

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DA MOXATERAPIA E
POLIHEXAMETILENO BIGUANIDA (PHMB) NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM CÃES**

**Sergio Andres Millán Guaita
Médico Veterinário e Zootecnista**

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DA MOXATERAPIA E
POLIHEXAMETILENO BIGUANIDA (PHMB) NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM CÃES**

Discente: Sergio Andres Millán Guaita

Orientador: Prof. Associado Bruno Watanabe Minto

Dissertação de mestrado apresentado 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.

G898c Guaita, Sergio Andrés Millán
Efeito da utilização da moxaterapia e Polihexametileno Biguanida (PHMB) na cicatrização de feridas em cães / Sergio Andrés Millán Guaita. -- Jaboticabal, 2021
73 p. : tabs., fotos

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

Orientador: Bruno Watanabe Minto

1. Cicatrização. 2. Lesão cutânea. 3. Moxabustão. 4. PHMB. 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.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

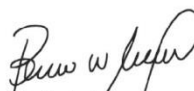
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA UTILIZAÇÃO DA MOXATERAPIA E POLIHEXAMETILENO BIGUANIDA (PHMB) NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM CÃES

AUTOR: SERGIO ANDRES MILLAN GUAITA

ORIENTADOR: BRUNO WATANABE MINTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

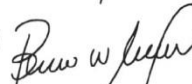
Prof. Dr. BRUNO WATANABE MINTO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV - UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. PAULA REGINA SILVA GOMIDE (Participação Virtual)
Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio / Salto/SP



Jaboticabal, 07 de dezembro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SERGIO ANDRES MILLAN GUAITA - nascido em 23 de abril de 1996, no município de Cali, Colombia, filho de Didier Hernan Millan Henao e Carmen Elisa Guaita Rodriguez. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual de Caldas, Colombia, em agosto de 2013. Nesta instituição, foi monitor na área de Patologia durante os anos 2015 e 2016, e monitor na área de Cirurgia durante os anos 2016 e 2017. No dia 12 de outubro de 2018 obteve o título de Médico Veterinário e Zootecnista. Ingressou no Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária como mestrando na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, câmpus de Jaboticabal, em agosto de 2019 – atualmente.

“A persistência é o caminho do êxito.”

Charles Chaplin

Dedico este trabalho aos meus amados pais Carmen Elisa e Didier, a minha irmã Jeniffer, minha avó Bertha, a toda minha família e a todos os meus grandes amigos.

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação faz parte das obrigações para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – campus de Jaboticabal – SP. Este trabalho foi apresentado no formato de capítulos para melhor compreensão e apresentação dos resultados, no qual o capítulo 1 (um) representa as considerações gerais, englobando a introdução, revisão de literatura, objetivos, hipóteses e o resumo da metodologia; o capítulo 2 (dois), por sua vez, será o artigo científico; e o capítulo 3 (três) corresponderá às considerações finais.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1 Composição e funções da pele	2
1.2 Regeneração e cicatrização	2
1.3 Tipos e avaliação dos ferimentos	4
1.4 Técnicas para promover a cicatrização.....	5
1.5 Uso da moxaterapia para promover a cicatrização	8
1.6 Uso do polihexametileno biguanida (PHMB) para promover a cicatrização.....	9
2. OBJETIVO.....	11
3. HIPÓTESE.....	11
4. REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2: “Análise dos efeitos e do tempo de cicatrização no uso do Polihexametileno Biguanida (PHMB) e Moxaterapia em feridas limpas de cães”.	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	21
Instalações.....	21
Animais	21
Delineamento experimental	22
Procedimento Experimental	23
Procedimento anestésico.....	23
Procedimento cirúrgico	23
Pós-operatório	24

Biópsia excisional.....	24
Forma de análise dos resultados	25
Avaliação macroscópica	25
Avaliação Histopatológica	25
Imuno-Histoquímica	26
Análise estatística	27
RESULTADOS	28
Avaliação Qualitativa.....	28
Avaliação Histopatológica	30
Avaliação imunohistoquímica.....	34
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS.....	45

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

unesp



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



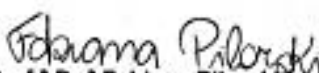
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Análise dos efeitos e do tempo de cicatrização no uso do polihexametileno biguanida (PHMB) em feridas de cães", protocolo nº 010177/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto, 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 15 de agosto de 2019.

Vigência do Projeto	01/10/2019 a 01/10/2020
Espécie / Linhagem	Canis lupus familiaris (cão)
Nº de animais	30
Peso / Idade	Inespecífico
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	Do município de Jaboticabal - SP

Jaboticabal, 15 de agosto de 2019.


Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

unesp



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 "Efeito da utilização da moxaterapia na cicatrização de feridas em cães", protocolo nº 010538/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto, 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 13 de setembro de 2019.

Vigência do Projeto	01/10/2019 a 01/10/2020
Espécie / Linhagem	Canis lupus familiaris (Cão)
Nº de animais	20
Peso / Idade	Inespecífico
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	Do município de Jaboticabal - SP

Jaboticabal, 13 de setembro de 2019.

Fabiana Pilarski
Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DA MOXATERAPIA E POLIHEXAMETILENO BIGUANIDA (PHMB) NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM CÃES

RESUMO - O processo de cicatrização é um fenômeno biológico essencial para a sobrevivência dos animais. Assim, estudar a cicatrização e encontrar meios para melhorar este processo é altamente relevante. O polihexametileno biguanida (PHMB) assim como a moxaterapia, tem sido utilizado na cicatrização de tecidos, mas a evidência dos seus efeitos é escassa na literatura médica. Assim, este estudo, objetivou analisar as ações terapêuticas, com ênfase no tempo de cicatrização das feridas, após a utilização dos produtos supracitados. Foram utilizados 40 cães hípidos, sem distinção de gênero, raça, idade, com peso entre 10 e 30 kg. Os animais foram castrados e, no mesmo momento cirúrgico, foi criada uma lesão cutânea limpa, circular na região abdominal, com 1 cm de diâmetro. Eles foram divididos em 4 grupos experimentais de 10 animais cada. Grupo Moxaterapia, Grupo PHMB 2 vezes ao dia e Grupo PHMB 1 vez ao dia (tratados com PHMB com trocas a cada 12 e 24 horas, respectivamente), e Grupo Controle (tratado com solução salina estéril 0,9%). Avaliações macroscópicas do processo de cicatrização foram realizadas diariamente durante 10 dias. Ao final do período, foi realizada biópsia excisional da área de cicatrização da ferida, permitindo avaliação histopatológica, histomorfométrica e imunohistoquímica. As variáveis foram analisadas por meio de Cumulative Link Mixed Model, testes de razão de verossimilhança, teste de comparações múltiplas de Bonferroni, adotando-se nível de significância igual a 5%. Os animais tratados com moxaterapia apresentaram menor dor/desconforto, prurido e melhor processo de cicatrização no nível macroscópico em relação ao grupo controle; e, quanto ao PHMB, não houve diferença significativa. Comparando os animais tratados com moxaterapia e PHMB, em relação aos animais não tratados, não houve diferença significativa, entretanto, ao comparar os grupos tratados com PHMB com o grupo tratado com moxaterapia, observou-se diferença significativa em relação à presença e quantidade de secreção. Histopatologicamente, a moxaterapia não diferiu do grupo controle, enquanto o grupo PHMB duas vezes ao dia apresentou efeito significativo no processo de colagenização. Na análise imunohistoquímica, não obteve diferença estatística significativa na angiogenese e reepitelização da ferida quando comparado com o grupo controle. Conclui-se que o tratamento de feridas limpas a partir de curativos com PHMB e moxaterapia são eficazes como agentes promotores da cicatrização, mesmo não diminuindo o tempo, permitiram manter os leitos das feridas em um ambiente propício para progredir em direção ao fechamento da mesma, permitindo a profilaxia antibacteriana sem o uso de terapias antibióticas, diminuindo o risco de resistência.

Palavras-chave: Cicatrização, lesão cutânea, moxabustão, PHMB.

EFFECT OF THE USE OF MOXATHERAPY AND BIGUANIDE POLYHEXAMETHYLENE (PHMB) ON THE HEALING OF WOUNDS IN DOGS

ABSTRACT - The healing process is an essential biological phenomenon for the survival of animals. Thus, studying healing and finding ways to improve this process is highly relevant. Polyhexamethylene biguanide (PHMB), as well as moxotherapy, has been used in tissue healing, but evidence of its effects is scarce in the medical literature. Thus, this study aimed to analyze the therapeutic actions, with emphasis on the time of wound healing after using the aforementioned products. Forty healthy dogs, without distinction of gender, breed, age, and weight between 10 and 30 kg were used. The animals were castrated and, at the same surgical moment, a clean, circular cutaneous lesion was created in the abdominal region, measuring 1 cm in diameter. They were divided into 4 experimental groups of 10 animals each. Moxotherapy Group, PHMB Group twice a day and PHMB Group once a day (treated with PHMB with changes every 12 and 24 hours, respectively), and Control Group (treated with 0.9% sterile saline solution). Macroscopic evaluations of the healing process were performed daily for 10 days. At the end of the period, an excisional biopsy of the wound healing area was performed, allowing for histopathological, histomorphometric and immunohistochemical evaluation. The variables were analyzed using the Cumulative Link Mixed Model, likelihood ratio tests, Bonferroni multiple comparisons test, adopting a significance level equal to 5%. The animals treated with moxotherapy had less pain/discomfort, pruritus and better healing process at the macroscopic level compared to the control group; and, as for PHMB, there was no significant difference. Comparing the animals treated with moxotherapy and PHMB, in relation to the untreated animals, there was no significant difference, however, when comparing the groups treated with PHMB with the group treated with moxotherapy, there was a significant difference in relation to the presence and amount of secretion. Histopathologically, moxotherapy did not differ from the control group, while the twice-daily PHMB group had a significant effect on the collagenization process. In the immunohistochemical analysis, there was no statistically significant difference when compared to the control group. concludes that the treatment of wounds cleaned from dressings with PHMB and moxotherapy are effective as agents to promote healing, even if the time is not reduced, they allowed to keep the wound beds in a favorable environment to progress towards the closure of the same, allowing the antibacterial prophylaxis without the use of antibiotic therapies, decreased the risk of resistance.

Keywords: Healing, skin lesion, moxibustion, PHMB.

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT:** Alanina aminotransferase
- BID:** Do latim “bis in die” - duas vezes ao dia
- C:** Colagenização
- CM:** Células mononucleadas
- COM:** Células polimorfonucleadas
- EGF:** Fator de crescimento epidérmico
- H:** Hiperplasia
- IL-1 β :** Interleucina-1 beta
- IL-6:** Interleucina-6
- KGF7:** Fator de crescimento de queratinócitos
- MCV:** Microvascular
- MTC:** Medicina tradicional chinesa
- N:** Necrose
- PDGF:** Fator de crescimento derivado de plaquetas
- PF:** Proliferação fibroblástica
- PHMB:** Polihexametileno Biguanida
- PV:** Proliferação vascular
- R:** Reepitelização
- TCC:** Tripeptide-copper complex
- TGF- α :** Fator de crescimento transformante- α
- TGF- β :** Fator de crescimento transformante- β (TGF- β)
- TNF- α :** Factor de necrose tumoral alfa
- VEGF:** Fator de crescimento de células endoteliais

LISTA DE QUADROS**CAPÍTULO 2**

	Página
Quadro 1. Sistema de pontuação para avaliação macroscópica da ferida cirúrgica	25
Quadro 2. Sistema de pontuação para avaliação histológica da resposta inflamatória.....	26
Quadro 3. Sistema de pontuação para avaliação histológica do processo cicatricial.....	26
Quadro 4. Anticorpos que serão utilizados nas reações imuno-histoquímicas em amostras de pele de cães com diferentes tratamentos. Laboratório de Imunohistoquímica da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.	26

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2**

	Página
Tabela 1. Análise Estatística descritiva de 8 variáveis com respeito a feridas tratadas com Moxaterapia	28
Tabela 2. Análise descritiva de 8 variáveis qualitativas e efeito de cada tratamento	29
Tabela 3. Análise descritiva de 8 variáveis histológicas e efeito do tratamento: Moxaterapia.....	30
Tabela 4. Análise descritiva de 8 variáveis histológicas e efeito do tratamento: PHMB a cada 12 e 24 horas	32
Tabela 5. Análise descritiva de 8 variáveis histológicas: Comparação da Moxaterapia com o PHMB.....	33
Tabela 6. Análise descritiva da variável fração da reepitelização e efeito de cada tratamento	34
Tabela 7. Análise descritiva da variável número de vasos sanguíneos e efeito de cada tratamento.	35

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

	Página
Figura 1. Imagem fotográfica da ferida cirúrgica localizada na região pré-umbilical do abdômen de cães: incisão de pele com um tamanho aproximado de 1 cm. Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.	24
Figura 2. Imagem fotográfica da ferida cirúrgica localizada na região pré-umbilical do abdômen de cães aos 10 dias de tratamento. A: Lesão do grupo controle. B: Lesão do grupo tratado com Moxaterapia. C: Lesão do grupo tratado com PHMB. Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.	29
Figura 3. Imagem fotográfica da lâmina histológica da ferida circular pré-humbilical, A: Processo inflamatório da ferida do grupo tratado Moxaterapia. B: Colagenização da ferida do grupo tratado Moxaterapia. Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.	30
Figura 4. Imagem fotográfica da lâmina histológica da ferida circular pre-humbilical, A: Processo de Colagenização da ferida do grupo tratado PHMB. B: Reepitelização da da ferida do grupo tratado PHMB, Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.	31
Figura 5. Imagem fotográfica da lamina histológica da ferida circular pré-humbilical, A e D: Seta amarela: zona de necrose, seta azul: Zona viável; B e C: area de necrose, em ferida do grupo tratado PHMB. Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.	33
Figura 6. Box-plot da fração de reepitelização nos diferentes tratamentos.....	35
Figura 7. Box-plot do número de vasos sanguíneos nos diferentes tratamentos.	36

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O tecido epitelial é capaz de regenerar-se em resposta à lesão ou trauma. O processo de regeneração e reparação tecidual é denominado cicatrização, o qual compreende interação complexa entre mecanismos celulares e moleculares (Gurtner et al., 2008; Mendonça et al., 2009).

Uma infinidade de técnicas e produtos que visam a melhoria do processo cicatricial de feridas está descrita, com múltiplas vantagens e desvantagens de cada um deles. As formas de terapias tópicas estão amplamente disponíveis, desde as mais simples as quais envolvem o uso de pomadas com princípios ativos com potencial cicatrizante, antisséptico e/ou anti-inflamatório, até aquelas contendo fatores de crescimento, matrizes dérmicas acelulares; além dos aloenxertos e terapias baseadas em células (Jaffe et al., 2019). Adicionalmente, inúmeros tipos de curativos e coberturas já foram testados com resultados parciais (Lee et al., 1987; Morgan et al., 1994; Ramsey et al., 1995; Franco e Gonçalves, 2008).

