

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOLUÇÃO OZONIZADA À  
BASE DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA,  
ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO  
TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM *Rattus  
norvegicus* (Wistar)**

**Luciana de Simone Sfrizo  
Médica Veterinária**

**2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOLUÇÃO OZONIZADA À  
BASE DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA,  
ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO  
TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM *Rattus  
norvegicus* (Wistar)**

**Discente: Luciana de Simone Sfrizo**

**Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi**

**Coorientador: Prof. Dr. Nazilton de Paula Reis Filho**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária

S523a

Sfrizo, Luciana de Simone

Avaliação da eficácia da solução ozonizada à base de D-Pantenol, prata nanoparticulada, ácido salicílico e óleos essenciais de feridas cutâneas em *Rattus norvegicus* (Wistar) / Luciana de Simone Sfrizo. -- Jaboticabal, 2023  
63 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi

Coorientador: Prof. Dr. Nazilton de Paula Reis Filho

1.Fitoterápico. 2.Lesões cutâneas. 3. Processo cicatricial. 4.Reparação de feridas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

## IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

As feridas cutâneas representam alta prevalência no atendimento clínico de pequenos animais. No entanto, como seu tratamento é um desafio, pois, em muitos casos, possuem manejo de longo prazo, podendo gerar grande morbidade aos pacientes e desgastes aos tutores. Diante destas dificuldades, o presente estudo teve por objetivo avaliar uma opção terapêutica, administrada por via tópica, por meio da combinação de sete compostos naturais ozonizados a base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva), para a cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus*), para tentar auxiliar no processo cicatricial, minimizando o tempo da cicatrização e melhorando a qualidade da mesma. Além disso, por ser um produto com compostos advindos da natureza, o qual não provoca efeitos colaterais, principalmente quando utilizado por longo período de tempo, de custo acessível e fácil manejo para o tutor, colaborando assim para o sucesso do tratamento de feridas cicatrizadas por segunda intenção, minimizando o desconforto perante o tratamento, proporcionando bem-estar e melhor qualidade de vida ao paciente.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

Skin wounds represent a high prevalence in the clinical care of small animals. However, as their treatment is a challenge, since, in many cases, they have long-term management, which can generate great morbidity for patients and distress for guardians. Faced with these difficulties, the present study aimed to evaluate a therapeutic option, administered topically, through the combination of seven natural ozonized compounds based on D-Panthenol, Nanoparticulated Silver, Salicylic Acid and Essential Oils (thyme, Aloe vera, rosemary and mauve), for healing by secondary intention of cutaneous wounds in rats (*Rattus norvegicus*), to try to help in the healing process, minimizing healing time and improving its quality. In addition, as it is a product with compounds from nature, which does not cause side effects, especially when used for a long period of time, with an affordable cost and easy handling for the owner, thus contributing to the success of the treatment of wounds healed by second intention, minimizing discomfort during the treatment, providing well-being and better quality of life for the patient.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOLUÇÃO OZONIZADA À BASE DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA, ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM *Rattus norvegicus* (Wistar)

**AUTORA: LUCIANA DE SIMONE SFRIZO**  
**ORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI**  
**COORIENTADOR: NAZILTON DE PAULA REIS FILHO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia Veterinária, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI (Participação Presencial)  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES (Participação Presencial)  
Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. VICTOR JOSÉ VIEIRA ROSSETTO (Participação Presencial)  
UNIRP-Centro Universitário de Rio Preto / São José do Rio Preto/SP

Jaboticabal, 02 de março de 2023

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Luciana de Simone Sfrizo, nascida na cidade de São Paulo/SP, Brasil, na data de 11 de agosto de 1979. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV), Câmpus de Jaboticabal/SP, no ano de 2012 e concluiu o curso no ano de 2017. Durante a graduação, foi membro do GEPA (Grupo de Estudos de Pequenos Animais), desenvolveu projeto de iniciação científica, com bolsa concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), sob orientação do Prof. Andriago Barboza De Nardi, na área de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais e realizou estágio no Serviço de Oncologia Veterinária, no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, da mesma instituição. Entre os anos de 2018 e 2019 realizou residência no Programa de Aprimoramento de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais, sob orientação do Prof. Me. Daniel Kan Honscho, na Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca, estado de São Paulo. Em março de 2021 iniciou como aluno regular no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, nível de Mestrado, sob orientação do Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi e coorientação do Prof. Dr. Nazilton de Paula Reis, sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), onde se encontra no presente momento.

“Tudo tem seu apogeu e seu declínio. É natural que assim seja, todavia, quando tudo parece convergir para o que supomos o nada, eis que a vida ressurge, triunfante e bela!... Novas folhas, novas flores, na infinita bênção do recomeço”.

- Chico Xavier

## **Dedico**

Aos meus pais, Luiz Carlos e Angela, ao meu companheiro, Eduardo, e ao meu maior presente de Deus, minha filha Maria Clara, por todo amor e apoio dados para o meu crescimento profissional e pessoal!

## AGRADECIMENTOS

*“Agradecer é admitir que houve um momento em que precisamos do outro. Ninguém cresce sozinho. Existem momentos em que é necessário um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão, uma atitude de amor. Mas também palavras de realidade e coerência”.*

(Autor desconhecido)

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida por todas as graças alcançadas, principalmente por toda força dada para que eu enfrentasse de cabeça erguida todas as dificuldades em busca do meu sonho, ser Médica Veterinária.

Aos meus pais, Luiz Carlos e Angela, os responsáveis pelo meu crescimento pessoal e profissional, pois sempre estiveram ao meu lado, me dando amor, apoio, educação e incentivo para eu alcançar tudo que almejar. Muito obrigada por tudo, vocês são minha base, meu alicerce.

À minha irmã Luiza, por todo apoio e amor.

Ao meu marido Eduardo, por sempre me apoiar e estar ao meu lado em todas as batalhas, não me deixando desistir por mais que sejam árduas.

À minha filha Maria Clara, que chegou para iluminar ainda mais minha vida, me ensinando sobre o amor mais puro e incondicional que uma mãe pode ter por um filho.

À minha avó Ercy (*in memoriam*), que sempre desejou que eu fosse médica, por eu ter cuidado dela em todo seu tratamento de câncer. Acabei seguindo o caminho da Medicina Veterinária, porém escolhi a área de oncologia para trabalhar, por tudo que aprendi ao cuidar dela e por tudo que passei ao lado dela, dor, tristeza, alegrias, um misto de sentimentos, que me fizeram mais forte e determinada a voltar a estudar e realizar este sonho para que de onde ela esteja, sintam-se orgulhosa de mim.

À Andreia, nosso anjo da guarda, que há mais de 15 anos cuida de nós com muito carinho e amor, e que me ajudou muito nessa fase final com a Maria Clara.

À minha madrinha Ana, por todo carinho e apoio.

Aos professores Andrigo e Nazilton por terem me dado a oportunidade de trabalhar ao lado deles desde a graduação, dividindo seus conhecimentos comigo sempre com muita paciência, atenção e carinho. É extremamente gratificante poder dividir tantos anos ao lado de duas pessoas que admiro muito como profissionais e

seres humanos que são, que prezam pela humildade acima de tudo. Só tenho a agradecer a Deus por tê-los colocado em meu caminho.

À Profa. Paola, a qual tenho muita admiração, e que sou muito grata por toda a ajuda dada durante toda a graduação e pós-graduação, sempre me acolhendo como uma mãe, com muito carinho e atenção.

À Profa. Giovana, da Universidade de Londrina, que me auxiliou imensamente neste experimento, sendo sempre muito gentil e prestativa para que tudo desse certo.

À Profa. Ana Lúcia Pascoli, amiga de anos do Serviço de Oncologia Veterinária, do Hospital da FCAV, por ter aceito o convite para compor a banca da qualificação e ter contribuído tanto com suas considerações sobre esta pesquisa.

Ao Prof. Victor, PUC Minas – Poços de Caldas, por ter aceito o convite para compor a banca de defesa da dissertação.

Às pós-graduandas Camila Nogueira, Milena Magrin, Camila Goloni e Yury Salsedo, por toda a colaboração dada para que este estudo fosse realizado.

Aos alunos da graduação, Ketlyn Ribeiro Martins, Viviane Bobadilla Morelli, Lucas Uccella, Laura Nery Leite e Isadora Giacometti por toda ajuda em relação aos cuidados com os animais, bem como durante os dias de experimento.

Às minhas irmãs de alma, Amanda Tartarelli, Clarissa Zampolo, Gabriela Dalmaso, Giovana Alonso, Giulia Gaglianone, Jéssica Gobbo, Marina Beanucci, Natália Cassaro, Patrícia Jábali e Saliha Samid, e ao Arthur Parrera, por toda amizade verdadeira e amor que há entre nós.

Aos meus anjos da guarda, Carolina Zuchermaglio (*in memorian*) e Ana Luísa Denes (*in memorian*), por toda a diferença que fizeram em minha vida, me ensinando a lidar com os lutos, por mais difíceis que eles sejam, e que sempre serão eternas em meu coração e memória.

Aos meus cães, Hanna (*in memorian*), Lane (*in memorian*), Zack (*in memorian*), Zen (*in memorian*) e Juma (*in memorian*), a melhor família de rottweillers que Deus poderia ter me presenteado, onde cada um com sua peculiaridade, me ensinou o que é amor incondicional e a me dedicar todos os dias com muito amor e respeito à minha profissão, deixando de ensinamento que um paciente não é apenas um paciente, mas também é o amor de alguém.

Ao meu querido Boston Terrier Fred, que chegou na minha vida de surpresa, durante a graduação, e dividiu comigo longas noites de estudos nesta jornada da medicina veterinária.

Aos meus gatos Serena e Cookie, que também foram presentes de Deus na minha vida, me escolhendo como tutora no período mais conturbado da minha vida, a residência, sendo meu colo e conforto nos dias mais estressantes, com seus ronronares que agiam como calmantes em minha alma. Vocês foram minha salvação nesse trecho caótico que tive que atravessar, e me dando muito amor e carinho sem pedir nada em troca. Eu amo muito vocês!!!!

A todos que já foram meus pacientes, por todos os ensinamentos que me proporcionaram e que me fazem todos os dias lutar para ser um ser humano melhor.

Agradeço aos animais do Biotério Central da Unesp de Botucatu, pois sem eles este estudo não seria possível.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão do meu mestrado, muito obrigada!

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

## SUMÁRIO

	Página
<b>CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO UEO DE ANIMAIS</b> .....	xiv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xv
<b>LISTA DE QUADROS</b> .....	xvii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xviii
<b>Palavras-chave</b> .....	xix
<b>Keywords</b> .....	xx
<b>CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais</b> .....	1
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVO GERAL</b> .....	1
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
<b>3.3. Fases de cicatrização de feridas</b> .....	4
<b>3.4. Tratamento de feridas cutâneas</b> .....	5
<b>3.5. Tratamento de feridas cutâneas com produtos naturais</b> .....	8
<b>4. REFERÊNCIAS</b> .....	14
<b>CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOLUÇÃO OZONIZADA À BASE DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA, ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM <i>Rattus norvegicus</i> (Wistar)</b> .....	18
<b>RESUMO</b> .....	18
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
<b>3. RESULTADOS</b> .....	27
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	37
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	38
<b>APÊNDICES</b> .....	40



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da eficácia da solução ozonizada à base de D-Pantenol, prata nanoparticulada, ácido salicílico e óleos essenciais no tratamento de feridas cutâneas em *Rattus norvegicus* (Wistar)**", protocolo nº 2898/21, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 28 de outubro de 2021.

Vigência do Projeto	01/11/2021 a 01/03/2023
Espécie / Linhagem	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	30
Peso / Idade	300 - 400g / 4 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério central da UNESP - Câmpus de Botucatu

Jaboticabal, 28 de outubro de 2021.

**Profa. Dra. Fabiana Pilarski**  
Coordenadora – CEUA

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Imagem fotográfica das Soluções A e B acondicionadas em frascos âmbar. Solução A correspondente à solução salina estéril 0,9% e Solução B correspondente à solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais. ....	21
<b>Figura 2.</b> Representação fotográfica da sequência dos procedimentos realizados. Em <b>(A)</b> marcação dos defeitos na região dorsal em rato Wistar com caneta dermatográfica Texta 700® e régua, na forma quadrangular, com cada lado medindo 1 cm e espaço entre as figuras geométricas de 0,5 cm. Em <b>(B)</b> os dois defeitos cutâneos confeccionados, após procedimento cirúrgico, na região dorsal do rato, para análise da cicatrização por segunda intenção, sendo que no defeito cranial (CR) esta análise foi realizada por meio de decalque da ferida, para posterior mensuração da área (cm <sup>2</sup> ). Já o defeito caudal (CA), foi utilizado para avaliação macroscópica da ferida. ....	23
<b>Figura 3.</b> Imagem fotográfica da troca de curativo em que foi realizado em <b>(A)</b> decalque da lesão com película translúcida transparente sobreposta à ferida, previamente esterilizada, para demarcação de toda sua circunferência por meio de caneta esferográfica de ponta fina Piloto® para mensuração da área. Em <b>(B)</b> desenho do traço de 1cm de comprimento ao lado do decalque da ferida, utilizado como escala para o processo computacional. ....	25
<b>Figura 4.</b> Mediana ± faixa interquartil das áreas (cm <sup>2</sup> ) durante os dias de avaliação do grupo controle e grupo tratado. Letras diferentes (a, b, c, d) indicam significância da interação do grupo e os dias de avaliação avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis (p<0,001). ....	28
<b>Figura 5.</b> Mediana ± faixa interquartil da diferença entre as áreas (cm <sup>2</sup> ) quando comparado os dias de avaliação 3 e 7 (T3-T7), 7 e 14 (T7-T14) e 3 e 14 (T3-T14) do Grupo Controle e Grupo Tratado. Letras diferentes (a, b, c, d) indicam significância da interação do grupo e os dias de avaliação avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis (p<0,001). ....	29
<b>Figura 6.</b> Imagem demonstrando a evolução do processo cicatricial, nos tempos de avaliação T3, T7 e T14 dos grupos controle e tratado. ....	30
<b>Figura 7.</b> Representação fotográfica das feridas com tecido de granulação no terceiro dia de avaliação macroscópica. Em <b>(A)</b> , animal do grupo controle apresentando os defeitos cutâneos com algumas áreas preenchidas por tecido de granulação, de coloração vermelho claro, brilhante e pouco granuloso. Em <b>(B)</b> , animal do grupo tratado apresentando as feridas com preenchimento total por tecido de granulação, de coloração vermelho intenso, brilhante e granuloso. ....	33
<b>Figura 8.</b> Prints de tela para demonstrar os passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa "ImageJ" versão 1.5j8. <b>(A)</b> padronização da escala em centímetros; <b>(B)</b> isolamento da área do decalque a ser avaliada; <b>(C)</b> , <b>(D)</b> e <b>(E)</b> segmentação e binarização da imagem. ....	42

