose gástrica) (PUGH; HU; BLAGBURN, 2014). Nas formas cutânea e ocular as larvas invadem os tecidos, porém não completam seu ciclo (FREITAS *et al.*, 2011).

É possível observar duas formas de habronemose gástrica, sendo a produzida por *Draschia megastoma* a forma mais grave. Ao invadir a mucosa estomacal as larvas induzem a formação de massas granulomatosas que, posteriormente, fibrosam. Essas estruturas possuem um orifício central, através do qual ovos e larvas do parasito adulto alcançam o lúmen. As lesões geralmente provocam apenas gastrite crônica discreta ou moderada, porém, raramente, pode haver perfuração gástrica associada a peritonite local, com potencial para ocasionar obstrução intestinal e/ou formação de abscesso esplênico. *H. microstoma* e *H. muscae* não formam granuloma gástrico, mas penetram nas glândulas gástricas, promovendo gastrite catarral com produção de muco espesso e aderente e, dependendo da carga parasitária, provocar ulceração (BARLAAM *et al.*, 2020).

Nas formas cutânea e ocular da habronemose as larvas de *Habronema* spp. são depositadas em feridas, o que produz inflamação local granulomatosa com desenvolvimento de tecido de granulação exuberante. Secundariamente, bactérias e/ou fungos podem invadir a lesão. Já no olho, são formadas lesões semelhantes na comissura medial, na membrana nictitante ou na pálpebra, com intenso lacrimejamento (RADOSTITS *et al.*, 2021).

2.2 Achados epidemiológicos

Prevalente em regiões subtropicais e tropicais, a habronemose frequentemente cursa com lesões em locais de maior ocorrência de traumas e que os animais possuem dificuldades em remover as moscas, como membros, prepúcio, genitália externa e abdome ventral (EL-DEEB *et al.*, 2018), e locais de umidade ou com secreção, como comissura labial e palpebral e prepúcio (PUGH; HU; BLAGBURN, 2014). As lesões formadas evoluem rapidamente e podem atingir grandes extensões, com formação de tecido de granulação (THOMASSIAN, 2005).

Equídeos de todas as idades são suscetíveis à doença, embora seja mais comum em adultos, principalmente em áreas mais úmidas e períodos mais quentes, em que os hospedeiros intermediários são mais frequentes. Os granulomas gástricos e grande parte das lesões de pele são causadas por *D. megastoma* (RADOSTITS *et al.*, 2021), contudo, no Brasil, *H. muscae* e *H. micróstoma* são as principais espécies (THOMASSIAN, 2005).

2.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos

Na habronemose cutânea pode haver lesões únicas ou múltiplas, representadas por ulceração, exsudação, abundante tecido de granulação e prurido (PUGH; HU; BLAGBURN, 2014). As lesões iniciam como pequenas pápulas com centro erodido e recoberto por crostas e possuem rápido desenvolvimento. O centro é deprimido, com tecido de granulação recoberto por camada acinzentada, com bordas elevadas e espessas (RADOSTITS *et al.*, 2021). Pode ocorrer invasão larval nos olhos, com conjuntivite, quadro denominado habronemose conjuntival (THOMASSIAN, 2005). Ela é caracterizada por dor e lacrimejamento (RADOSTITS *et al.*, 2021), acompanhados por conjuntivite granulomatosa, ulcerativa, com múltiplos focos de necrose coagulativa (FREITAS *et al.*, 2011).

Já a habronemose gástrica comumente não manifesta sinais clínicos, contudo os equídeos acometidos podem apresentar pelagem de má qualidade e variação no apetite. Ademais, granulomas grandes podem obstruir o piloro, com distensão gástrica. Se houver perfuração da parede do estômago são notadas apatia, febre e cólica acentuada ou moderada em casos de estenose intestinal. Se envolver o baço, são observados quadros de anemia, com elevação da contagem de leucócitos com desvio para a esquerda (RADOSTITS *et al.*, 2021).

2.4 Achados histopatológicos

Microscopicamente a lesão da habronemose é uma dermatite nodular acompanhada de macrófagos epitelioides, eosinófilos e, eventualmente, células gigantes multinucleadas envolvendo as larvas e o conteúdo necrosado. Na superfície ulcerada da lesão predomina tecido de granulação associado a infiltrado inflamatório neutrocitário (HARGIS, 1998).

2.5 Critérios diagnósticos

O diagnóstico da habronemose cutânea é feito pela identificação de larvas em raspados de pele ou biópsia da lesão (TRAVERSA *et al.*, 2007). Além disso, a difícil detecção das larvas nas fezes em técnicas de flutuação atrapalha o diagnóstico (FORTES, 2004), com a gastroscopia sendo a técnica mais eficiente para identificar os parasitos (BELLI; SILVA; FERNANDES, 2005). Pode também ser utilizado o xenodiagnóstico e a detecção de parasitas a partir da lavagem gástrica, porém com pouca praticidade e eficiência (FORTES, 2004; THOMASSIAN, 2005).

2.6 Tratamento

Diferentes tratamentos são empregados no combate à habronemose, incluindo administração sistêmica de anti-inflamatórios esteroidais; mistura de anti-inflamatório, larvicida e antibiótico para uso tópico (GASTHUY; VAN HEERDEN; VERCRUYSSSE, 2004); aplicação de pomada oftálmica na habronemose conjuntival (YARMUT *et al.*, 2008); radioterapia (SMITH, 2006); auto-hemoterapia (GARCIA *et al.*, 2008) e uso sistêmico de ivermectina (PÉREZ *et al.*, 2002). Ademais, o tratamento cirúrgico deve ser instituído em casos de lesões que não cicatrizam, com formação de tecido de granulação exuberante (SMITH, 2006).

A terapia sistêmica com anti-inflamatórios esteroidais pode ser feita com administração por via intravenosa de dexametasona na dose de 0,2 mg/kg a cada 24 horas (RADOSTITS *et al.*, 2021) por sete dias. Já a ivermectina pode ser administrada por via oral na dose 200 µg/kg, a cada 10 dias, totalizando quatro aplicações (FREITAS *et al.*, 2011), além da doramectina, que pode ser utilizada por via oral na dose de 0,2 mg/kg (PÉREZ *et al.*, 2002).

2.7 Controle

Como práticas de controle da habronemose, nas áreas enzoóticas, todas as feridas cutâneas dos equídeos devem ser tratadas imediatamente, promovendo a cicatrização e, conseqüentemente, protegendo-as contra moscas. Pode-se interromper o ciclo biológico pela eliminação adequada das fezes dos animais, o que controla a população de moscas (RADOSTITS *et al.*, 2021).

A utilização de anti-helmínticos lactonas macrocíclicas é recomendada em um programa de desverminação, pois elimina as larvas adultas do estômago (PUGH; HU; BLAGBURN, 2014). Dessa forma, a administração racional periódica de ivermectina, associada a estratégias de manejo como a limpeza das instalações e controle de vetores, são fundamentais para o controle da habronemose (CARVALHO, 2006).

3 PITIOSE

3.1 Etiologia

Causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum* (DE COCK *et al.*, 1987), a pitiose, também conhecida pelos nomes de “swamp cancer”, zigomicose, dermatite granular, “Florida leeches”,

granuloma fomicótico e hifomicose (CHAFFIN; SCHUMACHER; MCMULLAN, 1995), é uma enfermidade que acomete equídeos, felinos, caninos, bovinos e humanos em áreas temperadas, subtropicais e tropicais, com maior prevalência nos equídeos (MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996). As formas granulomatosas cutânea e subcutânea são as mais comuns, com focos necróticos conhecidos como *kunkers* nas lesões (MEIRELES *et al.*, 1993).

A nomenclatura e a classificação do agente etiológico da pitiose foram amplamente discutidas ao longo dos anos. Os oomicetos são eucariotas produtores de zoósporos biflagelados, propriedade comum a *Pythium insidiosum*, pertencente à ordem Peronosporales, filo Oomycota e reino Protista (GAASTRA *et al.*, 2010). Contudo, *P. insidiosum* também foi apresentado como membro do Reino Chromista, filo Pseudofungi, classe Oomycetes, ordem Pythiales e família Pythiaceae (MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996). Todavia, pesquisas detalhadas relacionadas à classificação dos fungos separaram os organismos supracitados, anteriormente classificados como fungos em três reinos: Fungi, Stramenopila e Protista (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). Finalmente, com base nessa classificação, ficou estabelecido que o agente etiológico da pitiose pertence ao reino Stramenopila, filo Oomycota, família Pythiaceae e espécie *Pythium insidiosum* (LEAL *et al.*, 2001).

Equídeos que apresentam alguma ferida e entram em contato com água contaminada pelo zoósporo podem se infectar. *P. insidiosum* contamina plantas aquáticas, se reproduz de forma sexuada e origina zoosporângios (BIAVA *et al.*, 2007). Assim, zoósporos livres na água com forte tropismo por pelos e tecidos animais encistam e secretam material amorfo que os permite ficar aderidos à superfície do seu hospedeiro (MENDOZA; HERNANDEZ; AJELLO, 1993). As lesões ocorrem mais frequentemente nas regiões distal dos membros, ventral do abdome e tórax, pois estão mais em contato com áreas alagadiças (BECEGATTO *et al.*, 2017).

3.2 Achados epidemiológicos

A pitiose ocorre em regiões de clima temperado, subtropical e tropical, sendo descrita nas Américas, Europa e Ásia (CHAFFIN; SCHUMACHER; MCMULLAN, 1995). Não há predisposição por sexo, idade ou raça e não é relatada transmissão animal-animal ou animal-humanos (GAASTRA *et al.*, 2010).

Para a produção de zoósporos a temperatura ambiental deve estar entre 30 e 40°C, em coleções de água em banhos e lagoas. Boa parte dos casos de pitiose ocorre em períodos chuvosos ou posteriores e, com base em dados epidemiológicos, supõe-se que existe um período de incubação de várias semanas (MILLER.; CAMPBELL, 1982). No Pantanal Matogrossense

há registros de pitiose principalmente no período de fevereiro a maio, que corresponde ao auge das cheias (LEAL *et al.*, 2001). Um estudo na Paraíba mostrou que boa parte de 38 casos de pitiose aconteceram de julho a setembro; sete a dez meses após o início das chuvas (TABOSA *et al.*, 1999). Marcolongo-Pereira *et al.* (2012) mostraram que no período compreendido entre os anos de 1979 e 2011 o Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPe), recebeu 1888 materiais de equinos. Destes, 435 eram relacionados ao sistema tegumentar e a pitiose totalizou 63 casos.

O primeiro relato de pitiose equina no Brasil aconteceu no Rio Grande do Sul (SANTOS; LONDERO, 1974). Gradativamente os relatos foram surgindo e existem inúmeros trabalhos realizados em estados como São Paulo, Paraíba, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (LEAL *et al.*, 2001) mas, possivelmente, o Pantanal Brasileiro é o local de maior ocorrência de pitiose no mundo (MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996). Ainda que os dados literários não sejam exatos, a ocorrência de pitiose no Brasil representa um problema para a Equideocultura, principalmente em regiões alagadas (LEAL *et al.*, 2001).

3.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos

A pitiose é caracterizada pela formação de lesões granulomatosas ulcerativas, originando massas teciduais extensas, com bordas irregulares e hifas recobertas por células necrosadas, formando os *kunkers*. Estes possuem forma irregular, ramificada, com aspecto arenoso e adentram o tecido granular, formando um “sinus” de longo trajeto. O tamanho da lesão depende da localização e da duração do processo, com exsudato serossanguinolento, mucossanguinolento, hemorrágico e, eventualmente, mucopurulento, fluindo por meio do “sinus” da lesão. Os animais exibem forte prurido e comumente mutilam a lesão, com intuito de amenizar o desconforto e, quando os membros são acometidos, pode haver claudicação (CHAFFIN; SCHUMACHER; MCMULLAN, 1995). Em boa parte dos casos relatados a lesão é única, mas lesões cutâneas multifocais também podem estar presentes (CHAFFIN; SCHUMACHER; HOOPER, 1992).

Outros sinais clínicos são edema, dor, apatia, inapetência, emagrecimento progressivo, hipoproteinemia e piodermites secundárias (CHAFFIN; SCHUMACHER; MCMULLAN, 1995). O emagrecimento progressivo pode estar relacionado a infecções secundárias por bactérias Gram-negativas, que levam à liberação de fator de necrose tumoral em alguns casos de pitiose (BROMERSCHENKEL; FIGUEIRÓ, 2014).

Raramente pode haver dispersão da infecção através dos planos tissulares, da fáscia e dos vasos linfáticos, afetando órgãos internos do sistema respiratório, digestório, monocítico macrofágico e articulações, com mortalidade próxima a 100% em casos não tratados (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016). Em casos de acometimento intestinal podem ocorrer quadros de cólica devidos a massas teciduais, que obstruem o lúmen do intestino (PURCELL *et al.*, 1994).

3.4 Achados histopatológicos

A pitiose revela lesões com dermatite piogranulomatosa a granulomatosa, nodular a difusa, rica em eosinófilos. Os granulomas têm focos centrais necróticos, granulares e eosinofílicos. Além disso, é possível observar estruturas do *P. insidiosum* em cortes histológicos corados pela coloração hematoxilina-eosina como estruturas lineares, ramificadas, emaranhadas e não coradas (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016).

Quando acomete as alças intestinais, os achados histopatológicos variam de tecido conjuntivo fibroso com áreas de necrose de coagulação e focos de mineralização (sem infiltrado eosinofílico) a granuloma eosinofílico crônico, porém sem *kunkers* (PURCELL *et al.*, 1994).

3.5 Critérios diagnósticos

O diagnóstico se baseia no histórico do animal, nos sinais clínicos, exame histopatológico, isolamento e identificação do agente. Técnicas sorológicas, como imunodifusão, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e imuno-histoquímica (SANTURIO *et al.*, 2006), além de técnicas moleculares como a reação em cadeia de polimerase (PCR) podem também ser utilizadas para o diagnóstico da enfermidade (HTUN *et al.*, 2021). Uma coloração especial de Grocott pode ser utilizada no diagnóstico (PEDROSO *et al.*, 2009).

Informações como o ambiente onde o animal vive, rotina, alimentação e o tempo de evolução da ferida auxiliam no diagnóstico e devem ser obtidas na anamnese (D'UTRA VAZ *et al.*, 2009). A observação dos *kunkers* no tecido de granulação deve ser seguida de colheita do tecido para exame histopatológico. Para coleta devem ser feitas incisões na lesão para remoção de amostras teciduais e dos *kunkers* (MÁRQUEZ *et al.*, 2010). Pode ser realizada a imuno-histoquímica com as amostras coletadas, método que marca especificamente as hifas de *P. insidiosum* (PEDROSO *et al.*, 2009). Sendo assim, as informações clínicas das lesões

associadas aos achados histopatológicos sugestivos de pitiose são métodos confiáveis para o diagnóstico e, quando aliados com a imuno-histoquímica, confirmam a enfermidade (DÓRIA *et al.*, 2014).

3.6 Tratamento

No tratamento pode ser empregada a excisão cirúrgica da lesão, associada à administração de fármacos antifúngicos. São utilizados iodeto de sódio por via intravenosa (1g/kg) ou iodeto de potássio por via oral (6 a 10g/dia durante sete dias). Além disso, a anfotericina sistêmica apresenta resultados satisfatórios, com administração de 0,4 mg/kg, aumentando para 1,5 mg/kg/SID/IV, durante 10 a 40 dias (RADOSTITS *et al.*, 2021), combinado com perfusão regional de 50 mg anfotericina (DÓRIA *et al.*, 2014).

Uma vacina composta com elementos de *P. insidiosum* pode promover a recuperação na maioria dos casos (RADOSTITS *et al.*, 2021), através da modificação da resposta imune do hospedeiro para desenvolver uma resposta adequada contra a doença (LORETO *et al.*, 2014). Contudo, a vacina pode causar reação grave no local da administração, podendo ocasionalmente formar abscessos (RADOSTITS *et al.*, 2021). A vacina não promove imunização, pois animais previamente vacinados para pitiose podem apresentar a infecção em outras partes do corpo (SANTOS *et al.*, 2011). A utilização de imunoterápicos contra a pitiose equina vem evoluindo devido seu baixo grau de invasividade e eficiência próxima de 85% (SANTURIO *et al.*, 2018).

3.7 Controle

As formas de controle da pitiose fundamentam-se em métodos de tratamento, pois não existem medidas imunoproláticas para a prevenção da afecção (GAASTRA *et al.*, 2010). A restrição de acesso a áreas alagadas seria provavelmente um método eficiente (THOMASSIAN, 2005). Porém, devido às características de relevo de certas regiões brasileiras, como o Pantanal, essa prática é difícil de ser realizada.