O Polihexametileno biguanida (PHMB), ou polihexanida, é um polímero utilizado como agente antimicrobiano de amplo espectro (Kamaruzzaman et al., 2016), com alta compatibilidade tecidual e toxicidade baixa, além de variadas formas de apresentação (Hübner e Kramer, 2010). O PHMB surgiu, entre os antissépticos mais utilizados, como alternativa a produtos à base de prata e iodo, utilizados para o combate e prevenção de infecções (Santos et al., 2011). O PHMB demonstrou ação eficaz nos tratamentos de feridas humanas infectadas, resultando em um ambiente propício para o processo cicatricial com redução no tempo de cicatrização e de sinais de inflamação ou infecção (Santos et al., 2011).

Muitos produtos derivados das plantas vêm sendo utilizados no tratamento de feridas com o objetivo de promover a cicatrização por elas possuir propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Pereira e Bartolo, 2016). A combustão da erva *Artemisia vulgaris* L. é uma técnica milenar da medicina tradicional chinesa (MTC) e denomina-se moxaterapia, em que a erva é arranjada em um bastão denominado moxabustão (Schoen, 2006) e atua de forma tópica no local lesionado através de seu calor (Torro, 1997).

Não há, no entanto, um produto ou curativo considerado padrão ouro em medicina veterinária, reforçando a necessidade e relevância de novos estudos envolvendo outros produtos ou técnicas que ajudem a diminuir o tempo e melhorem a qualidade do processo da cicatrização de feridas. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos farmacológicos do PHMB e da erva *Artemisia vulgaris L.* no tratamento e cicatrização de feridas limpas.

1.1 Composição e funções da pele

A pele é um órgão complexo multifacetado que integra diferentes camadas e células firmemente organizadas na matriz extracelular, que possuem funções essenciais para manter a continuidade do tecido e conseqüentemente a sobrevivência dos animais (Takeo et al., 2015). Ela é dividida em epiderme, derme e hipoderme e forma uma barreira entre o organismo e o ambiente, impedindo a penetração de agentes patogênicos no organismo e a desidratação (Rosińczuk et al., 2018). Os cães, assim como outros mamíferos, possuem uma densa camada de pelos que recobrem quase toda sua superfície corpórea. A pelagem atua na termorregulação do organismo e proporcionam barreira protetora adicional. Entretanto, há relação inversamente proporcional entre a densidade da pelagem e a espessura da pele dos animais, em que, quanto maior a cobertura folicular, menor a espessura da pele (Affolter et al., 1994).

A epiderme é a camada mais superficial da pele e é mais exposta às lesões externas. A reparação rápida e adequada do tecido após uma solução de continuidade no sistema tegumentar é fundamental na prevenção de complicações potencialmente nocivas (Prost-Squarcioni, 2006).

A derme é composta por tecido conjuntivo fibrocolagenoso, anexos cutâneos, que são as estruturas glandulares, e os folículos pilosos, vasos e nervos. É responsável pela elasticidade e resistência da pele, além da nutrição sanguínea da epiderme e sensibilidade nervosa aos estímulos externos. A hipoderme, também chamada de tecido subcutâneo, é a camada mais profunda da pele e é composta principalmente por células adiposas, sendo reservatório energético e isolante térmico (Prost-Squarcioni, 2006).

1.2 Regeneração e cicatrização

O tecido epitelial é capaz de regenerar-se em resposta à lesão ou trauma. O processo de regeneração e reparação tecidual é denominado cicatrização, o qual compreende interação complexa entre mecanismos celulares e moleculares, e divide-se em três fases principais: inflamação, proliferação e remodelamento (Gurtner et al., 2008; Mendonça et al., 2009).

A fase inflamatória da cicatrização tem início imediatamente após a lesão tecidual. Há extravasamento sanguíneo devido ao rompimento dos capilares vasculares. É ativada a cascata de coagulação sanguínea seguida de agregação plaquetária, formando um tampão fibrinoso local, que reestabelece a hemostasia e forma uma barreira contra a invasão de patógenos. Em seguida, as plaquetas sofrem degranulação e liberam mediadores inflamatórios, tais como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator transformador de crescimento beta (TGF- β) e fator transformador de crescimento alfa (TGF- α), fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento de células endotelial vascular (VEGF) e glicoproteínas. Além disso, a cascata de coagulação, juntamente com o sistema complemento, liberam fatores vasoativos e quimiotáticos que promovem o agrupamento de células inflamatórias (Werner et al., 2003; Clark et al., 2013).

As células inflamatórias, principalmente neutrófilos e monócitos, agem na fagocitose de microorganismos e resíduos teciduais e, também, sintetizam fatores de crescimento que preparam o leito da lesão para proliferação celular. Durante a fase inflamatória, ocorre intenso recrutamento de monócitos no local lesionado por meio de fatores quimiotáticos para monócitos. Os monócitos são ativados e transformam-se em macrófagos, principais células da etapa de reparação tecidual, os quais removem porções do tecido conjuntivo lesado e sintetizam prostaglandinas, que são substâncias vasodilatadoras (Singer et al., 1999; Clark et al., 2013).

Aproximadamente um dia após o ferimento, inicia-se a fase proliferativa, responsável pelo fechamento da lesão. As células epiteliais provenientes das bordas e dos anexos epidérmicos promovem fibroplasia e angiogênese cerca de quatro dias após a lesão, formando o tecido de granulação. A angiogênese proporciona aumento da permeabilidade microvascular e, conseqüentemente, extravasamento de proteínas plasmáticas e citocinas, essenciais para formação da matriz extracelular provisória, fundamental para a migração e proliferação de

células endoteliais. Além disso, o novo aporte de vasos sanguíneos supre as necessidades metabólicas do tecido em crescimento (Folkman, 1984; Risau, 1997).

A fase de remodelamento inicia-se cerca de oito dias após a lesão e é caracterizada pela restauração da arquitetura tecidual. A matriz extracelular é reorganizada e torna-se definitiva. Os fibroblastos provenientes do tecido de granulação transformam-se em miofibroblastos e formam um tecido contrátil. Durante esse processo, ocorre o desaparecimento do tecido de granulação, com apoptose ou emigração das células inflamatórias e fibroblastos, resultando na formação da cicatriz. O desenvolvimento de cicatrizes hipertróficas ou queloides resulta da persistência de corpos celulares no local da lesão (Arnold et al., 1991). Em seguida ocorre a reepitelização, que é a formação de um novo epitélio, através da migração e proliferação dos queratinócitos da epiderme, regulados pelo fator de crescimento KGF7 (Santoro et al., 2005).

1.3 Tipos e avaliação dos ferimentos

Dentre os tipos de feridas, têm-se as feridas limpas, limpas-contaminadas, contaminadas, sujas ou infectadas. As feridas limpas são provenientes de incisões cirúrgicas e normalmente não apresentam inflamação, sendo suturadas ao final do procedimento. Nas feridas limpas-contaminadas, há poucos corpos estranhos que podem ser removidos manualmente por meio da lavagem, enquanto que as feridas contaminadas possuem contaminação grosseira, ou seja, há muitos detritos no local lesionado. Já as feridas sujas ou infectadas possuem processo infeccioso decorrente de traumas ou ausência de técnicas antissépticas (Pavletic, 2018). O tempo de cicatrização dos ferimentos é relativo ao nível da patologia das lesões, condições de saúde do animal e o meio externo. Segundo Lazarus et al. (1994), as feridas, em relação a cicatrização, são caracterizadas como: idealmente cicatrizadas; minimamente cicatrizadas, em que ocorre perda da funcionalidade tecidual; e aceitavelmente cicatrizadas.

Para avaliação de um ferimento, deve-se considerar a localização, extensão, atributos associados, carga e severidade das lesões, além das condições de saúde do animal e ambiente. Feridas localizadas nas regiões articulares e de movimentação constante, tendem a sofrer deiscência e,

consequentemente, atraso no processo cicatricial. A extensão das lesões deve ser estabelecida por meio de métodos não-invasivos que avaliam as dimensões de altura, largura, perímetro e área. Dentre os atributos associados às feridas, deve-se avaliar a coloração, odor, presença de debris, fibrina e necrose, processo inflamatório e/ou infeccioso, além dos fatores sistêmicos e viabilidade dos tecidos envolvidos. A pele não viável apresenta menor flexibilidade, coloração enegrecida ou esbranquiçada, em que não há capilares sanguíneos no entorno das bordas da lesão. A extensão e os atributos associados determinam a carga e a severidade dos ferimentos (Balsa e Culp, 2015).

1.4 Técnicas para promover a cicatrização

É necessário realizar a lavagem do ferimento antes de qualquer intervenção terapêutica no local, visando a remoção de debris e tecidos necróticos e antisepsia do ferimento. A lavagem deve ser feita por meio da irrigação com soro fisiológico ou ringer lactado com o auxílio de uma seringa. Em casos de infecções bacterianas ou prevenção contra a formação de colônias no leito de ferida, pode-se aplicar antibióticos tópicos de amplo espectro, como os de bases de sulfadiazina de prata e sulfato de neomicina, nos locais injuriados. Além disso, curativos hiperosmóticos, tais como solução salina hipertônica, açúcar e mel, também possuem ação microbicida (Balsa e Culp, 2015).

Uma infinidade de técnicas e produtos que visam a melhoria do processo cicatricial de feridas estão descritos, com múltiplas vantagens e desvantagens de cada um deles. As formas de terapias tópicas estão amplamente disponíveis, desde as mais simples as quais envolvem o uso de pomadas com princípios ativos com potencial cicatrizante, antisséptico e/ou anti-inflamatório, até aquelas contendo fatores de crescimento, matrizes dérmicas acelulares; além dos aloenxertos e terapias baseadas em células (Jaffe et al., 2019). Adicionalmente, inúmeros tipos de curativos e coberturas já foram testados com resultados parciais (Lee et al., 1987; Morgan et al., 1994; Ramsey et al., 1995; Franco e Gonçalves, 2008). Não há, no entanto, um produto ou curativo considerado padrão ouro em medicina veterinária, reforçando a necessidade e relevância de novos estudos envolvendo outros produtos ou técnicas.

O mel, assim como o açúcar granulado, tem efeito hiperosmótico que desidrata os microorganismos e diminui os edemas teciduais. Sua atividade antimicrobiana provém da produção de peróxido de hidrogênio e pH acidófilo. Também mantém o leito da ferida úmido, favorecendo o desbridamento autolítico, formação do tecido de granulação e reepitelização (Balsa e Culp, 2015).

O uso do mel para a cicatrização de feridas tem mostrado indícios que apontam efeito estimulante de moléculas, melhorando a nutrição da ferida, reduzindo inflamação e edema, colaborando para o processo de migração celular e aumentando o conteúdo do colágeno, estimulando assim, a granulação e epitelização das feridas. Os benefícios do mel foram cientificamente comprovados através de estudos clínicos *in vivo* que demonstraram sua eficácia no processo cicatricial (Ibrahim et al., 2018). Segundo os resultados de Vijaya et al. (2012), feridas cutâneas de 10 pacientes tratadas com mel apresentaram formação de tecido de granulação saudável, redução da dor, do inchaço e da sensibilidade dos ferimentos. Em um estudo clínico retrospectivo realizado em 75 mulheres com feridas cirúrgicas de incisão cesariana constatou-se que os usos de bandagens a base de mel promoveram redução da vermelhidão, do edema e de equimoses, além da aproximação dos bordos da ferida a partir do sétimo dia de tratamento (Nikpour et al., 2014). O mel também possui efeitos imunomodulatórios e antioxidantes visto que estudos *in vitro* demonstraram a estimulação da produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-1 β pelas células monocíticas, sendo um potencial agente terapêutico no processo cicatricial (Tonks et al., 2003).

Existem diversos produtos tópicos utilizados para promover a cicatrização de feridas abertas os quais possuem seus efeitos comprovados. O Tripeptide-copper complex (TCC) é um composto isolado do plasma humano, utilizado principalmente na cicatrização de feridas crônicas e é descrito como um fator de crescimento, agente quimiotático, além de potencializar a neovascularização e epitelização (Swaim et al., 1998). Segundo os resultados de Canapp et al., 2003, o uso tópico de TCC em feridas abertas realizadas cirurgicamente no dorso de ratos da raça Sprague Dawley promoveu a redução da área lesionada em 64,5%, enquanto que no grupo controle a área reduziu apenas em 28,2% no mesmo período analisado.

A Maltodextrina é um polissacarídeo vendido na forma de gel (Multidex®), que forma uma camada protetora e úmida no leito de ferida, facilita o desbridamento autolítico e a formação do tecido de granulação, além de possuir propriedades antimicrobianas em associação com ácido ascórbico. Estudos demonstraram que feridas tratadas com maltodextrina/ascórbico obtiveram um aumento da proliferação em 44,4% das fibras colágenas e 70% da neovascularização, essencial para formação do tecido de granulação (Salgado, et al., 2017).

A mucilagem da planta Aloe vera, incluída em loções e pomadas, é composta por vitaminas, açúcares e minerais, e possui propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas. Seus efeitos cicatrizantes estão relacionados ao acemannan, polissacarídeo que promove a atividade e proliferação dos fibroblastos e conseqüentemente a síntese de colágeno (Hashemi et al., 2015). De acordo com os resultados in vitro de Teplicki et al. (2018), em um período de 5 dias, soluções de Aloe vera a 1% e 2% promoveram, respectivamente, intensa proliferação de fibroblastos e queratinócitos. Constatou-se também que Aloe vera 3% propiciou intenso crescimento celular a partir do segundo dia de experimento, em que ocorreu fechamento do espaço analisado em 29% no grupo testado e apenas em 17% no grupo controle.

O hidrogel de quitosana é uma substância derivada da quitina e acelera a infiltração de células inflamatórias tais como fagócitos e macrófagos no leito da ferida, além de estimular a proliferação de fibroblastos e a formação do tecido de granulação (Ueno et al., 2001). Segundo os experimentos de Dias (2012), lesões cirúrgicas realizadas em ratas da raça Wistar tratadas após sete dias de tratamento com hidrogel de quitosana demonstraram uma redução do leito da ferida em 53,9%, enquanto no grupo controle houve uma redução de apenas 44%. Quanto a reepitelização, no mesmo período, as feridas tratadas com o gel demonstram 67% de proliferação celular, enquanto no grupo controle havia ausência de proliferação.

Também se utiliza o colágeno em diversos biomateriais para a promoção da cicatrização. O colágeno é uma proteína sintetizada pelos fibroblastos que estimula a migração celular e possui propriedades quimiotáticas, além de absorver o excesso de exsudato, promover o debridamento autolítico e manter a umidade da superfície lesionada (Fleck et al., 2010; Davidson, 2015). Em um

estudo retrospectivo realizado em 120 pacientes humanos, constatou-se a eficácia das bandagens de colágeno no tratamento de feridas crônicas em comparação com bandagens convencionais, tais como sulfadiazina de prata e iodopolvidona. De acordo com os resultados, o grupo de pacientes tratados com as bandagens de colágeno apresentaram tecido de granulação mais rapidamente e mais saudável do que o grupo tratado com bandagens convencionais. Após oito semanas de tratamento, 87% dos pacientes do grupo tratado com as bandagens de colágeno e 80% dos pacientes do grupo tratado com as bandagens comuns manifestaram mais de 75% de fechamento do leito da ferida (Singh et al., 2011).

