

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

**ESTUDO PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO E EFICÁCIA DA
FORMULAÇÃO DE TARTARATO DE KETANSERINA
(0,345%) E ASIATICOSÍDEO (0,20%), APLICADA VIA
TÓPICA, NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÕES
CUTÂNEAS EM CÃES**

**Thuanny Lopes Nazaret
Médica Veterinária**

2018

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

**ESTUDO PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO E EFICÁCIA DA
FORMULAÇÃO DE TARTARATO DE KETANSERINA
(0,345%) E ASIATICOSÍDEO (0,20%), APLICADA VIA
TÓPICA, NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÕES
CUTÂNEAS EM CÃES**

Thuanny Lopes Nazaret

Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi

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

2018

N335e

Nazaret, Thuanny Lopes

Estudo para avaliação da ação e eficácia da formulação de tartarato de ketanserina (0,345%) e asiaticosídeo (0,20%), aplicada via tópica, no processo de cicatrização de lesões cutâneas em cães / Thuanny Lopes Nazaret. -- Jaboticabal, 2018

51 p.

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

Orientador: Andriago Barboza De Nardi

1. Reparação tecidual. 2. Ferida. 3. Angiogênese. 4. Tecido de granulação. 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.

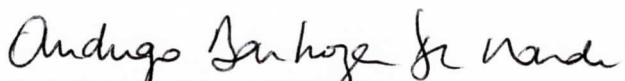
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO E EFICÁCIA DA FORMULAÇÃO DE TARTARATO DE KETANSERINA (0,345%) E ASIATICOSÍDEO (0,20%), APLICADA VIA TÓPICA, NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS EM CÃES

AUTORA: THUANNY LOPES NAZARET

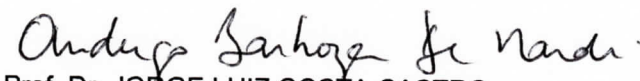
ORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

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



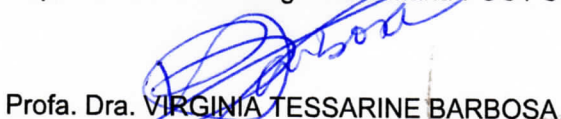
Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. JORGE LUIZ COSTA CASTRO

Departamento de Cirurgia Veterinária-PUC / Curitiba/PR



Profa. Dra. VIRGINIA TESSARINE BARBOSA

Médica Veterinária - Responsável Técnica / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 03 de setembro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THUANNY LOPES NAZARET, nasceu em Araguaína-TO, aos 18 de abril de 1990. Coursou graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Tocantins – UFT, Campus Araguaína-TO, de 2008 a 2013. Desenvolveu dois projetos de iniciação científica, com bolsa concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), sob orientação da Profa. Dra. Katyane de Sousa Almeida, na área de Medicina Veterinária Preventiva. No período de março de 2014 a fevereiro de 2016 foi residente na área de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV/UNESP- Câmpus de Jaboticabal-SP, sob orientação da Profa. Dra. Paola Castro Moraes. Em março de 2016, foi aprovada no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, curso de mestrado, na mesma instituição, sob orientação do Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi, sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq. Atualmente é professora pelo Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), Palmas-TO, responsável pelas disciplinas de Fundamentos de Citologia e Química Aplicada às Ciências Agrárias, Cirurgia Veterinária I e Cirurgia Veterinária II, orientadora da disciplina prática de Estágio de Iniciação à Medicina Veterinária, Preceptora do Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária e Vice coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEUA - CEULP/ULBRA - Palmas-TO).

“Desistir... eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem mais chão nos meus olhos do que cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos, do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”

(Cora Coralina)

DEDICO E AGRADEÇO

Aos meu pais Maria Raimunda Lopes Nazaret e José de Sousa Nazaret Filho

(minha Pretinha e meu Zezinho)

Por construírem o que tem de melhor em mim, pelo amor incondicional, por tantas orações, pelo incentivo, por acreditarem e confiarem em mim, pela abnegação, por me mostrarem que com simplicidade, humildade, alegria e gratidão os laços construídos permanecem mais fortes.

Obrigada por nunca me abandonarem...

Obrigada por serem meus maiores exemplos...

Obrigada por me ensinarem o verdadeiro significado do amor...

Eu amo muito vocês!

Meus guerreiros, meus heróis!