4 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS

4.1 Etiologia

O carcinoma de células escamosas (CCE) é um tumor cutâneo maligno e invasivo, distribuindo-se em várias regiões do corpo do equino, porém com predileção por áreas com

reduzida pigmentação da pele e poucos pelos (RABBERS *et al.*, 2014). Seu crescimento é lento e raramente ocorre metástase (TÚLIO *et al.*, 2009), acometendo às vezes a glândula de Cavalos orquiectomizados, provavelmente devido à menor exposição peniana e, conseqüentemente, acúmulo de esmegma (CUNHA CARLOS *et al.*, 2007), irradiação ultravioleta da luz solar e a presença do papiloma vírus equino tipo 2, que afetam geralmente áreas não pigmentadas ou levemente pigmentadas. No entanto, a relação entre esses fatores e papilomavírus não foi completamente investigada (AGNEW; MACLACHLAN, 2017).

Outras áreas afetadas são as córneas, pálpebras e anexos, vulva, cavidades nasal e oral (KARNAFIK; RAWLINGS; DUBIELZIG, 2009). Além disso, infecções bacterianas secundárias podem acontecer na superfície da neoplasia, se estiver ulcerada, agravando o caso (RAMOS *et al.*, 2007).

Quando acontece metástase dos CCE oculares, ela acomete principalmente linfonodos e pulmões, sendo que o fator principal que leva à formação da neoplasia não foi completamente elucidado (KARNAFIK; RAWLINGS; DUBIELZIG, 2009). Contudo, fatores predisponentes como exposição excessiva aos raios ultravioletas e conseqüente mutação do gene p53, associado à pele despigmentada, idade avançada e agentes virais ou parasitários, podem estar envolvidos na formação do tumor (PÉREZ *et al.*, 1999).

4.2 Achados epidemiológicos

A neoplasia tem ocorrência maior em equinos das raças Paint Horse, Appaloosa, Shire e Belga, principalmente em equinos com mais de 10 anos de idade. Ademais, a neoplasia é mais observada em junções mucocutâneas das regiões palpebral e genital (TAYLOR; HALDORSON, 2013).

Levantamentos de dados relacionados à ocorrência de neoplasias em animais de produção indicam que o carcinoma de células escamosas é o principal ou um dos principais tumores que ocorrem em regiões do Canadá (MISDORP, 1967), Holanda (DUKES; BUNDZA; CORNER, 1982), Israel (YERUHAM *et al.*, 1999) e Estados Unidos (VALENTINE, 2006). Outro estudo, feito no Brasil, mostra que a neoplasia nos equinos é a segunda mais frequente entre algumas espécies domésticas (RAMOS *et al.*, 2007).

4.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos

O tumor apresenta-se como uma dermatose celular solar e, gradativamente, aparecem

eritema, edema e descamação (VAN DEN TOP *et al.*, 2010). São formadas crostas modificando a epiderme, calhando em ulceração e pode levar a infecções bacterianas secundárias com exsudato purulento (GOLDSCHMIDT; HENDRICK, 2017). São levemente elevados, vários com base ampla onde, à medida que o tumor se torna agressivo na derme, a lesão fica mais consistente (SMITH, 2006).

4.4 Achados histopatológicos

No carcinoma de células escamosas são observados ninhos integrados de células epiteliais pleomórficas com pontes intercelulares aparentes, citoplasma extenso e núcleo volumoso, com cromatina frouxa e nucléolos evidentes. Em tumores bem diferenciados são notadas pérolas córneas no interior dos ninhos de queratinócitos, enquanto em neoplasias anaplásicas existe pouca queratinização e pode haver índice mitótico elevado. Geralmente o CCE apresenta farta proliferação de tecido conjuntivo fibroso e marcada inflamação, além da possibilidade de extensas áreas de necrose em neoplasias de crescimento rápido (GUEDES *et al.*, 2016).

4.5 Critérios diagnósticos

O diagnóstico deve ser feito por meio da avaliação de histórico, anamnese, avaliação clínica do paciente e da lesão. Contudo, a confirmação é realizada apenas com exame histopatológico da lesão (VAN DEN TOP *et al.*, 2010), sendo que o diagnóstico pode ser difícil em tumores pouco diferenciados. Nestes casos deve ser usada a técnica de imuno-histoquímica com utilização de marcadores para citoqueratina (GUEDES *et al.*, 2016). Para investigação de metástase podem ser utilizadas ultrassonografia e radiografia (TAYLOR; HALDORSON, 2013).

4.6 Tratamento

O tratamento pode ser feito com ressecção cirúrgica da neoplasia, criocirurgia, radiação ionizante, quimioterapia e terapia fotodinâmica, sendo que, quanto mais precocemente for feito o diagnóstico, mais indicada é a cirurgia (SOUSA *et al.*, 2019).

4.7 Controle

Devido à correlação da ocorrência do tumor e ausência de pigmentação, sugere-se um programa de reprodução que visa selecionar animais que tenham maior grau de pigmentação em regiões como as pálpebras. Dessa forma, um dos principais fatores de risco para o surgimento do CCE seria reduzido (RADOSTITS *et al.*, 2021).

5 SARCOIDE

5.1 Etiologia

Os papilomavírus bovino (BPV) tipos 1, 2 e 13 estão envolvidos no desenvolvimento dos sarcoides em equídeos (MAULDIN; PETERS-KENNEDY, 2016). O DNA viral foi identificado em 100% dos sarcoides examinados (BOGAERT *et al.*, 2007), sendo que boa parte das pesquisas descrevem uma prevalência do DNA do BPV-1 em relação ao DNA do BPV-2, o que pode estar relacionado a diferentes localizações geográficas (WOBESER *et al.*, 2010). A injeção intradérmica de BPV-1 gera lesões transitórias de sarcoide em potros (HARTL *et al.*, 2011), além de existir significativa correlação entre as concentrações intratumorais de BPV e a gravidade da enfermidade (HARALAMBUS *et al.*, 2010).

Apesar da relação da infecção pelo BPV para o surgimento do sarcoide, existem outros fatores correlacionados com o desenvolvimento da neoplasia (BOGAERT *et al.*, 2008). ANGELOS *et al.* (1998) e PLUMMER (2005) observaram maior incidência nas raças Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês, Árabe e Appaloosa, enquanto no noroeste dos Estados Unidos da América as raças Paint Horse, Quarto-de-Milha e Puro Sangue Árabe são as mais acometidas, além de ser o único tumor cutâneo encontrado em asininos e muares (VALENTINE, 2006). Já no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, a raça Crioula foi a mais acometida (RAMOS *et al.*, 2008).

Feridas cutâneas ulceradas possuem maior predisposição de desenvolverem o sarcoide (SUNDBERG *et al.*, 1977), possivelmente devido à possibilidade de moscas e outros insetos atuarem como vetores do BPV na transmissão da doença entre os equinos. O DNA do BPV-1 foi encontrado em moscas próximas a equídeos com sarcoide, sugerindo que moscas podem transmitir o vírus (FINLAY *et al.*, 2009).

5.2 Achados epidemiológicos

O sarcoide é a neoplasia mais frequente em equinos, representando aproximadamente 20% dos tumores diagnosticados na necropsia (RADOSTITS *et al.*, 2021), além de representar cerca de 60% dos tumores de pele na espécie (ROONEY; ROBERTSON, 1996 citados por BRUM; SOUZA; BARROS, 2010). Ele acomete equinos, asininos e muars de todas as raças, porém as raças equinas Appalosa, Árabe, Quarto-De-Milha e Puro-Sangue-Inglês estão sob maior risco. Além disso, existe suscetibilidade com base genética ao tumor, sendo que nas raças mistas suecas isso é atribuído ao gene autossômico dominante ligado ao antígeno leucocitário equino (ALE) (RADOSTITS *et al.*, 2021).

Em um estudo realizado no Rio Grande do Sul foi observado maior número de éguas com sarcoide do que cavalos, principalmente animais de 1 a 5 anos e da raça Crioula, com o sarcoide desenvolvendo-se mais nos membros (BRUM; SOUZA; BARROS, 2010).

5.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos

O sarcoide é classificado clinicamente em verrucoso, superficial, nodular, fibroblástico, maligno ou misto (KNOTTENBELT, 2005) e pode afetar locais distintos do corpo (SCOTT; MILLER, 2010). O sarcoide verrucoso é semelhante a uma verruga (KNOTTENBELT, 2005), localizado principalmente em axila e virilha, mas pode também aparecer em regiões da cabeça e pescoço (SCOTT; MILLER, 2010). Os sarcoides ocultos ou superficiais geralmente são circulares, alopecicos e rugosos (KNOTTENBELT, 2005), sendo mais encontrados em pescoço, face, região da escápula e superfície medial da coxa (SCOTT; MILLER, 2010). O sarcoide nodular é dividido em subtipos A e B, onde o primeiro forma lesões únicas ou agregadas, lobuladas, de massas subcutâneas esféricas (KNOTTENBELT, 2005) e são encontradas predominantemente nas regiões palpebral, prepucial e virilha (SCOTT; MILLER, 2010). Já o sarcoide nodular subtipo B possui nódulos múltiplos com envolvimento cutâneo, não aderido ao tecido adjacente (KNOTTENBELT, 2005), sendo encontrado com mais frequência nos mesmos locais do subtipo A (SCOTT; MILLER, 2010).

Os sarcoides fibroblásticos do subtipo 1 atingem as regiões axilar e periocular, membros, virilha e regiões com lesão prévia (SCOTT; MILLER, 2010), assemelhando-se a tecido de granulação pedunculado ou tecido de granulação localmente invasivo (KNOTTENBELT, 2005). O sarcoide fibroblástico subtipo 2 afeta regiões periocular, axila, membros, virilha e regiões anteriormente traumatizadas (SCOTT; MILLER, 2010). O sarcoide

maligno acomete preferencialmente as regiões da tuberosidade do olécrano e mandíbula (SCOTT; MILLER, 2010), sendo a forma mais agressiva, estendendo-se à pele e ao tecido subcutâneo adjacente. Finalmente, o sarcoide tipo misto apresenta características de dois ou mais grupos (KNOTTENBELT, 2005).

5.4 Achados histopatológicos

Histologicamente, as lesões de sarcoide apresentam-se com acentuada multiplicação fibroblástica na epiderme, com escassez de matriz extracelular colagênica e hiperplasia da epiderme (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016). A maioria dos sarcoides apresentam componentes dermais, com proliferação desorganizada de tecido conjuntivo, e epidermais, com a epiderme apresentando-se acantótica e hiperqueratótica (GINN; MANSELL; RAKICH, 2007).

As células do sarcoide são alongadas ou fusiformes (SELLON; LONG, 2010), e é possível observar proporções diferentes de colágeno e fibroblastos na derme, encontrando-se fibroblastos de núcleos ingurgitados e, na junção entre derme e epiderme, com orientação perpendicular, formando paliçadas juncionais (GINN; MANSELL; RAKICH, 2007).

5.5 Critérios diagnósticos

Um diagnóstico provável de sarcoide equino é frequentemente fundamentado no aspecto clínico e a presença de mais de uma lesão com atributos de sarcoide é intensamente sugestiva. O diagnóstico definitivo de sarcoide requer exames histopatológicos, porém trauma ou irritação produzida por biópsia podem agravar a lesão e induzir proliferação (KNOTTENBELT, 2003).

5.6 Tratamento

Há diversos relatos de tratamentos de sarcoide, sendo a escolha da terapia dependente do valor do animal e do tratamento, histórico da lesão, tratamentos realizados, local da lesão, existência concomitante de tecido de granulação ou outra neoplasia, estrutura física do local a ser realizado o tratamento e praticidade (KNOTTENBELT, 2008).

Sendo assim, são citadas as técnicas terapêuticas de ligadura, remoção cirúrgica (KNOTTENBELT, 2008), criocirurgia (REED; BAYLY, 2000), cirurgia a laser com dióxido de carbono (CARNTANJEN; JORDAN; LEPAGE, 1997), eletroquimioterapia associada à

aplicação intralesional de cisplatina (TAMZALI; TEISSIE; ROLS, 2003), aplicação de cepa atenuada do *Mycobacterium bovis* (BCG) (KNOTTENBELT; KELLY, 2000), radioterapia (FERNANDES *et al.*, 2015) e aplicação tópica de aciclovir (STADLER *et al.*, 2011). A associação de tratamentos é recomendada para alcançar melhores resultados (WHITE, 2006).

5.7 Controle

Devido ao complexo ciclo de replicação dos papilomavírus, não há um sistema de propagação laboratorial que permita a produção de vírions para produção de vacinas (LIRA, 2010). A adoção de boas práticas de manejo, evitando que equinos e bovinos compartilhem a mesma pastagem possivelmente ajuda na redução da incidência da neoplasia.

6 TECIDO DE GRANULAÇÃO EXUBERANTE

6.1 Etiologia

O processo de cicatrização da pele em equinos é iniciado assim que há desestruturação da barreira celular, seguindo etapas sincronizadas de inflamação aguda, multiplicação celular, síntese e remodelação da matriz para formar o tecido cicatricial. Mesmo sem a completa elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos no processo, é sabido que as citocinas são mediadores importantes (CANDREVA, 2017). Boa parte das células nucleadas do organismo animal liberam as citocinas, glicoproteínas de sinalização, responsáveis por mediar processos inflamatórios por meio de receptores específicos da superfície celular, estimulando a migração, proliferação e síntese celular (THEORET *et al.*, 2001).

A fase inflamatória da cicatrização é fundamental para proteger contra processos infecciosos, além de começar a fase da reparação. Sendo assim, os macrófagos são importantes na mudança da inflamação para a reparação, liberando citocinas e diferentes fatores de crescimento (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012). Nos equinos a inflamação é leve, mas demorada (BUNDGAARD *et al.*, 2016), com pouca destruição bacteriana por leucócitos e níveis reduzidos de outros mediadores auxiliares na resposta inflamatória e na ativação de miofibroblastos para a contração da ferida (WILMINK *et al.*, 2003). Ao contrário, o processo inflamatório intenso auxilia no surgimento precoce de tecido de granulação na fase de reparação, sendo denominado “exuberante” ao ultrapassar as bordas da pele, atrapalhando a contração da ferida e, conseqüentemente, atrasando a cicatrização (VIANA *et al.*, 2014).

Em inflamações crônicas o influxo total de polimorfonucleares (PMN) é elevado. Sendo assim, o desequilíbrio dos mediadores liberados pelos PMN fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), fator de crescimento transformador beta-1 (TGF- β 1), interleucinas 1 (IL-1) e 6 (IL-6) podem auxiliar na produção de tecido de granulação exuberante. Ademais, o TGF- β 1 acelera a migração e multiplicação de fibroblastos e colágeno (WILMINK; VAN WEEREN, 2005).

Possivelmente em resposta às baixas concentrações de oxigênio nos tecidos (SØRENSEN *et al.*, 2014), o tecido de granulação é produzido em cerca de 3 a 5 dias, oriundo da multiplicação fibroblástica e capilar (MSD MANUALS, 20XX). A granulação exuberante atrasa a cicatrização das feridas por segunda intenção, sendo que o TGF- β 1 possui papel importante no processo (HOLLIS, 2014). Além de que, uma fase inflamatória longa, com intensa fase proliferativa devido à dificuldade dos fibroblastos se diferenciarem em miofibroblastos também pode estar envolvida na patogênese do tecido de granulação exuberante (SANTOS *et al.*, 2014).

Resposta inflamatória específica deficiente, apoptose inapropriada, desequilíbrio de colágeno e obstrução microvascular podem estar relacionados ao desenvolvimento da granulação exuberante (OLIVEIRA; DIAS, 2012). A inflamação crônica atrapalha a epitelização precoce e a contração da ferida, pois elas requerem um tecido de granulação saudável para a migração de queratinócitos (BUNDGAARD *et al.*, 2016).

6.2 Achados epidemiológicos

Em relação às demais espécies, os equinos são comumente afetados por lesões traumáticas geradoras de feridas (WILMINK; VAN WEEREN, 2005). O comportamento explosivo da espécie produz movimentos bruscos, que podem trazer danos ao animal, principalmente em membros, sendo que instalações e pastagens inadequadas favorecem a ocorrência das lesões (DUQUE *et al.*, 2012). As feridas de pele estão entre as ocorrências mais comuns na clínica equina (PAGANELA *et al.*, 2009).

Em levantamento feito de 2000 a 2008 no Hospital de Clínicas Veterinária (HVC) da Universidade Federal de Pelotas/RS foi constatado que 37% dos casos atendidos em equinos correspondiam a lesões de pele. E destes, 63% eram lacerações, perfurações, incisões e contusões e o restante correspondeu a neoplasias, dermatites e tecido de granulação exuberante (PAGANELA *et al.*, 2009).

6.3 Sinais clínicos/achados macroscópicos

O tecido de granulação exuberante é caracteristicamente irregular, com vários sulcos, lançando-se acima da margem da ferida. É observado comumente em feridas nos membros, mas também pode ser visto em feridas em outras regiões do corpo, sendo marcado por inflamação crônica com restos de fibrina não absorvida pela fase aguda da inflamação (RESENDE *et al.*, 2019).