O Complexo Tripeptídeo de Cobre evidenciou ser um notável estimulante da cicatrização em feridas abertas isquêmicas, reduzindo de forma acentuada a área de apresentação da lesão (Canapp et al., 2003). A Acemanana, por sua vez, apresenta características hidrofílicas, garantindo um ambiente umidificado nas feridas. Ela atua como um fator de crescimento, ao estimular as fases iniciais de cicatrização e promovendo aumento nos níveis de citocinas. Ela é capaz de estimular os macrófagos, o processo de angiogênese e o crescimento epidérmico, porém, em contrapartida pode gerar um tecido de granulação exacerbado e causar a inibição da redução da ferida (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010).

1.5 Uso da moxaterapia para promover a cicatrização

Muitos produtos derivados das plantas vêm sendo utilizados no tratamento de feridas com o objetivo de promover a cicatrização. Esses compostos naturais possuem propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas e, geralmente, são aplicados topicamente, através de emulsões ou pomadas (Pereira e Bartolo, 2016).

A combustão da erva *Artemisia vulgaris L.* é uma técnica milenar da medicina tradicional chinesa (MTC) e denomina-se moxaterapia, em que a erva é arranjada em um bastão denominado moxabustão (Schoen, 2006), e atua de forma tópica no local lesionado através de seu calor (Torro, 1997).

Na MTC, o calor e a essência da erva aquecem o “Qi”, que remete a capacidade intrínseca do funcionamento do organismo e o “Xue”, que se refere

ao sangue e aos fluidos corporais, que são responsáveis pela nutrição e vitalidade do organismo (Greten, 2013). Também é descrito que a moxabustão dispersa o “algor”, relativo ao frio, um dos sintomas de morbidade, além de eliminar algumas formas de toxinas (Yamamura, 2001; Xie e Preast, 2007).

A moxaterapia pode ser realizada através de dois métodos: direto que é pouco utilizado, pois é doloroso e pode lesionar a pele; e indireto, o qual realiza-se a queima dos bastões de moxa 1 a 2,5 cm acima dos acupontos, locais onde há o acúmulo de terminações nervosas (Xie e Preast, 2007; Greten, 2013). A moxabustão promove um aquecimento da região onde é aplicada, causando hipertermia das fibras vegetativas, aumento do tônus vascular simpático e provoca estímulos autonômicos e viscerais que ocorrem através das fibras C amielínicas (Draehmpaehl e Zoehmann, 1997).

Segundo Xu et al. (2007), a queima da moxabustão promove o aquecimento dos tecidos adjacentes e conseqüentemente estimula a produção de mediadores inflamatórios pelo sistema imunológico. Paralelamente, a hipertermia provoca aumento do fluxo linfático de modo que ocorra a diminuição de áreas edemaciadas no organismo (Abbate, 2006). Além disso, de acordo com Deng et al., 2013, a moxabustão também possui efeitos antibacterianos e antivirais.

Apesar de ser uma técnica milenar, amplamente utilizada na acupuntura para o tratamento de diversas enfermidades, tais como paralisias superficiais e osteoartrites (Zhang et al., 2014), há uma escassez de estudos que demonstram os efeitos da combustão da erva *Artemisia vulgaris L.* na promoção da cicatrização de feridas na pele.

1.6 Uso do polihexametileno biguanida (PHMB) para promover a cicatrização

O Polihexametileno biguanida (PHMB), ou polihexanida, é um polímero utilizado como agente antimicrobiano de amplo espectro (Kamaruzzaman et al., 2016). Seu uso é muito variado, demonstrando bons resultados quando utilizados na sanitização de piscinas e como desinfetante na indústria de alimentos, além da utilização em enxaguantes bucais, curativos de feridas em porcos (Gao e Cranston, 2008), soluções para lentes de contato, uso em

cosméticos, amaciantes de tecidos, lavagens e outros mais (Mashat, 2016). Com base nos estudos em diferentes modelos animais como ratos, coelhos, cães e leitões, além de testes *in vitro* e com humanos, pode-se concluir que o PHMB, é um antisséptico de amplo espectro, apresenta alta compatibilidade tecidual e toxicidade baixa, além de ser encontrado em variadas formas de apresentação, como pomada, géis, espumas e curativos. Seu efeito antimicrobiano é resultado da ruptura da membrana bacteriana e inibição de seu metabolismo celular, através de fortes interações com fosfolipídios carregados negativamente na membrana das bactérias (Hübner e Kramer, 2010).

Estudos *in vitro* comprovaram que os curativos de gaze com o polihexametileno biguanida (PHMB) impregnado reduzem o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo ele utilizado em meio úmido, impedindo o crescimento bacteriano e possíveis contaminações por tais bactérias (Lee et al., 2004). A realização de lavagem com o PHMB e soro fisiológico em cães resultou em redução significativa da carga biológica e garantiu uma boa descontaminação imediata e final de feridas de mordida de cães (Nolff et al., 2018).

O PHMB surgiu recentemente entre os antissépticos mais utilizados, como alternativa a produtos à base de prata e iodo, utilizados para o combate e prevenção de infecções. De acordo com a literatura consultada o polihexametileno biguanida (PHMB) demonstrou ação eficaz na utilização em tratamentos de feridas humanas infectadas, promovendo o processo cicatrizacional, com redução no tempo, de sinais de inflamação ou infecção, da colonização e de odores, além da ausência de dor na aplicação, irritação e reações alérgicas (Santos et al., 2011). Com base nos estudos conhecidos e na utilização clínica na medicina, o PHMB tem uso indicado para feridas agudas e crônicas altamente colonizadas ou infectadas, tendo como objetivo a redução de patógenos presentes nestas feridas (Eberlein e Assadian, 2010).

Na medicina humana o polihexametileno biguanida (PHMB), além de sua ação microbicida, demonstrou baixo risco de sensibilização por contato, ausência de patógenos desenvolvendo resistência de maneira comprovada e efeitos promotores da cicatrização, comprovados *in vitro* e em vivo (Gray et al., 2010) e os curativos feitos com impregnação de polihexametileno biguanida (PHMB) demonstram ter ação eficaz como barreira para colonização e infecção

de feridas, porém sua ação antibiofilme precisa ser ainda confirmada, mesmo que indícios mostrem eficácia antibiofilme na utilização de protocolos de tratamento baseados em biofilme (Hurlow, 2017).

2. OBJETIVO

Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos terapêuticos, com ênfase no tempo e qualidade da cicatrização com o uso da moxaterapia e polihexametileno biguanida (PHMB) em feridas limpas de cães.

3. HIPÓTESE

Acredita-se, hipoteticamente, que pacientes caninos acometidos por feridas cutâneas limpas de origem cirúrgica, submetidos à tratamentos com os produtos PHMB ou pela técnica de Moxaterapia, possam apresentar melhores processos de cicatrização em relação ao tempo e qualidade quando comparados ao grupo controle.

Supõe-se que os dados fornecidos por esta pesquisa possam auxiliar pesquisas futuras no que cerne encontrar métodos que ajudem nos tratamentos de feridas atuais.

4. REFERÊNCIAS

- Abbate, Skya, and Giovanni Maciocia. Advanced techniques in oriental medicine. **Thieme**, 2006.
- Affolter, Verena K., and Peter F. Moore. "Histologie features of normal canine and feline skin." **Clinics in dermatology** 12.4 - 491-497,1994.
- Arnold, Frank, and David C. West. "Angiogenesis in wound healing." **Pharmacology & therapeutics** 52.3, 407-422, 1991.
- Balsa, Ingrid M., and William TN Culp. "Wound care." *Veterinary Clinics: **Small Animal Practice*** 45.5,1049-1065, 2015.
- Canapp Jr, Sherman O., et al. "The effect of topical tripeptide-copper complex on healing of ischemic open wounds." **Veterinary Surgery** 32.6, 515-523, 2003.
- Clark, Richard AF, ed. The molecular and cellular biology of wound repair. **Springer Science & Business Media**, 2013.
- Davidson, Jacqueline R. "Current concepts in wound management and wound healing products." **Vet Clin North Am Small Anim Pract** 45.3, 537-64, 2015.
- Deng, Hongyong, and Xueyong Shen. "The mechanism of moxibustion: ancient theory and modern research." **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** 2013 2013.
- Dias, Taís Andrade. "Gel de quitosana à 2% na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas." 2012.
- Draehmpaehl, Dirk, and Andreas Zohmann. Acupuntura no cão e no gato: princípios básicos e prática científica. **Roca**, 1997.
- Eberlein, T., and O. Assadian. "Clinical use of polihexanide on acute and chronic wounds for antisepsis and decontamination." **Skin pharmacology and physiology** 23.Suppl. 1,45-51, 2010.
- Fleck, Cynthia Ann, and Richard Simman. "Modern collagen wound dressings: function and purpose." **The Journal of the American College of Certified Wound Specialists** 2.3, 50-54, 2010.
- Folkman, Judah. "Angiogenesis." **Biology of endothelial cells**. 412-428, 1984.
- Franco, Diogo, and Luiz Fernando Gonçalves. "Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado." **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões** 35.3, 203-206, 2008.
- Gabbiani, Giulio, et al. "Granulation tissue as a contractile organ: a study of structure and function." **The Journal of experimental medicine** 135.4, 719-734, 1972.

Gao, Yuan, and Robin Cranston. "Recent advances in antimicrobial treatments of textiles." **Textile research journal** 78.1, 60-72, 2008.

Garner, Julia S. Guideline for prevention of surgical wound infections, 1985. Hospital Infections Program, Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Public Health Service, US Department of Health and Human Services, 1986.

Gray, David, et al. "PHMB and its potential contribution to wound management." **Wounds uk** 6.2, 40-46, 2010.

Greten, Henry Johannes. "Chinese medicine as a model of system biology: Diagnosis as the foundation of acupoint selection." **Current Research in Acupuncture**. Springer, New York, NY, 621-657, 2013

Gurtner, Geoffrey C., et al. "Wound repair and regeneration." **Nature** 453.7193 314-321, 2008.

Hashemi, Seyyed Abbas, Seyyed Abdollah Madani, and Saied Abediankenari. "The review on properties of Aloe vera in healing of cutaneous wounds." **BioMed research international**, 2015.

Hedlund, Cheryl S. "Surgery of the integumentary system." **Small animal surgery** 3, 159-259, 2007.

Hübner, N-O., and A. Kramer. "Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic." **Skin pharmacology and physiology** 23.Suppl. 1, 17-27, 2010.

Hurlow, Jennifer. "The benefits of using polyhexamethylene biguanide in wound care." **British journal of community nursing** 22. Sup3, S16-S18, 2017.

Ibrahim, Nurul'Izzah, et al. "Wound healing properties of selected natural products." **International journal of environmental research and public health** 15.11 2360, 2018.

Jaffe, Leland, and Stephanie C. Wu. "Dressings, topical therapy, and negative pressure wound therapy." **Clinics in podiatric medicine and surgery** 36.3, 397-411, 2019.

Kamaruzzaman, Nor Fadhilah, Rebuma Firdessa, and Liam Good. "Bactericidal effects of polyhexamethylene biguanide against intracellular Staphylococcus aureus EMRSA-15 and USA 300." **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 71.5, 1252-1259, 2016.

Lee, A. H., et al. "Effects of nonadherent dressing materials on the healing of open wounds in dogs." **Journal of the American Veterinary Medical Association** 190.4, 416-422, 1987.

Lee, William R., et al. "In vitro efficacy of a polyhexamethylene biguanide-impregnated gauze dressing against bacteria found in veterinary patients." **Veterinary Surgery** 33.4, 404-411, 2004.

Mashat, B. H. "Polyhexamethylene biguanide hydrochloride: Features and applications." **British Journal of Environmental Sciences** 4.1, 49-55, 2016.

MORGAN, PAUL W., et al. "The effect of occlusive and semi-occlusive dressings on the healing of acute full-thickness skin wounds on the forelimbs of dogs." **Veterinary Surgery** 23.6, 494-502, 1994.

Nikpour, Maryam, et al. "The effect of honey gel on abdominal wound healing in cesarean section: a triple blind randomized clinical trial." **Oman medical journal** 29.4, 255, 2014.

Nolff, Mirja Christine, et al. "Comparison of polyhexanide, cold atmospheric plasma and saline in the treatment of canine bite wounds." **Journal of Small Animal Practice** 60.6, 348-355, 2019.

Pavletic, Michael M. (ed.). Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. **John Wiley & Sons**, 2018.

Pavletic, Michael M., ed. Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. **John Wiley & Sons**, 2018.

Pereira, Rúben F., and Paulo J. Bartolo. "Traditional therapies for skin wound healing." **Advances in wound care** 5.5, 208-229, 2016.

Prost-Squarcioni, Catherine. "Histology of skin and hair follicle." **Medecine Sciences: M/S** 22.2, 131-137, 2006.

Ramsey, D. T., et al. "Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs." **American Journal of Veterinary Research** 56.7, 941-949, 1995.

Risau, Werner. "Mechanisms of angiogenesis." **Nature** 386.6626, 671-674 1997.

Rosińczuk, Joanna, et al. "Mechanoregulation of wound healing and skin homeostasis." **Chronic Wounds, Wound Dressings and Wound Healing** 461-477, 2021.

Salgado, Rosa M., et al. "Maltodextrin/ascorbic acid stimulates wound closure by increasing collagen turnover and TGF- β 1 expression in vitro and changing the stage of inflammation from chronic to acute in vivo." **Journal of tissue viability** 26.2, 131-137, 2017.

Santoro, Massimo M., and Giovanni Gaudino. "Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing." **Experimental cell research** 304.1, 274-286, 2005.

Santos, Eduardo José Ferreira, Margarida Alexandra Nunes Carramanho Gomes Martins, and Moreira da Silva. "Tratamento de feridas colonizadas/infetadas com utilização de polihexanida." **Revista de Enfermagem** Referência 3.4, 135-142, 2011.

Schoen, Allen M. Acupuntura veterinária-Da arte antiga a medicina moderna. **Editora Roca**, 2006.

Silva, M.F.A. Pele in: OLIVERIA, A.L.A Técnicas Cirúrgicas em Pequenos Animais. 2.ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, Cap. 17, p. 200, 2018.

Singer, Adam J., and Richard AF Clark. "Cutaneous wound healing." **New England journal of medicine** 341.10, 738-746, 1999.

Singh, Onkar, et al. "Collagen dressing versus conventional dressings in burn and chronic wounds: a retrospective study." **Journal of cutaneous and aesthetic surgery** 4.1, 12, 2011.

Swaim, Steven F., and Robert L. Gillette. "An update on wound medications and dressings." The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA) 1998.

Takeo, Makoto, Wendy Lee, and Mayumi Ito. "Wound healing and skin regeneration." **Cold Spring Harbor perspectives in medicine** 5.1, a023267, 2015.

Teplicki, Eric, et al. "The Effects of Aloe vera on Wound Healing in Cell Proliferation, Migration, and Viability." **Wounds: a compendium of clinical research and practice** 30.9, 263-268, 2018.