Voar: a eterna inveja e frustração que o homem carrega no peito a cada vez que vê um pássaro no céu. Aprendemos a fazer um milhão de coisas, mas voar... Voar a vida não deixou. Talvez por saber que nós, humanos, aprendemos a pertencer demais aos lugares e às pessoas. E que, neste caso, poder voar nos causaria crises difíceis de suportar, entre a tentação de ir e a necessidade de ficar.

(Ruth Manus)

DEDICO E AGRADEÇO

Ao grande anjo de luz: Ana Paula Gering

Por simplesmente ser...

Por ser luz, por ser vida, por ser paz, por ser exemplo, por ser amor...

Obrigada pelo companheirismo, paciência, incentivo, dedicação, por me cuidar, por me fazer querer ser uma pessoa melhor a cada dia.

“Já avisei todo o ser da noite
Que eu vou cuidar de você...
...Sei nosso primeiro abraço
Sei nossa primeira dor...
...Menina, vou te guardar comigo”
(Teatro Mágico)

DEDICO E AGRADEÇO

A um grande mestre, orientador e amigo. Professor Andrigo Barboza de Nardi
obrigada por tantas oportunidades, pela orientação, pelos ensinamentos, pela
confiança, por todas as palavras de incentivo e amizade que sempre chegaram de
forma tão acolhedora e carinhosa.

Obrigada por tudo hoje e sempre!

“...A base do sucesso em qualquer atividade está primeiro em se ter uma
oportunidade que geralmente aparece, não porque você cria o momento, mas
porque alguém chega e abre uma porta.”

(Ayrton Senna)

“Se cheguei tão longe foi porque me apoiei nos ombros de um gigante”

(Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, pela saúde, por cada instante...

À minha família linda, que souberam entender todos os momentos que precisei estar distante.

Aos meus amigos do Tocantins, por todo carinho, pelo incentivo e por entenderem minha ausência.

Aos grandes amigos que pude construir em Jaboticabal, em especial à Ma (Marília Gabriele Prado Albuquerque Ferreira), Tati (Tatiana Hesse), ChungLing (Denise Granato Chung), Iguinho (Igor Luiz Salardani Senhorello), Isa (Isabela Canavari), Xevinho (Gabriel Montanhin), Tom (Nazilton de Paula Reis Filho), Juju gêmeo (Julielton de Souza Barata) e Oscarita (Oscar Rodrigo Sierra Matiz). Aos amigos que vieram de outros momentos e que puder “reapertar os laços” em Jaboticabal (Felipe Kuns Adams, o irmão e Camila Goloni, a flor).

Aos amigos do grupo “Galera”, Caxeta (Letícia Abrahão Anai), Ka (Kalina Simplício), Dessinha (Andressa Francisca Silva Nogueira), Paulinho Nhonho (Paulo Jark), Cunhadinha (Rozana Wendler da Rocha), Bombom (Mônica Chaves), Félix (Felipe Dias), Pedroquinha jamanta (Pedro Teles), Quelzinha (Raquel Chaves), Natal (Felipe Barros), Mi (Michele Avante Zangirolami), Cinho (Darcio Zangirolami), Mariiii (Mariana Tiai), Aninha (Ana Paula Tristão), Lu (Luisa Gouvea) e Xô (Erika Terra). Ah, como vocês são especiais!

Aos amigos que a residência me deu, em especial aos meus R3 (Mônica Carolina Nery Wittmaack, Marcos Vinicius Sicca Guiduce e Erica Siqueira de Souza) por todo incentivo e conhecimento compartilhado. Aos meus R’pais (Guilherme Sembenelli e Cynthia Marchiori Bueno) pela amizade e ensinamentos. Aos meus R’guerreiros (Levi Oliveira dos Santos, Carlos Eduardo Penner Belo e Juliana de Oliveira Ribeiro) que trilharam junto comigo essa caminhada. Aos meus R’filhos (Gabriel Luiz Montanhim, Pedro Paulo Rossignoli, Mareliza Possa de Menezes, Andréia Coutinho Facin, Rodrigo Casarin Costa) que me ensinaram muito mais do que eu pude ensinar a eles. À todos os residentes, da CCPA e de outros setores, por compartilharem essa caminhada, às vezes árdua, mais extremamente gratificante.

Aos amigos da pós graduação em especial aos do Setor de Oncologia Veterinária, foram muitos aprendizados e discussões de casos e também, boas festinhas.