**Figura 9.** Print de tela para mostrar os passos para a mensuração da área do decalque de ferida cutânea pelo programa “ImageJ” versão 1.5j8. Análise da área (cm<sup>2</sup>) ocupada pela imagem. .... 43

**LISTA DE QUADROS**

	Página
<b>Quadro 1.</b> Formulação, empresa fabricante, via de administração, indicação de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação A – Solução Salina Estéril 0,9%. .....	22
<b>Quadro 2.</b> Formulação, empresa fabricante, via de administração, indicação de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação B – Solução Ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais.....	22

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Mediana $\pm$ faixa interquartil das áreas (cm <sup>2</sup> ) e diferença entre as áreas em função dos grupos controle e tratado e tempos de avaliação (dia 3, 7 e 14). ....	27
<b>Tabela 2.</b> Proporção da presença de inflamação (PINF), presença de necrose (PNEC) e presença de edema (EDEMA) em função dos grupos (A = Controle e B= Tratado) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).....	31
<b>Tabela 3.</b> Proporção da presença de crosta (PCROS), tecido de granulação (TECGRA), secreção quantidade (SECQTD), e aderência (ADERE), em função dos Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).	32
<b>Tabela 4.</b> Proporção da secreção aspecto (SECASP) e coloração da ferida em função dos Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).....	34

**AValiação DA EFicácia DA Solução Ozonizada À Base DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA, ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM *Rattus norvegicus* (Wistar)**

**RESUMO** - Feridas cutâneas representam alta prevalência no atendimento clínico de pequenos animais. No entanto, seu tratamento é um desafio comum, pois, em muitos casos, possuem manejo de longo prazo, o que pode gerar grande morbidade aos pacientes e desgastes aos tutores. Há diversidade considerável de produtos disponíveis no mercado, os quais buscam redução no tempo do processo cicatricial. Entretanto muitos deles possuem custos elevados e são por vezes até mesmo tóxicos à longo prazo. Objetivou-se com este estudo, avaliar uma opção terapêutica, administrada por via tópica, por meio da combinação de sete compostos naturais ozonizados a base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva), para a cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus*). Para isso, foram utilizados 30 ratos, distribuídos aleatoriamente no grupo controle (GC), o qual seria administrado solução salina 0,9%, e grupo tratado (GT) em que seria administrado solução ozonizada à base D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva). Foram confeccionados dois defeitos na região dorsal de cada animal, em que no defeito cranial foi utilizado para avaliação da evolução da cicatrização por meio de planimetria digital, utilizando o “*Software ImageJ*”, e o defeito caudal para avaliação macroscópica da presença de sinais de inflamação, necrose, edema, crosta, tecido de granulação, secreção, aspecto da secreção, coloração da ferida e aderência. As avaliações e a administração das soluções ocorreram em momentos pré-determinados T3 (três dias de pós-operatório), T7 (sete dias de pós-operatório) e T14 (quatorze dias de pós-operatório). Em relação à mensuração da área (cm<sup>2</sup>) da ferida, foi observado diferença significativa entre os grupos no terceiro dia de avaliação, em que o grupo tratado apresentou maior área. Quanto à diferença de área nos diferentes momentos de avaliação, foi constatada diferença significativa do grupo controle (T3 – T7), em relação às outras diferenças de área (T7-T14; T3-T14) dentro deste grupo e quando comparado com o grupo tratado. Quando analisados os resultados obtidos na avaliação macroscópica, observou-se que houve diferença significativa em relação às variáveis inflamação, necrose e tecido de granulação, em que o grupo tratado apresentou no terceiro dia de experimento número maior de animais com inflamação, necrose e tecido de granulação quando comparado com o grupo controle. Tanto a solução salina 0,9% quanto a solução ozonizada contribuíram para a cicatrização das feridas, fazendo-se assim, necessários mais estudos em relação à dose/efeito da solução ozonizada.

**Palavras-chave:** fitoterápicos, lesões cutâneas, processo cicatricial, reparação de feridas

**ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF THE OZONIZED SOLUTION  
BASED ON D-PANTHENOL, NANOPARTICULATED SILVER, SALICYLIC ACID  
AND ESSENTIAL OILS IN MANAGEMENT OF CUTANEOUS WOUNDS IN *Rattus  
norvegicus* (Wistar)**

**ABSTRACT** - Skin wounds represent a high prevalence in the small animals clinical care. However, their treatment is a common challenge, since in many cases, they have long-term management, which can result in great morbidity for patients and distress for clients. There is a considerable diversity of products available, which attempt to reduce the time of the healing process. However many of them have costs and are sometimes even toxic in long term use. The aim of this study was to evaluate the administration of a therapeutic option, administered topically, through the combination of seven natural ozonated compounds based on D-Panthenol, Nanoparticulated Silver, Salicylic Acid and Essential Oils (thyme, *Aloe vera*, rosemary and malva), for the healing by second intention of skin wounds in rats (*Rattus norvegicus*). For this, thirty rats were used, randomly distributed in the control group (GC), which would be administered saline solution 0,9%, and treated group (TG) in which ozonated solution based on D-Panthenol, Nanoparticulated Silver, Salicylic Acid and Essential Oils (thyme, *Aloe vera*, rosemary and malva). Two defects were made in the cutaneous dorsal region of each animal, in which the cranial defect was used to assess the evolution of healing through digital planimetry, using the “*ImageJ Software*” and the caudal defect for macroscopic evaluation of the presence of sings of inflammation, necrosis, edema, crust, granulation tissue, secretion, appearance of the secretion, wound color and adherence. The evaluations and administration of the solutions occurred at predetermined moments T3 (three days after the surgery), T7 (seven days after the surgery) and T14 (fourteen days after the surgery). Regarding the measurement of the area (cm<sup>2</sup>) from de wound, a significant difference was observed between the groups on the third day of evaluation, in which the treated group had a larger area. As for the area difference at different evaluation times, a significant difference was found in the control group (T3 - T7), in compare to other area differences (T7-T14; T3-T14) within this group and when compared with the treated group. When analyzing the results obtained in the macroscopic evaluation, it was observed that there was a significant difference in variables of inflammation, necrosis and granulation tissue, in which the treated group presented, on the third day of the experiment, greater number of animals with inflammation, necrosis and granulation tissue when compared with the control group. Both the 0.9% saline solution and the ozonized solution contributed to the healing of wounds, thus making further studies necessary in relation to the dose/effect of the ozonated solution.

**Keywords:** healing process, herbal medicines, skin lesions, wound repair

## **CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais**

### **1. INTRODUÇÃO**

A ferida é qualquer interrupção da solução de continuidade de um tecido do corpo. Após a lesão, há início de um complexo processo de reparação, o qual envolve a combinação de eventos físicos, químicos e celulares, com o objetivo de promover a regeneração ou cicatrização tecidual (Amalsadval e Swain, 2014).

O processo cicatricial ocorre em fases, sendo classificadas em inflamatória, proliferativa ou de reparação e de maturação. Mediadores bioquímicos como citocinas e fatores de crescimento são fundamentais para o acontecimento desses eventos (Hosgood, 2017).

No decorrer dos séculos, o tratamento de feridas tem passado por modificações para se obter melhores resultados no processo cicatricial no menor intervalo de tempo (Nazaret, 2018). Devido à alta prevalência de afecções cutâneas, principalmente feridas, no atendimento clínico-cirúrgico da Medicina Veterinária, estudos sobre a reparação da pele e a investigação de quais processos podem acelerar a cicatrização tecidual têm sido desenvolvidos (Monteiro, 2007).

O manejo clínico das feridas associado às formulações fitoterápicas tem sido muito utilizado na reparação tecidual, por proporcionar melhor qualidade de cicatrização e minimizar o tempo deste processo (Nazaret, 2018). Diversos compostos naturais como óleos de plantas, óleo ozonizado, pomadas à base de fitoterápicos se mostram eficazes na reparação de lesões cutâneas. Considerando assim as fases do processo cicatricial, objetivou-se com este trabalho avaliar a administração da solução terapêutica, por meio da combinação de sete compostos naturais e ozonizados, para o tratamento por segunda intenção de feridas cutâneas em cobaias (*Rattus norvegicus*).

### **2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficácia da solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais como opção terapêutica,

administrada por via tópica, para a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas induzidas experimentalmente em cobaias (*Rattus norvegicus*) utilizando avaliações macroscópica e planimetria digital.

### **2.1. Objetivos específicos**

- Avaliar o uso da solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais como adjuvante no processo de cicatrização de feridas manejadas por meio de cicatrização por segunda intenção;
- Comparar a evolução do processo cicatricial, das feridas tratadas com a solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva) versus feridas tratadas com solução salina 0,9% por meio de avaliações macroscópicas referentes à presença de sinais de: inflamação, necrose, edema, crosta, tecido de granulação, secreção, aspecto da secreção, coloração e aderência;
- Capturar, analisar imagens obtidas por meio de planimetria digital utilizando o *Software "ImageJ"* e comparar a evolução do processo cicatricial por segunda intenção de feridas tratadas com a solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais versus feridas tratadas com solução salina 0,9%.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1. Sistema tegumentar**

O sistema tegumentar é o maior órgão dos mamíferos, em que a pele possui várias funções de extrema importância para o organismo, como produção de vitamina D, termorregulação, armazenamento de água, gordura, eletrólitos, carboidratos e proteínas, e barreira frente a produtos químicos, radiação, traumas e infecções (Pavletic, 2018).

Histologicamente, a pele é dividida em epiderme, derme. Abaixo da derme há a hipoderme ou tecido subcutâneo, o qual possui um tecido conjuntivo frouxo com

adipócitos. A hipoderme não faz parte da pele, apenas a une aos tecidos subjacentes (Mescher, 2018).

Basicamente, a epiderme é composta por queratinócitos, que atuam como barreira protetora, mantendo a homeostase epidérmica; melanócitos, responsáveis pela pigmentação da pele; células de Langerhans que atuam no sistema imune, e as células de Merckel, envolvidas na percepção do toque. Já a derme é composta por fibras colágenas, reticulares e elásticas, as quais são circundadas por uma matriz mucopolissacarídica. Essa camada possui vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, folículos pilosos, glândulas e fibras musculares lisas, que atuam no mecanismo de termorregulação, força, tensão e flexibilidade (Lowrie Jr., 2020).

### **3.2. Classificação das feridas**

De acordo com Lopez (2008), as feridas podem ser classificadas em abertas e fechadas, dependendo da integridade da pele. As feridas abertas possuem solução de continuidade na pele ou mucosas, em que os tecidos adjacentes foram danificados. Já as feridas fechadas não possuem solução de continuidade, mesmo com tecidos danificados, estes permanecem viáveis. Esmagamento, contusões, entorse e fraturas de tecidos moles ou ósseos, são alguns exemplos de lesões fechadas.

As feridas abertas, ainda podem ser classificadas quanto à sua etiologia, grau de contaminação e tempo de ocorrência. Em relação à etiologia pode-se citar: a avulsão, que é a separação dos tecidos e anexos de forma brutal, ocasionadas por brigas entre animais, por exemplo; a abrasão, que refere-se a perda da epiderme e parte da derme por queimaduras; as incisões e lacerações, onde a incisão é aplicada quando com um objeto cortante realiza-se um corte com bordas regulares, e em contrapartida, a laceração dá-se por cortes de conformação e bordas irregulares; as perfurações que são ocasionadas por objetos perfurantes como vidros, projéteis, facas, entre outros (Waldron e Zimmerman-Pope, 2003). De acordo ainda com Waldron e Zimmerman-Pope (2003), o grau de contaminação é outra classificação dada as feridas sendo: ferida limpa, criadas cirurgicamente com técnica asséptica; limpa-contaminada, em que há presença mínima de contaminação a qual pode ser removida; contaminada, quando possui quantidade considerável de contaminação, com presença de microrganismos, com alto comprometimento da técnica asséptica e

suja-infectada, quando há um processo infeccioso, como feridas traumáticas antigas, abertas e com presença de secreções purulenta e exsudato com tecidos lesionados. Em relação ao tempo de ocorrência, elas são divididas em três classes: lacerações limpas, ocasionadas em até seis horas; feridas contaminadas ocasionadas entre seis a 12 horas e feridas infectadas com mais de 12 horas de ocorrência.

### **3.3. Fases de cicatrização de feridas**

A cicatrização é o reestabelecimento da integridade física interna e/ou externa de estruturas corpóreas, em que há complexa interação entre as células da matriz extracelular e outros fatores, como os de crescimento e as citocinas (Masi et al., 2016). Imediatamente após a lesão cutânea, o processo cicatricial se inicia de acordo com as fases de: inflamação, reparo ou proliferativa e maturação (Pristo, 2012; Kramer e Jaines, 2022).