Tonks, Amanda J., et al. "Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes." **Cytokine** 21.5, 242-247, 2003.

TORRO, Carlos Augusto. "Atlas prático de acupuntura do cão." São Paulo: **Livraria Varela** 185, 1997.

Vijaya, Kumari K., and K. Nishteswar. "Wound healing activity of honey: A pilot study." **Ayu** 33.3, 374, 2012.

Werner, Sabine, and Richard Grose. "Regulation of wound healing by growth factors and cytokines." **Physiological reviews** 83.3, 835-870, 2003.

Xie, Huisheng, and Vanessa Preast. Xie's veterinary acupuncture. Vol. 463. Iowa: **Blackwell Publishing**, 2007.

Xu, Aijun, Li Chengwei, and Qiu Xu. "The Performance Evaluation of Traditional Moxibustion, Electronic Moxibustion and Laser Acupuncture on Apoplexy and Their Comparison Research." World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006. **Springer, Berlin, Heidelberg**, 2007.

Yamamura, Ysao. Acupuntura tradicional: a arte de inserir. **Editora Roca**, 2001.

Zhang, Qin-hong, et al. "Moxibustion for the treatment of pressure ulcers: study protocol for a pilot, multicentre, randomised controlled trial." **BMJ open** 4.12 2014.

CAPÍTULO 2: “Análise dos efeitos e do tempo de cicatrização no uso do Polihexametileno Biguanida (PHMB) e Moxaterapia em feridas limpas de cães”.

Sérgio Andres Millán Guaita¹; João Vitor dos Santos Alves da Silva¹; Natalia Helena Meneguim¹; Gabriel João Unger Carra; Josiane Moraes Pazzini; Adrielly Dissenha; Brenda Mendonça de Alcântara; Tryssia Scalon Magalhães Moi; José Aloizio Gonçalves Neto; Bruno Watanabe Minto¹

¹Department of Veterinary Clinics and Surgery, Sao Paulo State University (Unesp) – Jaboticabal – Brazil.

Artigo científico nas normas do periódico Veterinary and Animal Science (Anexo 1)

RESUMO

Este estudo visa analisar as ações terapêuticas, com ênfase no tempo de cicatrização das feridas após a utilização do PHMB e Moxaterapia. Foram utilizados 40 cães, sem distinção de gênero, raça e idade, com peso entre os 10-30 kg, saudáveis. Os animais foram castrados e, no mesmo momento cirúrgico, foi criada uma lesão cutânea limpa, circular na região abdominal. Foram distribuídos em 4 grupos experimentais de 10 animais cada; Grupo Moxaterapia, tratado a cada 24 horas, Grupo PHMB 2 e Grupo PHMB 1, tratados com curativos com PHMB, com trocas a cada 12 e 24 horas, respectivamente, e Grupo Controle, tratados com solução salina estéril 0,9% (controle). As avaliações macroscópicas do processo de cicatrização ocorreram de forma diária durante 10 dias. Ao final do período, foi realizada biópsia excisional da área de cicatrização, permitindo avaliação histopatológica, histomorfométrica e imunohistoquímica. As variáveis foram analisadas por meio de Cumulative Link Mixed Model, Likelihood ratio tests, teste de comparações múltiplas de Bonferroni, sendo adotado um nível de significância igual a 5%. Animais que foram tratados com Moxaterapia apresentaram menores índices de dor/desconforto, prurido e melhor processo cicatricial a nível macroscópico comparado com o grupo controle e quanto ao PHMB, não teve diferença significativa. Comparando os animais tratados com Moxaterapia e PHMB, em

relação aos animais não tratados, não teve diferença significativa, porém quando se compararam os grupos tratados com PHMB com o grupo tratado com Moxaterapia, se observou diferença significativa quanto à presença e quantidade de secreção. Na avaliação histopatológica, a Moxaterapia não diferiu do grupo controle, enquanto o grupo PHMB 2 mostrou efeito significativo no processo de colagenização. Na análise imunohistoquímica, não obteve diferença estatística significativa na angiogênese e reepitelização da ferida quando comparado com o grupo controle. Conclui-se que o tratamento de feridas limpas a partir de curativos com PHMB e moxaterapia são eficazes como agentes promotores da cicatrização, mesmo não diminuindo o tempo, permitiram manter os leitos das feridas em um ambiente propício para progredir em direção ao fechamento da mesma, permitindo a profilaxia antibacteriana sem o uso de terapias antibióticas, diminuindo o risco de desenvolver resistência.

Palavras-chave: cão, lesão cutânea, moxabustão, reparação.

ABSTRACT

This study aims to analyze the therapeutic actions, with emphasis on wound healing time after the use of PHMB and moxotherapy. Forty dogs were used, without distinction of gender, breed and age, weight between 10-30 kg, healthy. The animals were castrated and, at the same surgical moment, a clean, circular skin lesion was created in the abdominal region. They were divided into 4 experimental groups of 10 animals each. Moxotherapy Group, treated every 24 hours, PHMB 2 Group and PHMB 1 Group, treated with PHMB dressings, with changes every 12 and 24 hours, respectively, and Control Group, treated with 0.9% sterile saline solution (control). Macroscopic evaluations of the healing process took place daily for 10 days. At the end of the period, an excisional biopsy of the healing area was performed, allowing for histopathological, histomorphometric and immunohistochemical evaluation. The variables were analyzed using Cumulative Link Mixed Model, Likelihood ratio tests, Bonferroni multiple comparisons test, adopting a significance level equal to 5%. Animals that were treated with moxotherapy had lower pain/discomfort, pruritus and better healing process at the macroscopic level compared to the control group and as for PHMB, there was no significant difference. Comparing the animals treated with moxotherapy and PHMB, in relation to the untreated animals, there was no

significant difference, however when comparing the groups treated with PHMB with the group treated with moxotherapy, there was a significant difference in the presence and amount of secretion. In the histopathological evaluation, moxotherapy did not differ from the control group, while the PHMB 2 group showed a significant effect on the collagenization process. In the immunohistochemical analysis, there was no statistically significant difference when compared to the control group. concludes that the treatment of wounds cleaned from dressings with PHMB and moxotherapy are effective as agents to promote healing, even if the time is not reduced, they allowed to keep the wound beds in a favorable environment to progress towards the closure of the same, allowing the antibacterial prophylaxis without the use of antibiotic therapies, decreased the risk of resistance. **Keywords:** Healing, skin lesion, moxibustion, PHMB.

INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo multifacetado que integra diferentes camadas e células organizadas na matriz extracelular, altamente exposta a traumas que levam a perda da continuidade e conseqüentemente risco de infecções locais e sistêmicas [1]. A partir das fases: inflamação, proliferação e remodelamento, a pele é capaz de regenerar-se, visando manter a continuidade do tecido e conseqüentemente a sobrevivência dos animais [2].

Os ferimentos, devem ser avaliados tendo em consideração a localização, extensão, atributos associados (coloração, odor, presença de debris, fibrina e necrose, processo inflamatório e/ou infeccioso), carga e severidade das lesões, além das condições de saúde do animal, ambiente, fatores sistêmicos e viabilidade dos tecidos envolvidos; permitindo assim um planejamento para estabelecer um bom tratamento clínico [3].

As formas de terapias tópicas envolvem além da lavagem das feridas [3], o uso de inúmeros produtos com potencial cicatrizante, antisséptico e/ou anti-inflamatórios, até fatores de crescimento, antibióticos, matrizes dérmicas acelulares, aloenxertos e terapias regenerativas baseadas em células [4].

Curativos com gaze impregnados com subprodutos tópicos são usados devido ao controle do crescimento bacteriano que oferece no leito da ferida, além

da facilidade de aplicação e sua atividade local prolongada, sendo há muito tempo considerados um tratamento padrão para feridas cutâneas [5].

Alguns exemplos dos produtos são o mel, assim como o açúcar granulado, a maltodextrina, Tripeptide-copper complex (TCC), a mucilagem da planta *Aloe vera* (acemannan), o hidrogel de quitosana, colágeno, complexo tripeptídeo de cobre, entre outros produtos, que promovem a cicatrização, porém com resultados parciais, comprovados em diferentes estudos [6-10].

Não há, no entanto, um produto ou curativo considerado padrão ouro em medicina veterinária, que permita ao processo da cicatrização ser precoce e de qualidade, reforçando a necessidade e relevância de novos estudos envolvendo outros produtos ou técnicas.

O polihexametileno biguanida (PHMB), ou polihexanida, é um polímero utilizado como agente antimicrobiano de amplo espectro [11]. Seu uso é muito variado, demonstrando bons resultados quando utilizados na sanitização de piscinas e como desinfetante na indústria de alimentos, além da utilização em enxaguantes bucais [12], soluções para lentes de contato, uso em cosméticos, entre outros [13]. O PHMB, é um antisséptico de amplo espectro, apresenta alta compatibilidade tecidual e toxicidade baixa, com diferentes formas de apresentação, como pomada, géis, espumas e curativos [14]. Estudos *in vitro* comprovaram que os curativos de gaze com o polihexametileno biguanida (PHMB) impregnado reduzem o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo ele utilizado em meio úmido, impedindo o crescimento bacteriano e possíveis contaminações por tais bactérias [15].

O PHMB demonstrou ação eficaz na utilização em tratamentos de feridas humanas infectadas, resultando em um ambiente propício para o processo cicatricial, com redução no tempo de cicatrização, de sinais de inflamação ou infecção, da colonização e de odores, além da ausência de dor na aplicação, irritação e reações alérgicas [16].

Da mesma forma derivados das plantas vêm sendo utilizados no tratamento de feridas com o objetivo de promover a cicatrização. A moxaterapia é uma técnica milenar da medicina tradicional chinesa (MTC), que consiste na combustão da erva *Artemisia vulgaris* L. a qual é arranjada em um bastão (moxabustão) [17].

A moxaterapia pode ser realizada de forma direta e indireta, mas é aplicada comumente de forma indireta a uma distância de 1 a 2,5 cm acima dos acupontos devido ao potencial que tem de lesionar e gerar dor quando é realizada de forma direta [18,19]. A queima do bastão favorece a produção de mediadores inflamatórios pelo sistema imunológico [20,21], aumento do fluxo linfático de modo que ocorra a diminuição de áreas edemaciadas no organismo [22], a partir do estímulo de fibras vegetativas assim como aumento do tônus vascular simpático [20,21]. Além disso, de acordo com Deng et al., 2013, a moxabustão também possui efeitos antibacterianos e antivirais. Porém, faltam estudos que demonstrem os efeitos da combustão da erva *Artemisia vulgaris* L. na promoção da cicatrização de feridas na pele [23].

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos farmacológicos da erva *Artemisia vulgaris* L. e o PHMB no tratamento e cicatrização de feridas limpas de pequenos animais (cães).

MATERIAL E MÉTODOS

Toda metodologia do presente estudo fora realizada de acordo com as normas internacionais de bem-estar animal após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Jaboticabal – SP, protocolos números 0101177-19 e 010538-19.

Instalações

Os procedimentos cirúrgicos e as análises histopatológicas-imunohistoquímicas foram realizados no Hospital Veterinário assim como no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal.

Animais

Foram incluídos 40 cães, sem distinção de gênero, raça e idade, com peso entre os 10 a 30 kg, que não estivessem utilizando medicação tópica ou sistêmica, submetidos à avaliação clínica prévia a partir de exames laboratoriais: hemograma e dosagens séricas de creatinina e alanina aminotransferase (ALT).

Os cães foram mantidos em canis individuais durante 10 dias e alimentados com ração específica e água *ad libitum*.

Delineamento experimental

Os 40 animais foram distribuídos igualmente em 4 grupos experimentais, sendo: Grupo Moxaterapia (técnica de moxaterapia indireta a cada 24 horas), Grupo PHMB 2 (aplicação tópica de PHMB a cada 12 horas), Grupo PHMB 1 (aplicação tópica de PHMB a cada 24 horas), e Grupo controle (aplicação tópica de solução salina estéril 0,9%). Após anestesia geral, durante o procedimento cirúrgico (ovariossalpingohisterectomia ou orquiectomia), foi realizada uma ferida cirúrgica circular na pele a nível pré-umbilical da região abdominal, com auxílio de um punch para biópsia de 1 cm de diâmetro. Em seguida, as feridas foram lavadas com solução salina 0,9% estéril, para a realização do protocolo de tratamento respectivo e aplicação de curativo a base de gaze e micropore, sendo para o grupo moxaterapia, um curativo seco, e para os grupos PHMB, curativo úmido devido a presença do gel impregnado na gaze.

A avaliação macroscópica do processo cicatricial foi realizada diariamente até o décimo dia do período pós-operatório, em todos os grupos, observando a presença de exsudato, edema, coloração entre outros, sendo ausente, discreto, moderado ou intenso; diferente do fator exudato onde foi avaliado baseado na presença ou ausência, sendo ausente, pouca quantidade, moderada ou excessiva, e dependendo do tipo de exudato foi classificado como seroso, eritemato-ceruminoso ou purulento.

No último dia se efetuou a biópsia excisional da ferida pré-umbilical da região abdominal em processo de cicatrização ou cicatrizada, deixando aproximadamente 2mm de margem para a avaliação histopatológica, histomorfométrica por meio de imunohistoquímica.

A partir da análise da presença de fibroblastos, angiogênese, colagenização, células polimorfonucleadas e mononucleadas, além de hemorragia, foi realizada a avaliação histoquímica para cicatrização. Na análise imunohistoquímica foi utilizado o anticorpo CD31 para angiogênese e o AE1/AE3 para mensuração do epitélio.

Foi um estudo clínico fechado, duplo cego (o avaliador e o tutor não sabiam qual substância foi utilizada em cada lesão) e randomizado.

Procedimento Experimental

Procedimento anestésico

Depois de um jejum alimentar de oito horas e hídrico de duas horas, foram submetidos à pré-medicação com morfina (0,5 mg/kg por via intramuscular), indução anestésica com propofol (5 mg/kg pela via intravenosa), e manutenção anestésica com isoflurano via sonda endotraqueal. Nas cadelas, também foi realizada anestesia epidural com lidocaína (2 mg/kg).

A terapia antimicrobiana profilática foi realizada com enrofloxacin (5 mg/kg por via intravenosa), 30 minutos antes do início da cirurgia e caso necessário, repetido a cada duas horas. Foi administrado meloxicam (0,2 mg/kg por via subcutânea), imediatamente após o término da cirurgia.

Procedimento cirúrgico

Com os pacientes posicionados em decúbito dorsal, foi realizada a tricotomia da região abdominal e antissepsia com clorexidine 2% e clorexidine alcoólico 0,5%. Ato contínuo, iniciou-se os procedimentos de ovariosalpingohisterectomia ou orquiectomia e, posteriormente, a lesão cutânea circular de 1 cm de diâmetro na região abdominal, a nível pré-umbilical, aproximadamente 2 cm de distância do umbigo (Figura 1).



Figura 1. Imagem fotográfica da ferida cirúrgica localizada na região pré-umbilical do abdômen de cães: Incisão de pele com um tamanho aproximado de 1 cm Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.