Aos professores dessa instituição, em especial à Mirela Tinucci Costa, Newton Nunes, Jose Luiz Laus e Antônio Sergio Ferraudo que além de ensinamentos, plantaram carinho.

Aos professores da Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais, em especial à Professora Paola Castro Moraes, Andriago Barboza De Nardi, Bruno Watanabe Minto e Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias por me ensinarem algo bem além de “ter firmeza no nó ou acompanhar a curvatura da agulha”.

Ao professor Carlos Roberto Daleck, professor é incrível o quanto o amo, e o quanto o admiro como profissional e como pessoa. No senhor além de mestre, descobri um grande amigo e agradeço a Deus todos os dias por ter te conhecido.

À Virginia Tessarine Barbosa, minha eterna professora e fonte de inspiração. “Prof.” minha gratidão por você não tem tamanho. Obrigada por todos os ensinamentos, pela amizade, pelo carinho, por ter feito eu me apaixonar pela minha profissão.

Ao professor Jorge Castro pelos ensinamentos e por ter aceito o convite de compor a banca, mesmo à distância.

À Dalva Aparecida Pedro e Cirlene Cristina Ferraresi pelos abraços longos e apertados.

Aos funcionários dessa instituição que tanto contribuíram com a minha especialização.

Aos colegas de trabalho dessa nova jornada como professora no Centro Universitário Luterano de Palmas, em especial à Josemara Silva Santos. Aos amigos que viraram a minha família em Palmas, Mildre Loraine Pinto (a Mami) e Sidney Louzada (o Papi).

Aos filhos (caninos) Theodoro e Morfina que enchem meu coração de saudade.

À todos os pacientes, os quais tive a honra de atendê-los, por todo aprendizado e aperfeiçoamento que me possibilitaram, seja técnico ou espiritual.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE QUADROS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3. OBJETIVOS.....	7
3.1. Objetivo geral.....	7
3.2. Objetivos específicos.....	7
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4.1. Aspectos éticos.....	8
4.2. Delineamento experimental.....	8
4.2.1. Animais.....	8
4.2.2. Randomização.....	9
4.2.3. Unidade experimental.....	9
4.2.4. Estudo cego.....	10
4.2.5. Tamanho amostral e grupos experimentais.....	11
4.3. Critérios de inclusão.....	12
4.4. Critérios de exclusão.....	12
4.5. Critérios de descontinuação após inclusão.....	12
4.6. Procedimento experimental.....	12
4.6.1. Acompanhamento e avaliação clínica dos pacientes.....	12
4.6.2. Formulação A – Grupo tratado.....	13
4.6.3. Formulação B – Grupo controle.....	13
4.6.4. Tratamento Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT).....	14
4.6.5. Tempos de avaliação das feridas.....	15
4.6.6. Avaliação macroscópica da ferida.....	15

4.6.7. Registro das características e área da ferida.....	16
4.6.8. Planimetria digital do decalque.....	17
4.7. Avaliação dos dados e análise estatística.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1. Avaliação macroscópica da ferida.....	22
5.1.1. Edema.....	22
5.1.2. Tecido de granulação.....	23
5.2. Planimetria digital do decalque.....	29
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS.....	35
8. APÊNDICE.....	40



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Estudo cego para avaliação da ação e eficácia da formulação F038 administrada via tópica em cães e gatos no processo de cicatrização de lesões cutâneas por segunda intenção**", protocolo nº 008118/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado "Ad-referendum" pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL - SP.

Vigência do Projeto	08/06/2016 a 31/08/2017
Espécie / Linhagem	Canina e Felina
Nº de animais	20 caninos e 10 felinos
Peso / Idade	Variados
Sexo	Machos ou fêmeas
Origem	Rotina médica-cirúrgica no Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (HVGLN) – UNESP – Câmpus de Jaboticabal - SP

Jaboticabal, 06 de junho de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

ESTUDO PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO E EFICÁCIA DA FORMULAÇÃO DE TARTARATO DE KETANSERINA (0,345%) E ASIATICOSÍDEO (0,20%), APLICADA VIA TÓPICA, NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS EM CÃES