Após o ferimento, em que há destruição de células endoteliais, de vasos sanguíneos e extravasamento de sangue e linfa, ocorre vasoconstrição devido à liberação de vasoativos como, catecolaminas, serotonina, bradicinina e histamina, para diminuir o sangramento em questão. Esta hemorragia é de curta duração, e em seguida, acontece vasodilatação para que células e fluídos dos vasos sanguíneos migrem para o espaço extravascular, para diluir substâncias tóxicas e promover a diapedese leucocitária (Simas, 2010). Posteriormente, ocorre ativação da agregação plaquetária para a formação de um coágulo, em que sela temporariamente a ferida, impedindo a entrada de patógenos, além de agir como rede para migração de monócitos, neutrófilos, fibroblastos e células endoteliais. Todos estes eventos causam os sinais cardinais da inflamação: calor, vermelhidão, edema e dor. Os neutrófilos, são as primeiras células a migrarem, mas após 48 a 72 horas, os monócitos circulantes que foram para a ferida juntamente com os neutrófilos, sofrem ação do fator de crescimento transformante beta (TGF- $\beta$ ), diferenciando-se em macrófagos. Os macrófagos têm papel fundamental nas fases seguintes, pois regulam substâncias que sinalizam o recrutamento de outras células importantes para que ocorra a fagocitose de bactérias e debris, para a liberação de metaloproteinases que degradam a matriz extracelular (MEC) provisória e facilitar a migração de células para a ferida na fase proliferativa (Souza e Mann, 2011).

Na fase proliferativa, ocorre a formação do tecido de granulação, devido à proliferação de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, de elastina e proteoglicanos, os quais amadurecem o tecido fibroso, e angiogênese. A angiogênese refere-se à formação de novos vasos a partir de capilares pré-existentes ao redor da ferida. Há substituição da fibrina da lesão por colágeno, e o ápice se dá entre duas a três semanas após a ocorrência da lesão. A princípio, há o predomínio de colágeno tipo III, formando uma camada mais delgada, e este progressivamente é substituído por colágeno tipo I, que, por ser mais denso, confere maior tensão à ferida. Para finalizar esta fase, ocorre a epitelização, em que células epidérmicas se mobilizam e migram para que as bordas das feridas se unam e cessem esse processo (Hosgood, 2017).

A maturação é a última fase, em que o colágeno tipo III imaturo é substituído por colágeno tipo I, onde as fibras colágenas desorganizadas são degradadas por ação enzimática de metaloproteinases, e as células do tecido de granulação sofrem apoptose. Com a diminuição dos capilares e da celularidade, a cicatriz torna-se mais clara e macia (Hosgood, 2017).

### **3.4. Tratamento de feridas cutâneas**

No atendimento clínico em Medicina Veterinária, rotineiramente atende-se cães e gatos que apresentam feridas cutâneas de diferentes etiologias, na maioria das vezes ocasionadas por traumas, como atropelamento, mordidas, entre outros. Após a avaliação do paciente e da ferida, é importante planejar em etapas sequenciais o manejo desta (Silva, 2018).

De acordo com Silva (2018), baseado na avaliação da ferida pode-se optar por uma das quatro formas de cicatrização existentes: por primeira intenção, com aproximação das bordas por meio de suturas, com mínima formação de tecido de granulação; por primeira intenção com retardo, em que a infecção é controlada e as bordas podem ser aproximadas; por segunda intenção, em que as bordas não são aproximadas, com formação de tecido de granulação, epitelização e contração da ferida, e por fim por terceira intenção que ocorre quando a ferida cicatriza por segunda intenção, e assim que esta apresenta certa melhora, com tecido de granulação

saudável, aplica-se posteriormente a cicatrização por primeira intenção, realizando a oclusão com sutura.

A tricotomia ampla da área ao redor do ferimento deve ser realizada para evitar contaminação iatrogênica e melhorar a viabilidade do tecido. Para proteger a ferida dos pelos cortados, são utilizadas gazes estéreis umedecidas com solução fisiológica ou gel, realizando-se em seguida a antisepsia dos arredores com clorexidina ou iodopovidona (Lopez, 2008).

Posteriormente, faz-se uma lavagem copiosa do ferimento com alta pressão, afim de retirar detritos necróticos, diminuir a contaminação local e hidratar o local. Essa lavagem pode ser realizada com soluções isotônicas como a solução fisiológica 0,9% ou a solução de Ringer com Lactato, por não causarem mais danos teciduais (Silva, 2018).

O desbridamento também é fundamental para remover tecidos desvitalizados que se, deixados no local atrasam a reparação da ferida. Este procedimento consiste na retirada de tecido morto ou danificado, corpos estranhos e microrganismos que interferem nos mecanismos de defesa locais e aumentam o tempo de cicatrização. A remoção destes tecidos desvitalizados pode ser feita por excisão cirúrgica, mecanismos autolíticos, enzimas e bandagens secas-úmidas. Com as margens e leito limpos é possível realizar o fechamento do ferimento por primeira intenção ou segunda intenção de acordo com avaliação individual do caso (MacPhail e Fossum, 2019).

O desbridamento cirúrgico, consiste na remoção de músculos e quaisquer tecidos desvitalizados por incisão em camadas, ou seja, em blocos, para preservação de nervos, tendões e ossos. Deve-se tomar cuidado com esse tipo de desbridamento para não remover excessivamente tecido viável (Silva, 2018). Após o desbridamento cirúrgico, a maioria das feridas são tratadas por segunda intenção, com curativos hidrofílicos e bandagens. Há o desbridamento autolítico, que consiste na criação de um ambiente úmido para que enzimas endógenas dissolvam tecidos inviáveis. Curativos hidrofílicos, semioclusivos e oclusivos são os utilizados nesse tipo de desbridamento, em que os fluidos da lesão ficam em contato direto com o tecido inviável (MacPhail e Fossum, 2019).

Outro desbridamento utilizado é o enzimático, que consiste na aplicação tópica de enzimas para a degradação dos tecidos inviáveis. Os agentes enzimáticos mais

utilizados são a tripsina, fibrinolisinase, protease ou colagenases. Eles decompõem o tecido necrosado e liquefazem o coágulo e a biopelícula bacteriana, fazendo com que os antibióticos tenham um melhor contato com a lesão, desenvolvendo uma imunidade celular e humoral (Silva, 2018).

E por fim o desbridamento mecânico, que consiste na aderência de bandagens à superfície da ferida, por meio de pensos úmido-a-seco (“*wet-to-dry*”) ou seco-a-seco (“*dry-to-dry*”) em que após sua secagem e remoção, os detritos e as camadas superficiais da ferida são eliminados também (MacPhail e Fossum, 2019).

As bandagens são muito utilizadas, por protegerem o ferimento e fornecerem ambiente adequado para a cicatrização, reduzindo o edema e a hemorragia, eliminando o espaço morto e imobilizando o tecido necrótico (Davina, 2017).

Pavletic (2018), afirma que as bandagens devem ter três camadas: a primária, que é a de contato com a superfície do ferimento, a secundária que é a intermediária e a última camada, que é a mais externa. A camada de contato com a superfície da ferida, serve para desbridar o tecido, absorver o exsudato e manter os fármacos tópicos em contato com o ferimento, podendo ser aderente ou não. A camada aderente pode ser úmida-seca ou seca-seca, e tem a função de desbridar o tecido. Os curativos não aderentes, têm a função de proteger o tecido de granulação, sendo os mais utilizados: hidrogel, hidrocoloides, e alginato de cálcio.

A segunda camada, intermediária, é absorvente, remove e armazena agentes nocivos como sangue, soro, exsudato, detritos, bactérias e enzimas. Quando este tipo de curativo permite a evaporação de fluido, o crescimento bacteriano é retardado e concentra-se mais o exsudato. Esta camada deve ser espessa e com capilaridade para a absorção, protegendo a lesão de traumas e mantendo a primeira camada em contato com o meio quando há movimentação. O algodão hidrófilo é o material mais utilizado nesta camada, e uma pressão deve ser aplicada durante a confecção da bandagem para ser eliminado o espaço entre a ferida e a camada de contato, e entre as camadas de contato e a intermediária (MacPhail e Fossum 2019).

A última camada, tem a função de apoio, pressão e proteção para as outras camadas. Os materiais para sua confecção podem ser gaze em rolo, malha tubular ou atadura cirúrgica (Simas, 2010).

### **3.5. Tratamento de feridas cutâneas com produtos naturais**

O tratamento de lesões cutâneas é estudado desde a antiguidade, e ao longo do tempo modificações foram ocorrendo com o propósito de minimizar o tempo de cicatrização e melhorar sua qualidade (Ribeiro et al., 2018). Pelo fato do processo cicatricial ser complexo, estudos com produtos oriundos da natureza começaram a ser desenvolvidos, principalmente por haver complicações na cicatrização de ferimentos (Vítor, 2015). De acordo com Reis Filho et al. (2014), estes produtos são de baixo custo, têm ação interativa nas fases da cicatrização de feridas, e podem doar, manter ou remover fluidos da ferida, permitindo intervalos maiores entre as trocas de curativos e propiciando um processo mais rápido e com menores complicações no processo cicatricial.

#### **3.5.1. D-Pantenol**

O D-Pantenol é uma pró-vitamina do grupo complexo B, que tem a propriedade de proteção, correção e renovação da pele. Guimarães et al., (2011) relatam que quando administrada por via tópica, essa substância se converte em ácido pantotênico, o qual é um constituinte natural da pele. Há uma ativação de fibroblastos que acelera a epitelização de feridas, formando um epitélio com um elevado nível de fibras mais organizadas, para formar a epiderme. Com isso, ajuda na cicatrização de feridas provenientes de queimaduras, fissuras, lesões de córnea ulcerativa, dermatoses piogênicas e dermatites alérgicas (Moraes et al., 2013).

Pugliese (1995) realizou um estudo com a emulsão de água e óleo de D-Pantenol a 5% em feridas de pele, verificando que houve uma redução do eritema e uma regeneração tecidual sólida.

Presto et al. (2020), desenvolveram um estudo para analisar a ação reparadora da pele in vivo, utilizando solução tópica com 5% de D-Pantenol, colocando no fechamento da epiderme humana o modelo “suction-blister” por cinco dias. Foi observado uma significativa aceleração no processo de regeneração e da barreira epidérmica com o uso deste tópico quando comparado com um placebo.

### 3.5.2. Prata Nanoparticulada

A nanotecnologia está sendo utilizada atualmente para modular os metais em tamanho nanométrico e modificar as propriedades físicas, químicas e ópticas destes. Dessa forma, a prata metálica na forma de Prata Nanoparticulada (AgNP), se torna um forte agente antimicrobiano. O efeito inibitório dos íons de prata ( $\text{Ag}^+$ ) ocorre devida adsorção na parede celular carregada negativamente, desativando enzimas celulares, destruindo assim a permeabilidade, e levando a lise celular e morte da célula bacteriana (Vargas, 2018).

Grassi e Grassi (2021) em sua revisão de literatura sistemática sobre cicatrização de feridas, relatam que Mohseni e colaboradores (2019) em seu estudo afirmam que AgNP tem sido muito utilizada por apresentar propriedades antibacterianas, principalmente contra bactérias resistentes, não sendo tóxica ao corpo humano e com alta eficácia nas aplicações medicinais.

Hajjalyani et al. (2018), afirmam que as nanopartículas de prata biossintetizadas em associação com fitoterápicos, potencializam a cicatrização de feridas, além de retardar e prevenir infecções bacterianas. Em um estudo realizado por estes pesquisadores, em feridas de camundongos, com AgNP sintetizada com extrato da folha *Catharanthus roseus*, pode se observar um excelente controle do crescimento bacteriano e fúngico, redução considerável do tamanho da ferida e a indução de sua cicatrização. Outra observação feita por estes estudiosos é a de que a aplicação tópica de AgNP associada a fitoterápicos resulta em aumento na síntese de colágeno por meio da hidroxilação da prolina, a qual forma a hidroxiprolina, que funciona como um marcador no teor de colágeno, que é responsável por acelerar o processo cicatricial. Além disso, a epitelização completa com queratinização, bem como, a proliferação de tecido conjuntivo fibroso ocorreu com a administração das nanopartículas. Na fase inicial da cicatrização, foi observado também um aumento da hidroxiprolina e de proteínas totais, devido à AgNP biossintetizada, confirmando o efeito desta nanopartícula na deposição proteica da matriz no tecido de granulação e na hiperplasia celular.

### 3.5.3. Ácido Salicílico

O Ácido Salicílico é um composto fenólico produzido por plantas como *Nicotiana tabacum*, *Cucumis sativus* e *Arabidopsis thaliana*. Seu papel é muito importante nos processos fisiológicos, atuando na indução das respostas de defesa contra patógenos. Este possui propriedades importantes no processo cicatricial de feridas, como ações anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e antimicrobianas. Por ser biocompatível, não possui resistência microbiana (Figueira, 2016).

Corrêa, Coltro e Farina Junior (2016) afirmam que o Ácido Salicílico é considerado um emoliente e agente queratolítico, o qual é muito utilizado em peles ressecadas, com crostas, e hiperqueratose, atuando também como antisséptico.

De acordo com Pinto (2013), o ácido salicílico é muito utilizado no tratamento da psoríase em placas em humanos por ser uma substância com ação queratolítica, ter efeitos esfoliantes nas lesões com hiperqueratose e agir como anti-inflamatório.

### 3.5.4. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais advêm de metabólitos extraídos de plantas, de complexa composição química. Utilizados desde a antiguidade para fins medicinais e estéticos, tornaram-se um grande aliado da indústria farmacêutica. Suas atividades terapêuticas são importantes às ações antioxidantes, microbianas, larvicidas, fungicidas, antineoplásicas, anti-inflamatórias, analgésicas, hidratante, cicatrizante e antisséptica (Sá et al., 2020).

Vários compostos podem formar os óleos essenciais como, tomilho, alecrim, *Aloe vera* e malva. O *Thymos vulgaris*, conhecido como tomilho, é um vegetal utilizado como cosmético e fitoterápico. Age como antimicrobiano natural, antisséptico, antiespasmódico, anti-helmíntico e antitérmico (Fiore e Gonçalves, 2012; Fouyer, 2017). Uma revisão de literatura sobre a utilização de óleos essenciais na cicatrização de feridas realizada por Nascimento et al. (2022), relata que a presença do tomilho teve uma ótima ação antioxidante, aumentando consideravelmente a presença de enzimas como superóxido dismutase e glutatona peroxidase em vários tecidos.