6.4 Achados histopatológicos

Histologicamente o tecido de granulação apresenta proliferação vascular com orientação perpendicular à superfície epidérmica e proliferação fibroblástica colagênica paralela à superfície epidermal. Além disso, geralmente ocorrem diferentes graus de edema e infiltrado inflamatório intersticial crônico (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016).

6.5 Critérios diagnósticos

Para realização de diagnóstico preciso, a avaliação da ferida é imprescindível, permitindo saber o tipo e estágio da lesão para escolher o adequado tratamento (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Primeiramente se deve realizar anamnese e exame clínico detalhados, buscando saber se houve algum trauma, a causa da lesão, tempo decorrido, tratamentos empregados e evolução clínica (COCKBILL; TURNER, 1995). Contudo, somente através do exame histopatológico será possível diferenciar o tecido de granulação exuberante das outras afecções proliferativas da pele, como o sarcoide, pitiose, carcinoma de células escamosas ou habronemose.

6.6 Tratamento

Vários tratamentos podem ser instituídos visando reduzir a quantidade de tecido de granulação exuberante. Assim sendo, são utilizados corticosteroides tópicos, membranas de colágeno e amniótica, substâncias cáusticas, inibidores farmacológicos, criocirurgia, bandagem associada com aplicação tópica de antibióticos, hidroterapia, curativos oclusivos e semi-occlusivos e aplicação tópica de ketanserina (MILLER *et al.*, 2000; ENGELLEN *et al.*, 2004).

6.7 Controle

A adoção de boas práticas de manejo, evitando manter os equinos em pastagens e instalações inadequadas ajudam a prevenir a ocorrência de lesões. Além disso, o tratamento precoce e adequado de feridas ajuda a evitar o surgimento da granulação excessiva.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As lesões proliferativas cutâneas dos equídeos são afecções complexas e de tratamentos difíceis. Informações etiológicas e fisiopatológicas sobre cada uma dessas doenças são fundamentais para se instituir um protocolo terapêutico eficiente com base nas condições econômicas do tutor do paciente.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; KUMAR, V.; MITCHELL, R. N. **Fundamentos de patologia**: Robbins & Cotran, 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- AGNEW, D. W.; MACLACHLAN, N. J. Tumors of the genital systems. In: MEUTEN, D. J. (Eds.). **Tumors in domestic animals**. 5. ed. New York: John Wiley & Sons, 2017, p. 689-722.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996.
- ANGELOS, J. *et al.* Evaluation of breed as a risk factor for sarcoid and uveitis in horses. **Animal Genetics**, v. 19, p. 417-425, 1998.
- BARLAAM, A. *et al.* Habronematidosis in Equids: Current Status, Advances, Future Challenges. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 358, p. 1-8, 2020.
- BECEGATTO, D. B. *et al.* Pitiose equina: revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 20, n. 2, p. 87-92, 2017.
- BELLI, C. B.; SILVA, L. C. L. C.; FERNANDES, W. R. Aspectos Endoscópicos da Habronemose Gástrica Equina. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 8, n. 1, p. 13-18, 2005.
- BIAVA, J. S. *et al.* Zicomucose em equinos – revisão. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 5, n. 3, p. 225-230, 2007.
- BOGAERT, L. *et al.* Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. **Journal of General Virology**, v.

88, n. 8, p. 2155-2161, 2007.

BOGAERT, L. *et al.* High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. **Veterinary Microbiology**, v.129, n. 1-2, p. 58-68, 2008.

BROMERSCHENKEL, J.; FIGUEIRÓ, G. M. Pitiose em equinos. **PUBVET**, v. 8, n. 22, 2014.

BRUM, J. S.; SOUZA, T. M.; BARROS, C. S. L. Aspectos epidemiológicos e distribuição anatômica das diferentes formas clínicas do sarcoide equino no Rio Grande do Sul: 40 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 10, p. 839-843, 2010.

BUNDGAARD, L. *et al.* A selected reaction monitoring-based analysis of acute phase proteins in interstitial fluids from experimental equine wounds healing by secondary intention. **Wound Rep and Reg**, v. 24, n. 3, p. 525-532, 2016.

CANDREVA, T. **Cicatrização de feridas em camundongos FAT-1: envolvimento da via anti-inflamatória colinérgica.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo) – Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2017.

CARNTANJEN, B.; JORDAN, P.; LEPAGE, O. M. Carbon dioxide laser as a surgical instrument for sarcoid therapy – A retrospective study on 60 cases. **Canadian Veterinary Journal**, v. 38, n. 12, p. 773-776, 1997.

CARVALHO, L. Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. II – Implicações no Diagnóstico e no Controlo das Parasitoses Gastrointestinais. **Medicina Veterinária (Revista da AEFMV)**, n. 62, p. 13-24, 2006.

CASTON, S. S. Wound care in horses. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 28, n. 1, p. 83-100, 2012.

CHAFFIN, M. K.; SCHUMACHER, J.; HOOPER, N. Multicentric cutaneous pythiosis in a foal. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, n. 2, p. 310-312, 1992.

CHAFFIN, M. K.; SCHUMACHER, J.; MCMULLAN, W. C. Cutaneous pythiosis in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 11, n. 1, p. 91-103, 1995.

COCKBILL, S. M. E.; TURNER, T. D. Management of veterinary wounds. **The Veterinary Record**, v. 136, n. 14, p. 362-365, 1995.

CONCEIÇÃO, L. G.; LOURES, F. H. Sistema Tegumentar. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, p. 407-486.

CUNHA CARLOS, D. J. S. *et al.* Carcinoma de células escamosas em pênis equino: Relato de caso. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FEPI, 3., 2016, Itajubá. **Anais [...]**. Itajubá: FEPI, 2016. Disponível em: <http://revista.fepi.br/revista/index.php/revista/article/view/464>. Acesso em: 24 mar. 2020.

D'UTRA VAZ, B. B. *et al.* Pitiose nasal em equino. *Medicina Veterinaria*, v. 3, n. 4, p. 27-32, 2009.

DE COCK, A. W. *et al.* *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 25, n. 2, p. 344-349, 1987.

DÓRIA, R. G. S. *et al.* Utilização da técnica de imuno-histoquímica para confirmar casos de pitiose cutânea equina diagnosticados por meio de caracterização clínica e avaliação histopatológica. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 1, p. 27-33, 2014.

DUKES, T. W.; BUNDZA, A.; CORNER, A. H. Bovine neoplasms encountered in Canadian slaughterhouses: A summary. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 23, n. 1, p. 28-30, 1982.

DUQUE B, D. *et al.* Avulsion en laregióon metatarsiana dorsal en un equino. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 2, n. 2, p. 38-46, 2015.

EL-DEEB, W. *et al.* Acute phase proteins, interleukin-6, tumor necrosis factor, nitric oxide and oxidative stress markers in horses with cutaneous habronemosis under field condition. *Veterinary Parasitology*, v. 255, p. 20-25, 2018.

ENGELLEN, M. *et al.* Effects of ketanserine on hypergranulation tissue formation, infection, and healing of equine lower limb wounds. *Canadian Veterinary Journal*, v. 45, p. 144-149, 2004.

FERNANDES, M. A. R. *et al.* Radioterapia em Medicina Veterinária: princípios e perspectivas. *Revista Brasileira de Física Médica*, v. 4, n. 2, p. 11-14, 2015.

FINLAY, M. *et al.* The detection of Bovine Papillomavirus type 1 DNA in flies. *Virus Research*, v. 144, n. 1-2, p. 315-317, 2009.

FORTES, E. *Parasitologia veterinária*. 4. ed. São Paulo: Ícone, 2004.

FREITAS, F. C. *et al.* Habronemose nasal em uma égua. *NUCLEUS ANIMALIUM*, v. 3, n. 1, p. 7-16, 2011.

GAASTRA, W. *et al.* *Pythium insidiosum*: An overview. *Veterinary Microbiology*, v. 146, n. 1-2, p. 1-16, 2010.

GARCIA, C. A. *et al.* Autohemoterapia maior ozonizada no tratamento de erliquiose canina – relato de caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. Relato de caso. *Anais [...]*. Gramado: Adaltech, 2008. Disponível em: <http://www.polivet-itapetininga.vet.br/mhav/tbo/Habronemose.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2020.

GASTHUY, F. M.; VAN HEERDEN, M.; VERCRUYSSSE, J. Conjunctival habronemiosis in a horse in Belgium. *Veterinary Record*, v. 154, n. 24, p. 757-758, 2004.

GINN, P. E.; MANSELL, J. E. K.; RAKICH, P. M. Skin and Appendages. In: **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 5. ed. Edinburgh: Elsevier, 2007, v. 1, p. 553-555.

- GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: MEUTEN, D. J. (Eds.). **Tumors in domestic animals**. 5. ed. New York: John Wiley & Sons, 2017, p. 45-118.
- GUEDES, R. M. C. *et al.* Sistema Digestório. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, p. 94.
- HARALAMBUS, R. *et al.* Intralesional bovine papillomavirus DNA loads reflect severity of equine sarcoid disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 4, p. 327-331, 2010.
- HARGIS, A. M. Sistema Tegumentar. In: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. (Eds.). **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., 1998.
- HARTL, B. *et al.* Inoculation of young horses with BPV-1 virion leads to early infection of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) prior to pseudo-sarcoid formation. **Journal of General Virology**, v. 92, n. 10, p. 2437-2445, 2011.
- HOLLIS, G. Hard-to-heal wounds. In: BRITISH EQUINE VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS BEVA, 49th, 2014, Birmingham. **Proceedings** [...]. Birmingham, 2014, p. 251-252.
- HTUN, Z. M. *et al.* Identification and Biotyping of *Pythium insidiosum* Isolated from Urban and Rural Areas of Thailand by Multiplex PCR, DNA Barcode, and Proteomic Analyses. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 242, p. 2-22, 2021.
- KARNAFIK, C.; RAWLINGS, M.; DUBIELZIG, R. R. Corneal stromal invasive squamous cell carcinoma: a retrospective morphological description in 10 horses. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 1, p. 6-12, 2009.
- KNOTTENBELT, D. C. A suggested clinical classification for the equine sarcoid. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 4, n. 4, p. 278-295, 2005.
- KNOTTENBELT, D. C. Basic principles of diagnosis and management of neoplasia in horses. In: ANNUAL MEETING OF THE ITALIAN ASSOCIATION OF EQUINE VETERINARIANS, 10., 2003. **Proceedings** [...]. 2003, p. 1-16.
- KNOTTENBELT, D. C. The equine sarcoid. In: WEVA INTERNATIONAL CONGRESS, 2008, Moscow. **Proceedings** [...]. Moscow, 2008, p. 73-84.
- KNOTTENBELT, D. C.; KELLY, D. F. The diagnosis and treatment of periorbital sarcoid in the horse: 445 cases from 1974 to 1999. **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, n. 2-3, p. 169-191, 2000.
- LEAL, A. T. *et al.* Pitiose equina no Pantanal brasileiro: aspectos clínico-patológicos de casos típicos e atípicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 151-156, 2001.
- LIRA, R. C. (2010). **Desenvolvimento de uma construção vacinal baseada no gene E5 de BPV usando “códon usage” a ser aplicada em imunização genética**. 2010. Dissertação (Mestrado em Genética) –Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

LORETO, E. S. *et al.* Update on pythiosis immunobiology and immunotherapy. **World Journal of Immunology**, v. 4, n. 2, p. 88-97, 2014.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-408, 2003.

MARCOLONGO-PEREIRA, C. *et al.* Epidemiologia da pitiose equina na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 865-868, 2012.

MÁRQUEZ, A. A *et al.* Descripción anatomopatológica de Pitiosis cutánea en equinos. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 51, n. 1, p. 37-42, 2010.

MAULDIN, E. A; PETERS-KENNEDY, J. Integumentary System. In: **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 6. ed. Edinburgh: Elsevier, 2016, v. 1, p. 509–736.

MEIRELES, M. C. A. *et al.* Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. **Mycoses**, v. 36, n. 3-4, p. 139-142, 1993.

MENDOZA, L.; AJELLO, L.; MCGINNIS, M. R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal de mycologie médicale**, v. 6, n. 4, p. 151-164, 1996.

MENDOZA, L.; HERNANDEZ, F.; AJELLO, L. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 11, p. 2967-2973, 1993.

MILLER, C. B. *et al.* Growth Characteristics of Fibroblasts Isolated From the Trunk and Distal Aspect of the Limb of Horses and Ponies. **Veterinary Surgery**, 29(1), 1-7, 2000.

MILLER, R. I.; CAMPBELL, R. S. F. Clinical observations on equine phycomycosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 58, n. 6, p. 221-226, 1982.

MISDORP, W. Tumours in large domestic animals in the Netherlands. **Journal of Comparative Pathology**, v. 77, n. 2, p. 211–216, 1967.

MSD MANUALS. **Factors That Interfere With Wound Healing**. In: Merck Veterinary Manual, 20XX. Disponível em:

<https://www.msdmanuals.com/professional/multimedia/table/factors-that-interfere-with-wound-healing>. Acesso em: 01 jan. 2022.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

PAGANELA, J. C. *et al.* Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 104, n. 569-572, p. 13-18, 2009.

PEDROSO, P. M. O. *et al.* Diagnóstico imuno-histoquímico de pitiose cutânea em equinos. **Acta scientiae veterinariae**, v. 37, n. 1, p. 49-52, 2009.

PÉREZ, J. *et al.* Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with

equine squamous cell carcinoma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 121, n. 4, p. 385–397, 1999.

PÉREZ, R. *et al.* Pharmacokinetics of doramectin and ivermectin after oral administration in horses. **The Veterinary Journal**, v. 163, n. 2, p. 161-167, 2002.

PLUMMER, C. E. Equine eyelid disease. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 4, n. 1, p. 95-105, 2005.

PUGH, D. G.; HU, X. P.; BLAGBURN, B. Habronemiasis: Biology, Signs, and Diagnosis, and Treatment and Prevention of the Nematodes and Vector Flies. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 3, n. 2, p. 241–248, 2014.

PURCELL, K. L. *et al.* Jejunal obstruction caused by a *Pythium insidiosum* granuloma in a mare. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 2, p. 337-339, 1994.

RABBERS, A. S. *et al.* Diagnóstico clínico, laboratorial e tratamento cirúrgico do carcinoma de células escamosas no genital de equinos machos: relatos de dois casos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 12-18, 2014.

RADOSTITS, O. M. *et al.* Diseases Caused by Bacteria IV. In: DONE, S. H. *et al.* **Clínica Veterinária: Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021, p. 817-824.

RAMOS, A. T. *et al.* Carcinoma de células escamosas em bovinos, ovinos e eqüinos: estudo de 50 casos no sul do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, p. 5-13, 2007.

RAMOS, A. T. *et al.* Tumores em animais de produção: aspectos comparativos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 148-154, 2008.

REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina interna eqüina**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

RESENDE, C. *et al.* Uso de triancinolona no tratamento do tecido de granulação exuberante em equinos: Relato de três casos clínicos. **Pubvet**, v. 13, n. 6, p. 1-8, 2019.

SANTOS, C. *et al.* Does Immunotherapy protect equines from reinfection by the oomycete *Pythium insidiosum*? **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 8, p. 1397-1399, 2011.

SANTOS, J. A. A. *et al.* Histomorphometric evaluation of the effects of the aqueous extract of annatto (norbixin) on wound skin healing in rats. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3 suppl 1, p. 637-643, 2014.

SANTOS, M. N.; LONDERO, A. T. Zigomicose subcutânea em cavalos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 9, n. 7, p. 7-8, 1974.

SANTURIO, J. *et al.* Teste de ELISA indireto para o diagnóstico sorológico de pitiose. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 47-50, 2006.

SANTURIO, J. M. *et al.* Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, n. 1, p. 1–14, 2018.

SCOTT, D.; MILLER, W. **Equine dermatology**. 2. ed. Saunders Elsevier Saint Louis, 2010.

SELLON, D. C.; LONG, M. T. **Equine infectious disease**. 2. ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2010, p. 246-251.

SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2006.

SØRENSEN, M. A. *et al.* Regional disturbances in blood flow and metabolism in equine limb wound healing with formation of exuberante granulation tissue. **Wound Repair and Regeneration**, v. 22, n. 5, p. 647-653, 2014.

SOUSA, K. S. *et al.* Carcinoma de células escamosas em equino: Relato de caso. **Pubvet**, v. 13, n. 3, p. 1-6, 2019.

STADLER, S. *et al.* Successful treatment of equine sarcoids by topical acyclovir application. **Veterinary Record**, v. 168, n. 7, p. 187, 2011.

SUNDBERG, J. P. *et al.* Neoplasms of equidae. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 2, p. 150-152, 1977.

TABOSA, I. M. *et al.* Pitiose cutânea em eqüídeos no semi-árido da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 1, p. 27-30, 1999.

TAMZALI, Y.; TEISSIE, J.; ROLS, M. P. First horse sarcoid treatment by electrochemotherapy: preliminary experimental results. In: AAEP ANNUAL CONVENTION, 49., 2003, New Orleans. **Proceedings** [...]. New Orleans, 2003.