RESUMO – As feridas de pele apresentam alta prevalência no atendimento clínico de pequenos animais. Para o tratamento dessas lesões, por segunda intenção, inúmeros produtos já foram descritos buscando-se características como: melhor qualidade e redução no tempo do processo de cicatrização. O objetivo desse trabalho foi avaliar a solução de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) como opção terapêutica, aplicada via tópica, no processo de cicatrização de lesões cutâneas em cães atendidos no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” (Unesp-FCAV) de Jaboticabal-SP. Para isso, foi acompanhado o processo de cicatrização de dezenove feridas em cães, divididos em dois grupos de tratamento, o grupo controle (GC) com dez feridas e o grupo tratado (GT) com nove feridas. Os pacientes do GT receberam o produto teste, via tópica, e os pacientes do GC a solução salina 0,9% em momentos pré-determinados. As feridas foram avaliadas quanto às suas características macroscópicas e redução da área em diferentes momentos (T0: início do tratamento; T3: terceiro dia de tratamento; T7: sétimo dia de tratamento; T14: décimo quarto dia de tratamento). A mensuração da área foi realizada por planimetria digital do decalque das feridas, pelo programa computacional “ImageJ”. As variáveis da avaliação macroscópica foram analisadas por correspondência múltipla, com aplicação do teste qui-quadrado, com nível de significância $P < 0,05$. Os dados obtidos da área nos diferentes momentos, foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas entre os momentos foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância $P < 0,05$. Não foi observado diferença estatística entre os grupos quanto às variáveis da avaliação macroscópica, porém houve diferença estatística entre o grupo tratado e o grupo controle em relação à redução da área das feridas em diferentes momentos. A solução teste se mostrou efetiva quando comparada à solução salina 0,9%, por estimular a fase inflamatória e de reparo, melhorando a qualidade da ferida e diminuindo o tempo de cicatrização da mesma, o que reflete de forma positiva para o paciente.

Palavras-chave: Reparação tecidual, ferida, angiogênese, tecido de granulação.

STUDY FOR EVALUATION OF THE ACTION AND EFFECTIVENESS OF THE FORMULATION OF KETANSERINE (0.345%) AND ASIATICOSIDAL (0.20%) TARTARATE, APPLIED BY TOPICS, IN THE PROCESS OF HEATHING SKIN INJURIES IN DOGS

ABSTRACT - Skin wounds present high prevalence in the clinical care of small animals. For the treatment of these lesions, by means of second intention, numerous products have already been described looking for characteristics such as: better quality and reduction in the time of the healing process. The objective of this study was to evaluate the solution of ketanserin tartrate (0.345%) and Asiaticosídeo (0.20%) as a therapeutic option, applied topically, in the healing process of cutaneous lesions in dogs attended at the Veterinary Hospital "Governador Laudo Natel" (Unesp-FCAV) of Jaboticabal-SP. For this, the cicatrization process of nineteen wounds in dogs was divided into two treatment groups, the control group (GC) with ten wounds and the treated group (WG) with nine wounds. The GT patients received the test product, topical, and the patients of the GC received saline solution 0.9% at predetermined times. The wounds were evaluated for their macroscopic characteristics and reduction of the area at different times (T0: beginning of treatment, T3: third day of treatment, T7: seventh day of treatment, T14: fourteenth day of treatment). The measurement of the area was performed by digital planimetry of the wound decal, by the computer program "ImageJ". The variables of the macroscopic evaluation were analyzed by multiple correspondence, with application of the chi-square test, with significance level $P < 0.05$. The data obtained from the area at the different moments were submitted to analysis of variance and the means obtained between the moments were compared by the Tukey test, with significance level $P < 0.05$. No statistical difference was observed between the groups regarding macroscopic variables, but there was a statistical difference between the treated group and the control group in relation to the reduction of the wound area at different moments. The test solution was effective when compared to saline solution 0.9%, because it stimulated the inflammatory and repair phase, improving the quality of the wound and reducing the healing time of the wound, which reflects positively for positive for the patient.

KEY WORDS: Tissue repair, wound, angiogenesis, granulation tissue.