O alecrim do campo, pertence à família *Lamiaceae*, e é utilizado como cosmético e fitoterápico. Suas funções principais são: antisséptico, aumento da produção de bile pelo fígado, aumento da digestão gástrica, anti-espasmódico e

narcótico. Em um estudo com pacientes humanos diabéticos que possuíam feridas nos pés, foi aplicado óleo de alecrim duas vezes ao dia por quinze dias, apresentando um resultado satisfatório na cicatrização, principalmente na formação do tecido de granulação (Souza et al., 2013).

Soares (2019) em um estudo realizado com óleo essencial à base de alecrim na forma de pomada a 0,05% para o tratamento de feridas cutâneas confeccionadas em modelo experimental, ratos Wistar, verificou o mesmo tempo de cicatrização que o grupo controle positivo, tratado com dexametasona. Porém, não ocorreu edema, vermelhidão e prurido durante o processo cicatricial quando comparado com o grupo controle.

A *Aloe vera* é uma das 300 espécies da planta *Aloe* catalogadas, sendo essa de maior concentração nutritiva quando em gel. Em diversos estudos de lesões de pele como, queimaduras, danos por irradiação, e úlceras venosas e isquêmicas foram observadas suas ações cicatrizantes, anti-inflamatória, protetora de pele, sendo emoliente e suavizante, e contendo vitaminas C, E, complexo B e ácido fólico, aminoácidos essenciais e polissacarídeos que estimulam o crescimento dos tecidos e a regeneração celular (Mercês et al., 2017).

Souza et al. (2013) utilizaram *Aloe vera* em pacientes caninos e felinos com feridas por traumas e pós-operatório de castrados, e observaram ausência de deiscência, secreção e ausência de edema. A justificativa para uma ótima cicatrização dada pelos autores do estudo, é que essa planta tem moléculas biologicamente ativas que atuam sobre os fibroblastos durante a reepitelização.

Em uma coletânea de estudos realizada por Prado et al. (2018) propõe-se que a *Aloe vera* produza prostaglandinas, aumente a migração de leucócitos e diminua a concentração de TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa) nos processos inflamatórios. Relatam ainda ação antitumoral, inibição do crescimento de células cancerígenas e diminuição de metástases.

Na família *Malvaceae* encontramos a *Malva sp.*, que tem como propriedades medicinais ação emoliente, expectorante, anti-inflamatória em feridas inflamadas ou inflamação das vias respiratórias e potencial antioxidante (Tamboorena et al., 2011). Lorenzi e Matos (2002) afirmam que a Malva é uma planta mucilaginosa e adstringente, com efeito de suavizar a irritação dos tecidos e minimizar inflamações.

Nasiri et al. (2015) relataram que o uso tópico de fármacos com *Malva sylvestres* resulta em significativa melhora na cicatrização de queimaduras profundas em ratos, devido à rápida contração do tecido, presença exuberante de tecido de granulação, e redução no tempo de epitelização, com formação de nova derme sem presença de infecção ou inflamação.

### **3.5.5. Ozônio terapêutico**

O gás ozônio é considerado um poderoso oxidante medicinal, tendo em sua composição 5% de ozônio e 95% de oxigênio. É indicado para diversos tratamentos como doenças infecciosas, vasculares e isquêmicas, dermatopatias, enfermidades pulmonares, renais, hematológicas, autoimunes, neurodegenerativas, sendo veiculado em óleo ou água. No tratamento de feridas é indicado por ter ação oxidante, bactericida, bacteriostática, promovendo assim a formação de tecido de granulação (Araújo, 2014). Em contato com a pele, ele reage com ácidos graxos poli-insaturados e gotículas de água, que se localizam na camada superior da derme, e resulta em espécies reativas de oxigênio (ROS) e de lipídeos oxidantes (LOP), onde se encontra a molécula de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Essa molécula que é transitória no organismo, devido à ação neutralizante do sistema antioxidante existente, é responsável por sinalizar aos leucócitos, para que estes ativem a tiroxina quinase para ocorrer a fosforilação do fator de transcrição nuclear. Esta contribui para a síntese de várias proteínas, como as citocinas, que são fundamentais para a ativação do sistema imune. O ozônio também tem a capacidade de interagir com vários componentes do sangue, como eritrócitos, ativando a produção de ATP através da ativação da glicólise, o qual gera moléculas de oxigênio que permeiam os tecidos com hipóxia. Quando em contato com as plaquetas, liberam fatores de crescimento que auxiliam na reparação tecidual. Nas células endoteliais, promovem neoangiogênese e vasodilatação (Marino, 2013).

Peker et al. (2020) afirmam em um estudo com ratos que apresentavam queimaduras na pele, que o tratamento tópico com ozônio obteve um resultado significativo na cicatrização das feridas. Em outro estudo com ratos Wistar, em que feridas cutâneas foram confeccionadas no dorso, foi utilizado como tratamento óleo de copaíba ozonizado e óleo de copaíba puro, e os resultados demonstraram que os

dois tipos de óleos contribuíram para uma boa cicatrização dos defeitos cutâneos, tanto macroscópica quanto microscopicamente, afirmando assim que esses compostos também podem ser utilizados nas reparações epiteliais de animais (Silva, 2015).

Kume e colaboradores (2021), estudaram qual efeito os óleos essenciais ozonizados apresentaria no tratamento de esporotricose (micose ocasionada pelo fungo *Sporothrix schenckii*), e como resultado observaram uma ação antifúngica em um tempo médio de 20 minutos para eliminação total do agente infeccioso.

Um compilado de estudos experimentais e clínicos sobre a cicatrização de feridas cutâneas, realizado por Anzolin, Da Silveira-Kaross e Bertol (2020), afirmam que a utilização de óleo ozonizado, por via tópica, contribui para a cicatrização de feridas agudas e crônicas, devido ao aumento da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) por meio da neovascularização, além de apresentar propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antifúngicas que também auxiliam neste processo.

Xiao et al. (2017), demonstraram por meio de feridas em camundongos que o óleo ozonizado facilitou o processo cicatricial devido a migração de fibroblastos via sinalização PI3K/Akt/mTOR.

#### 4. REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

Amalsadvala T, Swain SF (2014) Cicatrização do ferimento cutâneo. In: Bojrab MJ e Monnet E **Mecanismos das doenças em cirurgia de pequenos animais**. USA p. 471-476.

Anzolin AP, Da Silveira-Kaross NL, Bertol CD (2020) Ozonated oil in wound healing: what has already been proven? **Medical gas research** 10: 54.

Araújo AL (2014) **Efeitos do Uso Tópico do Óleo de Andiroba Puro e Ozonizado em Feridas Cutâneas Experimentais Induzidas em Equinos**. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Vila Velha, Espírito Santo.

Corrêa FB, Coltro PS, Farina Junior JAF (2016) Tratamento geral e das feridas epidermólise bolhosa hereditária: indicação e experiência usando curativo de hidrofibra com prata. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica** 31: 565-572.

Davina A (2017) Management of open wounds In: Williams J e Moores **A BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction** England, 37-53.

Figueira DSR (2016) **Desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para a regeneração da pele**. 24f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade da Beira Interior, Portugal.

Fiore DS, Gonçalves GMS (2012) Avaliação do Efeito Antimicrobiano de Óleo Essencial de *Thymus vulgaris* associado a Extrato de *Zingiber offi-cinale* em Formulações de uso tópico. In: **Anais do XVII Encontro de Iniciação Científica e Anais do II Encontro de Iniciação e Desenvolvimento Tecnológico e Inovação**. Campinas: Pontifícia Universidade Católica, 1-5.

Fouyer ACG (2017) **Uso terapêutico das plantas medicinais: indicação popular x indicação com subsídio científico**. 42 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica) - IF SERTÃO- Petrolina.

Grassi LT, Grassi VMT (2021) Ação da nanopartícula de prata no processo de cicatrização de ferida: uma revisão sistemática. **Brazilian Journal of Development** 7: 58109-58131.

Guimarães GN, Pires-De-Campos MS, Leonardi GR, Dib-Giust HH, Polacow ML (2011) Efeito do ultrassom e do dexapantenol na organização das fibras colágenas em lesão tegumentar. **Brazilian Journal of Physical Therapy** 15:227-232.

---

<sup>1</sup> Baseado em: NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE DISSERTAÇÃO E TESE DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP, CÂMPUS JABOTICABAL, versão 2018.

- Hajjalyani M, Tewari D, Sobarzo-Sanchez E, Nabavi SM, Farzei MH, Abdolahi M (2018) Natural product-based nanomedicines for wound healing purposes: therapeutic targets and drug delivery systems. **International journal of nanomedicine** 13: 5023.
- Hosgood G (2017) The biology of wound healing. In: Willians J, Moores A **BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction**, England, 1-16.
- Kramer R F, Jaines VI (2022) Tratamento de ferida aberta com ozonioterapia e óleo ozonizado previamente a reparação plastia cutânea – Relato de Caso. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação** 8: 4230-4245.
- Kume JÉP, Junior RA, Vazquez GH, Kozusny-Andreani DI (2021) Atividade antifúngica de óleos essenciais in natura e ozonizados sobre o agente etiológico da esporotricose. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais** 12: 126-135.
- Lopez A (2008) Manejo de feridas acidentais. In: Tell LH **Trauma em cães e gatos**. São Paulo, 89-113.
- Lorenzi H, Matos FJA (2002) Plantas medicinais no Brasil. Nativas e exóticas. **Instituto Plantarum de estudos na flora Ltda.** 49-314.
- Lowrie Jr. DJ (2020) **Histology an Essencial Textbook**. Ohio, 185-195.
- MacPhail C e Fossum TW (2019) Cirurgia do Tecido Tegumentar. In: Fossum TW **Cirurgia de pequenos animais**. Philadelphia p.179.
- Marino BA (2013) **Efeitos da aplicação tópica do óleo de avestruz (*Struthio camelus*, Linnaeus, 1758) e óleo de avestruz ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos da linhagem Wistar**. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de Vila Velha, Espírito Santo.
- Masi ECDJD, Campos ACL, Masi FDJD, Ratti MAS, Shin Ike I, Masi RDJD (2016) The influence of growth factors on skin wound healing in rats. **Brazilian journal of otorhinolaryngology** 82: 512-521.
- Mercês PL, Araújo LA, Araújo ACV, Santos MHAS, Lemes SR, Melo-Reis PR (2017) Avaliação da atividade cicatricial da *Aloe Vera* em feridas em dorso de ratos. **Revista Estima** 15: 35-42.
- Mescher AL (2018) Skin In: Mescher AL **Junqueira's Basic Histology** Indiana, p. 372.
- Monteiro VLC (2007) Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda ou terceira intenção. **Medicina Veterinária (UFRPE)** 1: 1-8.
- Moraes DCM, Barros PO, Tamos EF, Zuim NRB (2013) Ação cicatrizante de substâncias ativas: d-pantenol, óleo de girassol, papaína, própolis e fator de crescimento de fibroblastos. **FOCO: caderno de estudos e pesquisas** 4: 83-97.
- Nascimento ASD, Tamiasso RSS, Morais SFM, Rizzo Gnatta J, Turrini RNT, Calache ALSC, De Brito Poveda V (2022) Óleos essenciais para a cicatrização e/ou prevenção

de infecção de feridas cirúrgicas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP** 56:1-8.

Nasiri E, Hosseinimehr SJ, Azadbakht M, Akbari J, Enayati-Fard R, Azizi S (2015) Effect of *Malva sylvestris* cream on burn injury and wounds in rats. **Avicenna journal of phytomedicine** 5: 341-354.

Nazaret TL (2018) **Estudo para a avaliação da ação e eficácia da formulação de Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%), aplicada via tópica, no processo de cicatrização de lesões cutâneas em cães.** 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Unesp, Jaboticabal.

Pavletic MM (2018) **Atlas Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery** Wiley Blackwell. 18.

Peker K, Yilmaz I, Demiryilmaz I, Isik A, Sayar I, Gursul C, Cankaya M, Coban TA (2020) The Effect of Ozone Treatment on Thermal Burn Wound Healing; an Experimental Study. **Konuralp Medical Journali.** 12: 511-518.

Pinto MR (2013) **Utilização de materiais de origem vegetal em produtos farmacêuticos e cosméticos de aplicação cutânea.** 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

Prado EML, Rodrigues WD, De Alencar T, Guedes RA, Villanova JCO, Severi JA (2018) Potencial terapêutico de plantas com mucilagens na cicatrização de feridas. **Tópicos Especiais em Ciência Animal VII** 198.

Presto S, Wehmeyer A, Filbry A, Rippke F, Bielfeldt S (2020) Stimulation der epidermalen Regeneration durch 5% Dexpanthenol–Ergebnisse einer Placebo-Kontrollierten Doppelblindstudie. **H&G Zeitschrift fur Hautkrankheiten** 2: 86-90.

Pristo I (2012) Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica** 6: 267-271.

Pugliese PT (1995) The skin, free radicals, and oxidative stress. **Dermatology Nursing** 7: 361-9.

Reis Filho NP, Mendes DS, Souza MSB, Arias MVB (2014) Uso de coberturas no tratamento de feridas de cães e gatos: Revisão de literatura. **Medvep – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação.** 41:1-12.

Ribeiro JO, Nazaret TL, Montanhim GL, Silva LG, Iozzi MT, Dias L, Moraes PC (2018) Efeito antisséptico e cicatrizante de formulação de uso tópico favorece reparação tecidual de feridas cutâneas em cães e gatos. **ARS Veterinaria** 34: 46-52.

Sá ALF, Paz, JC, Barroso KSN, Salviano FAP, Da Silva Leandro RI, Martins ABT (2020) O uso dos óleos essenciais na cicatrização de feridas. **Saúde Coletiva (Barueri)** 10: 2064-2079.