TAYLOR, S.; HALDORSON, G. A review of equine mucocutaneous squamous cell carcinoma. **Equine Veterinary Education**, v. 25, n. 7, p. 374-37, 2013.

THEORET, C. L. *et al.* Expression of Transforming Growth Factor β 1, β 3, and Basic Fibroblast Growth Factor in Full-Thickness Skin Wounds of Equine Limbs and Thorax. **Veterinary Surgery**, v. 30, n. 3, p. 269-277, 2001.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2005.
Traversa, D., Iorio, R., Amici, L. and Brandt. (2007). Molecular diagnosis of equid summer sores. *Vet. Parasitol.* 15(12), 116-121.

TÚLIO, L. M. *et al.* Paraparesia espástica e hiperreflexia em um bovino associada a carcinoma de células escamosas: relato de caso. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 76–82, 2009.

VALENTINE, B. A. Survey of Equine Cutaneous Neoplasia in the Pacific Northwest. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 1, p. 123-126, 2006.

VAN DEN TOP, J. G. B. *et al.* Penile and preputial tumours in the horse: literature review

and proposal of a standardised approach. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 8, p. 746-757, 2010.

VIANA, L. F. S. *et al.* Tratamentos complementares para ferida com tecido de granulação exuberante em equino – Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinaria**, v. 36, n. 4, p. 417-420, 2014.

WHITE, S. D. Doenças de Pele. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2006, p. 1223-1225.

WILMINK, J. M. *et al.* Differences in polymorphonucleocyte function and local inflammatory response between horses and ponies. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n. 6, p. 561-569, 2003.

WILMINK, J. M.; VAN WEEREN, P. R. Second-Intention Repair in the Horse and Pony and Management of Exuberant Granulation Tissue. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 21, p. 5–32, 2005.

WOBESER, B. K. *et al.* Epidemiology of equine sarcoids in horses in western Canada. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 10, p. 1103-1108, 2010.

YARMUT, Y. *et al.* Ophthalmic and cutaneous habronemiasis in a horse: case report and review of the literature. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 63, n. 3, p. 87-90, 2008.

YERUHAM, I. *et al.* Tumours of the Vulva and Vagina in Cattle – A 10-Year Survey. **The Veterinary Journal**, v. 158, n. 3, p. 237-239, 1999.

ARTIGO 2 - EFEITO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EM REGIÕES METATÁRSICA E GARUPA DE EQUINOS, AVALIANDO-SE OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE CREME À BASE DE SEIVA DE CROTON LECHLERI, ASSOCIADO OU NÃO À NITROGLICERINA

Matheus Camargos de Britto Rosa¹
Maria Eduarda de Souza Teixeira Campos²
Adriana Silva Albuquerque³
Mirian Silvia Braz⁴
Gabriel Cardose Fonseca⁵
Hugo Shisei Toma⁶
Patrícia Ferreira Ponciano Ferraz⁷
Rodrigo Norberto Pereira⁶
Djeison Lutier Raymundo⁶

¹ Professor Adjunto I, Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

² Mestranda em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

³ Doutoranda em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

⁴ Doutora em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

⁵ Graduando em Medicina Veterinária, Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

⁶ Professor Adjunto, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

⁷ Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA).

RESUMO

As lesões cutâneas estão entre as enfermidades mais tratadas por Médicos Veterinários de equinos e trazem prejuízos financeiros importantes ao mercado equestre. Fatores como a movimentação e tensão na pele ao redor da lesão, o desequilíbrio da síntese e degradação do colágeno e o baixo suprimento sanguíneo de oxigênio favorecem o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante em equinos, havendo retardo no processo cicatricial. O objetivo avaliar mecanismos cicatriciais em equinos, bem como os possíveis efeitos do *Croton lechleri* (CL) e da nitroglicerina na cicatrização de feridas. Utilizou-se seis éguas que foram submetidas a indução de feridas na garupa e membro pélvico, recebendo seis tipos de tratamento: Solução fisiológica; Creme com Nitroglicerina 0,1mg/ml; Creme com Nitroglicerina 1mg/ml; Creme com 1 µg/ml de *Croton lechleri*; Creme com 10 µg/ml de *Croton lechleri*; Creme com 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml. Conclui-se que feridas na região cutânea da garupa desenvolvem menos tecido de granulação e vasos sanguíneos, e mais colágeno do que feridas cutâneas na região do metatarso; o *Croton lechleri* mostrou ter um potencial para auxiliar na cicatrização das feridas pois ele reduziu a resposta inflamatória, aumentou a produção de colágeno e inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* em lesões tratadas com sua seiva; a nitroglicerina reduziu a formação de novos vasos em feridas tratadas com ela; o tratamento realizado com a associação de CL e nitroglicerina apresentou apenas aumento das concentrações de colágeno.

Palavras-chave: Equinos. *Croton lechleri*. Nitroglicerina. Cicatrização. Feridas. Tecido de Granulação Exuberante.

ABSTRACT

As specifications are among the most important diseases for the market and the most important medical care for horses. Factors such as movement and tension in the learning skin, such as the growth process, collagen degradation and joint integrity and the development of granulation tissue protection favor the development of granulation tissue. The aim of scarring effects in horses, as well as the possible effects of *Croton lechleri* (CL) and nitroglycerin on wound healing. It was used for types of treatment that allow the manipulation of six physiological solutions; Cream with Nitroglycerin 0.1mg/ml; Cream with Nitroglycerin 1mg/ml; Cream with 1 µg/ml of *Croton lechleri*; Cream with 10 µg/ml of *Croton lechleri*; Cream with 10 µg/ml of *Croton lechleri* + Nitroglycerin 1mg/ml. It is concluded that wounds in the croup region develop less granulation tissue and blood vessels, and more skin collagen in the metatarsal region; *Croton lechleri* has a potential to aid in the healing of cells as it increases the response production, increasing the growth of *Staphylococcus aureus* in devices with its sap; the new vessel-forming nitroglycerin treated with it; the treatment performed with the association of CL and nitroglycerin showed only an increase in collagen concentrations.

Keywords: Equines. *Croton lechleri*. Nitroglycerin. Healing. wounds. Lush Granulation Fabric.

1 INTRODUÇÃO

As lesões cutâneas estão entre as enfermidades mais tratadas por Médicos Veterinários de equinos e trazem prejuízos financeiros importantes ao mercado equestre (HARMON *et al.*, 2017). Na Nova Zelândia uma pesquisa indicou que das lesões locomotoras que inutilizavam equinos Puro Sangue Inglês, 7% eram de feridas cutâneas nas regiões distais de membros (PERKINS; REID; MORRIS, 2005). Ademais, feridas em membros pélvicos cicatrizam mais lentamente e formam mais tecido de granulação do que feridas em membros torácicos (WINTER *et al.*, 2020).

Fatores como a movimentação e tensão na pele ao redor da lesão, o desequilíbrio da síntese e degradação do colágeno e o baixo suprimento sanguíneo de oxigênio favorecem o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante em equinos, havendo retardo no processo cicatricial (ENGELLEN *et al.*, 2004).

Por sua complexidade, a cicatrização em equinos é alvo de inúmeras pesquisas, visando encontrar meios que favoreçam a recuperação das feridas. Neste contexto, as plantas medicinais (fitoterápicos) podem ser utilizadas em protocolos terapêuticos para tratamento das feridas (SOUZA *et al.*, 2006), porém muitas preparações tópicas são ineficientes ou prejudiciais, por serem irritantes e estimularem o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante (WHITE, 1995). Contudo, *Triticum vulgare* (SOUZA *et al.*, 2006), *Stryphnodendron barbatiman*, *Calendula officinalis* e *Symphytum officinale* (MARTINS *et al.*, 2003) apresentaram efeitos benéficos na cicatrização de feridas em equinos. O *Croton lechleri* (CL), conhecido popularmente como “Sangue de Dragão” (POLLITOS; TOMAZELLO FILHO, 2007), possui atividades anti-inflamatória, antibiótica e antioxidante. Sendo assim, a planta teria potencial para ser utilizada no tratamento de feridas, auxiliando no processo de cicatrização (JONES, 2003).

A nitroglicerina é um fármaco com ação vasodilatadora direta que produz relaxamento da musculatura lisa, provocando dilatação nos sistemas venoso e arterial. Com isso, possui capacidade de melhorar a vascularização de determinadas regiões, favorecendo a oxigenação (EADES; STOKES; MOORE, 2006).

Com base nas informações supracitadas, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar mecanismos cicatriciais em equinos, bem como os possíveis efeitos do *Croton lechleri* e da nitroglicerina na cicatrização de feridas.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Animais

Foram selecionadas seis fêmeas híginas da espécie equina, com idade variando entre doze e dezoito anos, que foram alojadas no Complexo das Clínicas Veterinária do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), onde passaram por um período de adaptação de duas semanas antes do início da fase experimental.

Cada égua foi vermifugada com pasta oral à base de ivermectina 1%, vacinadas contra influenza equina, tétano e encefalomielite, sendo que foi realizada a profilaxia oral para remoção de pontas dentárias e hemograma para identificar possíveis alterações fisiológicas. A alimentação dos animais foi baseada em feno de tifton, concentrado e sal mineral *ad libitum*, sendo mantidas em baias individuais durante o período de avaliação. A água também foi fornecida *ad libitum*.

Todos os procedimentos supracitados foram realizados a fim de padronizar todas as amostras para que não houvesse interferência. Além disso, o estudo foi realizado respeitando-se os princípios éticos da experimentação animal, bem como as normas para a prática didático/científica da vivisseção dos mesmos (BRASIL, 2008), a Declaração Universal dos Direitos dos Animais (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA, 1978), as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e a legislação em vigor (BRASIL, 1998), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras, sob o protocolo número 039/19.

2.2 Grupos

As concentrações de *Croton lechleri* foram definidas a partir de estudos em ratos (*Rattus norvegicus*) que definiram que a concentração de 1 µg/ml foi a mais eficiente para a cicatrização de feridas. Além disso, tendo como base as dificuldades e particularidades da cicatrização de feridas em equinos, foi definida a utilização de uma concentração mais elevada (10 µg/ml) de *Croton lechleri* para dois grupos (LOPES, 2014).

As concentrações de nitroglicerina foram definidas por meio de estudos em ratos (*Rattus norvegicus*) que utilizaram o produto de uso tópico NITRODERM TTS (Novartis Pharma Ag, Suíça). Sendo assim, foram estabelecidas as doses de 0,1mg/ml e 1mg/ml de nitroglicerina para alguns grupos (SÁ, 2006).

Cada égua representou 12 grupos, em que 6 grupos foram de feridas cutâneas na garupa (G) e os demais grupos de feridas cutâneas na região metatársica dos membros pélvicos (MP) (Tabela 1):

Tabela 1 - Grupos experimentais e seus respectivos tratamentos

		Tratamentos
Garupa	A	Solução fisiológica
	B	Creme com Nitroglicerina 0,1mg/ml
	C	Creme com Nitroglicerina 1mg/ml
	D	Creme com 1 µg/ml de <i>Croton lechleri</i>
	E	Creme com 10 µg/ml de <i>Croton lechleri</i>
	F	Creme com 10 µg/ml de <i>Croton lechleri</i> + Nitroglicerina 1mg/ml
Membro Pélvico	A	Solução fisiológica
	B	Creme com Nitroglicerina 0,1mg/ml
	C	Creme com Nitroglicerina 1mg/ml
	D	Creme com 1 µg/ml de <i>Croton lechleri</i>
	E	Creme com 10 µg/ml de <i>Croton lechleri</i>
	F	Creme com 10 µg/ml de <i>Croton lechleri</i> + Nitroglicerina 1mg/ml

Fonte: Do autor

2.3 Procedimento cirúrgico

2.3.1 Indução das feridas

Os equinos foram submetidos a jejum alimentar de 6 horas, deixando água disponível. A sedação foi realizada utilizando Cloridrato de Detomidina a 1%, na dose de 0,01mg/kg/IV e a analgesia ocorreu por meio da administração de Tartarato de Butorfanol a 1%, na dose de 0,04 mg/kg/IV (WISE et al., 2018). A anestesia local na região da garupa foi feita por aplicação subcutânea ao redor dos locais de incisão, através de administração de 4 ml de Cloridrato de Lidocaína a 2%, para cada ferida induzida, além de utilização da técnica anestésica “quatro pontos altos” para as feridas induzidas nos membros pélvicos, em conjunto com a aplicação subcutânea de 4 ml de Cloridrato de Lidocaína a 2% em cada um dos locais das feridas induzidas (TAYLOR; CLARKE, 2009).

Foi realizada tricotomia das garupas direita e esquerda, metatarsos direito e esquerdo. A antisepsia do campo operatório foi realizada com Digliconato de Clorexidina 2% e Álcool 70%. Posteriormente, com utilização de material cirúrgico estéril, luvas estéreis e auxiliados por paquímetro (STARRETT 727 – 6/150), foram feitas 6 feridas cutâneas de 2,5 x 2,5cm na região da garupa e 6 no metacarpo, com auxílio de bisturi com lâmina número 10. A excisão abrangeu a pele e tecido subcutâneo subjacente. Todas as feridas foram mensuradas para sua

padronização com auxílio do paquímetro. Após o procedimento, todos os seis animais receberam anti-inflamatório não esteroideal (Fenilbutazona) na dose de 2,2 mg/kg/VO, BID (duas vezes ao dia), por 3 dias, visando principalmente controlar a dor (OLIVEIRA Jr. *et al.*, 2012).

2.3.2 Tratamento das feridas

Os tratamentos foram iniciados doze horas após a realização das lesões. Cada ferida foi tratada duas vezes ao dia, às 06:00 e às 18:00, com seu respectivo tratamento. Primeiramente era feita uma limpeza prévia da ferida com solução fisiológica para remoção de corpos estranhos e contaminação bacteriana excessiva. Em seguida cada ferida recebeu o seu tratamento pré-definido aleatoriamente por sorteio. O manejo estabelecido foi mantido até a total cicatrização das feridas e foi realizado sempre pelo mesmo Médico Veterinário (OLIVEIRA Jr. *et al.*, 2012).

2.3.3 Obtenção das amostras de biópsias cutâneas para avaliação histopatológica

As biópsias de pele foram obtidas nos momentos 0 (logo após o procedimento cirúrgico) e com 7, 14 e 21 dias após a cirurgia, abrangendo os limites da ferida e tecido íntegro utilizando lâmina de bisturi tamanho 15 (OLIVEIRA Jr. *et al.*, 2012).

Para o procedimento, foi feita previamente a limpeza da ferida, sedação do equino com Cloridrato de Xilazina a 10% na dose de 1 mg/kg/IV e anestesia local com Cloridrato de Lidocaína a 2%. Após a coleta, os fragmentos foram imersos em frascos contendo formol a 10% e identificados com o dia da retirada, número do animal, localização da ferida e tratamento utilizado (OLIVEIRA Jr. *et al.*, 2012).

As amostras foram encaminhadas ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras (SPV-UFLA) para análise histopatológica do processo de cicatrização das feridas. Os tecidos foram desidratados em uma série crescente de soluções de álcool, diafanizados em xilol, incluídos em parafina para obtenção de cortes com 5µm de espessura, sendo então corados com Hematoxilina-Eosina e analisados em microscopia óptica por um Patologista Veterinário. Posteriormente, foram utilizadas as colorações especiais tricrômico de Gomori e tricrômico de Masson para avaliação, respectivamente, do número de vasos sanguíneos e concentrações de colágeno.

O número de vasos sanguíneos foi mensurado por dois avaliadores Médicos

Veterinários, que contavam a quantidade de vasos por campo, sendo que em cada lâmina foram contados cinco campos diferentes. Os valores dos campos foram somados e o valor final correspondeu ao número de vasos da lâmina analisada. Por fim, foi feita uma média dos valores dos dois avaliadores para cada lâmina analisada.

A concentração de colágeno foi mensurada de forma qualitativa por um Patologista Veterinário.

2.3.4 Avaliação do crescimento bacteriano nas feridas

O desenvolvimento bacteriano foi avaliado através de amostras colhidas no dia 7 utilizando swab estéril em cada uma das feridas induzidas nos animais. As feridas foram primeiramente limpas com gaze estéril seca para remover o exsudato visível e a ponta do swab foi aplicada em toda extensão da ferida e, posteriormente, mergulhado em meio de cultura em tubo (Swab Biocon®). Todo material coletado foi encaminhado para análise em laboratório particular (Laboratório Santa Cecília, CNPJ: 22.077.499/0001-78).

No laboratório, para identificação das espécies bacterianas presentes nas amostras, foram utilizados os meios de cultura Tioglicolato, Ágar Sangue de Carneiro Desfibrinado, Ágar Macconkey, Tryptic Soy Broth e Ágar Chocolate Suplementado. Ademais, as provas de Identificação utilizadas foram Gram, Camp-test, Coagulase e Identificação por Espectrometria de Massas.