Pós-operatório

Todas as feridas cirúrgicas foram higienizadas com solução salina estéril 0,9%, e recobertas com curativos semipermeáveis (gaze aderida com micropore). Foi indicado o uso de colar elizabetano durante 10 dias, assim como a administração de meloxicam por via subcutânea (0,1 mg/kg) durante 2 dias.

As feridas cirúrgicas circunscritas dos cães do Grupo Moxaterapia foram tratadas a partir da moxabustão indireta, a um centímetro de distância da pele lesionada, deixando atuar durante aproximadamente 5 minutos o calor gerado a traves da queima da erva *Artemisia vulgaris* L. para depois ser coberto pelo curativo seco. Os animais dos grupos PHMB 1 e 2 foram tratados com o gel a base de PHMB, o qual foi depositado tanto na ferida assim como no curativo (gaze humedecida com o produto), o qual atuava de forma constante até realizar a troca do curativo e avaliação macroscópica.

Biópsia excisional

Após 10 dias do procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos ao mesmo protocolo anestésico para realização da biópsia excisional da região cicatricial, onde foi realizada a exérese cirúrgica circular por meio do uso de bisturi com margem de 2 mm do tecido normal. O material colhido foi fixado em formol 10% e enviado para avaliação histopatológica. Após a biópsia, as feridas cirúrgicas foram suturadas com padrão de sutura simples separado e fio

inabsorvível nylon sintético 3-0.

Forma de análise dos resultados

Avaliação macroscópica

Finalizado o procedimento cirúrgico, foi realizada a avaliação morfológica e morfométrica para verificar e acompanhar a resposta inflamatória e o processo de cicatrização, (Quadro 1) nos 10 dias de tratamento pós-operatório. De forma particular foi mesurado a presença de dor e desconforto a partir da manipulação na região abdominal, no entanto era feito o curativo respectivo, observando incômodo, agressividade, entre outros, por parte do animal.

Quadro 1. Sistema de pontuação para avaliação macroscópica da ferida cirúrgica

Variáveis/Pontos	0	1	2	3	4
Presença e grau de edema	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso	-
Presença e grau de eritema	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso	-
Presença e grau de dor/ Desconforto	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso	-
Vocalização a manipulação	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso	-
Presença e grau de prurido	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso	-
Presença e caracterização de secreção	Ausente	Serosa	Eritemato- ceruminosa	Purulenta	Mucoide
Quantidade de secreção	Ausente	Pouca	Moderada	Excessiva	-
Evolução do processo de cicatrização	-	Boa	Regular	Ruim	-

Avaliação Histopatológica

As amostras fixadas em formal a 10%, emblocadas em parafina, cortadas em secções de 5 micrômetros e coradas com hematoxilina-eosina, foram analisadas com o auxílio de microscópio óptico para avaliação de alterações histológicas, e foram pontuadas para verificação da resposta inflamatória (Quadro 2) e do processo de cicatricial (Quadro 3).

Quadro 2. Sistema de pontuação para avaliação histológica da resposta inflamatória

Variáveis/Pontos	0	1	2	3
Colagenização	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Angiogênese	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Fibroblastos	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Polimorfonucleados	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Mononucleados	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso

Quadro 3. Sistema de pontuação para avaliação histológica do processo cicatricial

Variáveis/Pontos	0	1	2	3
Necrose	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Hiperplasia	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Reepitelização	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso

Imuno-histoquímica

Para o estudo imuno-histoquímico, os cortes foram estendidos em lâminas de vidro previamente limpas e desengorduradas, preparadas com adesivo à base de organosilano (3-aminopropiltriétoxi-silano, Sigma Chemical C.O., USA).

Os cortes foram submetidos aos anticorpos específicos (Quadro 4). O sistema de detecção utilizado foi de acordo com as instruções dos fabricantes.

Quadro 4. Anticorpos que foram utilizados nas reações imuno-histoquímicas em amostras de pele de cães com diferentes tratamentos. Laboratório de Imuno-histoquímica da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Anticorpo	Clone	Empresa	Diluição	Recuperação antigênica	Período de incubação	Sistema de detecção
CD31	Monoclonal	Dako, JC70A	1:50	Pepsina Porcine Gastric Mucosa – Sigma Life Science- United Kingdom.	120 minutos	Novolink™ Polymer Detection Systems – Leica Biosystems New Castle Ltd-United Kingdom.
Ae1/Ae3	Policlonal	ImPath, Cytokeratin cocktail	1:400	Novocasta™ Epitope Retrieval Solutions Ph9 – Leica Biosystems New Castle Ltd-United Kingdom., Banho- maria	120 minutos	Novolink™ Polymer Detection Systems – Leica Biosystems New Castle Ltd-United Kingdom.

Os dados da imunomarcção de Ae1/Ae3 foram avaliados por meio de fotomicrografias, obtidas pelo microscópio óptico, no aumento de 2x, realizadas no programa NIS – Nikon Imaging Software Elements version 4.30. Foi selecionado o campo para obtenção da imagem que apresentar a imunomarcção epitelial. Posteriormente, as imagens foram analisadas com auxílio do software Image J®, com o plug-in Threshold Colour, obtendo-se o percentual da área total de reepitelização da ferida por meio da análise de partículas automatizadas de acordo com seleção e medida das áreas com base na cor.

O índice angiogênico para CD31 foi determinado pela técnica de contagem microvascular (MVC) segundo Maeda et al. (1995). Foram analisadas as áreas com maior número de vasos na profundidade da lesão [24]. As áreas de maior vascularização foram identificadas utilizando-se aumento de 40x. Qualquer célula ou grupo celular endotelial, corado positivamente separado dos microvasos adjacentes, e de outros elementos do tecido conjuntivo, foi considerado como vaso unitário, assim como, também, os vasos contendo lúmen. A contagem dos vasos aconteceu em cinco campos, selecionados previamente com elevada densidade vascular, no aumento de 400X, utilizando microscópio óptico de luz. A contagem microvascular (MVC) foi determinada duas vezes por um único avaliador, em dois momentos diferentes e expressado como número médio de vasos em cada caso estudado.

Análise estatística

A análise descritiva de todas as variáveis avaliadas no estudo foi realizada considerando os valores da mediana e intervalo interquartil. As variáveis, por possuir medidas repetidas e serem qualitativas ordinais, foram analisadas por meio do Modelos de Logitos Cumulativos ajustado por Gauss-Hermite com 7 pontos de quadratura (Cumulative Link Mixed Model), uma extensão dos Modelos Lineares Generalizados Mistos (Generalized Linear Mixed Model - GLMM). O efeito do fator tratamento foi obtido pelo teste da razão de verossimilhança (likelihood ratio tests), comparando o modelo nulo com o modelo com o efeito do tratamento. Os contrastes dentro dos tratamentos foram obtidos por meio do teste de comparações múltiplas de bonferroni. Todas as análises foram realizadas no

Software R (R Core Team, 2020), sendo adotado um nível de significância igual a 5%.

RESULTADOS

Avaliação Qualitativa

Comparando com o controle, animais que foram tratados com Moxaterapia, estatisticamente apresentaram diferença significativa nas variáveis: Dor/desconforto, Prurido e Cicatrização. Porém não teve diferença significativa nas variáveis: Edema, Eritema, Manipulação, Presença de secreção, quantidade de secreção (Tabela 1).

Tabela 1. Análise Estatística descritiva de oito variáveis com respeito a feridas tratadas com Moxaterapia

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	RV
Edema	Controle	100	1	1	0,4992
	Moxaterapia	100	0	1	
Eritema	Controle	100	1	1	0,1507
	Moxaterapia	100	0	0	
Dor/Desconforto	Controle	100	0	0	0,0004
	Moxaterapia	100	0	0	
Manipulação	Controle	100	0	0	0,2399
	Moxaterapia	100	0	0	
Prurido	Controle	100	0	0	0,0083
	Moxaterapia	100	0	0	
Presença de secreção	Controle	100	0	0	0,0757
	Moxaterapia	100	0	0,25	
Quantidade de secreção	Controle	100	0	0	0,1057
	Moxaterapia	100	0	0,25	
Cicatrização	Controle	100	1	0	0,0403
	Moxaterapia	100	1	0	

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil; LR: teste da razão de verossimilhança (*likelihood ratio tests*).

A análise das variáveis macroscópicas mostrou efeito não significativo ($p > 0,05$) entre os grupos controle e aplicação de curativo a base de PHMB 1 ou 2 vezes ao dia, para todas as variáveis analisadas (Figura 2).

Comparado com o controle, animais que foram submetidos ao tratamento com Moxaterapia e PHMB, não apresentaram estatisticamente uma diferença significativa nas variáveis analisadas, porém quando se compararam os grupos do gel (PHMB) com o grupo da Moxaterapia, é evidente uma diferença

significativa em variáveis específicas como a presença de secreção e a quantidade de secreção (Tabela 2).

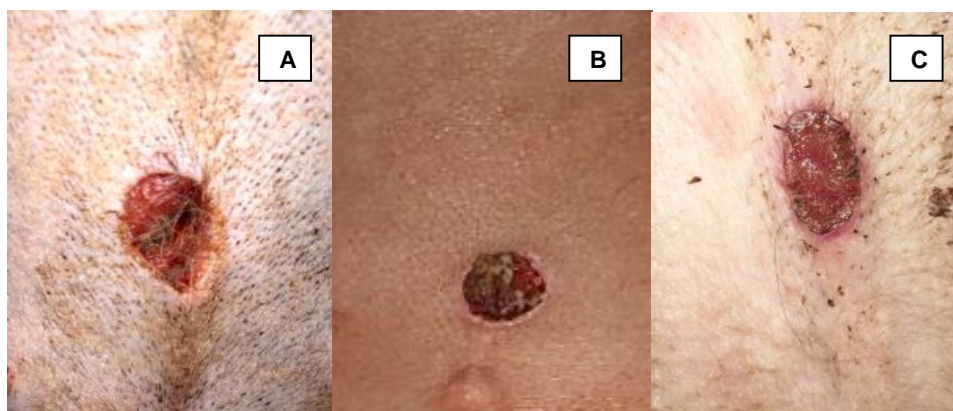


Figura 2. Imagem fotográfica da ferida cirúrgica localizada na região pré-umbilical do abdômen de cães aos 10 dias de tratamento. A: Lesão do grupo controle. B: Lesão do grupo tratado com Moxaterapia. C: Lesão do grupo tratado com PHMB. Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.

Tabela 2. Análise descritiva de 8 variáveis qualitativas e efeito de cada tratamento

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	BH
Edema	Controle	100	1	1	a
	Moxaterapia	100	0	1	a
	PHMB 1x dia	100	0	1	a
	PHMB 2x dia	100	0	1	a
Eritema	Controle	100	1	1	a
	Moxaterapia	100	0	1	a
	PHMB 1x dia	100	1	1	a
	PHMB 2x dia	100	0	1	a
Dor/desconforto	Controle	100	0	0	a
	Moxaterapia	100	0	0	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	a
	PHMB 2x dia	100	0	0	a
Manipulação	Controle	100	0	0	a
	Moxaterapia	100	0	0	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	a
	PHMB 2x dia	100	0	0	a
Prurido	Controle	100	0	0	a
	Moxaterapia	100	0	0	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	a
	PHMB 2x dia	100	0	0	a
Presença de secreção	Controle	100	0	0	ab
	Moxaterapia	100	0	0,25	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	b
	PHMB 2x dia	100	0	0	b
Quantidade de secreção	Controle	100	0	0	ab
	Moxaterapia	100	0	0,25	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	b
	PHMB 2x dia	100	0	0	b

Cicatrização	Controle	100	1	0	a
	Moxaterapia	100	1	0	a
	PHMB 1x dia	100	1	0	a
	PHMB 2x dia	100	1	0	a

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil. Max: valor máximo; Min: valor mínimo; Bonf: teste de comparações múltiplas de Bonferroni.

Avaliação Histopatológica

De acordo com as variáveis analisadas: PV = proliferação vascular, CM = células mononucleadas, VER = células polimorfonucleadas, PF = proliferação fibroblástica, C = colagenização, N = necrose, H = hiperplasia e R = reepitelização, ao serem submetidas à avaliação estatística se observa que o grupo tratado com Moxaterapia não apresentou diferença significativa comparado ao grupo controle (Tabela 3) (Figura 3)

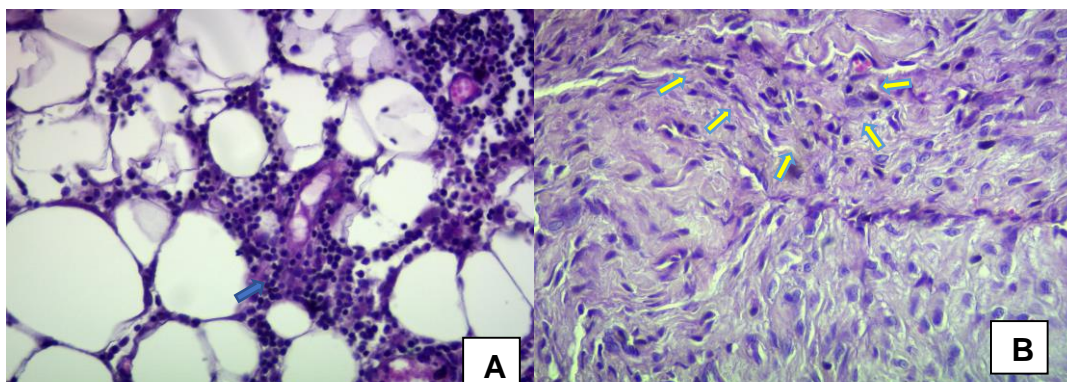


Figura 3. Imagem fotográfica da lâmina histológica da ferida circular pré-umbilical, A: Processo inflamatório da ferida do grupo tratado com Moxaterapia. B: Colagenização da ferida do grupo tratado com Moxaterapia, Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.

Tabela 3. Análise descritiva de 8 variáveis histológicas e efeito do tratamento: Moxaterapia

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	RV
PV	Controle	100	1	0	0,6046
	Moxaterapia	100	1	0,75	
CM	Controle	100	2	1,5	0,9026
	Moxaterapia	100	2	1,75	
VER	Controle	100	2	1,5	0,8077
	Moxaterapia	100	2	1,75	
PF	Controle	100	2	1,5	0,3695
	Moxaterapia	100	2	1,75	
C	Controle	100	2	0,75	0,1316
	Moxaterapia	100	1	1	
N	Controle	100	2	1	0,8703
	Moxaterapia	100	1	1	

H	Controle	100	0	0	0,5278
	Moxaterapia	100	0	0	
R	Controle	100	1	1	0,0698
	Moxaterapia	100	1	0	

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil; LR: teste da razão de verossimilhança (*likelihood ratio tests*).

A análise das variáveis microscópicas no tratamento com o gel PHMB mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) apenas para a variável colagenização, entre os grupos controle e aplicação de curativo a base de PHMB 2 vezes ao dia, sendo não significativo ($p > 0,05$) em relação ao grupo PHMB 1 e para todas as outras variáveis analisadas (Tabela 4) (Figura 4).