Silva MFA (2018) Pele In: Oliveira ALA **Técnicas Cirúrgicas em Pequenos Animais**. Rio de Janeiro 191-208.

Silva SM (2015) **Efeitos da aplicação tópica da pomada à base de Óleo de Copaíba (*Copaifera langsdorffii* desf.) puro e ozonizado em feridas experimentalmente induzidas em ratos**. 60f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Vila Velha, Espírito Santo.

Simas SM (2010) **O tratamento de feridas cutâneas entre cães e gatos**. 112 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - UFRS, Rio Grande do Sul.

Soares EBA (2019) **Avaliação morfológica e morfométrica de feridas cutâneas em ratos *Wistar*, tratadas com pomada composta por alecrim da Chapada (*Lippia gracilis Schauer*) e Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 60 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – UFRPE, Recife.

Souza CHM, Mann FA (2011) Basic wound healing and wound closure. In: Mann FA, Constantinescu GM, Yoon HY **Fundamentals of small animal surgery**. India,176-186.

Souza MKM, Cavalcante SPC, Souza CI, Silva LTR, Amaral CRA, Coelho MCOC (2013) Produção do gel da babosa (*Aloe vera*) para cicatrização de feridas cutâneas de cães e gatos. In: **XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX. Anais** Recife: UFRPE, 2013. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt->. Acesso em: 12 dez.

Tamboorena T, Escoto DF, Pereira G, Goulart AR, Puntel RL, Folmer V (2011) Análise do perfil antioxidante de diferentes extratos *Phyllanthus niruri*, *Centelha asiaticall* e *Malva* sp. **Subprojeto Ciências da Natureza** 1-4.

Vargas RT (2018) **Prata Nanoparticulada para o controle da mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*: validação de métodos analíticos e detecção em leite, músculo, rim e fígado**. 183f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Vítor MRC (2015) **Proposta de uma escala para avaliação do processo de cicatrização de ferida cirúrgica no cão e no gato**. 129 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade de Lisboa, Portugal.

Waldron DR, Zimmerman-Pope N (2002) Superficial Skin Wounds In: Slatter D **Textbook of Small Animal Surgery**. Philadelphia, 259-273.

Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K, Li L, Xu X (2017) Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Bioscience reports** 37.

## **CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOLUÇÃO OZONIZADA À BASE DE D-PANTENOL, PRATA NANOPARTICULADA, ÁCIDO SALICÍLICO E ÓLEOS ESSENCIAIS NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM *Rattus norvegicus* (Wistar)**

**RESUMO** - Feridas cutâneas representam alta prevalência no atendimento clínico de pequenos animais. No entanto, seu tratamento é um desafio comum, pois, em muitos casos, possuem manejo de longo prazo o que pode gerar grande morbidade aos pacientes e desgastes aos tutores. Há diversidade considerável de produtos disponíveis no mercado, os quais buscam redução no tempo do processo cicatricial, entretanto muitos deles são caros e por vezes até mesmo tóxicos à longo prazo. Objetivou-se então com este estudo, avaliar a aplicação de uma opção terapêutica, administrado por via tópica, por meio da combinação de sete compostos naturais ozonizados a base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva), para o tratamento por segunda intenção de feridas cutâneas em ratos (*Rattus norvegicus*). Para isso, foram utilizados 30 ratos, distribuídos aleatoriamente no grupo controle (GC) e grupo tratado (GT). Foram confeccionados dois defeitos na região dorsal de cada animal, em que no defeito cranial foi utilizado para avaliação da evolução da cicatrização por meio de planimetria digital, e o defeito caudal para avaliação macroscópica. As avaliações e a aplicação das soluções ocorreram em momentos pré-determinados T3 (três dias de pós-operatório), T7 (sete dias de pós-operatório) e T14 (quatorze dias de pós-operatório). Em relação à mensuração da área (cm<sup>2</sup>), foi observado diferença significativa entre os grupos no terceiro dia de avaliação, em que o grupo tratado apresentou maior área. Quanto à diferença de área nos diferentes momentos de avaliação, foi constatada diferença significativa do grupo controle (T3 – T7), em relação às outras diferenças de área (T7-T14; T3-T14) dentro deste grupo e quando comparado com o grupo tratado. Quando analisados os resultados obtidos na avaliação macroscópica, observou-se que houve diferença significativa em relação às variáveis inflamação, necrose e tecido de granulação, em que o grupo tratado apresentou no terceiro dia de experimento número maior de animais com inflamação, necrose e tecido de granulação quando comparado com o grupo controle. Tanto a solução salina 0,9% quanto a solução ozonizada contribuíram para a cicatrização das feridas, fazendo-se assim, necessários mais estudos em relação à dose/efeito da solução ozonizada.

**Palavras-chave:** fitoterápicos, lesões cutâneas, processo cicatricial, reparação de feridas.

## 1. INTRODUÇÃO

As feridas cutâneas apresentam alta prevalência no atendimento clínico veterinário, e são causadas por agentes físicos, químicos ou biológicos. Tais danos acarretam reparação tecidual, a qual é um processo complexo que visa manter a integridade do organismo (Silva, 2015).

O processo cicatricial possui várias fases, as quais são interdependentes e ocorrem simultaneamente, visando a reparação tissular. Estas fases estão divididas em fase inflamatória, fase de proliferação ou regeneração e fase de maturação. Há anos, o homem tenta interferir no processo de cicatrização de feridas, com o intuito de minimizar o seu tempo e melhorar cada vez mais a qualidade do mesmo (Ramos, 2015).

Neste sentido, várias medidas terapêuticas têm sido estudadas para auxiliar na reparação das feridas cutâneas, principalmente nos animais de companhia. Estudos envolvendo compostos naturais como d-pantenol, prata nanoparticulada, ácido salicílico, óleos essenciais e ozônio diluído em água ou óleo, têm sido desenvolvidos para diminuir os gastos para o tutor, para facilitar o tratamento referente a aplicação tópica, para amenizar o estresse do paciente por propiciar um tratamento eficaz em um curto período de tempo (Almeida, 2015).

Mediante ao exposto anteriormente, objetivou-se com este trabalho avaliar a aplicação tópica de uma solução terapêutica ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais, para o tratamento por segunda intenção de feridas cutâneas em cobaias (*Rattus norvegicus*).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi executada nas dependências do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo. A metodologia deste experimento respeitou as diretrizes dos Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de

Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo número 2898/21, da mesma instituição.

## 2.1 Seleção dos animais

Foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus*, variação Wistar), adultos, machos, com peso médio de 400g. Os animais foram precedentes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Botucatu, e durante todo o experimento mantidos em gaiolas individuais em condições de alimento e água *ad libitum*.

Estes animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos distintos: 15 ratos no grupo controle (GC), tratados com solução salina estéril 0,9%, e 15 ratos no grupo tratado (GT) utilizando solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essencias (tomilho, *Aloe vera*, alecrim e malva).

O protocolo anestésico utilizado foi composto por acepromazina<sup>2</sup> (dose de 3mg/kg) aplicada via subcutânea e cetamina<sup>3</sup> (dose de 10mg/kg) via intraperitoneal.

## 2.2 Descrição dos produtos aplicados

As soluções foram acondicionadas em frascos âmbar para preservá-las da luz ultravioleta (UV) e identificadas como solução A utilizada no grupo controle (GC), e solução B, utilizada no grupo tratado (GT) (Figura 1).

---

<sup>2</sup> Apromazin 1% ® Injetável, Syntec

<sup>3</sup> Cetamin 10%® Injetável, Syntec



**Figura 1.** Imagem fotográfica das Soluções A e B acondicionadas em frascos âmbar. Solução A correspondente à solução salina estéril 0,9% e Solução B correspondente à solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais.

A formulação, empresa fabricante, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação dos produtos estão demonstrados no Quadro 1 e 2.

**Quadro 1.** Formulação, empresa fabricante, via de administração, indicação de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação A – Solução Salina Estéril 0,9%.

<b>Formulação</b>	<b>Solução Salina Estéril 0,9%.</b>
Via de administração	Tópica (“spray”).
Indicação de aplicação	Borrifar o produto na área lesionada em quantidade suficiente para promover a total cobertura da mesma.
Condições de conservação	Conservar em local seco, fresco, ao abrigo da luz solar e sempre fechado. Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos. Conservar em temperatura entre 15°C a 30°C.
Apresentação e identificação	Produto acondicionada em frasco “spray” e identificado pela letra “A”.

**Quadro 2.** Formulação, empresa fabricante, via de administração, indicação de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação B – Solução Ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais.

<b>Formulação</b>	<b>Solução ozonizada de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais.</b>
Empresa fabricante	INOVET
Via de administração	Tópica (“spray”).
Indicação de aplicação	Borrifar o produto na área lesionada em quantidade suficiente para promover a total cobertura da mesma.
Condições de conservação	Conservar em local seco, fresco, ao abrigo da luz solar e sempre fechado. Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos. Conservar em temperatura entre 15°C a 30°C
Apresentação e identificação	Produto acondicionada em frasco “spray” e identificado pela letra “B”.

### 2.3 Procedimento cirúrgico

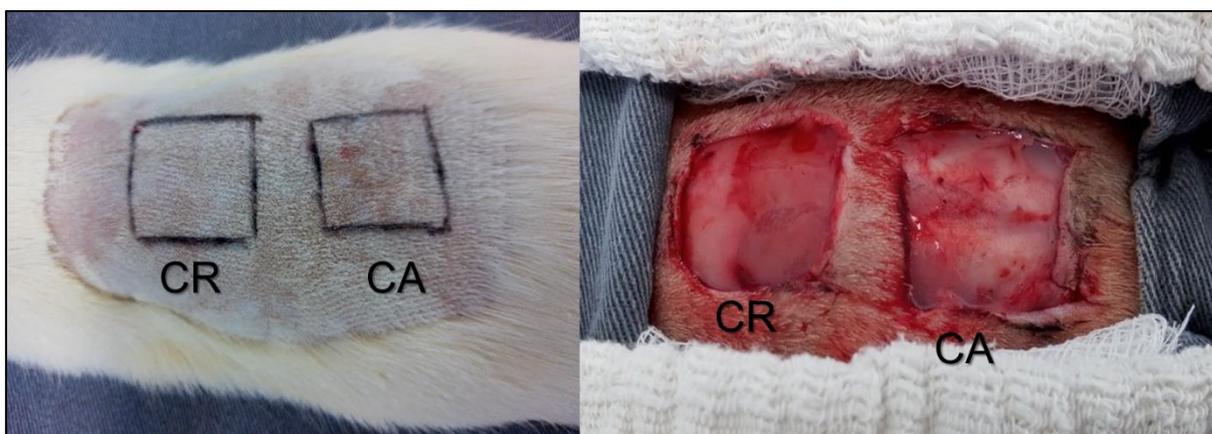
Após a indução anestésica, cada animal foi posicionado em decúbito ventral, e submetido a ampla tricotomia e antissepsia com clorexidina<sup>4</sup> e álcool. Dois defeitos

---

<sup>4</sup> Riohex 2%® Rioquímica

cutâneos foram demarcados com caneta dermatográfica *Texta 700®* e régua na região dorsal do rato, na forma quadrangular, com cada lado medindo 1 cm. Entre as figuras geométricas manteve-se um espaço de 0,5 cm (Figura 2A). Os dois defeitos foram realizados para avaliar a cicatrização por segunda intenção, sendo que, no defeito cranial, a avaliação foi realizada por meio de decalque da ferida, para posterior mensuração da área (cm<sup>2</sup>). Já o defeito caudal, foi utilizado para avaliação macroscópica da ferida. Para a incisão utilizou-se uma lâmina de bisturi número 15. O tecido subcutâneo foi afastado por divulsão, e todo fragmento composto por pele e subcutâneo foi descartado (Figura 2B). Em seguida, foi realizado curativo com bandagem, composta por gaze estéril umedecida com a solução A para o grupo controle e solução B para o grupo tratado, seguido de atadura, fixados com esparadrapo.

No pós-operatório imediato, os animais receberam morfina<sup>6</sup> (3mg/kg a cada 12 horas), por via subcutânea, nos três primeiros dias.



**Figura 2.** Representação fotográfica da sequência dos procedimentos realizados. Em **(A)** marcação dos defeitos na região dorsal em rato Wistar com caneta dermatográfica *Texta 700®* e régua, na forma quadrangular, com cada lado medindo 1 cm e espaço entre as figuras geométricas de 0,5 cm. Em **(B)** os dois defeitos cutâneos confeccionados, após procedimento cirúrgico, na região dorsal do rato, para análise da cicatrização por segunda intenção, sendo que no defeito cranial (CR) esta análise foi realizada por meio de decalque da ferida, para posterior mensuração da área (cm<sup>2</sup>). Já o defeito caudal (CA), foi utilizado para avaliação macroscópica da ferida.

<sup>5</sup> Caneta dermatográfica *Texta 700®*

<sup>6</sup> Dimorf – Sulfato de Morfina 10mg/ml®, Cristália

## 2.4 Avaliação macroscópica das feridas

As trocas dos curativos foram realizadas nos tempos T3 ou 3° dia, T7 ou 7° dia e T14 ou 14° dia de pós-operatório, em ambos os grupos. Para a retirada do curativo, foi instilado lidocaína<sup>7</sup> (dose 0,5mg/kg) sobre a gaze que cobria a ferida para diminuir o desconforto dos animais caso esta estivesse aderida. Após a retirada das bandagens, a avaliação macroscópica das feridas foi realizada por três avaliadores graduados em Medicina Veterinária, em que as variáveis de presença de sinais de inflamação, necrose, edema, crosta, tecido de granulação, secreção, aspecto da secreção, coloração e aderência foram classificadas em ausente, discreta, moderada e intensa (Quadro 3).

**Quadro 3.** Classificação e característica macroscópica durante a cicatrização das feridas cutâneas realizadas no dorso de ratos Wistar, de acordo com as variáveis macroscópicas observadas.