2.4 Acompanhamento dos animais

2.4.1 Avaliação das funções vitais

Diariamente os animais foram submetidos ao exame físico, onde registrou-se as frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal (T°C), tempo de preenchimento capilar (TPC), coloração das mucosas oral, conjuntival e vaginal, motilidade intestinal e avaliação da ferida experimentalmente induzida.

2.4.2 Avaliação das feridas experimentalmente induzidas

As feridas foram avaliadas quanto à presença de edema, hiperemia, exsudação, tecido de granulação e crostas. A mensuração de área foi feita usando um paquímetro e o registro

fotográfico (usando uma câmera digital, a uma distância de cerca 30 cm para obtenção de um bom foco, conforme descrito por Magalhães *et al.* (2008). Tais avaliações foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21. O grau de contração das feridas foi calculado pela equação proposta por Ramsey *et al.* (1995): Porcentagem de contração = $100 \times (F0 - FA) / F0$, onde F0 representa a área original da ferida e FA representa a área no momento da avaliação.

2.5 Termografia

Imagens termográficas dos animais foram obtidas sempre no mesmo horário, nos dias 7, 14, 21 e 28, começando-se às 09:00 e seguindo a mesma sequência de animais. Elas foram feitas a 1 metro de distância das feridas, com fundo cinza e focaram as extremidades distais dos membros pélvicos, pegando toda a região de metatarso e a garupa nos dois antímeros de cada animal. Para tanto utilizou-se um termógrafo modelo E75240 (FLIR®), com resolução de 320 x 240 pixels, sensibilidade térmica de 0,04 °C e faixa de captura de temperaturas entre -20 °C e 650 °C (FLIR, 2014).

2.6 Formulação do creme

A seiva do *C. lechleri* e a nitroglicerina foram manipulados em laboratório farmacêutico particular (Farmacia de Manipulação e Homeopatia Melissa, CNPJ 25.993.601/0001-73), utilizando as formulações descritas na tabela 1.

Foram produzidas 5 formulações farmacêuticas: Nitroglicerina 0,1mg/ml; Nitroglicerina 1mg/ml; Óleo de *C. lechleri* 1µg/ml; Óleo de *C. lechleri* 10µg/ml e Óleo de *C. lechleri* 10µg/ml + Nitroglicerina 1mg/ml, sendo que todas as formulações foram preparadas na forma farmacêutica de creme, utilizando o creme não iônico.

O produto utilizado para fornecer a nitroglicerina, foi o TRIDIL® nitroglicerina, que contém 5mg/mL (0,5%) de nitroglicerina em sua composição. Para obtenção do produto óleo de *C. lechleri*, foi utilizado o óleo essencial de *C. lechleri* (Sangue de Dragão® - Fytoterápica – CNPJ 72.962.327/0001-55), porém na forma diluída de 1:100 (1 parte do óleo e 99 partes de óleo de girassol). A seguir os cálculos utilizados na produção dos cremes:

1) Creme: Nitroglicerina 0,1mg/ml - Veículo (Creme não iônico) qsp (quantidade suficiente para) 140g.

O produto Tridil contém 5mg de nitroglicerina em cada 1ml (0,5%) - Desta forma foi determinado o Fator de Correção em 200. (100/0,5).

Cálculo: Nitroglicerina 0,1mg/ml: $0,1\text{mg} * 140\text{g} = 0,014\text{g} * Fc$ (fator de correção) 200 = 2,8ml.

Em balança analítica pesou-se 2,8g de Tridil (Densidade 1) e 137,2g de creme não iônico, promoveu-se a mistura geometricamente e, em seguida, a conferência da pesagem (140g). Posteriormente, foi feito o envase em frasco adequado, fechando-o hermeticamente.

2) Creme: Nitroglicerina 1mg/ml - Veículo (creme não iônico) qsp 140g.

Cálculo: Nitroglicerina 1mg/ml: $1\text{mg} * 140\text{g} = 0,14 * Fc$ 200 = 28ml

Em balança analítica pesou-se 28g de Tridil (Densidade 1) e 112g de creme não iônico, promoveu-se a mistura geometricamente e, em seguida, a conferência da pesagem (140g). Posteriormente, foi feito o envase em frasco adequado, fechando-o hermeticamente.

3) Creme: Óleo de *C. lechleri* 1µg/ml – Veículo (creme não iônico) qsp 140g.

Foi feita uma diluição de 1:100 (1 parte de óleo de *C. lechleri* e 99 partes de óleo de girassol) apresentando Fator de Correção 100.

Cálculo: 1µg/mL.....0,00014 * Fc 100 = 0,014g

Em balança analítica pesou-se 0,014g de óleo de *C. lechleri* (Densidade 1) e 139,986g de creme não iônico, promoveu-se a mistura geometricamente e, em seguida, a conferência da pesagem (140g). Posteriormente, foi feito o envase em frasco adequado, fechando-o hermeticamente.

4) Creme: Óleo de *C. lechleri* 10µg/ml – Veículo (creme não iônico) qsp 140g.

Cálculo: 10µg/ml.....0,0014 * Fc 100 = 0,14g

Foi feita uma diluição de 1:100 (1 parte de óleo de *C. lechleri* e 99 partes de óleo de girassol) apresentando Fator de Correção 100.

Em balança analítica pesou-se 0,14g de óleo de *C. lechleri* (Densidade 1) e 139,86g de creme não iônico, promoveu-se a mistura geometricamente e, em seguida, a conferência da pesagem (140g). Posteriormente, promoveu-se o envase em frasco adequado, fechando-o hermeticamente.

5) Creme: Óleo de *C. lechleri* 10µg/ml + Nitroglicerina 1mg/ml – Veículo (creme não iônico) qsp 140g.

Foi feita uma diluição de 1:100 (1 parte de óleo de *C. lechleri* e 99 partes de óleo de girassol) apresentando Fator de Correção 100.

Cálculo: Óleo de *C. lechleri* 10µg/ml.....0,0014 * 100 = 0,14g

Nitroglicerina 1mg * 140g = 0,14 * Fc 200 = 28ml

Em balança analítica pesou-se 28g de Tridil (Densidade 1), 0,14g de Óleo de *C. lechleri* (Densidade 1) e 111,86g de creme não iônico, promoveu-se a mistura geometricamente e, em seguida, a conferência da pesagem (140g). Posteriormente, foi feito o envase em frasco adequado, fechando-o hermeticamente.

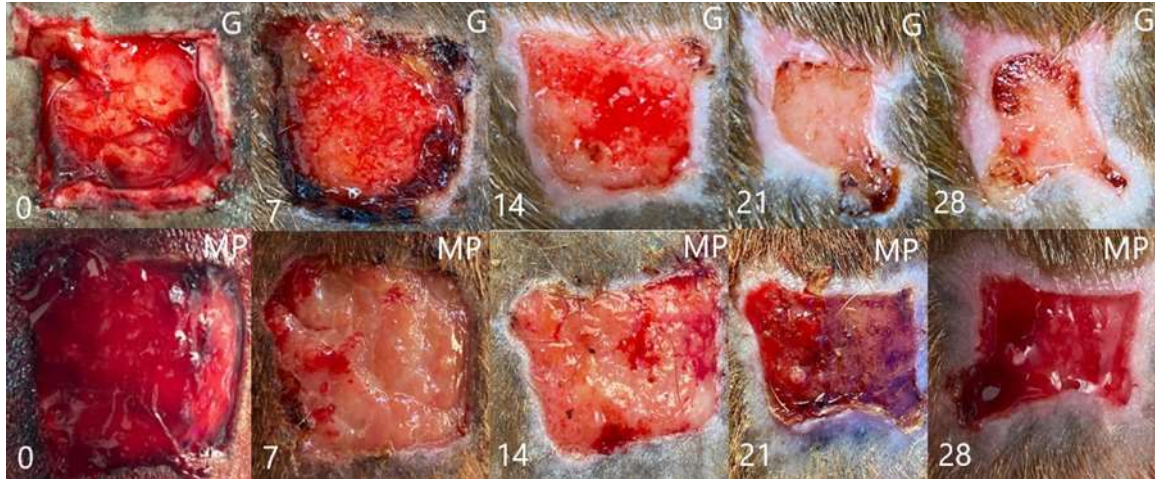
2.7 Análises Estatísticas

Nesse estudo as variáveis quantitativas normais são apresentados como média \pm desvio padrão (DP) e as variáveis quantitativas não normais e qualitativas ordinais como mediana (valor mínimo – valor máximo). Antes das análises estatísticas, as variáveis quantitativas (contração da ferida, termografia e número de vasos) foram testadas quanto à normalidade com o teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias com o teste de Levene. As diferenças entre o tratamento e o local da ferida (garupa e membro pélvico) foram analisadas com ANOVA de duas vias na contração da ferida e termografia. Para testar a associação entre presença/ausência dos agentes *Streptococcus equi*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* e os tratamentos (A, B, C, D, E e F) foi realizado o teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher. Para verificar o efeito do local da ferida nos tratamentos foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Por fim, para verificar o efeito do tempo nos tratamentos, considerando o local da ferida, foi utilizado os testes de Friedman com comparações por pares e Wilcoxon. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. O software IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) foi usado nas análises estatísticas.

3 RESULTADOS

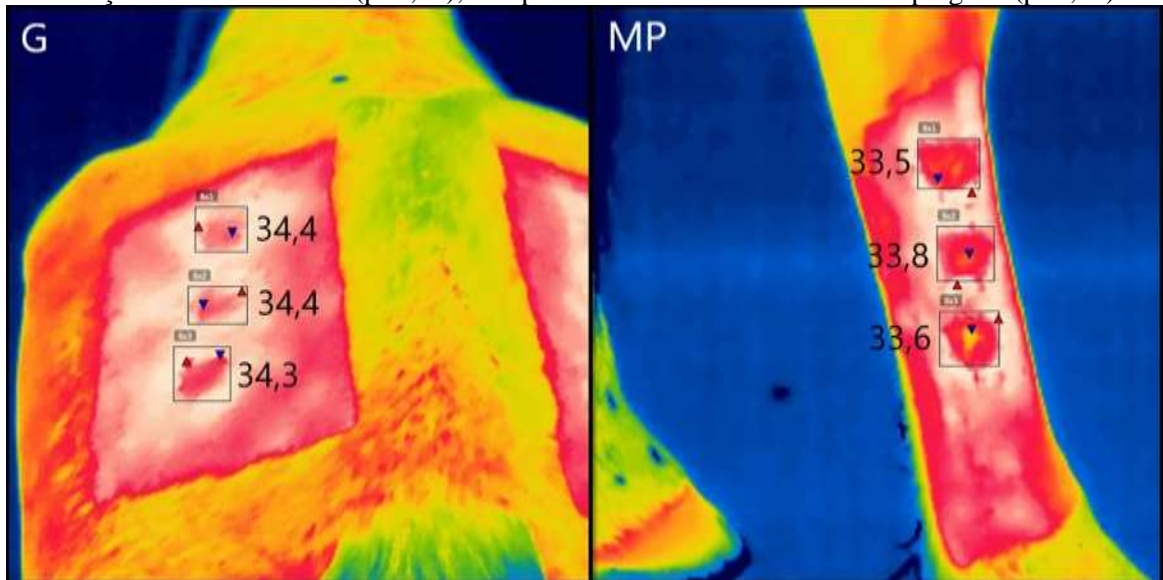
Após os 28 dias de período experimental, foi possível constatar que as feridas localizadas na região da garupa tiveram uma taxa de contração (Figura 1) e uma temperatura (Figura 2) maiores quando comparada com as feridas produzidas na região metatársica dos membros pélvicos ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Figura 1 - Tratamento A. Cicatrização das feridas induzidas nas regiões da garupa (G) e metatársica (MP). É possível observar um reparo tecidual mais eficiente em G ao longo do tempo (dias 0, 7, 14, 21 e 28) com maior contração da ferida ($p < 0,05$), menor formação de tecido de granulação e maior epitelização. Além disso, em MP é possível notar maior formação de tecido de granulação nos dias 7 e 14



Fonte: Do autor

Figura 2 - Áreas correspondentes das temperaturas superficiais mensuradas nas feridas cutâneas da garupa (G) e metatarso (MP). É observado que a temperatura é maior em todas as feridas de G em relação às feridas de MP ($p < 0,05$), independentemente do tratamento empregado ($p > 0,05$)



Fonte: Do autor

Tabela 2 - Efeito dos tratamentos na contração da ferida e termografia segundo o local das feridas, após os 28 dias de período experimental. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml).^a Valores médios ± desvio padrão (DP) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). Valores de p < 0,05 foram considerados significativos

Tratamentos	Local da ferida	
	Garupa	Membro Pélvico
Contração da ferida ^a (%)		
A	74,22 ± 11,48	44,84 ± 23,54
B	71,44 ± 10,98	27,79 ± 16,93
C	70,00 ± 2,02	29,67 ± 7,84
D	79,19 ± 10,54	35,26 ± 19,28
E	75,82 ± 10,54	39,48 ± 19,63
F	73,11 ± 11,86	29,33 ± 21,37
ANOVA de duas vias		
Local	p = 0,000	
Tratamentos	p = 0,403	
Local*Tratamentos	p = 0,816	
Termografia ^a (°C)		
A	34,18 ± 0,56	33,52 ± 0,49
B	34,70 ± 0,36	33,27 ± 0,57
C	34,69 ± 0,69	32,97 ± 1,16
D	34,28 ± 0,36	32,80 ± 0,51
E	34,09 ± 0,60	33,09 ± 0,06
F	34,51 ± 0,39	33,57 ± 0,36
ANOVA de duas vias		
Local	p = 0,000	
Tratamentos	p = 0,193	
Local* Tratamentos	p = 0,207	

Fonte: Do autor

Em relação à identificação bacteriana nas feridas da garupa e região metatársica de membros pélvicos dos diferentes tratamentos, foi possível identificar *Streptococcus equi*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius*, aleatoriamente, em todos os tratamentos e locais, não havendo diferença estatística entre eles. Contudo, não houve crescimento de *S. aureus* nos tratamentos D, E e F, ou seja, àqueles com *Croton lechleri* em sua formulação (Tabela 3).

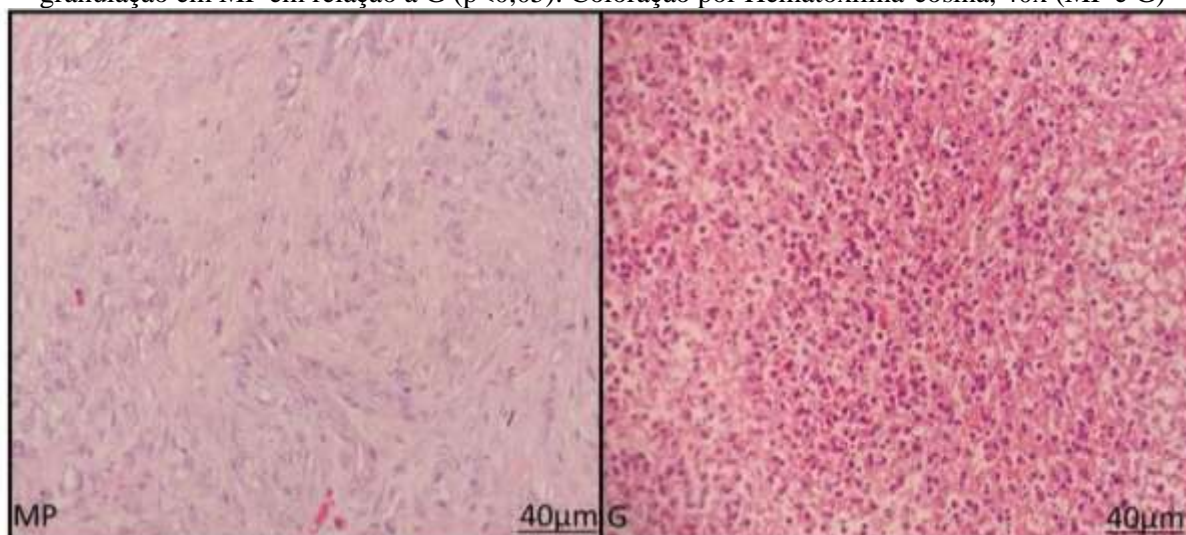
Tabela 3 - Isolamento bacteriano das feridas segundo o local e tratamento aos 7 dias. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). Frequências absolutas são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). ^a Teste de qui-quadrado ou exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos

Grupos	<i>Streptococcus equi</i>		Valor de p ^a	<i>Staphylococcus aureus</i>		Valor de p ^a	<i>Staphylococcus intermedius</i>		Valor de p ^a
	Sim	Não		Sim	Não		Sim	Não	
Garupa									
A	4	2		2	4		0	6	
B	1	5	0,242	4	2	0,567	1	5	1,000
C	1	5	0,242	3	3	1,000	2	4	0,667
D	3	3	1,000	0	6	0,667	3	3	0,400
E	4	2	1,000	0	6	0,667	2	4	0,667
F	3	3	1,000	0	6	0,667	3	3	0,400
Membro Pélvico									
A	3	3		3	3		0	6	
B	3	3	1,000	2	4	1,000	1	5	1,000
C	3	3	1,000	3	3	1,000	0	6	1,000
D	4	2	1,000	0	6	0,400	2	4	0,667
E	5	1	0,545	0	6	0,400	1	5	1,000
F	3	3	1,000	0	6	0,400	3	3	0,400