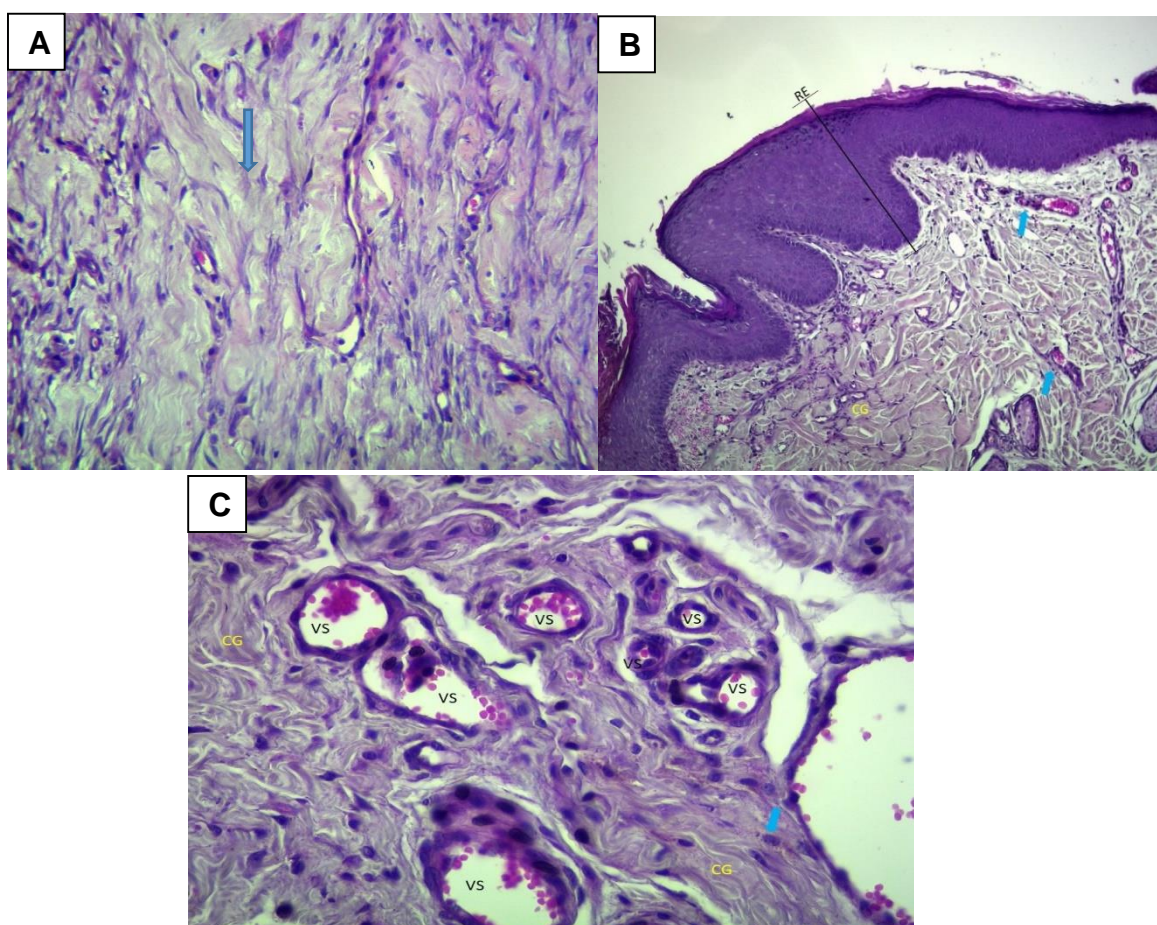


Figura 4. Imagem fotográfica da lâmina histológica da ferida circular pré-umbilical, A: Processo de Colagenização da ferida do grupo tratado com PHMB. B: Reepitelização da ferida do grupo tratado com PHMB, Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV.

Tabela 4. Análise descritiva de 8 variáveis histológicas e efeito do tratamento: PHMB a cada 12 e 24 horas

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	BH
PV	Controle	100	1	0	a
	PHMB 1x dia	100	2	1	a
	PHMB 2x dia	100	1	1	a
CM	Controle	100	2	1,5	a
	PHMB 1x dia	100	3	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	3	1	a
VER	Controle	100	2	1,5	a
	PHMB 1x dia	100	3	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	3	1	a
PF	Controle	100	2	1	a
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	1	0	a
C	Controle	100	2	0,75	b
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	ab
	PHMB 2x dia	100	1	0	a
N	Controle	100	2	1	a
	PHMB 1x dia	100	2,5	1,75	a
	PHMB 2x dia	100	2,5	1,75	a
H	Controle	100	0	0	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	a
	PHMB 2x dia	100	0	0	a
R	Controle	100	1	1	a
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	1	0,75	a

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil. Max: valor máximo; Min: valor mínimo; Bonf: teste de comparações múltiplas de Bonferroni.

Comparado com o controle, animais que foram submetidos ao tratamento com Moxaterapia e PHMB, não apresentaram estatisticamente diferença significativa nas variáveis analisadas (Tabela 5) (Figura 5).

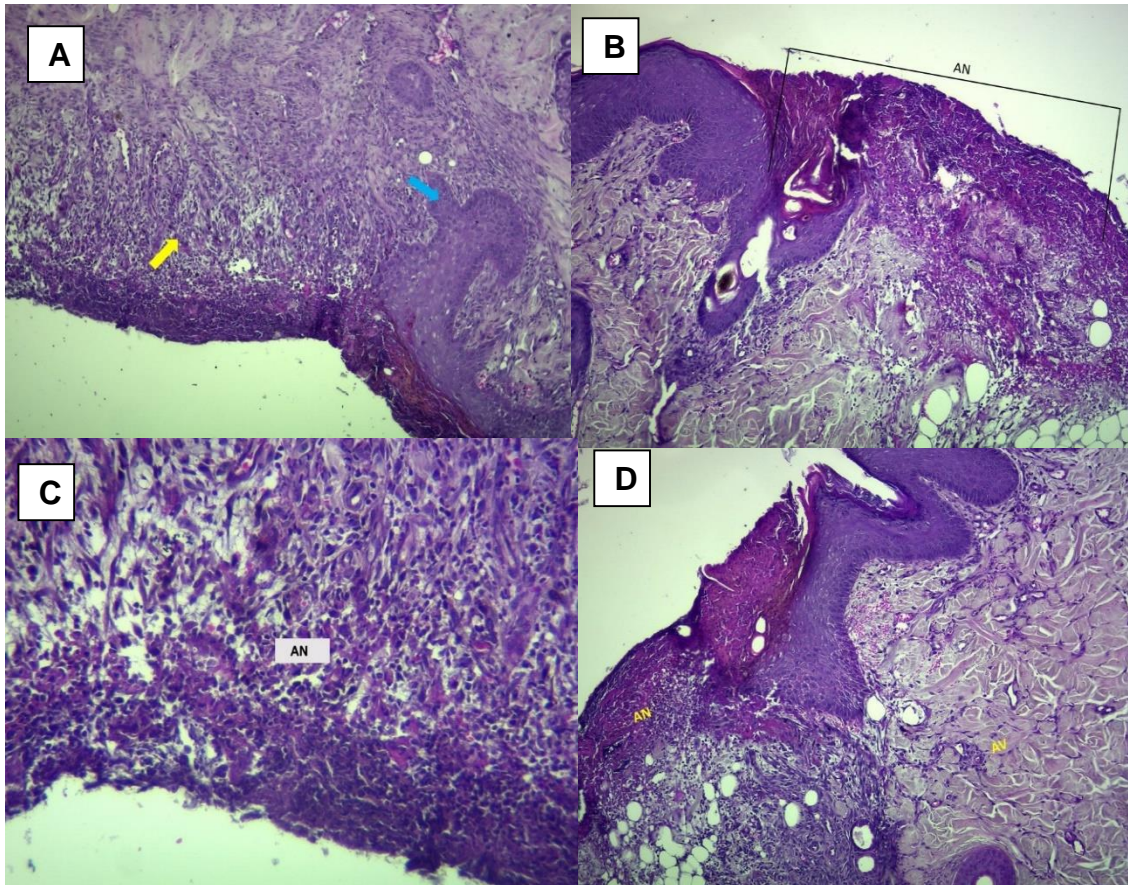


Figura 5. Imagem fotográfica da lâmina histológica da ferida circular pré-umbilical, A e D: Seta amarela: Zona de necrose Seta azul: Zona viável B e C: Zona de necrose, em ferida do grupo tratado com PHMB Fonte: Laboratório de Ortopedia e Neurocirurgia Veterinária da Unesp/FCAV

Tabela 5. Análise descritiva de oito variáveis histológicas: Comparação da Moxaterapia com o PHMB.

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	BH
PV	Controle	100	1	0	a
	Moxaterapia	100	1	0,75	a
	PHMB 1x dia	100	2	1	a
	PHMB 2x dia	100	1	1	a
CM	Controle	100	2	1,5	a
	Moxaterapia	100	2	1,75	a
	PHMB 1x dia	100	3	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	3	1	a
VER	Controle	100	2	1,5	a
	Moxaterapia	100	2	1,75	a
	PHMB 1x dia	100	3	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	3	1	a
PF	Controle	100	2	1	a
	Moxaterapia	100	1	1	a
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	1	0	a
C	Controle	100	2	0,75	a

	Moxaterapia	100	1	1	a
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	1	0	a
N	Controle	100	2	1	a
	Moxaterapia	100	1	1	a
	PHMB 1x dia	100	2,5	1,75	a
	PHMB 2x dia	100	2,5	1,75	a
H	Controle	100	0	0	a
	Moxaterapia	100	0	0	a
	PHMB 1x dia	100	0	0	a
	PHMB 2x dia	100	0	0	a
R	Controle	100	1	1	a
	Moxaterapia	100	1	0	a
	PHMB 1x dia	100	1	0,75	a
	PHMB 2x dia	100	1	0,75	a

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil. Max: valor máximo; Min: valor mínimo; Bonf: teste de comparações múltiplas de Bonferroni.

Avaliação imuno-histoquímica

De acordo com as variáveis analisadas, o índice angiogênico (CD31) e a área de reepitelização da ferida (Ae1/Ae3), ao serem submetidas à análise estatística demonstraram os seguintes resultados: referente ao fator reepitelização, os grupos tratados com moxaterapia e PHMB não apresentou diferença significativa quando comparado com o grupo controle, porém há diferença entre o tratamento com moxaterapia e o tratamento com PHMB 2x dia. Vale notar o valor de “TE” que representa o tamanho do efeito. Com valor de 0,25, isso indica que 25% da variação da fração de reepitelização é devido a aplicação do tratamento como um todo (Moxa, PHMB 1 e 2x dia). O valor de TE varia de 0 a 1, sendo normalmente atribuído valores de 0,10 a 0,30 como baixo efeito, 0,31 a 0,50 efeito moderado e maior que 0,51 grande efeito (Tabela 6) (Figura 6)

Tabela 6. Análise descritiva da variável fração da reepitelização e efeito de cada tratamento

Variável	Tratamento	n	Média	DP	Min	Max	r
Reepitelização	Controle	10	0,07 ^{ab}	0,03	0,03	0,13	0,25
	Moxaterapia	9	0,08 ^a	0,04	0,03	0,13	
	1 phmb	10	0,05 ^{ab}	0,03	0,01	0,10	
	2 phmb	10	0,04 ^b	0,02	0,00	0,09	

n: número de observações; DP: Desvio-padrão; Max: valor máximo; Min: Valor mínimo; r: tamanho do efeito .

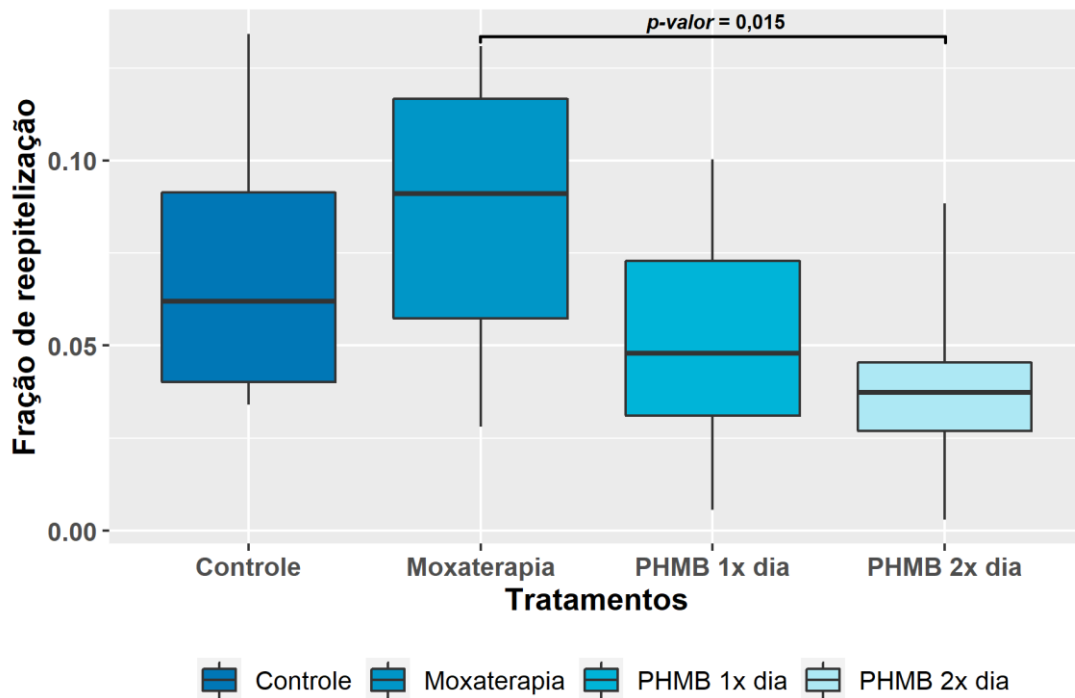


Figura 6. Box-plot da fração de reepitelização nos diferentes tratamentos.

De acordo com o índice angiogênico os dados obtivos ao serem submetidas à avaliação estatística se observa que os grupos tratados com Moxaterapia e PHMB não apresentaram diferença significativa quando comparado com o grupo controle (Tabela 7), (Figura 7). Importante mencionar que foram analisados 5 campos diferentes, evidenciando de forma individual a ausência de significância estatística, permitindo assim realizar a análise estatística a partir da mediana dos 5 campos avaliados. O sistema estatístico consegue analisar dados desbalanceados, por isso a diferença no número de amostras analisadas (50 e 40); porém deve-se considerar os resultados com cautela devido a serem somente 10 animais avaliados em 5 campos histológicos diferentes.

Tabela 7. Análise descritiva da variável número de vasos sanguíneos e efeito de cada tratamento.

Variável	Tratamento	n	Mediana	IQR	Min	Max
Número de vasos	Controle	40	7 ^a	2,97	3	15
	Moxaterapia	50	7 ^a	2,97	2	14
	1 phmb	40	5,5 ^a	2,22	2	13
	2 phmb	50	7 ^a	2,97	3	16

n: número de observações; IQR: intervalo interquartil; Max: valor máximo; Min: Valor mínimo.