LISTA DE ABREVIATURAS

ΔA	Diferença das áreas de lesão
$^{\circ}C$	Graus <i>Celsius</i>
®	Marca registrada
>	Maior que
<	Menor que
%	Porcentagem
AIL	Área inicial da lesão
AFL	Área final da lesão
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetros
cm²	Centímetros quadrados
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
F	Fêmea
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
GC	Grupo Controle
GT	Grupo Tratado
HVGLN	Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”
ID	Identificação da lesão
Kg	Quilograma
KTS	Tartarato de ketanserina
LTDA	Limitada
M	Macho
MPD	Membro pélvico direito
MPE	Membro pélvico esquerdo
MTD	Membro torácico direito
MTE	Membro torácico esquerdo
Nº	Número
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SP	São Paulo
SRD	Sem raça definida
S2	Serotonina
T0	Momento inicial / primeiro dia de tratamento
T3	Terceiro dia de tratamento
T7	Sétimo dia de tratamento
T14	Décimo quarto dia de tratamento
T21	Vigésimo primeiro dia de tratamento
T28	Vigésimo oitavo dia de tratamento
T35	Trigésimo quinto dia de tratamento
T42	Quadragésimo segundo dia de tratamento
T49	Quadragésimo nono dia de tratamento
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
USA	<i>United States of America</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dados clínicos, de pacientes da espécie canina, referentes a idade, identificação das feridas, grupo experimental, região acometida, origem e comprometimento tecidual das feridas. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	9
Tabela 2.	Classificação e descrição da classificação das feridas de acordo com a presença e intensidade da alteração observada. Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	16
Tabela 3.	Evolução das feridas do Grupo Controle (GC) por meio do valor de área (cm ²) mensurada por planimetria digital do decalque e porcentagem de redução da ferida, calculado pela fórmula $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017	30
Tabela 4.	Evolução das feridas do Grupo Tratado (GT) por meio do valor de área (cm ²) mensurada por planimetria digital do decalque e porcentagem de redução da ferida, calculado pela fórmula $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	31
Tabela 5.	Relação das variáveis área da ferida (cm ²), diferença da área da ferida em relação ao T0 (cm ²), diferença da área da ferida em relação ao T0 (%) do Grupo Tratado (GT) e Grupo Controle (GC). Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Imagem fotográfica dos frascos “spray” identificados como “Formulação A”, contendo Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) e “Formulação B”, contendo Solução Salina 0,9%.....	11
Figura 2.	Imagens fotográficas do tripé utilizado para fixação da câmera fotográfica (A). Posicionamento da câmera fotográfica e do paciente para registro da ferida (B). Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	16
Figura 3.	Imagens fotográficas da realização do decalque pela demarcação da circunferência da ferida, com auxílio de uma caneta esferográfica de ponta fina, na película plástica translúcida previamente esterilizada (A e B). Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	17
Figura 4.	Passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa “ImageJ” versão 1.5j8. A) padronização da escala em centímetros; B) isolamento da área do decalque a ser avaliada; C) e D) Segmentação e binarização da imagem. Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	19
Figura 5.	Passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa “ImageJ” versão 1.5j8. Análise da área (cm ²) ocupada pela imagem. Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.....	20
Figura 6.	Evolução do processo cicatricial da lesão 1 do grupo controle nos diferentes tempos.....	25
Figura 7.	Evolução do processo cicatricial da lesão 7 do grupo tratado nos diferentes tempos.....	25

Figura 8.	Evolução do processo cicatricial da lesão 2 do grupo controle nos diferentes tempos.....	27
Figura 9.	Evolução do processo cicatricial da lesão 12 do grupo tratado nos diferentes tempos.....	28

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Distribuição dos grupos experimentais, de pacientes da espécie canina, por tratamento e número de feridas. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017..... 11
- Quadro 2.** Formulação, empresa fabricante, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação A – Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%). Jaboticabal/SP, 2016-2017..... 13
- Quadro 3.** Formulação, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação B – Solução Salina Estéril 0,9%. Jaboticabal/SP, 2016-2017..... 14
- Quadro 4.** Tempos de avaliação da ferida de acordo com as atividades desenvolvidas em ordem cronológica. T0 - dia da inclusão do paciente; T3, T7, T14, representam o 3º, 7º, 14º dias de tratamento, respectivamente. Jaboticabal/SP, 2016-2017..... 15

1. INTRODUÇÃO

As feridas de pele apresentam alta prevalência no atendimento clínico de pequenos animais, sendo que as lesões mais frequentes são de origem traumática por atropelamento, mordedura, projétil balístico, quedas, queimaduras e também por lesões neoplásicas. (HEDLUND, 2008; PAVLETIC, 2010).

Durante séculos o tratamento de feridas passa por modificações com o objetivo de se obter melhores resultados no processo cicatricial em um menor tempo possível. Andrade et al. (1992) descrevem que, na pré-história, vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama eram aplicados sobre as feridas.