<b>Classificação</b>	<b>Característica macroscópica</b>
<b>Ausente</b>	Quando não apresentava a alteração.
<b>Discreto</b>	Quando menos de 25% da ferida apresentava a característica avaliada.
<b>Moderado</b>	Quando 25-75% da ferida apresentava a característica avaliada.
<b>Intenso</b>	Quando mais de 75% da ferida apresentava a característica avaliada

## 2.5 Mensuração da área das lesões

Posteriormente à avaliação macroscópica, foi realizado no defeito cranial um decalque da lesão utilizando-se película translúcida transparente, previamente esterilizada, para mensuração de sua área. Esta película foi sobreposta à ferida e o desenho foi obtido pela demarcação de toda circunferência com o auxílio de caneta esferográfica de ponta fina *Piloto*<sup>8</sup>, como representado na Figura 3A. Ao lado do

<sup>7</sup> Lidocaína 2% Sem Vaso Constrictor Injetável 20ml® (Xylocaína), Hipolabor

<sup>8</sup> Caneta esferográfica de ponta fina *Piloto*®

decalque, foi desenhado um traço com 1 cm de comprimento para servir de escala no processamento computacional, como demonstrado na Figura 3B.

Em seguida, o curativo foi reaplicado, seguindo a mesma conduta aplicada no pós-operatório imediato. No sétimo e 14º dias, foram realizados os mesmos seguimentos, avaliação macroscópica da ferida e decalque da lesão. Os animais foram eutanasiados no último dia de experimento com sobredose anestésica.



**Figura 3.** Imagem fotográfica da troca de curativo em que foi realizado em (A) decalque da lesão com película translúcida transparente sobreposta à ferida, previamente esterilizada, para demarcação de toda sua circunferência por meio de caneta esferográfica de ponta fina Piloto® para mensuração da área. Em (B) desenho do traço de 1cm de comprimento ao lado do decalque da ferida, utilizado como escala para o processo computacional.

## 2.6 Planimetria digital do decalque

Os registros do decalque das feridas, realizados nas películas translúcidas foram digitalizados e, posteriormente, analisados pelo “*Software ImageJ*”<sup>9</sup> versão 1.5j8, com o objetivo de calcular a área das mesmas por meio da conversão de “*pixels*” em  $\text{cm}^2$ .

Para essa padronização, utilizou-se a ferramenta “*Straight Line Selection*”, por meio do traço desenhado de 1 cm ao lado da ferida e, em seguida, selecionou-se a opção “*Set Scale*” na guia “*Analyse*”. Posteriormente, isolou-se a imagem a ser avaliada com o auxílio da ferramenta “*Rectangular Selections*” e da opção “*Crop*” na guia “*Image*” (Figura 8B). Para a imagem ser segmentada, selecionou-se a guia

<sup>9</sup> Wayne Rasband, National Institute of Health, USA

“Image”, a opção “Adjust” seguida da opção “Threshold Color”. Nessa janela “Threshold Color”, a opção “B&W” foi selecionada, e com isso a imagem foi convertida em escala preto e branco. Ainda na guia “Image”, foi escolhida a opção “Type” e em seguida “8-bit” para a binarização da imagem. Em seguida, na guia “Process”, a opção “Binary” foi escolhida, seguida da opção “Close-“, para colorir qualquer ponto dentro da imagem que não estivesse em preto. Após a cobertura de toda área a ser avaliada, na guia “Analyse” a opção “Analyse Particles” foi selecionada para a mensuração da área em cm<sup>2</sup> (Apêndices).

## 2.7 Avaliação dos dados e análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no *Software R* (versão 3.6.3). O valor da área inicial de cada ferida obtido em T0, pós-operatório imediato, foi padronizado para os dois grupos estudados, sendo os valores de áreas obtidos nos momentos subsequentes calculados através da fórmula:  $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$ , onde AIL se refere à área inicial da lesão, AFL à área final da lesão e  $\Delta A$  à diferença das áreas de lesão. Nos dados de área e diferença entre as áreas em função dos tempos de avaliação o efeito do grupo e do tempo (dia) foi avaliado pelo teste de Friedman, e sua interação utilizado o teste de Kruskal-Wallis e post teste de Dunns. Diante de interação significativa, utilizou-se o Software estatístico GraphPad Prism (versão 6.01) para a demonstração dos gráficos.

Para a avaliação macroscópica das feridas, que foram classificadas em ausente, discreta, moderada e intensa, referentes à presença de sinais de inflamação, necrose, edema, crosta, tecido de granulação, secreção, aspecto da secreção, coloração e aderência, e realizada por três avaliadores, inicialmente avaliou-se a variação entre esses avaliadores por meio do teste de Kruskal-Wallis e post teste de Dunns e o método de concordância de Bland-Altman. Nos casos em que estas variações não se apresentaram significativas, realizou-se então mediana entre os três avaliadores. O teste exato de Fisher foi utilizado para comparar os grupos em relação à proporção do aparecimento dessas variáveis. Os valores resultantes de cada variável apresentam-se como a mediana  $\pm$  a faixa interquartil (IQR). Em todos os testes a significância foi declarada a  $P \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

Durante a execução do experimento, seis vieram a óbito sem causa definida ao longo dos dias de avaliação, sendo que o grupo controle ficou com 14 animais e o grupo tratado com 10 animais.

Durante a retirada das bandagens, instilava-se lidocaína sobre a gaze que recobria a lesão, devido à aderência que havia no local, para que o animal não sentisse dor no momento da retirada do curativo.

#### 3.1 Avaliação por planimetria

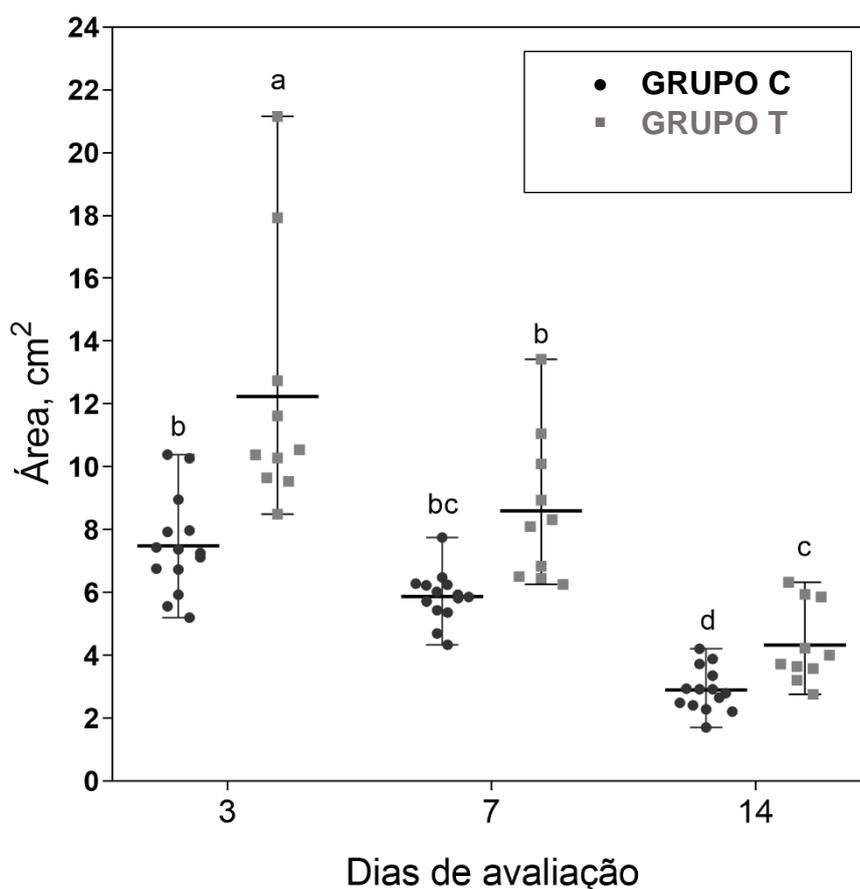
Em relação à mensuração da área (cm<sup>2</sup>) realizada por meio de planimetria do decalque da ferida, não foram observadas diferenças significativas (P=0,135), quando comparados os diferentes dias de avaliação em cada grupo. Porém o grupo tratado apresentou tendência em apresentar maior área (P=0,083), e também maior diferença de área (P=0,085) entre os tempos de avaliação em relação ao grupo controle, como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Mediana ± faixa interquartil das áreas (cm<sup>2</sup>) e diferença entre as áreas em função dos grupos controle e tratado e tempos de avaliação (dia 3, 7 e 14).

	Grupo		P-valor		
	Controle	Tratado	Grupo	Tempo	G × T
Área (cm <sup>2</sup> )	5,76 ± 3,30	8,21 ± 4,47	0,083	0,135	< 0,001
Diferença área (cm <sup>2</sup> )	2,79 ± 2,84	5,22 ± 4,30	0,085	0,140	< 0,001

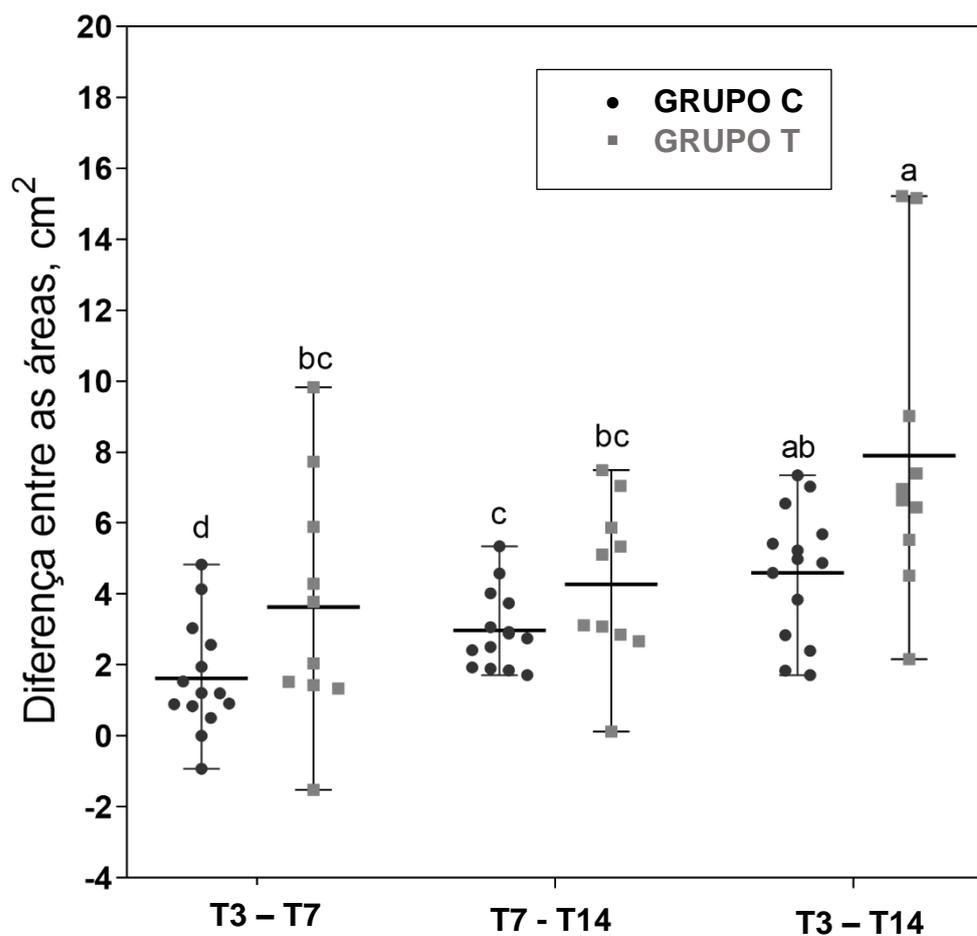
Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam significância pelo teste de Friedman ( $p \leq 0,05$ ). G × T = interação do grupo e os dias de avaliação avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis.

Quando observados os valores das áreas (cm<sup>2</sup>), houve interação significativa entre os grupos e os dias de avaliação, com  $p < 0,001$ , em que a área do grupo tratado no terceiro dia foi maior (10,46 cm<sup>2</sup>), quando comparada com os outros dois dias de avaliação (T7 e T14) deste grupo e com os três dias de avaliação do grupo controle, como apresentado na Figura 4. No 14° dia de avaliação, ambos os grupos apresentaram áreas menores em relação ao primeiro dia de avaliação, sendo que no GC a área (2,86 cm<sup>2</sup>) foi menor que o GT (3,86 cm<sup>2</sup>).

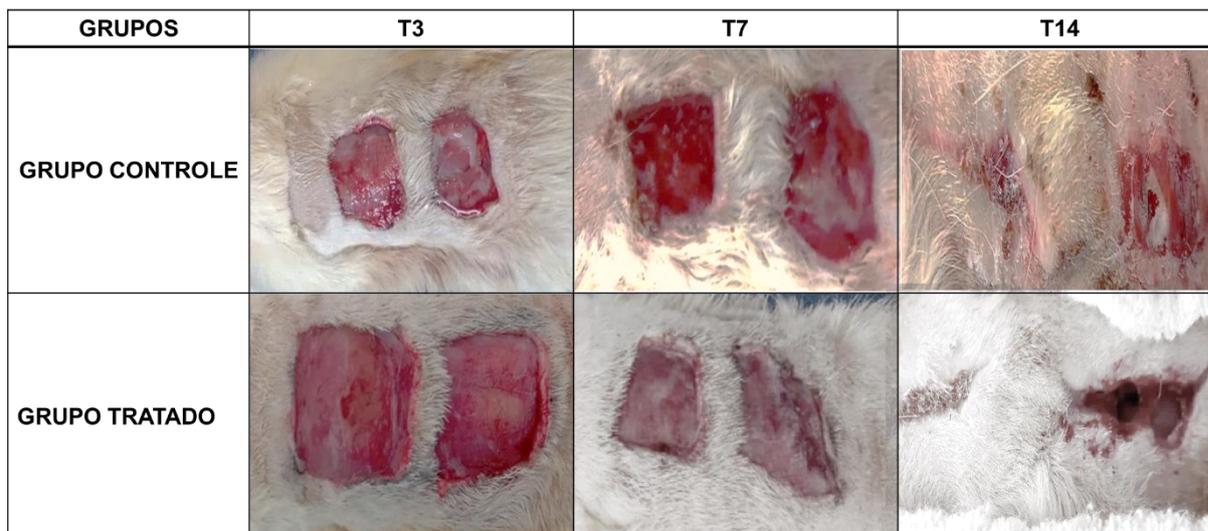


**Figura 4.** Mediana  $\pm$  faixa interquartil das áreas (cm<sup>2</sup>) durante os dias de avaliação do grupo controle e grupo tratado. Letras diferentes (a, b, c, d) indicam significância da interação do grupo e os dias de avaliação avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ).