Fonte: Do autor

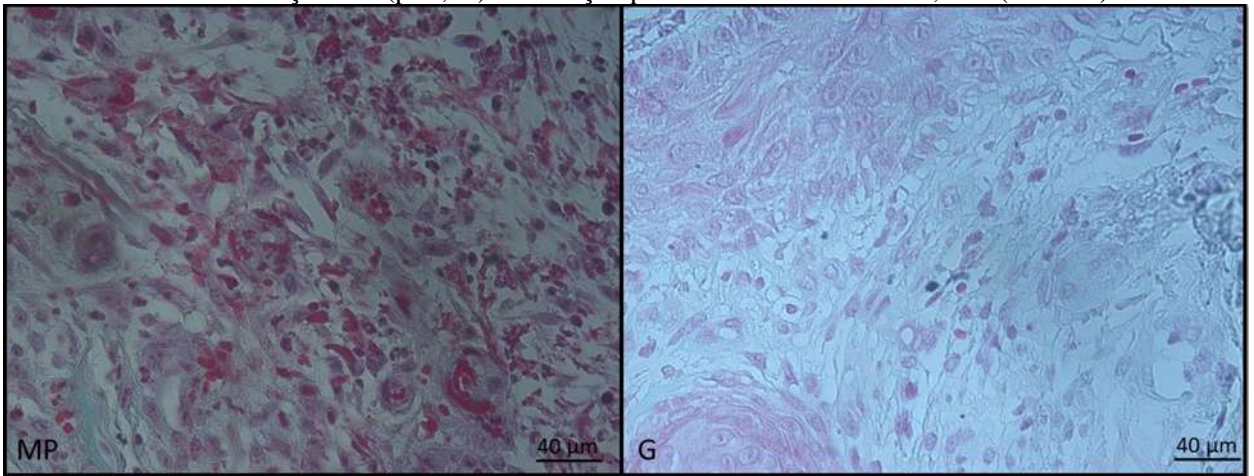
Quando comparado o processo de cicatrização das feridas do grupo controle da garupa e da região metatársica nota-se menos desenvolvimento de tecido de granulação (Figura 3) e vasos sanguíneos na garupa (Figura 4), além de haver maior proliferação de colágeno (Figura 5) nessa região ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Figura 3 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 dias após indução das feridas nas regiões metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de tecido de granulação em MP em relação a G ($p < 0,05$). Coloração por Hematoxilina-eosina, 40x (MP e G)



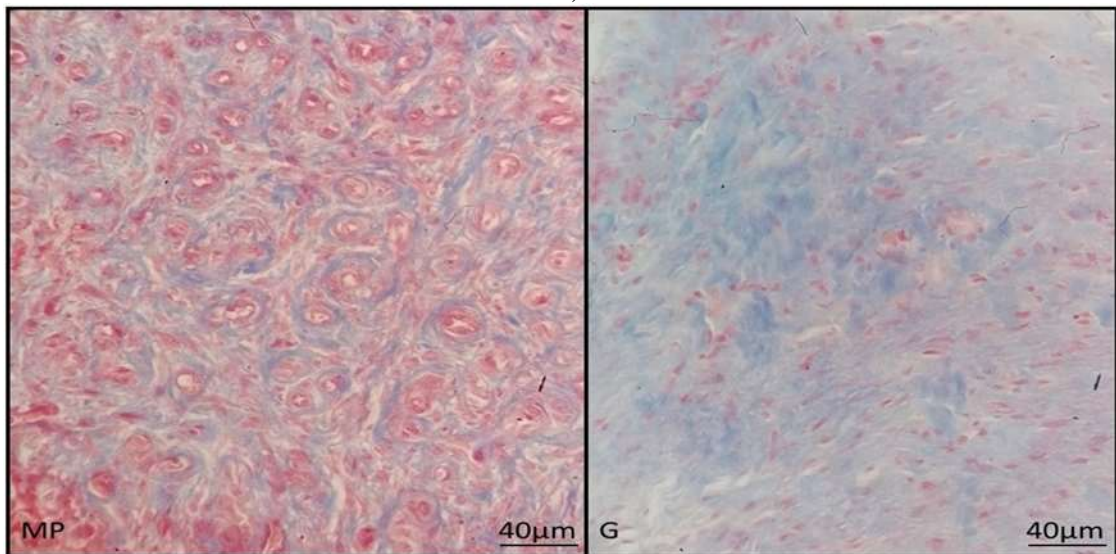
Fonte: Do autor

Figura 4 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 dias após indução das feridas nas regiões da metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos em MP em relação a G ($p < 0,05$). Coloração por tricrômico de Gomori, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

Figura 5 - Tratamento A. Reparação tecidual cutânea de equinos aos 21 dias após indução das feridas nas regiões da metatársica (MP) e garupa (G). É possível notar concentração maior de colágeno (coloração azulada) em G em relação a MP ($p < 0,05$). Coloração por tricrômico de Masson, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

Tabela 4 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, colágeno e contagem de vasos segundo o local das feridas. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). ^a Teste de Mann-Whitney. Valores de p < 0,05 (*) foram considerados significativos

(Continua)

		Tratamentos					
		A	B	C	D	E	F
Inflamação							
T1	Garupa	2 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	1 (0 - 2)	2 (1 - 2)	0,5 (0 - 1)
	Membro Pélvico	3 (2 - 4)	3 (1 - 4)	3 (0 - 4)	2,5 (2 - 3)	3 (2 - 3)	3 (1 - 4)
	Valor de p ^a	0,127	0,092	0,094	0,006*	0,014*	0,006*
T2	Garupa	0 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	1 (1 - 2)	0,5 (0 - 2)	1 (0 - 1)	1 (0 - 2)
	Membro Pélvico	1,5 (0 - 3)	2,5 (1 - 3)	1,5 (0 - 4)	1 (0 - 4)	1 (0 - 3)	2 (1 - 4)
	Valor de p ^a	0,275	0,177	0,420	0,397	0,338	0,133
T3	Garupa	1 (0 - 1)	1 (0 - 4)	1,5 (0 - 4)	0 (0 - 2)	0 (0 - 3)	0,5 (0 - 2)
	Membro Pélvico	1 (1 - 3)	1,5 (0 - 3)	1 (1 - 3)	0 (0 - 1)	0,5 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)
	Valor de p ^a	0,092	0,805	0,867	0,461	0,591	0,930
Tecido de Granulação							
T1	Garupa	-	-	-	-	-	-
	Membro Pélvico	-	-	-	-	-	-
	Valor de p ^a	-	-	-	-	-	-
T2	Garupa	1,5 (0 - 3)	2 (1 - 3)	2,5 (1 - 3)	1 (1 - 2)	1 (0 - 2)	2 (0 - 4)
	Membro Pélvico	2,5 (1 - 3)	3,5 (1 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 3)	3 (1 - 4)	2 (1 - 3)
	Valor de p ^a	0,356	0,131	0,101	0,062	0,066	0,737
T3	Garupa	0 (0 - 4)	2 (1 - 3)	2,5 (1 - 4)	1 (1 - 2)	2 (0 - 2)	0,5 (0 - 3)
	Membro Pélvico	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 3)	2,5 (1 - 3)	2,5 3 (1 - 4)
	Valor de p ^a	0,032*	0,127	0,302	0,067	0,179	0,117

Fonte: Do autor

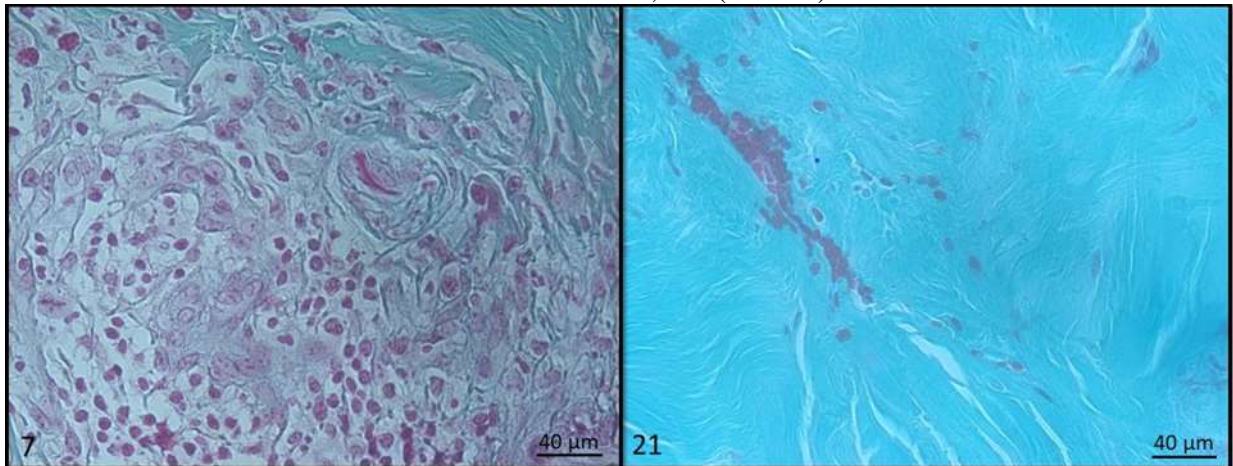
Tabela 4 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, colágeno e contagem de vasos segundo o local das feridas. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). ^a Teste de Mann-Whitney. Valores de p < 0,05 (*) foram considerados significativos

		(Conclusão)					
		Tratamentos					
		A	B	C	D	E	F
Cólageno							
T1	Garupa	-	-	-	-	-	-
	Membro Pélvico	-	-	-	-	-	-
	Valor de p ^a	-	-	-	-	-	-
T2	Garupa	3 (0 - 4)	2 (0 - 3)	2 (0 - 3)	3,5 (2 - 4)	2,5 (2 - 4)	0,5 (0 - 4)
	Membro Pélvico	1,5 (1 - 3)	1,5 (0 - 3)	1 (0 - 3)	2,5 (0 - 4)	2,5 (1 - 3)	1,5 (0 - 4)
	Valor de p ^a	0,140	0,799	0,407	0,357	0,445	0,801
T3	Garupa	4 (0 - 4)	3 (1 - 3)	1,5 (0 - 4)	4 (3 - 4)	4 (4 - 4)	4 (2 - 4)
	Membro Pélvico	2 (0 - 3)	1 (1 - 2)	1,5 (0 - 3)	2 (2 - 4)	2,5 (2 - 4)	1,5 (0 - 4)
	Valor de p ^a	0,046*	0,014*	0,934	0,027*	0,007*	0,045*
Contagem de vasos							
T1	Garupa	51,05 (15,3 – 132,2)	27,55 (7,6 – 44,6)	30,55 (29,8 – 34,7)	23,3 (12 – 44,7)	25,35 (12,5 – 55,2)	29,05 (15,5 – 68,7)
	Membro Pélvico	33 (14,6 - 47)	37,5 (27 – 74,4)	44,65 (25,8 – 66,3)	35,4 (20,3 – 40,6)	29,75 (26,6 - 63)	36,5 (25,3 - 63)
	Valor de p ^a	0,200	0,149	0,055	0,200	0,200	0,262
T2	Garupa	21,7 (10,3 – 27,9)	20,1 (17,4 - 30)	20,35 (18,5 - 32)	16,55 (12 – 18,1)	12,6 (8,8 – 17,8)	18,9 (14,3 - 29)
	Membro Pélvico	28,85 (12,8 – 45,5)	31,3 (22,9 – 46,8)	31,5 (22,7 – 58,6)	26,95 (16 – 36,8)	24,25 (22,3 – 29,1)	40,85 (16,3 - 63,3)
	Valor de p ^a	0,150	0,016*	0,025*	0,055	0,054	0,055
T3	Garupa	10,6 (6,5 – 21,2)	11,2 (6,5 – 36,8)	11,4 (6 – 46,3)	10,2 (5,4 – 13,4)	12,95 (7,7 – 20,6)	12,55 (11,3 – 19,5)
	Membro Pélvico	30,5 (10 – 50,6)	24,9 (11,5 - 42)	20,4 (14,8 – 31,1)	17,35 (8,4 – 19,7)	15,85 (10,8 – 19,8)	28,05 (11,3 – 38,7)
	Valor de p ^a	0,025*	0,109	0,078	0,057	0,150	0,053

Fonte: Do autor

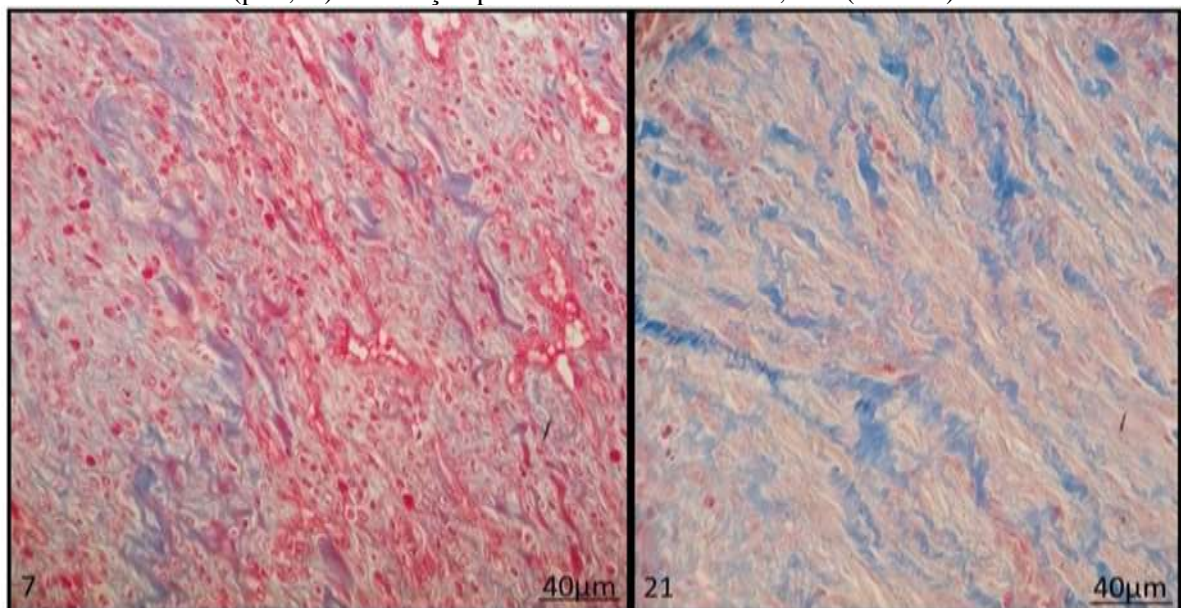
Através da análise do processo cicatricial com o passar do tempo, foi constatado que nas feridas induzidas na garupa tratadas com *C. lechleri* houve redução da angiogênese (Figura 6) e aumento da quantidade de colágeno (Figura 7) nas feridas ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Figura 6 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da garupa tratadas com *C. lechleri* na concentração de $1\mu\text{g/ml}$ (tratamento D). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricrômico de Gomori, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

Figura 7 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da garupa tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de $1\mu\text{g/ml}$ (tratamento D) e $10\mu\text{g/ml}$ (tratamento E). É possível notar concentração maior de colágeno (coloração azulada) aos 21 dias em relação aos 7 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricrômico de Masson, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

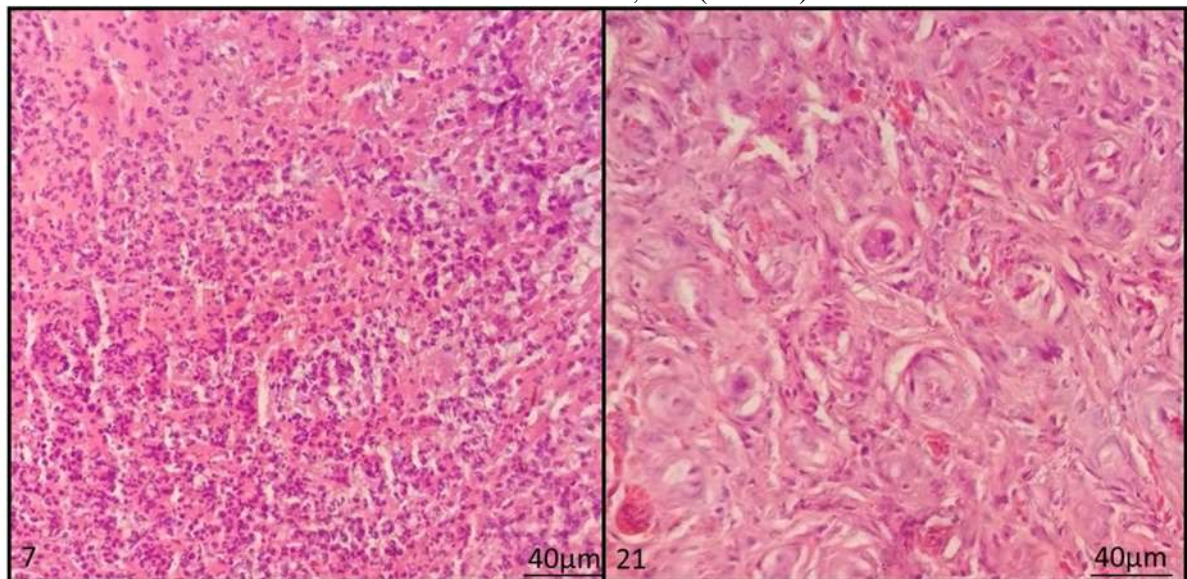
Tabela 5 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, contagem de vasos e colágeno nas feridas na garupa ao longo do tempo. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). ^a Teste de Friedman. ^b Teste de Wilcoxon. Valores dentro da mesma coluna com sobrescritos diferentes (a, b) indicam diferenças significativas * (p < 0,05)