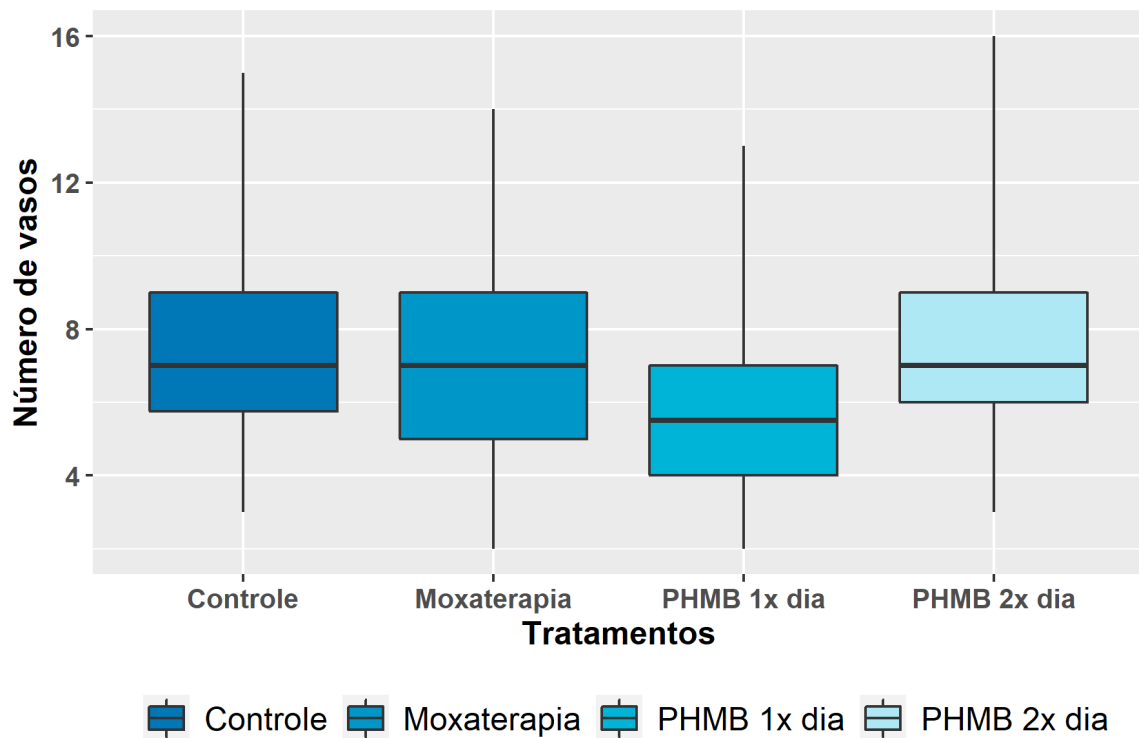


Figura 7. Box-plot do número de vasos sanguíneos nos diferentes tratamentos.

DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos terapêuticos da moxaterapia e PHMB na cicatrização de feridas cirúrgicas (limpas) em cães, com ênfase no tempo e qualidade; visando o fechamento precoce das feridas sem a presença de atributos associados assim como alterações na formação de colágeno que permita o desenvolvimento de cicatrizes hipertróficas ou queloides. A escolha da realização de uma ferida cirúrgica para serem testados os tratamentos anteriormente mencionados justifica-se pela falta de estudos que os avaliem durante o processo da cicatrização em feridas limpas de origem cirúrgica.

O tempo de avaliação escolhido no presente estudo tem como base trabalhos anteriores realizados em feridas de cães, onde aos 10 dias de pós-operatório já era possível retirar os pontos da ferida tratada, evidenciando o fechamento e cicatrização da mesma. Importante mencionar que as feridas do presente estudo foram feridas que não foram suturadas e permaneceram abertas durante todo o tempo de avaliação. Partindo deste ponto, foi escolhido o tempo de 10 dias de avaliação, visando a cicatrização e fechamento precoce e de qualidade da lesão [25].

De maneira geral os resultados mostram que os animais tratados com moxaterapia e PHMB não obtiveram uma eficácia superior no processo da cicatrização quando comparados com o grupo controle. Desta forma, a hipótese sugerida em relação ao potencial cicatrizante dos tratamentos testados não pode ser corroborada, diferente dos estudos utilizados como base para a presente pesquisa, que apresentaram resultados satisfatórios, decerto por se tratar de feridas contaminadas, além de ser feridas onde as bordas foram aproximadas com sutura. É importante citar que feridas cirúrgicas limpas assim como feridas crônicas correm o risco de se contaminar com o tempo assim como as diferentes condições ambientais aonde estão expostas; permitindo a proliferação e colonização, comprometendo o processo da cicatrização, [26].

Os inúmeros tipos de curativos que existem têm como função proteger as feridas contra o desenvolvimento de processos infecciosos a partir da barreira oferecida pelo mesmo, permitindo um ambiente propício para progredir em direção ao fechamento da ferida [5]; embora os curativos possam atuar como uma barreira para bloquear a entrada de bactérias externas, existe o risco de proliferação de bactérias na superfície da ferida assim como a migração de bactérias ao redor das feridas, processo que tem maior incidência nos dias 3 e 5 após a implantação [27].

Atualmente, nenhum curativo para feridas é disponível comercialmente com atividade antibacteriana, sendo usados com subprodutos como é o PHMB, o qual possui efeito bactericida, que demonstrou ser o menos afetado pela temperatura, pH e matéria orgânica presente nos leitos das feridas. [28]. No estudo, os curativos associados ao PHMB e moxaterapia, mesmo não diminuindo o tempo do processo da cicatrização, evidenciou a nível macroscópico, feridas sem a presença de atributos indicativos de processos infecciosos em todos os grupos analisados, corroborando o potencial antisséptico dos tratamentos testados. No estudo foram trocados os curativos a cada 12 e 24 horas, dependendo do tipo de tratamento estabelecido para cada grupo. De acordo com o estudo realizado por Jin et al. (2020), o tempo de liberação do PHMB correlacionou-se positivamente com o período de alta incidência de infecção (3-5 dias) após a realização da ferida. Aspecto importante evidenciado no mesmo estudo foi a ausência de significância estatística em quanto aos efeitos terapêuticos e tempo de liberação do produto quando se compara o uso de

concentrações diferentes do gel a base de PHMB (1% e 2%), independentemente de estar em um ambiente asséptico ou não asséptico, sugerindo que 1% é provavelmente a concentração mínima que permite liberação constante e funcional de PHMB, permitindo assim adotar essa concentração para outros experimentos subsequentes; de igual forma o PHMB não afetou a proliferação de fibroblastos ou células endoteliais vasculares durante os 21 dias de avaliação, evidenciando a compatibilidade e ausência de citotoxicidade do tratamento; da mesma forma Marquardt et al. (2011) obteve resultados satisfatórios em feridas contaminadas de humanos, realizando as trocas dos curativos a base de PHMB a cada 2-4 dias associados à terapia: Negative Pressure Wound Therapy até que as feridas estivessem livres de infecção para finalmente serem suturadas, sugerindo para futuros estudos, realizar as trocas dos curativos após um período de tempo mais longo, para os casos onde foram utilizar curativos a base de PHMB [28,29].

Dentro dos estudos presentes na literatura, encontra-se o estudo realizado por Nolff et al. (2018) que comparou a eficácia do PHMB, plasma de argônio frio e solução salina na redução de bactérias em feridas causadas por mordidas de cães, diminuindo de forma significativa a carga bacteriana quando comparado com os outros tipos de tratamentos avaliados [25]. As feridas abertas que cicatrizam por segunda intenção, apresentam maior risco de contaminação e presença de bactérias que comprometem o processo fisiológico da cicatrização, impedindo a regeneração saudável dos tecidos a partir da produção de enzimas proteolíticas (colagenases), as quais degradam o colágeno presente no leito da ferida, assim como toxinas que afetam de forma indireta, a partir da liberação estimulantes pró-inflamatórios. Por isso a importância de realizar lavados (solução salina estéril 0,9%) e tratamentos antissépticos ou anti-inflamatórios, que visem um ambiente propício para o desenvolvimento do processo de cicatrização de feridas [5].

Segundo Moore et al. (2016), em humanos, feridas crônicas-contaminadas que não cicatrizam, o gel a base de PHMB proporcionou um ambiente úmido, favorecendo a produção do tecido de granulação e mantendo, na maior parte dos casos clínicos, feridas com carga bacteriana controlada ou ausente, facilitando assim, o fechamento e cicatrização das feridas; digno de nota foi o fato de que com PHMB, a terapia antimicrobiana não foi iniciada em quase 90% dos pacientes e, quanto ao tempo do

processo da cicatrização, evidenciaram que as feridas venosas apresentaram o menor número de dias para o fechamento, com um promédio de 29 dias, diferente das úlceras diabéticas onde o período de tempo foi mais longo, aproximadamente 92 dias [5]. Referente ao processo de formação de colágeno do grupo PHMB 2x dia, comparado com os demais grupos, apresentou estatisticamente diferença significativa. Devemos ressaltar que as feridas dos grupos tratados com PHMB permaneciam úmidas, devido aos curativos impregnados com o gel, diferente dos demais grupos avaliados. Desta maneira, é necessário expor que por conta da diferença de ambiente entre as feridas (húmidas e secas), inclusive entre os grupos tratados a cada 12 horas e 24 horas com o gel PHMB, a fase de proliferação conseguiu ser diferente em cada grupo. De igual forma, por ser o PHMB um antibacteriano de amplo espectro, teoriza-se que o efeito antimicrobiano do gel inibiu a colonização bacteriana e evitou a produção de enzimas proteolíticas, que degradam e impedem a síntese de colágeno, mantendo um tecido de granulação saudável, além de reduzir a necessidade de uso de antimicrobianos [30].

De acordo com os resultados observados no grupo tratado com moxaterapia, na medicina humana tem demonstrado resultados satisfatórios em diferentes áreas, incluindo tratamentos de feridas cutâneas, seja pela manipulação de calor nos acupontos ou diretamente nos locais lesionados [31]. Sabe-se que a moxabustão atua ativamente na circulação periférica, e conseqüentemente na circulação visceral, tendo ação na fase inflamatória da cicatrização de feridas [31]. Assim, a terapia térmica, por interferir na circulação local, otimiza a cicatrização de feridas crônicas e infectadas e também reduz a ocorrência de necrose nos tecidos [32], efeitos que provavelmente não foram significativos no estudo por se tratar de feridas limpas geradas cirurgicamente a partir de técnicas assépticas. É importante observar o tempo de exposição à combustão da erva em cada troca de curativo. Os animais no estudo foram expostos durante 5 minutos, podendo ser um tempo maior para garantir a temperatura desejada no leito da ferida [33-35], fator importante que interfere diretamente com os resultados do tratamento [34,35]; esses fatores citados anteriormente puderam interferir na validação da hipótese planteada, sugerindo para futuros estudos, realizar tratamentos com outros intervalos de tempo de exposição à moxaterapia.

De acordo com o estudo desenvolvido por Greten (2018), foi utilizado o método de aplicação indireta (moxaterapia) devido ao fato de que a aplicação de moxabustão a uma distância de 3 cm evita danos térmicos e dor nos pacientes, observando que a temperatura efetiva na superfície da pele pode ser alcançada com a permanência do bastão de moxabustão sobre a área desejada (5- 10 min) e assim alcançar a eficácia do tratamento [12]. Alguns autores afirmam que a temperatura elevada na superfície da pele é o que determinará qual receptor será ativado [35], sendo que a temperatura ótima para a moxabustão ser tolerável e apresentar a resposta terapêutica desejada deve ser num limiar maior que 43°C [35]. A elevação da temperatura também desencadeia o processo de degranulação de mastócitos e aumento do fluxo sanguíneo no local [34]. Não foi avaliada a temperatura da pele alcançada durante os 5 minutos de tratamento, entretanto os animais mantiveram-se aparentemente saudáveis durante todo o tempo em que foram tratados, sem sinais de dor e desconforto, assim como alterações dermatológicas por queimadura, isso provavelmente é justificado pela escolha do tempo e distância utilizada no tratamento com a moxaterapia. Por ser a temperatura um fator importante no tratamento, sugere-se, em futuros estudos, avaliar e medir a temperatura na qual chega a ferida dos pacientes tratados com moxaterapia.

Dos 10 pacientes tratados com moxaterapia (grupo moxaterapia), se observou de forma macroscópica uma boa evolução cicatricial em todos os animais ao longo dos 10 dias de avaliação. As bordas das feridas não apresentaram edema e eritema durante as primeiras 72 horas, ao dia 5 já era possível observar tecido de granulação exuberante no leito das feridas. Do dia 6 ao dia 10 se observou regressão progressiva das bordas das feridas, sem fechar por completo. Quando se compara com o grupo controle, não teve diferença estatística significativa na maioria das variáveis, sendo a moxaterapia relevante nas variáveis: presença de dor/desconforto, prurido e cicatrização. Segundo Seki et al. (2011), a moxabustão leva à vasoconstrição no ponto submetido ao calor, enquanto a vasodilatação em torno do ponto, permitindo aumentar o fluxo sanguíneo arterial periférico e a permeabilidade microvascular, possibilitando a chegada de mediadores inflamatórios pelo sistema imunológico assim como o aumento do fluxo linfático, diminuindo as áreas edemaciadas, produção e extravazamento de proteínas plasmáticas como protetores endógenos em resposta a

hipertermia e outros estresses ambientais, que contribuem com a formação do tecido de granulação, o qual explicaria as características do processo da cicatrização observadas nos 10 animais tratados com moxaterapia [36].

Todavia, os mecanismos de ação que promovem os benefícios da moxaterapia no controle da dor em feridas limpas ainda não estão completamente esclarecidos, porém se acredita que a analgesia pode ser consequente à liberação de endorfinas no momento do tratamento [36]. A nível histopatológico, as características avaliadas (presença de proliferação vascular, células mononucleadas, células polimorfonucleadas, proliferação fibroblástica, colagenização, necrose, hiperplasia, reepitelização), estiveram presentes no grupo tratado com moxaterapia, características presentes em qualquer processo de cicatrização [37], porém não foi estatisticamente significativo quando se comparou com o grupo controle. De acordo com Deng et al.(2013), a moxaterapia possui efeitos antibacterianos; se sabe que feridas contaminadas apresentam processos inflamatórios exacerbados, e diferentes reações a nível local e sistêmico que impedem a regeneração saudável dos tecidos [31,38]. Devido a falta de estudo na medicina veterinária, e por se tratar de feridas limpas, pode se acreditar que a moxaterapia usada em feridas cirúrgicas ajuda manter o leito da ferida em condições onde se consiga desenvolver o processo fisiológico normal da cicatrização, sem diminuir o tempo da mesma, diferente se se tratasse de feridas contaminadas-infectadas, onde a partir dos efeitos anteriormente citados, ajudaria no processo de reparação evitando processos de cicatrização tardio.