A diferença entre as áreas nos dias de avaliação apresentou interação significativa entre os grupos,  $p < 0,001$ , sendo que a diferença de área (T3-T14) do GC foi maior que as diferenças T3-T7 e T7-T14 dentro deste grupo e quando comparada com as diferenças de tempo do GT, como demonstrado na Figura 5. A diferença de área T3-T7 (1,20cm<sup>2</sup>) e T7-T4 (2,82 cm<sup>2</sup>) do grupo controle foram as menores observadas neste experimento. No decorrer do experimento esta diferença de mensuração da área desaparece, e ambos os grupos concluem seu processo cicatricial semelhantemente, como mostrado na Figura 6.



**Figura 5.** Mediana  $\pm$  faixa interquartil da diferença entre as áreas (cm<sup>2</sup>) quando comparado os dias de avaliação 3 e 7 (T3-T7), 7 e 14 (T7-T14) e 3 e 14 (T3-T14) do Grupo Controle e Grupo Tratado. Letras diferentes (a, b, c, d) indicam significância da interação do grupo e os dias de avaliação avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ).



**Figura 6.** Imagem demonstrando a evolução do processo cicatricial, nos tempos de avaliação T3, T7 e T14 dos grupos controle e tratado.

### 3.2 Avaliação Macroscópica

Na avaliação macroscópica das feridas, algumas diferenças foram observadas entre os grupos, em relação às variáveis inflamação, necrose e tecido de granulação. No T3 e T7 dia de avaliação, a proporção dos escores ausência, discreta, moderada e intensa de inflamação, foi similar para ambos os grupos. Porém, no décimo quarto dia, houve diferença significativa ( $p < 0,028$ ) quanto a ausência de inflamação, em que o grupo controle não apresentou nenhum indivíduo com esta característica, diferentemente do grupo tratado em que três de dez animais, apresentaram inflamação com escore discreto.

Em relação à presença de necrose, apenas no terceiro dia de avaliação foi observada diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,005$ ), sendo que 14,3% dos animais do GC apresentaram esta variável, diferentemente do GT, em que 70% dos animais tiveram necrose discreta. Nos outros dois dias de experimento, a proporção de necrose com os escores ausente, discreta, moderada e intensa, foram similares em ambos os grupos, como demonstrado na Tabela 2.

Quando os grupos foram comparados em relação à presença de edema, não foi observada diferença significativa nos três dias de avaliação, como apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Proporção da presença de inflamação (PINF), presença de necrose (PNEC) e presença de edema (EDEMA) em função dos grupos (A = Controle e B= Tratado) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).

\* ocorrência de diferença significativa ( $p \leq 0,005$ )

	GRUPO A	GRUPO B	P-valor	GRUPO A	GRUPO B	P-valor	GRUPO A	GRUPO B	P-valor
	Dia 3			Dia 7			Dia 14		
<b>PINF</b>									
<i>Ausente</i>	13/14	9/10	0,802	8/14	7/10	0,577	14/14	7/10	0,028*
<i>Discreta</i>	0/14	1/10	0,226	5/14	3/10	0,577	0/14	3/10	0,028*
<i>Moderada</i>	1/14	0/10	0,388	1/14	0/10	0,388	0/14	0/10	0,999
<i>Intensa</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<b>PNEC</b>									
<i>Ausente</i>	12/14	3/10	0,005	12/14	9/10	0,754	14/14	10/10	0,999
<i>Discreta</i>	2/14	7/10	0,005*	2/14	1/10	0,754	0/14	0/10	0,999
<i>Moderada</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Intensa</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<b>EDEMA</b>									
<i>Ausente</i>	13/14	9/10	0,802	13/14	9/10	0,802	14/14	10/10	0,999
<i>Discreta</i>	1/14	0/10	0,388	1/14	1/10	0,802	0/14	0/10	0,999
<i>Moderada</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Intensa</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999

Durante os três dias de avaliação, não foram observadas diferença significativa entre os grupos em relação à presença de crosta. Em relação à presença de tecido de granulação, houve uma diferença significativa ( $p=0,018$ ) entre os grupos no terceiro dia de avaliação, em que GC apresentou menos animais com esta característica (6/14), quando comparado com GT em que nove dos 10 animais apresentaram essa variável, como apresentado na Tabela 3 e Figura 7.

As variáveis relacionadas à quantidade de secreção e aderência não apresentaram diferença significativa entre os grupos durante todo o estudo. Ambos apresentaram entre 90% a 100% de ausência de secreção, enquanto no quesito aderência, foi observado um escore intenso em torno de 100% para ambos, como mostra a Tabela 3.

**Tabela 3.** Crosta, granulação, secreção e aderência, em função dos Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).

\* ocorrência de diferença significativa

	GC	GT	P-valor	GC	GT	P-valor	GC	GT	P-valor
	Dia 3			Dia 7			Dia 14		
<b>CROSTA</b>									
<i>Ausente</i>	13/14	9/10	0,802	11/14	9/10	0,458	5/14	3/10	0,577
<i>Discreta</i>	0/14	0/10	0,999	1/14	0/10	0,388	5/14	6/10	0,239
<i>Moderada</i>	1/14	0/10	0,388	1/14	1/10	0,458	2/14	1/10	0,754
<i>Intensa</i>	0/14	1/10	0,226	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<b>GRANULAÇÃO</b>									
<i>Ausente</i>	4/14	1/10	0,269	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Discreta</i>	6/14	9/10	0,018*	3/14	0/10	0,117	3/14	5/10	0,143
<i>Moderada</i>	4/14	1/10	0,269	10/14	9/10	0,269	9/14	5/10	0,484
<i>Intensa</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	1/10	0,226	1/14	0/10	0,388
<b>SECREÇÃO</b>									
<i>Ausente</i>	13/14	9/10	0,802	13/14	10/10	0,388	14/14	10/10	0,999
<i>Discreta</i>	1/14	0/10	0,388	1/14	0/10	0,404	0/14	0/10	0,999
<i>Moderada</i>	0/14	1/10	0,226	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Intensa</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<b>ADERÊNCIA</b>									
<i>Ausente</i>	0/14	1/10	0,226	1/14	0/10	0,388	1/14	0/10	0,388
<i>Discreta</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Moderada</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Intensa</i>	14/14	9/10	0,226	13/14	10/10	0,388	13/14	10/10	0,388



**Figura 7.** Representação fotográfica das feridas com tecido de granulação no terceiro dia de avaliação macroscópica. Em **(A)**, animal do grupo controle apresentando os defeitos cutâneos com algumas áreas preenchidas por tecido de granulação, de coloração vermelho claro, brilhante e pouco granuloso. Em **(B)**, animal do grupo tratado apresentando as feridas com preenchimento total por tecido de granulação, de coloração vermelho intenso, brilhante e granuloso.

Quando avaliado a característica de coloração das feridas, não foi observado diferença entre os grupos em todos os dias de experimento, sendo que todas foram classificadas com coloração rósea. Do mesmo modo, não ocorreu diferença significativa entre os grupos em relação ao aspecto da secreção, nos três dias de avaliação, como apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Aspecto da secreção e coloração da ferida em função dos Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) e tempos de avaliação (dias 3, 7 e 14).

	GC	GT	P-valor	GC	GT	P-valor	GC	GT	P-valor
	Dia 3			Dia 7			Dia 14		
<b>ASPECTO SECREÇÃO</b>									
<i>Ausente</i>	13/14	9/10	0,802	13/14	10/10	0,388	14/14	10/10	0,999
<i>Exsudato inflamatório</i>	0/14	1/10	0,226	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<i>Purulento</i>	1/14	0/10	0,388	1/14	0/10	0,388	0/14	0/10	0,999
<i>Hemorrágico</i>	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
<b>Coloração da ferida</b>									
PÁLIDA	1/14	0/10	0,388	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
RÓSEA	13/14	10/10	0,388	14/14	10/10	0,999	14/14	10/10	0,999
AZULADA	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999
ENEGRECIDA	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999	0/14	0/10	0,999

#### 4. DISCUSSÃO

De acordo com Ribeiro et al. (2013), há vários relatos na literatura científica de produtos fitoterápicos com diversas indicações terapêuticas, sendo que muitos são utilizados na farmacopeia brasileira.

Neste estudo, utilizou-se a solução ozonizada de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais para avaliar sua eficácia na cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas induzidas em ratos Wistar. Na revisão de literatura não foi encontrado experimentos utilizando esta mesma formulação. Encontrou-se apenas estudos com aplicação tópica desses compostos isoladamente ou combinados com outros compostos para avaliar a cicatrização de feridas em ratos.

Ribeiro et al. (2013), realizaram um estudo em equinos para avaliar a eficácia de um produto comercial à base da associação de fitoterápicos (tintura de *Calendula officinales*, tintura de *Striphnodendron barbatiman*, tintura de *Synphytum officinales*, *Aloe vera*, tintura de *Matricaria chamomilla*, *Echinacea angustifolia* e tintura de própolis) na cicatrização de lesões cutâneas induzidas, e quando analisaram a evolução cicatricial através da mensuração das áreas das feridas, observaram que ao longo dos 28 dias de tratamento não houve diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado. Da mesma forma neste experimento, não foi observada

diferença significativa durante os momentos de avaliação em relação à mensuração da área em cada grupo.

No terceiro dia do presente experimento, porém, constatou-se que o grupo tratado apresentou um valor maior de área quando comparado com os outros dias de avaliação dentro deste grupo e em relação ao grupo controle. Estes achados corroboram as observações feitas por Nazaret (2018) em seu estudo que comparava a ação cicatricial do fármaco à base de tartarato de ketanserina e asiaticosídeo com solução salina estéril 0,9%, onde nos dias três e sete de avaliação, o grupo tratado também apresentou três pacientes com lesões maiores em relação ao dia zero de avaliação. De acordo com Madison e Gronwal (1992) na fase inicial do processo de contração da ferida, as bordas da lesão se organizam por meio da retração na forma centrífuga, fazendo com que sua área aumente nesse período. Barber (1990), afirma que imediatamente após o traumatismo ocorre aumento da área da ferida por conta da associação de perda de tensão e edema da pele. Além desses processos mencionados por Madison e Gronwal (1992) e Barber (1990), provavelmente a solução ozonizada prolongou a fase inflamatória, a qual tem duração de 48 a 72 horas, como observado nos resultados obtidos.

Em um estudo realizado por Vieira et al. (2008), onde compararam as soluções de própolis 20%, chá verde e solução fisiológica 0,9% no tratamento de feridas induzidas em ratos, foi observado que no grupo tratado com solução fisiológica as feridas cicatrizaram na mesma proporção dos outros dois grupos, sendo constatado que apenas a manutenção da ferida limpa já auxilia no processo cicatricial. Esses achados corroboram os observados neste estudo, em que o grupo controle apresentou maior diferença de área (T3-T14), em comparação às suas outras diferenças de área (T3-T7 e T7-T14), e com todas as diferenças de área do grupo tratado. Tais observações sugerem que a solução ozonizada além de interferir na fase inflamatória do processo cicatricial, também não apresentou a eficácia esperada quando comparada com a solução salina 0,9% na cicatrização das feridas.

No decorrer dos dias três e sete de experimento, não foram observados sinais de inflamação em ambos os grupos, sendo que apenas no décimo quarto dia, três animais do grupo tratado foram caracterizados com escore discreto em relação à esta variável, resultando em diferença significativa quando comparado ao grupo controle,

em que nenhum animal apresentou esta característica. Diante deste achado, acredita-se que algum componente da solução ozonizada possa ter interferido diretamente na fase inflamatória, como mencionado anteriormente. De acordo com Bocci (2006), para cada fase da lesão, deve-se utilizar concentrações diferentes de óleo ozonizado, para que ocorra as ações anti-inflamatória, regenerativa e remodeladora. O indicado para feridas contaminadas é uma concentração mais alta de ozônio, por volta de 20 microgramas/ml, em contrapartida, para feridas que se encontram na fase de proliferação e remodelação indica-se soluções com 5 microgramas/ml de ozônio. Diante do exposto, faz-se necessário mais estudos para verificar se é específico da espécie utilizada neste experimento (*Rattus norvegicus*) este tipo de reação cutânea, quando aplicado por via tópica este tipo de solução, ou se as concentrações dos compostos utilizados nesta solução, principalmente a concentração de ozônio, possam ter interferido de alguma forma no retardo da fase inflamatória do processo cicatricial do grupo tratado.

O GT apresentou diferença significativa em relação à variável necrose, no terceiro dia de avaliação, quando comparado com o GC. Provavelmente, este achado se deve também à maior duração da fase de inflamação da ferida, em que foi observado uma maior área da ferida, evidenciando que a solução não apresentou efeito benéfico em relação a ocorrência desta variável. Em contrapartida, não houve diferença significativa entre os grupos quando analisado à presença de crosta. De acordo com Monteiro et al. (2007), faz-se importante no tratamento de feridas a realização de curativos, pois impede o ressecamento de substâncias importantes como fibrina e leucócitos, evitando formação de crostas. Este resultado pode ter ocorrido também devido à presença de Ácido Salicílico da solução ozonizada utilizada no grupo tratado, que possui propriedades queratolíticas. Corrêa, Coltro e Farina Junior (2016), realizaram estudo sobre o tratamento de epidermólise bolhosa hereditária em humanos, e constataram que um dos cuidados realizados com os pacientes para diminuir as crostas presentes nas feridas, é o uso desse ácido, por ter ação de descamação e dissolução da camada córnea da epiderme, estimulando assim a regeneração epidermal por meio da esfoliação. Pinto (2013) também referiu que a aplicação de ácido salicílico no tratamento de psoríase em placas em humanos, apresentou efeitos esfoliantes nas lesões com hiperqueratose, diminuindo as crostas,

corroborando os achados deste estudo. De acordo com Mandelbaum et al. (2003), os curativos são importantes por produzirem umidade local, impedindo assim a formação de crosta, proporcionando uma melhora de 35 a 45% da reepitelização da ferida, confirmando os resultados obtidos neste estudo, em que curativos foram realizados logo após o pós-operatório e nos demais dias de avaliação.