	Tratamentos					
	A	B	C	D	E	F
Inflamação						
T1	2 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	1 (0 - 2)	2 (1 - 2)	0,5 (0 - 1)
T2	0 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)	1 (1 - 2)	0,5 (0 - 2)	1 (0 - 1)	1 (0 - 2)
T3	1 (0 - 1)	1 (0 - 4)	1,5 (0 - 4)	0 (0 - 2)	0 (0 - 3)	0,5 (0 - 2)
Valor de p ^a	0,727	0,513	0,494	0,247	0,115	0,692
Tecido de Granulação						
T1	-	-	-	-	-	-
T2	1,5 (0 - 3)	2 (1 - 3)	2,5 (1 - 3)	1 (1 - 2)	1 (0 - 2)	2 (0 - 4)
T3	0 (0 - 4)	2 (1 - 3)	2,5 (1 - 4)	1 (1 - 2)	2 (0 - 2)	0,5 (0 - 3)
Valor de p ^b	0,285	0,564	1,000	0,317	0,705	0,340
Colágeno						
T1	1 ^a (0 - 2,5)	1,65 ^a (1 - 2)	1,65 (0 - 3)	0,5 ^a (0 - 2)	0,75 ^a (0 - 2)	0,65 ^a (0 - 2)
T2	2,75 ^{ab} (0 - 3,5)	3 ^b (3 - 4)	2,75 (2 - 3)	2,75 ^{ab} (2 - 3,5)	2,6 ^{ab} (2 - 3)	3 ^{ab} (2 - 3,5)
T3	3,5 ^b (2,5 - 4)	2,75 ^{ab} (2 - 3)	3 (1 - 3)	4 ^b (2,5 - 4)	3,5 ^b (2,5 - 4)	3 ^b (2 - 4)
Valor de p ^a	0,030*	0,006*	0,056	0,004*	0,003*	0,019*
Contagem de vasos						
T1	51,05 ^a (15,3 - 132,2)	27,55 (7,6 - 44,6)	30,55 (29,8 - 34,7)	23,3 ^a (12 - 44,7)	25,35 (12,5 - 55,2)	29,05 (15,5 - 68,7)
T2	21,7 ^{ab} (10,3 - 27,9)	20,1 (17,4 - 30)	20,35 (18,5 - 32)	16,55 ^{ab} (12 - 18,1)	12,6 (8,8 - 17,8)	18,9 (14,3 - 29)
T3	10,6 ^b (6,5 - 21,2)	11,2 (6,5 - 36,8)	11,4 (6 - 46,3)	10,2 ^b (5,4 - 13,4)	12,95 (7,7 - 20,6)	12,55 (11,3 - 19,5)
Valor de p ^a	0,016*	0,513	0,069	0,009*	0,311	0,115

Fonte: Do autor

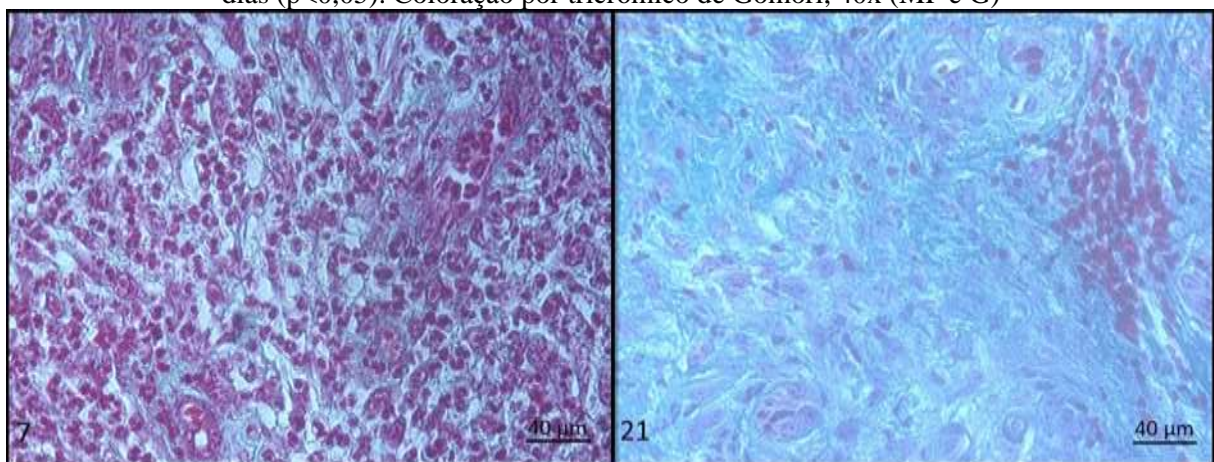
Já nas feridas localizadas na região metatársica, observou-se que com o passar do tempo houve redução do processo inflamatório (Figura 8) e número de vasos (Figura 9), e elevação da concentração de colágeno (Figura 10) em feridas tratadas com *C. lechleri*. Além disso, feridas tratadas com nitroglicerina em doses altas na região metatársica desenvolveram quantidades menores de vasos sanguíneos (Figura 11) com o passar do tempo ($p < 0,05$) (Tabela 6).

Figura 8 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região metatársica tratadas com *C. lechleri* na concentração de $1\mu\text{g/ml}$ (tratamento D). É possível notar maior concentração de células inflamatórias aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por Hematoxilina-eosina, 40x (MP e G)



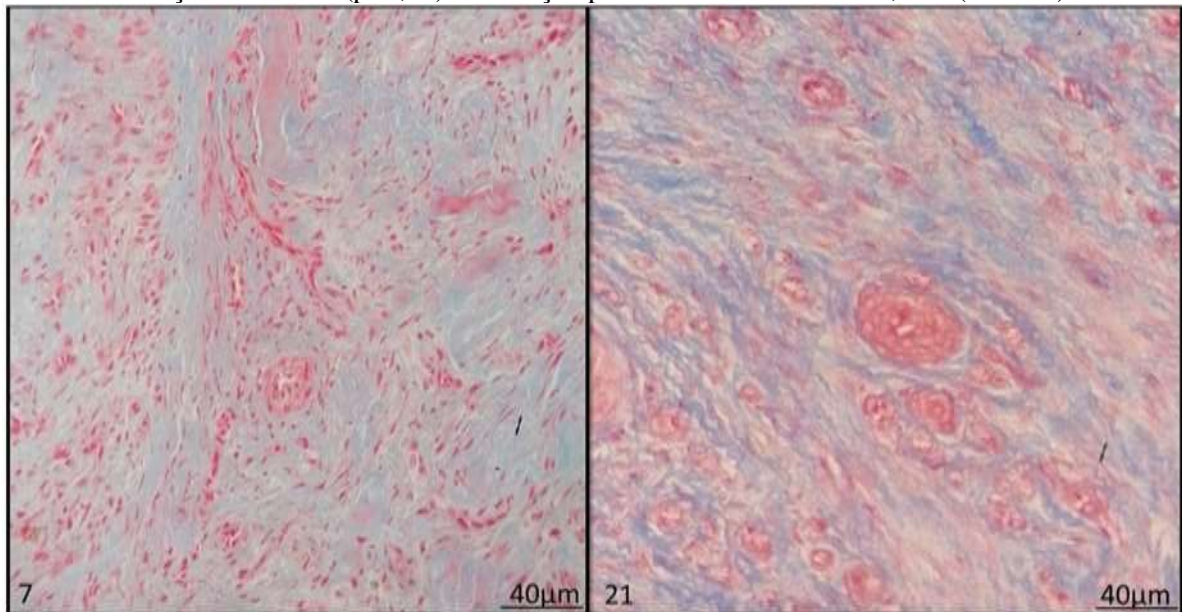
Fonte: Do autor

Figura 9 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região metatársica tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de $1\mu\text{g/ml}$ (tratamento D) e $10\mu\text{g/ml}$ (tratamento E). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p < 0,05$). Coloração por tricrômico de Gomori, 40x (MP e G)



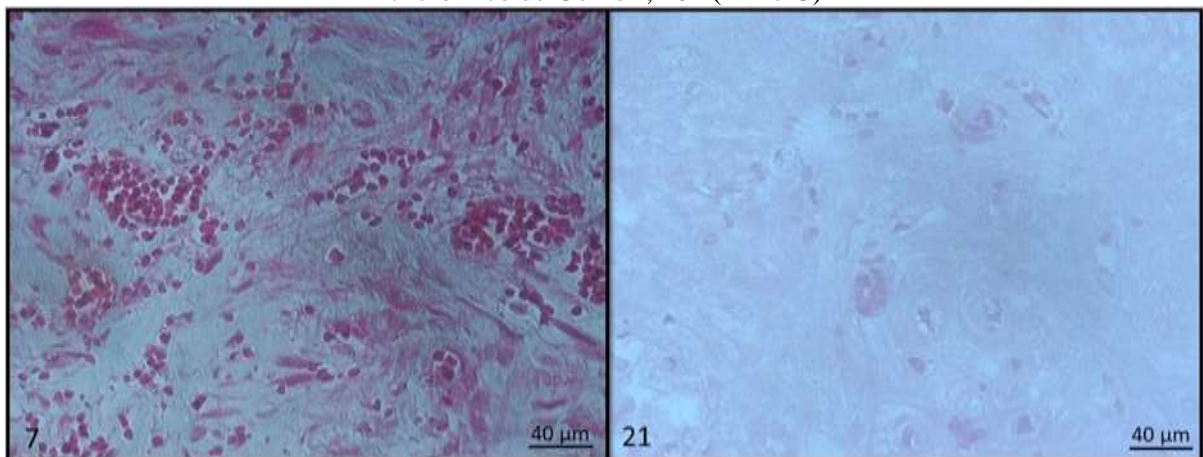
Fonte: Do autor

Figura 10 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região metatársica tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 1µg/ml (tratamento D) e 10µg/ml (tratamento E). É possível notar concentração maior de colágeno (coloração azulada) aos 21 dias em relação aos 7 dias ($p<0,05$). Coloração por tricrômico de Masson, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

Figura 11 - Reparação tecidual cutânea de equinos aos 7 e 21 dias após indução das feridas na região da metatársica tratadas com nitroglicerina na concentração de 1mg/ml (tratamento C). É possível notar concentração maior de vasos sanguíneos aos 7 dias em relação aos 21 dias ($p<0,05$). Coloração por tricrômico de Gomori, 40x (MP e G)



Fonte: Do autor

Tabela 6 - Efeito dos tratamentos na inflamação, tecido de granulação, tecido conjuntivo fibroso, contagem de vasos e colágeno nas feridas no membro pélvico ao longo do tempo. Os grupos foram divididos em A (tratamento com solução fisiológica), B (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 0,1mg/ml), C (tratamento com creme a base de Nitroglicerina 1mg/ml), D (tratamento com creme a base de 1 µg/ml de *Croton lechleri*), E (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri*), F (tratamento com creme a base de 10 µg/ml de *Croton lechleri* + Nitroglicerina 1mg/ml). As amostras foram coletadas com 7 (T1), 14 (T2) e 21 (T3) dias de cicatrização das feridas. Valores medianos (mín. – máx.) são apresentados para cada grupo experimental (n = 6). ^a Teste de Friedman. ^b Teste de Wilcoxon. Valores dentro da mesma coluna com sobrescritos diferentes (a, b) indicam diferenças significativas * (p < 0,05)

	Tratamentos					
	A	B	C	D	E	F
Inflamação						
T1	3 (2 - 4)	3 (1 - 4)	3 (0 - 4)	2,5 ^a (2 - 3)	3 (2 - 3)	3 (1 - 4)
T2	1,5 (0 - 3)	2,5 (1 - 3)	1,5 (0 - 4)	1 ^{ab} (0 - 4)	1 (0 - 3)	2 (1 - 4)
T3	1 (1 - 3)	1,5 (0 - 3)	1 (1 - 3)	0 ^b (0 - 1)	0,5 (0 - 3)	0,5 (0 - 3)
Valor de p ^a	0,055	0,287	0,705	0,042*	0,086	0,097
Tecido de Granulação						
T1	-	-	-	-	-	-
T2	2,5 (1 - 3)	3,5 (1 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 3)	3 (1 - 4)	2 (1 - 3)
T3	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 4)	3 (2 - 3)	2,5 (1 - 3)	2,5 3 (1 - 4)
Valor de p ^b	0,034*	1,000	0,655	0,564	0,180	0,257
Colágeno						
T1	1 (1 - 2)	1,75 ^a (0 - 2)	1 ^a (0 - 2)	0,5 ^a (0 - 2,5)	0,5 ^a (0 - 1)	1 ^a (0 - 1)
T2	2,5 (1 - 3)	3 ^a (2 - 3)	2,5 ^b (2 - 3)	2,25 ^{ab} (2 - 3)	2 ^{ab} (1 - 3)	2,5 ^{ab} (2 - 2,5)
T3	2,75 (2 - 3)	2,3 ^a (1 - 3,5)	2,25 ^{ab} (1 - 2,5)	3,1 ^b (2,5 - 3,5)	3 ^b (2,5 - 3,5)	2,75 ^b (0 - 3,5)
Valor de p ^a	0,054	0,034*	0,013*	0,009*	0,003*	0,016*
Contagem de vasos						
T1	33 (14,6 - 47)	37,5 (27 - 74,4)	44,65 ^a (25,8 - 66,3)	35,4 ^a (20,3 - 40,6)	29,75 ^a (26,6 - 63)	36,5 (25,3 - 63)
T2	28,85 (12,8 - 45,5)	31,3 (22,9 - 46,8)	31,5 ^{ab} (22,7 - 58,6)	26,95 ^{ab} (16 - 36,8)	24,25 ^{ab} (22,3 - 29,1)	40,85 (16,3 - 63,3)
T3	30,5 (10 - 50,6)	24,9 (11,5 - 42)	20,4 ^b (14,8 - 31,1)	17,35 ^b (8,4 - 19,7)	15,85 ^b (10,8 - 19,8)	28,05 (11,3 - 38,7)
Valor de p ^a	0,135	0,183	0,006*	0,016*	0,002*	0,135

Fonte: Do autor

4 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciaram que as feridas cutâneas na região da garupa de equinos cicatrizam de forma mais eficiente em relação às feridas da região metatársica. Ao final de 28 dias de experimento as feridas da garupa tratadas com solução fisiológica (grupo controle) apresentaram taxa de contração e proliferação de colágeno maior, além de apresentarem menor fibroplasia e angiogênese, quando comparada com as feridas do grupo controle da região metatársica. Os achados são semelhantes aos observados na literatura, onde se observa que nas partes distais dos membros dos equinos as feridas apresentam taxa de contração e epitelização mais lenta em comparação com as feridas do tronco (JACOBS *et al.*, 1984; BIGBIE *et al.*, 1991), devido, em parte, à maior fibroplasia no local, caracterizada muitas vezes pelo desenvolvimento de tecido de granulação exuberante (TGE) que retarda a neopitelização (THEORET; WILMINK, 2013). Apesar de ainda não estar completamente elucidado como o tecido de granulação, que é formado durante a cicatrização fisiológica de feridas, torna-se exuberante, estudos sugerem que a resposta inflamatória desempenha um papel importante. O atraso ou falha na cicatrização é multifatorial e provavelmente relacionado à quebra do complexo equilíbrio dos fatores de crescimento e mediadores inflamatórios (THEORET; WILMINK, 2016). O retrocesso na reepitelização das feridas dos membros, principalmente quando há TGE, pode estar associado ao retardo na migração de células epiteliais quando existe esse tecido (LEPAULT *et al.*, 2005). A contração e reepitelização da ferida são fundamentais para a reparação tecidual. A contração ocorre de forma deficiente nos membros, pois a migração epitelial é reduzida nessa localização anatômica (WILMINK *et al.*, 1999).