O asiaticosídeo é um composto obtido a partir das folhas da planta *Centella asiatica* que possui fortes propriedades de cicatrização e redução da formação de cicatriz (TANG et al., 2011). A infusão das partes aéreas de *Centella asiatica* é usada no tratamento de feridas e úlceras na Europa (MAQUART et al., 1990). Na Indonésia e Brasil, esse composto é utilizado, há tempos, no tratamento de dermatites e celulites, como fármaco hipotensor e como estimulante de memória (HASHIMOTO, 1996; BARNES et al., 2012).

O tartarato de ketanserina é um composto sintético que age diminuindo a resistência vascular e a agregação plaquetária, e também estimulando a produção de células da derme e epiderme (ROSENDORF; MURRAY, 1986; JANSSEN et al., 1989). Em estudos realizados por Janssen et al. (1989) foi demonstrado que seu uso tópico, acelera a formação de tecido de granulação e epitelização de úlceras cutâneas em humanos.

O estudo da cicatrização e tratamento de feridas cutâneas possui extrema importância em medicina veterinária devido à alta frequência de atendimentos a animais acometidos por lesões de diferentes tipos e origens.

Levando em consideração as propriedades de ambos compostos em relação às fases do processo de cicatrização, o objetivo desse trabalho consiste na avaliação de uma opção terapêutica, administrado por via tópica, através da associação do tartarato de ketanserina e asiaticosídeo para o tratamento, por segunda intenção, de feridas cutâneas em cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A pele é o maior órgão do corpo, tem características multifuncionais e representa em torno de 15% do peso corporal. É composta por uma camada epitelial designada epiderme, e uma camada de tecido conectivo chamado de derme ou cório. A derme repousa sobre uma base de tecido conjuntivo, o subcutâneo, que é composto em parte por gordura e parte por camada fibrosa (CAMPBELL; LICHTENSTEIGER, 2004; PATERSON, 2008). A perda da estrutura e função anatômica normal da pele é chamada de ferida. Para que o processo de cicatrização aconteça, uma sequência de eventos complexos se faz necessário (SCEMONS; ELSTON, 2011).

O processo de cicatrização acontece de forma progressiva, tornando a área da ferida menor, devido ao movimento centrípeto de suas bordas, sobretudo em resposta à ação de miofibroblastos presentes no tecido de granulação. Esse fenômeno denomina-se contração (MACGRATH; SIMON, 1983; FALCÃO et al., 2001). O processo de epitelização da ferida acontece pela formação de uma fina camada de tecido epitelial, com função protetora enquanto não se completa o processo de cicatrização por contração (FALCÃO et al., 2001). A cicatrização completa acontece com a combinação dos processos de contração e epitelização (MACGRATH; SIMON, 1983; FALCÃO et al., 2001). Todo esse processo consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido (MANDELBAUM et al., 2003).

Segundo Zimmermann (2007), quatro importantes fases interdependentes da cicatrização estão envolvidas, de forma dinâmica, na reparação tecidual: inflamação, debridamento, proliferação e reparo e, por fim, maturação.

A fase de inflamação, é considerada por Hedlund (2008) como um processo composto pelo aumento da permeabilidade capilar na área afetada, aumento do suprimento sanguíneo no local da lesão e o deslocamento das células sanguíneas para os tecidos. Das células inflamatórias, os neutrófilos, geralmente, são as primeiras a surgirem no local da agressão, seguido pelos macrófagos e linfócitos. O

processo de formação do coágulo, que acontece nessa fase, é o que permite a estabilização das bordas da ferida seguida pela liberação de enzimas e fatores quimiotáticos (PITZER; PATEL, 2011).

Na fase de debridamento é observado a formação de exsudato composto por leucócitos, tecidos mortos e fluidos do ferimento com a participação de neutrófilos, monócitos, plaquetas e linfócitos. Este processo tem como função auxiliar na remoção de tecidos necróticos, coágulos e do corpo estranho (ZIMMERMANN, 2007).

Os eventos de angiogênese, fibroplasia e epitelização são caracterizados pela síntese e deposição de colágeno, elastina e proteoglicanos realizada por fibroblastos que migram para o interior do ferimento. Esses eventos acontecem na fase de proliferação e reparo da ferida que se inicia entre três a cinco dias após o trauma (ZIMMERMANN, 2007; PITZER; PATEL, 2011). A neovascularização no leito da ferida se dá pela necessidade de oxigênio para movimentação, migração celular e síntese proteica (HEDLUND, 2008). O final da fase de reparação é marcado pelo aumento do teor de colágeno. A medida que ocorre esse aumento, há o desaparecimento da fibrina e a diminuição na síntese de fibroblastos, processo este que proporciona força e integridade aos tecidos (MACHADO et al., 2007).