Quando analisada a variável tecido de granulação, observou-se que no terceiro dia de experimento o GT se sobressaiu em relação ao GC, apresentando nove de dez animais com esta característica. A utilização da solução ozonizada à base D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essenciais, pode ter favorecido o aparecimento do tecido de granulação no grupo tratado, pois de acordo com Guimarães e colaboradores (2011), o D-Pantenol, quando aplicado via tópica, favorece a ativação de fibroblastos e acelera a epitelização. Verificou-se, que o tecido de granulação apresentava coloração vermelho intenso, brilhante e granuloso. Araújo (2010), afirma que uma das principais características envolvidas na cicatrização é a presença de tecido de granulação, o qual surge por volta do segundo ou terceiro dia após um trauma, corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

Diante de todos os resultados obtidos sobre as variáveis macroscópicas, torna-se indispensável avaliação microscópica para comparar os grupos e verificar se realmente a solução ozonizada teve o mesmo efeito que a solução salina 0,9% em relação ao processo cicatricial das feridas.

## **5. CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a aplicação tópica da solução ozonizada à base de D-Pantenol, Prata Nanoparticulada, Ácido Salicílico e Óleos Essencias utilizada neste estudo, não exerceu efeito expressivo sobre a cicatrização das feridas cutâneas induzidas em ratos, quando comparada com a solução salina 0,9%. Ambas as soluções contribuíram para o processo cicatricial durante os quatorze dias de avaliação.

## 6. REFERÊNCIAS<sup>10</sup>

Almeida C. et al. (2015) Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.): saber de erveiros e feirantes em Pelotas (RS). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 17: p. 722-729.**

Araújo AKL (2010); **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouretea* sp.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Ceará.

Barber SM (1990) Second intention wound healing in the horse: The effect of bandages and topical corticosteroids. In: **Annual Convention of the American Association Equine Practitioners Proceedings.** 35: 107-116.

Bocci VA (2006) Scientific and medical of ozone therapy: State of the art. **Revista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia 5: 93-104.**

Corrêa FB, Coltro OS, Farina Junior JAF (2016) Tratamento geral e das feridas epidermólise bolhosa hereditária: indicação e experiência usando curativo de hidrofibra com prata. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica 31: 565-572.**

Guimarães GN, Pires-de-Campos MS, Leonardi GR, Dib-Giusti HH, Polacow ML (2011) Efeito do ultrassom e do dexapantenol na organização das fibras colágenas em lesão tegumentar. **Brazilian Journal of Physical Therapy 15: 227-232.**

Madison JB, Gronwall RR (1992) Influence of wound contraction in horses. **Am. J. Vet. Res. 53: 1575-1578.**

Mandelbaum SH et al. (2003) Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia 78:393-410.**

Monteiro VCL, Coelho MCOC, Carrazzoni PG, Mota RA, Melo FAD, Carvalho EC, Andrade LSS (2007) Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda ou terceira intenção. **Medicina Veterinária 1:1-8.**

Nazaret TL **Estudo para a avaliação da ação e eficácia da formulação de Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%), aplicada via tópica, no processo de cicatrização de lesões cutâneas em cães.** 2018. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Unesp, Jaboticabal.

Pinto MR **Utilização de materiais de origem vegetal em produtos farmacêuticos e cosméticos de aplicação cutânea.** 2013. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

Ramos CS **Efeito do extrato de coité (*Crescentia cujete*) sobre o reparo tecidual em lesões cutâneas não contaminadas e contaminadas em ratos.** 2015. 72 f.

---

<sup>10</sup> Baseado em: NORMAS PARA A ELABORAÇÃO DE DISSERTAÇÃO E TESE DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP, CÂMPUS DE JABOTICABAL, versão 2018.

Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Ribeiro G, Silva MAG, Martins CB, Borges VP, Lacerda Neto, JC (2013) Associação fitoterápica no tratamento de feridas cutâneas induzidas em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 65: 1427-1433.

Silva SM **Efeitos da aplicação tópica da pomada à base de Óleo de Copaíba (*Copaifera langsdorffii* desf.) puro e ozonizado em feridas experimentalmente induzidas em ratos.** 2015. 60f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Vila Velha.

Vieira AP, Santos NR, Borges JHS, Vincenzi MPA, Schmitz WO (2008) Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde** 29: 65-74.

## APÊNDICES

### AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FERIDAS

#### TRATAMENTO A

Data da avaliação:

Número do paciente:

ESCALA	%	PRESENÇA DE INFEÇÃO	PRESENÇA DE NECROSE
Ausente	0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Discreto	< 25%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Escala	%	EDEMA	PRESENÇA DE CROSTA	TECIDO DE GRANULAÇÃO	SECREÇÃO QUANTIDADE
Ausente	0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Discreto	< 25%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ESCALA	SECREÇÃO ASPECTO	ESCALA	COLORAÇÃO DA FERIDA	ESCALA	%	ADERÊNCIA
Ausente	<input type="checkbox"/>	Pálida	<input type="checkbox"/>	ausente	0	<input type="checkbox"/>
Exsudato inflamatório	<input type="checkbox"/>	Rósea	<input type="checkbox"/>	Discreto	<25%	<input type="checkbox"/>
Purulento	<input type="checkbox"/>	Azulada	<input type="checkbox"/>	Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>
Hemorrágico	<input type="checkbox"/>	Enegrecida	<input type="checkbox"/>	Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>

**AVALIAÇÃO  
MACROSCÓPICA  
DAS FERIDAS**

**TRATAMENTO B**

**Data da avaliação:**

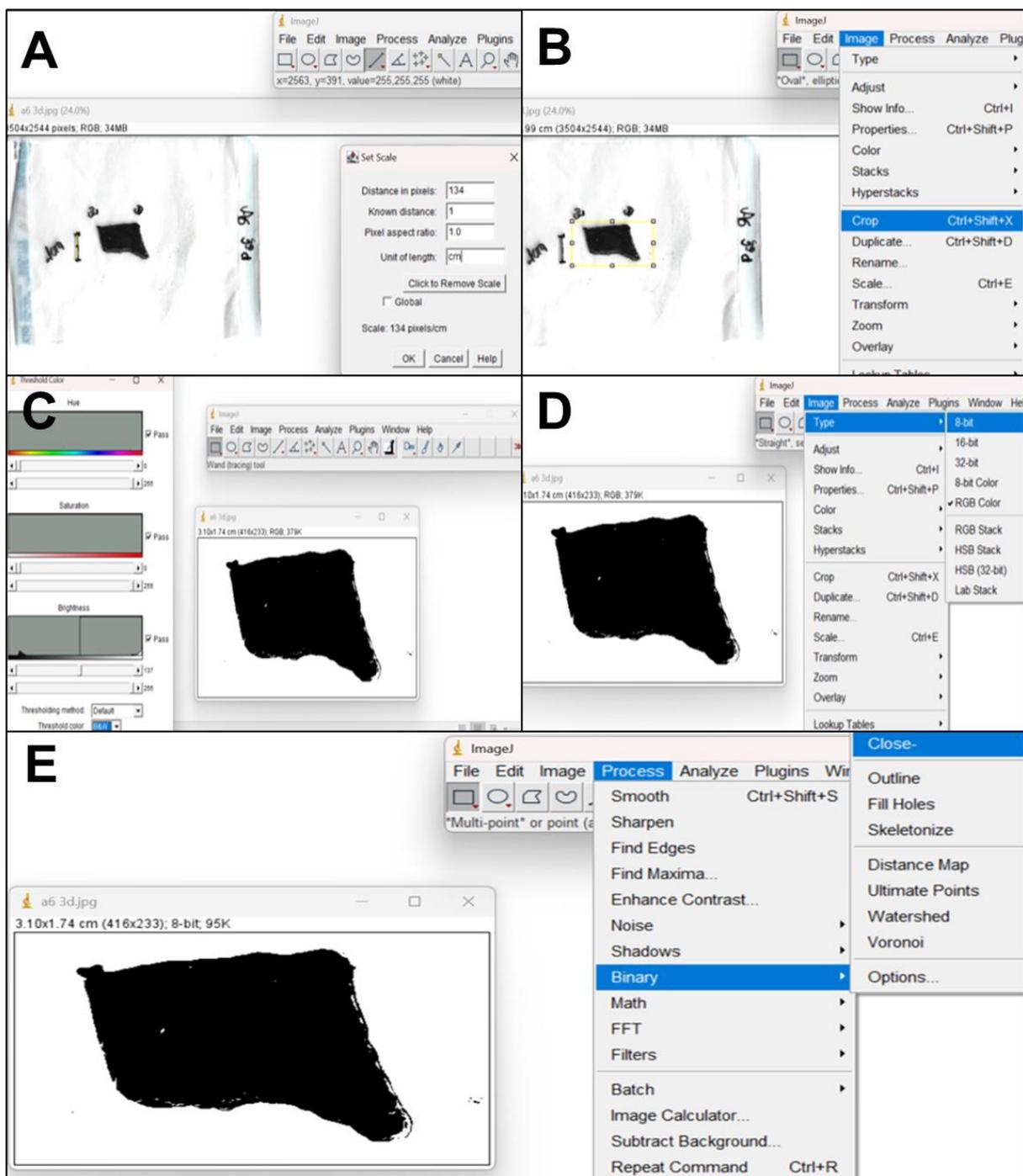
**Número do paciente:**

ESCALA	%	PRESENÇA DE INFECÇÃO	PRESENÇA DE NECROSE
Ausente	0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Discreto	< 25%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

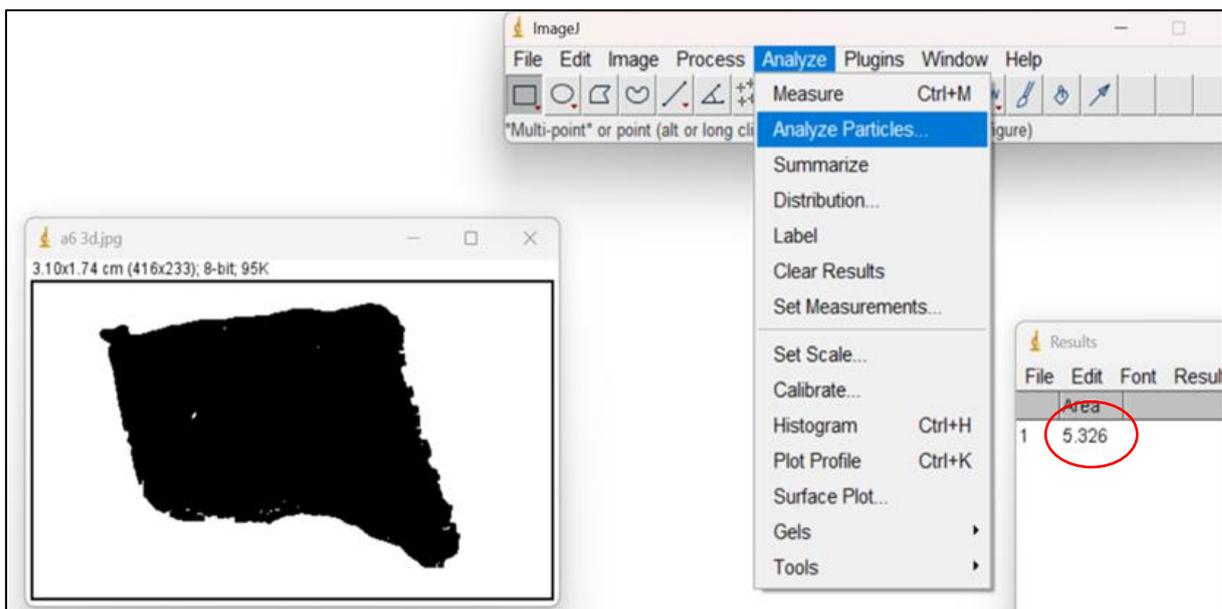
Escala	%	EDEMA	PRESENÇA DE CROSTA	TECIDO DE GRANULAÇÃO	SECREÇÃO QUANTIDADE
Ausente	0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Discreto	< 25%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ESCALA	SECREÇÃO ASPECTO	ESCALA	COLORAÇÃO DA FERIDA	ESCALA	%	ADERÊNCIA
Ausente	<input type="checkbox"/>	Pálida	<input type="checkbox"/>	ausente	0	<input type="checkbox"/>
Exsudato inflamatório	<input type="checkbox"/>	Rósea	<input type="checkbox"/>	Discreto	<25%	<input type="checkbox"/>
Purulento	<input type="checkbox"/>	Azulada	<input type="checkbox"/>	Moderado	25 – 75%	<input type="checkbox"/>
Hemorrágico	<input type="checkbox"/>	Enegrecida	<input type="checkbox"/>	Intenso	>75%	<input type="checkbox"/>

## Planimetria digital



**Figura 8.** Prints de tela para demonstrar os passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa "ImageJ" versão 1.5j8. **(A)** padronização da escala em centímetros; **(B)** isolamento da área do decalque a ser avaliada; **(C)**, **(D)** e **(E)** segmentação e binarização da imagem.



**Figura 9.** Print de tela para mostrar os passos para a mensuração da área do decalque de ferida cutânea pelo programa "ImageJ" versão 1.5j8. Análise da área (cm<sup>2</sup>) ocupada pela imagem.