As avaliações termográficas indicaram que feridas cutâneas feitas na região da garupa apresentam temperatura maior do que as feridas cutâneas na região metatársica, indicando maior fluxo sanguíneo na garupa. A neovascularização é necessária para restabelecer a organização de vasos sanguíneos e dar suporte à reparação tecidual. Um fator importante é o menor fluxo sanguíneo em feridas de membros, identificado por exame Doppler Flow Meter, e por menores concentrações de glicose e maiores concentrações de lactato, que são indicadores de diminuição da perfusão (SØRENSEN *et al.*, 2014). Estudo comparativo identificou menor saturação de oxigênio em feridas de membros em relação a feridas no restante do corpo, além de menor temperatura da ferida cutânea em feridas de membros com TGE em comparação com feridas do corpo (CELESTE *et al.*, 2011). Sendo assim, os aspectos supracitados ajudam a justificar a cicatrização mais ordenada e eficiente encontrada nas feridas cutâneas da garupa

dos equinos do presente estudo, quando comparadas com as feridas de região metatársica.

A aplicação de bandagem no tratamento de feridas em regiões distais dos membros pode levar ao desenvolvimento de TGE devido à baixa tensão de oxigênio ambiental (BERRY; SULLINS, 2003; DART *et al.*, 2009), que estimula a neovascularização e crescimento de tecido de granulação (KNIGHTON; SILVER; HUNT, 1981). O desenvolvimento de TGE aliado à hiperplasia de células endoteliais pode levar a uma oclusão da microvascularização (KISCHER, 1992) e a hipóxia resultante poderia estimular a produção excessiva de colágeno por fibroblastos e miofibroblastos (KISCHER; SHETLAR, 1979). Sendo assim, há redução da apoptose dos fibroblastos (ZHANG; PHAN, 1999) e aumento da fibroplasia (LEPAULT *et al.*, 2005). Nesse contexto, uma melhora da circulação sanguínea no ambiente da ferida pode auxiliar nas condições de cicatrização. Pensando nisso, na presente pesquisa foi aplicada topicamente nitroglicerina em algumas feridas e aquelas que receberam doses de 1mg/ml localizadas na pele da região do metatarso desenvolveram menor quantidade de vasos sanguíneos. A nitroglicerina é um potente vasodilatador que atua por meio da ação do óxido nítrico, onde ele relaxa a musculatura vascular induzida pela acetilcolina, mantendo a perfusão sanguínea vital para os tecidos (FURCHGOTT, 1999). Assim, em feridas tratadas com nitroglicerina a perfusão sanguínea pode ter aumentado, assim como relatado no uso tópico em ratos (HENDEL; LILIEN; BUNCKE, 1983; ROHRICH; CHERRY; SPIRA, 1984) e suínos (ROHRICH; CHERRY; SPIRA, 1984), justificando o menor desenvolvimento de vasos sanguíneos. A elevação do aporte sanguíneo melhora as condições de reparação tecidual uma vez que as células recebem oxigenação e nutrição mais adequadas.

O tratamento inadequado de feridas corresponde a uma das principais causas de recuperação cara e prolongada, levando à morte ou eutanásia em alguns casos em pacientes equinos (SPARKS *et al.*, 2021). Diversos tratamentos foram investigados para inibir ou tratar o TGE, mas nenhum se mostrou totalmente eficaz (BERRY; SULLINS, 2003; DUCHARME-DESJARLAIS *et al.*, 2005; DART *et al.*, 2009; MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009). O emprego tópico de *Croton lechleri* mostrou-se benéfico em auxiliar na cicatrização, pois em feridas tratadas com a planta houve aumento da concentração de colágeno e redução da angiogênese, característica da fibroplasia excessiva, em garupa. Além disso, na região do metatarso, feridas tratadas com CL também tiveram maior concentração de colágeno e menor angiogênese e, ainda, apresentaram uma resposta inflamatória menor. O CL possui em sua composição a Taspina, um alcaloide bioativo (AMARAL; BARNES, 1997), isolado da casca e látex da planta (CAI; CHEN; PHILLIPSON, 1993), que estimula a migração de fibroblastos nas feridas (PIETERS *et al.*, 1993; PORRAS-REYES *et al.*, 1993), fator que pode estar

relacionado à maior produção de colágeno e que pode acelerar a contração da ferida se ela ocorrer de forma ordenada em um processo cicatricial sem inflamação prolongada. Em um modelo animal de poliartrite, a atividade anti-inflamatória da taspina foi comparada à da indometacina e três a quatro vezes maior que a da fenilbutazona, constatando-se que o alcaloide diminui significativamente o edema (PERSINOS PERDUE *et al.*, 1979).

Os membros dos equinos são contaminados e propensos a desenvolver TGE, e um dos principais fatores relacionados a sua formação é a contaminação das feridas (THEORET; WILMINK, 2013). Sabe-se que quanto maior a contaminação bacteriana mais elevado será o processo inflamatório. A cicatrização das feridas é um processo complexo com fases sobrepostas de coagulação, inflamação, proliferação, contração e remodelamento. O prolongamento da fase inflamatória retarda a cicatrização e estimula uma proliferação desordenada de tecido de granulação por meio da ação de diversos mediadores inflamatórios (LEPAULT *et al.*, 2005). Atribui-se ao CL propriedades antibacterianas (MILLER *et al.*, 2000) e no presente estudo feridas tratadas com formulações a base da seiva dessa planta não apresentaram desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, indicando potencial de auxílio na reparação tecidual. Bactérias do gênero *Staphylococcus* são encontradas na pele de equinos e, frequentemente, causam infecções cutâneas (SANTOS *et al.*, 2008).

As lesões foram feitas cirurgicamente em condições experimentais e, deste modo, pode não ter representatividade em feridas na prática clínica, principalmente em relação aos níveis de lesão tecidual. Porém, estudos semelhantes são usados frequentemente na avaliação de protocolos terapêuticos de feridas em equinos (STEEL *et al.*, 1999; GOODRICH *et al.*, 2000; DART *et al.*, 2002; BERRY; SULLINS, 2003; DUCHARME-DESJARLAIS *et al.*, 2005; DART *et al.*, 2009; OLIVEIRA Jr. *et al.*, 2012; KELLEHER *et al.*, 2015; EDWARDS-MILEWSKI *et al.*, 2016; HARMON *et al.*, 2017) e o presente estudo mostra um potencial terapêutico do CL e da nitroglicerina como auxiliares na reparação tecidual cutânea em equinos.

5 CONCLUSÃO

Devido à diversidade de estudos sobre os mecanismos envolvidos na cicatrização cutânea dos equinos e na formação do tecido de granulação exuberante, existem evidências consistentes de que a evolução do processo inflamatório exerce um papel importante no surgimento do TGE. Contudo, como a reparação tecidual é um processo multifatorial e complexo, o mecanismo preciso que desencadeia a formação do TGE ainda não está elucidado. Características específicas da pele nas regiões distais dos membros como rede disfuncional de

vasos sanguíneos, inflamação crônica, fibroplasia excessiva e fechamento tardio, os tornam mais propensos a desenvolverem TGE. No presente estudo foi constatado que feridas na região cutânea da garupa desenvolvem menos tecido de granulação e vasos sanguíneos, e mais colágeno do que feridas cutâneas na região do metatarso. Além disso, o *Croton lechleri* mostrou ter um potencial para auxiliar na cicatrização das feridas pois ele reduziu a resposta inflamatória, aumentou a produção de colágeno e inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* em lesões tratadas com sua seiva. A nitroglicerina reduziu a formação de novos vasos em feridas tratadas com ela, indicando um possível efeito vasodilatador que seria benéfico para a cicatrização das feridas. Por fim, o tratamento realizado com a associação de CL e nitroglicerina apresentou apenas aumento das concentrações de colágeno, provavelmente devido à presença do CL, uma vez que a nitroglicerina não exibiu esse efeito quando utilizada de forma isolada.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. C. F.; BARNES, R. A. Alkaloids of *Croton celtidifolius*. *Planta Médica. Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 141, p. 399–436, 1997.

BERRY, D. B.; SULLINS, K. E. Effects of topical application of antimicrobials and bandaging on healing and granulation tissue formation in wounds of the distal aspect of the limbs in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 64, n. 1, p. 88-92, 2003.

BIGBIE, R. B. *et al.* Effects of amnion and live yeast cell derivative on second-intention healing in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 52, n. 8, p. 1376-1382, 1991.

BRASIL. **Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.** Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República.

BRASIL. **Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.** Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República.

CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J. D. Diterpenes from *C. lechleri*. *Phytochemistry*, v. 34, n. 1, p. 755-760, 1993.

CELESTE, C. J. *et al.* Regional differences in wound oxygenation during normal healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder. *Wound Repair and Regeneration*, v. 19, n. 1, p. 89-97, 2011.

DART, A. J. *et al.* Effect of bandaging on second intention healing of wounds of the distal

limb in horses. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, n. 6, p. 215-218, 2009.

DART, A. J. *et al.* Effects of 25% propylene glycol hydrogel (Solugel) on second intention wound healing in horses. **Veterinary Surgery**, v. 31, n. 4, p. 309-313, 2002.

DUCHARME-DESJARLAIS, M. *et al.* Effect of a silicone-containing dressing on exuberant granulation tissue formation and wound repair in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 7, p. 1133-1139, 2005.

EADES, S. C.; STOKES, A. M.; MOORE, R. M. Effects of an endothelin receptor antagonist and nitroglycerin on digital vascular function in horses during the prodromal stages of carbohydrate overload-induced laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 7, p. 1204-1211, 2006.

EDWARDS-MILEWSKI, M. L. *et al.* The effect of intravenous regional perfusion of the distal limb with amikacin sulfate on wounds healing by second intention in horses. **Veterinary Surgery**, v. 45, n. 1, p. 125-132, 2016.

ENGELEN, M. *et al.* Effects of ketanserin on hypergranulation tissue formation, infection, and healing of equine lower limb wounds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 45, p. 144-149, 2004.

FLIR. **User's manual FLIR T4XX series**. Wilsonville: FLIR Systems, 2014.

FURCHGOTT, R. F. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. **Bioscience Reports**, v. 19, n. 4, p. 235-251, 1999.

GOODRICH, L. R. *et al.* Comparison of equine amnion and a nonadherent wound dressing material for bandaging pinch-grafted wounds in ponies. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 3, p. 326-329, 2000.

HARMON, C. C. G. *et al.* Effects of topical application of silver sulfadiazine cream, triple antimicrobial ointment, or hyperosmolar nanoemulsion on wound healing, bacterial load, and exuberant granulation tissue formation in bandaged full-thickness equine skin wounds. **American Journal of Veterinary Research**, v. 78, n. 5, p. 638-646, 2017.

HENDEL, P. M.; LILIEN, D. L.; BUNCKE, H. J. A study of the pharmacologic of blood flow to acute skin flaps using xênon washout. Part I. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 71, n. 3, p.387-398, 1983.

JACOBS, K. A. *et al.* Comparative aspects of the healing of excisional wounds on the leg and body of horses. **Veterinary Surgery**, v. 13, n. 2, p. 83-90, 1984.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, n. 6, p. 877-896, 2003.

KELLEHER, M. E. *et al.* A preliminary study of silver sodium zirconium phosphate polyurethane foam wound dressing on wounds of the distal aspect of the forelimb in horses:

wound healing in horses. **Veterinary Surgery**, v. 44, n. 3, p. 359-365, 2015.

KISCHER, C. W. The microvessels in hypertrophic scars, keloids and related lesions: a review. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 24, n. 2, p. 281-96, 1992.

KISCHER, C. W.; SHETLAR, M. R. Microvasculature in hypertrophic scars and the effects of pressure. **The Journal of Trauma**, v. 19, n. 7, p. 57-64, 1979.

KNIGHTON, D. R.; SILVER, I. A.; HUNT, T. K. Regulation of woundhealing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v. 90, n. 2, p. 262-270, 1981.

LEPAULT, E. *et al.* Comparative study on microvascular occlusion and apoptosis in body and limb wounds in the horse. **Wound Repair Regeneration**, v. 13, n. 5, p. 520–529, 2005.

LOPES, T. V. **Avaliação da ação cicatricial da seiva do *Croton lechleri***. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

MAGALHÃES, M. S. F. *et al.* Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 262-269, 2008.

MARTINS, P. S. *et al.* Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em equinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2003.

MILLER, M. J. S. *et al.* Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangue de drago. **American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 279, n. 1, p. 192-200, 2000.

MONTEIRO, S. O.; LEPAGE, O. M.; THEORET, C. L. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 2, p. 277-282, 2009.

OLIVEIRA Jr., L. A. T. *et al.* Effects of topical application of sunflower-seed oil on experimentally induced wounds in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 139-145, 2012.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA. **Declaração Universal dos Direitos dos Animais**. Bruxelas: UNESCO, 1978. Disponível em:

<https://wp.ufpel.edu.br/direitosdosanimais/files/2018/10/DeclaracaoUniversaldosDireitosdosAnimaisBruxelas1978.pdf>. Acesso em: 01 jan. 2022.

PERKINS, N. R.; REID, S. W.; MORRIS, R. S. Profiling the New Zealand Thoroughbred racing industry. 2. Conditions interfering with training and racing. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, n. 1, p. 69-76, 2005.

PERSINOS PERDUE G. *et al.* South American plants II: Taspine isolation and antiinflammatory activity. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, p. 124-126, 1979.

- PIETERS, L. *et al.* Isolation of dihydrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton* sp) as an inhibitor of cell proliferation. **Journal Natural Products**, v. 56, n. 6, p. 889-906, 1993.
- POLLITOS, P. A. Z.; TOMAZELLO FILHO, M. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) No Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 177-179, 2007.
- PORRAS-REYES, B. H. *et al.* Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 203, n. 1, p. 18-25, 1993.
- RAMSEY, D. T. *et al.* Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v. 56, n. 7, p. 941-949, 1995.
- ROHRICH, R. J.; CHERRY, G. W.; SPIRA, M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin Ointment. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 73, n.6, p. 943-948, 1984.
- SÁ, J. Z. **Efeitos da nitroglicerina tópica sobre a área viável de retalhos pré-fabricados por implante vascular em ratos**. 2006. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- SANTOS, F. C. O. *et al.* Piodermite profunda por *Staphylococcus intermedius* em equino. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2641-2645, 2008.
- SØRENSEN, M. A. *et al.* Regional disturbances in blood flow and metabolism in equine limb wound healing with formation of exuberant granulation tissue. **Wound Repair and Regeneration**, v. 22, n. 5, p. 647-653, 2014.
- SOUZA, D. W. *et al.* Ensaio da aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 9-13, 2006.
- SPARKS, H. D. *et al.* Biomechanics of Wound Healing in an Equine Limb Model: Effect of Location and Treatment with a Peptide-Modified Collagen-Chitosan Hydrogel. **ACS biomaterials science & engineering**, v. 7, n. 1, p. 265-278, 2021.
- STEEL, C. M. *et al.* Effect of topical rhTGF- β 1 on second intention wound healing in horses. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 11, p. 734-737, 1999.
- TAYLOR, P. M.; CLARKE, K. W. **Manual de Anestesia em Equinos**. 2. ed. São Paulo: MEDVET, 2009.
- THEORET, C. L.; WILMINK, J. M. Aberrant wound healing in the horse: naturally occurring conditions reminiscent of those observed in man. **Wound Repair Regen**, v. 21, p. 365-371, 2013.
- THEORET, C.; WILMINK, J. M. Exuberant granulation tissue. In: THEORET, C.; SCHUMACHER, J. (Eds.). **Equine Wound Management**. 3. ed. Ames; Wiley Blackwell,

2016, p. 369-384.

WHITE, G. W. Maltodextran, NF powder: A new concept in equine wound healing. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 15, p. 296-298, 1995.

WILMINK, J. M. *et al.* Differences in second intention wound healing between horses and ponies: macroscopic aspects. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 1, p. 53-60, 1999.

WINTER, R. L. *et al.* Cell engraftment, vascularization, and inflammation after treatment of equine distal limb wounds with endothelial colony forming cells encapsulated within hydrogel microspheres. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 43, p. 1–15, 2020.

WISE, L. M. *et al.* Treatment of limb wounds of horses with orf virus IL-10 and VEGF-E accelerates resolution of exuberant granulation tissue, but does not prevent its development. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, p. e0197223, 2018.

ZHANG, H. Y.; PHAN, S. H. Inhibition of myofibroblast apoptosis by transforming growth factor b1. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 21, p. 658-665, 1999.

**ANEXO A – COMPROVANTE DE APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO
USO DE ANIMAIS - UFLA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Ensaio da aplicação de pomada à base de seiva de *Croton lechleri*, associado ou não a nitroglicerina, na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos", protocolo nº 039/19, sob a responsabilidade de Djeison Lutier Raymundo, Rodrigo Norberto Pereira e Matheus Camargos de Britto Rosa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 18/12/2019.

Vigência da autorização: de 01/01/2020 a 01/01/2021

Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica

Espécie/linhagem/raça: Equídeo / SRD

Número de animais aprovados: 6

Peso/Idade: 350 kg / 10-15 anos

Sexo: fêmea

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Termo de Doação do Proprietário: Otávio Dinalli, CPF: 134.282.676-06, residente à Rua/Av. Romeu Alvarenga, Centenário, nº 23, Lavras, MG.



Prof. Juliano Vogas Peixoto
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 -- Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br