Não foram realizados esfregaços ou culturas bacterianas para determinar a presença ou não das mesmas, entretanto as feridas mantiveram-se aparentemente saudáveis, sem a presença de atributos associados indicativas de processos infecciosos durante o tempo em que foram avaliadas, isso provavelmente é justificado pela origem da ferida (criada cirurgicamente baixo técnicas assépticas). De igual forma baseados nos resultados do grupo tratado com PHMB, justificasse pelos efeitos antibacterianos do gel, efeitos observados no estudo realizado por [15], assim como o estudo desenvolvido por Hübner (2015) que teve como resultado a diminuição altamente significativa da pontuação de contaminação da ferida (contaminada) somada ao longo do tempo, sem resistência bacteriana presente. É importante mencionar que o PHMB, ao contrário de outros antissépticos, a eficácia antimicrobiana

não se compromete a quantidade de fluido presente na ferida, assim como altas cargas de sangue ou albumina. Isso é de extrema importância para o uso clínico, pois o efeito antimicrobiano não se limita ao tipo ferida e também, o PHMB bloqueia a fixação microbiana às superfícies e demonstrou remover biofilmes de forma eficaz *in vitro* e *in vivo* [14]. Seria importante, em estudos posteriores, fazer ênfase na avaliação microbiológica a partir de esfregaços ou culturas para determinar cargas bacteriana e eficiência dos tratamentos testados quanto ao controle dos mesmos.

A resistência bacteriana é um processo que vem se disseminando de acordo com o uso de tratamentos com antimicrobianos, e o PHMB, assim como a Moxaterapia é uma substância antisséptica com um amplo espectro antimicrobiano com baixo risco de resistência e potencial cicatrizante, além da facilidade de uso, baixa toxicidade, alta compatibilidade com os tecidos, que os fazem se tornar produtos provisórios no tratamento de feridas, sendo usado atualmente na medicina humana para tratamento de lesões cutâneas contaminadas e outros tipos de patologias [14,39] Faltam estudos enfocados no tratamento de feridas limpas na medicina veterinária, razão pela qual foram escolhidos os tratamentos anteriormente citados para avaliar o potencial cicatrizante em este tipo de feridas em particular.

A falta de estudos sobre o uso de PHMB e Moxaterapia na cicatrização de feridas cirúrgicas não contaminadas em cães, impediu que se pudesse confrontar os resultados de outros autores com os resultados obtidos neste estudo. Porém se sabe que os tratamentos escolhidos possuem efeitos positivos na cicatrização de feridas, incluindo descontaminação, desintoxicação, estabilização interna da ferida, redução do edema da ferida assim como promover a formação de tecido de granulação levando ao fechamento rápido das feridas [28]. Da mesma forma, no mesmo estudo, o uso do PHMB em feridas não infectadas, comprovaram que não afeta a vascularização nem habilidades de reparo tecidual, justificando os resultados obtidos na avaliação imuno-histoquímica, onde se avaliou o índice angiogênico (CD31) e a área de reepitelização da ferida (Ae1/Ae3), sem apresentar significância estatística, quando comparada com o grupo controle.

Não foram analisados os efeitos colaterais do PHMB nem da Moxaterapia no presente estudo, entretanto os animais mantiveram-se aparentemente saudáveis durante todo o tempo em que foram avaliados, isso provavelmente é justificado pela

escolha do curto período que foram tratados os animais presentes no estudo.

Dentro das limitações presentes no estudo, existe a falta de padronização em quanto a realização dos curativos, devido a presença de vários médicos veterinários realizando o estudo, fazendo com que a quantidade do gel usada assim como a distância com que se fez a moxaterapia pudesse ser diferente de uma pessoa a outra. De igual forma faltou realizar análises do processo da cicatrização em diferentes intervalos de tempo, e não só em 10 dias, mensurar o tamanho da ferida de forma diária para calcular a regreção da ferida e obter diferentes dados para submeter a análise, assim como a realização de culturas nos leitos da ferida para confirmar a presença ou ausência de contaminação e infecção das feridas. Outra importante limitação foi o estresse dos animais confinados durante os dez dias de avaliação, podendo alterar os níveis de cortisol basal (parâmetro não avaliado), interferindo no processo normal da cicatrização. A falta de dados na literatura para comparar os resultados obtidos, assim como a realização de outras análises laboratoriais foram outros tipos de limitações presentes no desenvolvimento do estudo.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente estudo se conclui que o tratamento de feridas limpas a partir de curativos com PHMB e moxaterapia são eficazes e compatíveis como agentes promotores da cicatrização, mesmo não diminuindo o tempo, permitiram manter os leitos das feridas em um ambiente propício para progredir em direção ao fechamento da mesma, sem sinais de citotoxicidade que comprometeram a formação de colágeno, reepitelização e neovascularização de tecido, permitindo a profilaxia antibacteriana sem o uso de terapias antibióticas, diminuindo o risco de resistência bacteriana; reforçando ainda mais o fato de continuar estudando outros produtos que permitam potencializar e melhorar o processo da cicatrização, quanto ao tempo e qualidade, até estabelecer um tratamento ouro, atualmente ausente na medicina veterinária.

REFERÊNCIAS

- [1] TAKEO, M.; LEE, W.; ITO, M. Wound healing and skin regeneration. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, v. 5, n. 1, p. a023267, 2015. doi: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/5/1/a023267.short>
- [2] GURTNER, Geoffrey C., WERNER, S, BARRANDON, Y, LONGAKER, M.T. Wound repair and regeneration. Nature, v. 453, n. 7193, p. 314, 2008. doi: <https://www.nature.com/articles/nature07039>
- [3] BALSÀ, Ingrid M.; CULP, William TN. Wound care. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, v. 45, n. 5, p. 1049-1065, 2015. doi: [https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(15\)00072-8/abstract](https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(15)00072-8/abstract)
- [4] JAFFE, L.; WU, S. C. Dressings, Topical Therapy, and Negative Pressure Wound Therapy. Clinics in Podiatric Medicine and Surgery, 2019. doi: [https://www.podiatric.theclinics.com/article/S0891-8422\(19\)30017-5/abstract](https://www.podiatric.theclinics.com/article/S0891-8422(19)30017-5/abstract)
- [5] MOORE, Keith; GRAY, David. Using PHMB antimicrobial to prevent wound infection. Wounds uK, vol. 3, no 2, p. 96, 2007. doi: <https://lohmann-rauscher.co.uk/downloads/clinical-evidence/SXP015-Moore-and-Gray-Using-PHMB-antimicrobial-to-prevent-.pdf>
- [6] SALGADO, Rosa M. et al. Maltodextrin/ascorbic acid stimulates wound closure by increasing collagen turnover and TGF- β 1 expression in vitro and changing the stage of inflammation from chronic to acute in vivo. Journal of tissue viability, v. 26, n. 2, p. 131-137, 2017. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0965206X17300219>
- [7] HASHEMI, Seyyed Abbas; MADANI, Seyyed Abdollah; ABEDIANKENARI, Saied. The review on properties of Aloe vera in healing of cutaneous wounds. BioMed research international, v. 2015, 2015. doi: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/714216/>
- [8] DAVIDSON, Jacqueline R. Current concepts in wound management and wound healing products. Vet Clin North Am Small Anim Pract, v. 45, n. 3, p. 537-64, 2015. doi: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Wp3uCQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA537&dq=Current+concepts+in+wound+management+and+wound+healing+products&ots=vdVAiv71g6&sig=KFBfriku5Lph0GMgmIJEvZV7XSI#v=onepage&q=Current%20concepts%20in%20wound%20management%20and%20wound%20healing%20products&f=false>
- [9] UENO, Hiroshi; MORI, Takashi; FUJINAGA, Toru. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. Advanced drug delivery reviews, v. 52, n. 2, p. 105-115, 2001. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X01001892>

[10] SWAIM, Steven F.; GILLETTE, Robert L. An update on wound medications and dressings. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA), 1998. doi: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1999007686>

[11] KAMARUZZAMAN NF.; FIRDESSA R.; GOOD L. Bactericidal effects of polyhexamethylene biguanide against intracellular *Staphylococcus aureus* EMRSA-15 and USA 300, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 71, Issue 5, May 2016, Pages 1252–1259. doi: <https://academic.oup.com/jac/article/71/5/1252/1750661?login=true>

[12] GAO Y.; CRANSTON R. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Text Res J* 2008; 78: 60–72. doi: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0040517507082332>

[13] MASHAT BH. Polyhexamethylene biguanide hydrochloride: Features and Applications. *Br J Environ Sci* 2016; 4: 49–55. doi: <https://www.eajournals.org/wp-content/uploads/Polyhexamethylene-Biguanide-Hydrochloride-Features-and-Applications1.pdf>

[14] HÜBNER, N.O.; KRAMER, A. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polyhexanide, a modern wound antiseptic. *Skin pharmacology and physiology*, v. 23, n. Suppl. 1, p. 17-27, 2010. doi: <https://www.karger.com/Article/Abstract/318264>

[15] LEE, W. R.; TOBIAS, K. M.; BEMIS, D. A.; ROHRBACH, B. W. In vitro efficacy of a polyhexamethylene biguanide-impregnated gauze dressing against bacteria found in veterinary patients. *Veterinary Surgery*, v. 33, n. 4, p. 404-411, 2004. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1532-950X.2004.04059.x>

[16] SANTOS, E. J. F. D.; SILVA, M. A. N. C. G. Tratamento de feridas colonizadas/infetadas com utilização de polihexanida. *Revista de Enfermagem Referência*, n. 4, p. 135-142, 2011. doi: <https://www.redalyc.org/pdf/3882/388239963018.pdf>

[17] SCHOEN, A.M. (Ed.) *acupuntura veterinária: da arte antiga à medicina moderna*. São Paulo: Roca, 2006. 91-108p.

[18] XIE, Huisheng; PREAST, Vanessa. *Xie's veterinary acupuncture*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2007. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470344569>

[19] GRETEN, Henry Johannes. Chinese medicine as a model of system biology: Diagnosis as the foundation of acupoint selection. In: *Current Research in Acupuncture*. Springer, New York, NY, 2013. p. 621-657. doi: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-3357-6_21

[20] DRAEHMPAEHL, DIRK; ZOHMANN, Andreas. Acupuntura no cão e no gato: princípios básicos e prática científica. Roca, 1997.

[21] XU, Aijun; CHENGWEI, Li; XU, Qiu. The Performance Evaluation of Traditional Moxibustion, Electronic Moxibustion and LaserAcupuncture on Apoplexy and Their Comparison Research. Springer, Berlin, Heidelberg, 2007. doi: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-36841-0_908

[22] ABBATE, Skya. Advanced techniques in oriental medicine. Thieme, 2006.

[23] DENG, Hongyong; SHEN, Xueyong. The mechanism of moxibustion: ancient theory and modern research. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2013, 2013. doi: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/379291/>

[24] Maeda K, Chung YS, Takatsuka S, Ogawa Y, Onoda N, Sawada T et al. Tumour angiogenesis and tumour cell proliferation as prognostic indicators in gastric carcinoma. Br J Cancer 1995; aug.; 72(2):319-23. doi: <https://www.nature.com/articles/bjc1995331>

[25] NOLFF, M. C.; WINTER, S.; REESE, S.; MEYER-LINDENBERG, A. Comparison of polyhexanide, cold atmospheric plasma and saline in the treatment of canine bite wounds. Journal of Small Animal Practice, 2018. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jsap.12971>

[26] KINGSLEY, Andrew. A proactive approach to wound infection. Nursing Standard (through 2013), vol. 15, no 30, p. 50, 2001. doi: <https://www.proquest.com/openview/ef80f94eaf2747d91d87d047473ffdd1/1?pq-origsite=gscholar&cbl=30130>

[27] WAIN, R. A. J., et al. Dermal substitutes do well on dura: Comparison of split skin grafting+/- artificial dermis for reconstruction of full-thickness calvarial defects. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, vol. 63, no 12, p. e826-e828, 2010. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1748681510004183>

[28] JIN, Jian, et al. Development of a PHMB hydrogel-modified wound scaffold dressing with antibacterial activity. Wound Repair and Regeneration, vol. 28, no 4, p. 480-492, 2020. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/wrr.12813>

[29] MARQUARDT, Christoph, et al. Surgical site infections after median laparotomy treated with NPWT and PHMB gauze. 2011. doi: https://www.researchgate.net/profile/Thomas-Schiedeck/publication/228502513_Surgical_Site_Infections_after_Median_Laparotomy_Treated_with_NPWT_and_PHMB_Gauze/links/00b7d52f11e6571cc0000000/Surgical-Site-Infections-after-Median-Laparotomy-Treated-with-NPWT-and-PHMB-Gauze.pdf

[30] MOORE, Michael; DOBSON, Nanci; CETNAROWSKI, Wes. 0.1% Polyhexanide-Betaine Solution as an Adjuvant in a Case-Series of Chronic Wounds. *Surgical technology international*, vol. 29, p. 85-89, 2016. doi: <https://europepmc.org/article/med/27780344>

[31] DENG, Hongyong; SHEN, Xueyong. The mechanism of moxibustion: ancient theory and modern research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, vol. 2013. doi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3789413/>

[32] PETROFSKY, Jerrold Scott, et al. Enhanced healing of diabetic foot ulcers using local heat and electrical stimulation for 30 min three times per week. *Journal of diabetes*, 2010, vol. 2, no 1, p. 41-46. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1753-0407.2009.00058.x>

[33] T. Seki, S. Takayama, M. Watanabe et al., "Changes of blood flow volume in the superior mesenteric artery and brachial artery with abdominal thermal stimulation," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2011, Article ID 214089, 10 pages, 2011. doi: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/214089/>

[34] HUANG, Chinlong; SHEU, Tony WH. Study of the effect of moxibustion on the blood flow. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 63, p. 141-149, 2013. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0017931013002640>

[35] WANG, Gui-Ying, et al. Effects of moxibustion temperature on blood cholesterol level in a mice model of acute hyperlipidemia: role of TRPV1. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, vol. 2013. doi: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/871704/>

[36] DOS SANTOS, Ana Cristina, et al. Eficácia da acupuntura e moxabustão no tratamento de cadela com doença do disco intervertebral: Relato de caso. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, vol. 18, no 4, 2015. doi: <https://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/5752>

[37] CLARK, Richard AF (Ed.). *The molecular and cellular biology of wound repair*. Springer Science & Business Media, 2013. doi: <https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=HOzcbWAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=The+molecular+and+cellular+biology+of+wound+repair.+Springer+Science+%26+Business+Media&ots=BufUiMsvyo&sig=APcPPyNIGxWuXjsZlULbFUiZoQ#v=onepage&q=The%20molecular%20and%20cellular%20biology%20of%20wound%20repair.%20Springer%20Science%20%26%20Business%20Media&f=false>

[38] AMALSADVALA, T.; SWAIM, S. Management of hard to heal wound. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 36, n. 4, p. 693- 711, 2006. doi: <https://europepmc.org/article/med/16787784>

[39] CHEN, Rui; SALISBURY, Anne-Marie; PERCIVAL, Steven L. A comparative study on the cellular viability and debridement efficiency of antimicrobial-based wound dressings. *International wound journal*, vol. 17, no 1, p. 73-82, 2020. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/iwj.13234>