A maturação é a fase final do processo de cicatrização e caracteriza-se pelo enriquecimento de colágeno, seu remodelamento e orientação ao longo das linhas de tensão. Esta fase pode perdurar por anos. (HEDLUND, 2008; PITZER; PATEL, 2011).

O tratamento das feridas cutâneas pode ser conduzido por métodos cirúrgicos e/ou clínicos. Os cirúrgicos apresentam limitações relacionadas ao paciente como temperamento, estado geral, sangramento, local onde se encontra o paciente, entre outros, e os relacionados às feridas como localização e tamanho, tempo de evolução, grau de contaminação e envolvimento de outros tecidos (TROTRER, 1989; BOJARB, 2006).

O processo de reparação de feridas é complexo, e ao longo dos anos tem merecido a atenção de pesquisadores, principalmente no que tange aos fatores que retardam ou dificultam esse processo (SCEMONS; ELSTON, 2011). A possibilidade de acelerar a cicatrização e o fechamento de lesões cutâneas, utilizando recursos

químicos medicamentosos ou físicos, vem sendo objeto de investigação de inúmeros pesquisadores (FERREIRA et al., 2008). Muitos agentes e procedimentos têm sido testados de forma a estimular ou acelerar a cicatrização de feridas, principalmente devido à variabilidade das feridas e variáveis relacionadas aos pacientes (KARAYANNOPOULOU et al., 2011).

O tartarato de ketanserina (KTS) é um composto sintético introduzido inicialmente como um agente anti-hipertensivo (ROSENDORF; MURRAY, 1986) e mais tarde foi utilizado para o tratamento de úlceras em pacientes diabéticos através da sua administração sistêmica (APELQVIST et al., 1990). A KTS antagoniza os receptores de serotonina (5-HT₂) inibindo os eventos mediados por esse neurotransmissor, como a vasoconstrição, broncoconstrição e agregação plaquetária, além de restaurar a deformação eritrocitária e melhorar a perfusão tissular. Além da ação antagonista aos receptores de serotonina, a KTS possui também uma atividade bloqueadora alfa-1 adrenérgica e como resultado da combinação de ambos os efeitos, acontece uma redução na resistência vascular periférica, proporcionando como resultado o efeito anti-hipertensivo. (SCHNEIDER et al., 1985, BOUNAMEAUX et al., 1985; BALASUBRAMANIAM et al., 1993; BERNAL et al., 1993; MARTÍNEZ-DE et al., 1997).

A vasodilatação promovida por esse composto tem efeitos benéficos na hemodinâmica dos capilares e incrementa o fluxo sanguíneo em pacientes com úlceras da pele (VITUG et al., 1986; JANSSEN et al., 1989). Age ampliando a ativação de macrófagos, o que proporciona uma resposta inflamatória mais efetiva na fase inicial da cicatrização e controle mais eficiente da infecção na ferida (JUAN et al., 2000). A ação bloqueadora do receptor responsável pela contração da maioria dos músculos lisos vasculares e pela agregação plaquetária induzida pela serotonina, principalmente na presença de colágeno, contribui para a estimulação de fibroblastos, interferindo assim, no processo cicatricial e evitando a granulação excessiva (FOZ FILHO, 1999). Estudos *in vitro* também mostram que a KTS estimula a diferenciação de fibroblastos (VITUG et al., 1986).

Zúniga-Mendonza e Morales-Vásquez (2003) avaliaram a eficácia da ketanserina 2% e sulfadiazina de prata 1% no tratamento de úlceras venosas, tendo demonstrado que a ketanserina apresentou uma tendência maior para acelerar a

cura das úlceras venosas, com porcentagem média de fechamento de 42,5% *versus* 24,2% de fechamento com a sulfadiazina de prata, confirmando os resultados de Juan et al. (2000) em úlceras venosas de leprosos.

O asiaticosídeo é um componente ativo isolado da *Centella asiatica* conhecido por seus efeitos benéficos sobre queloides (produção exagerada das fibras de colágeno) e cicatrizes hipertróficas (desordem das fibras de colágeno), no entanto poucos estudos foram apresentados sobre o efeito do asiaticosídeo em lesões que não apresentam essas alterações no processo de cicatrização (LEE et al., 2012). Esse composto parece possuir efeitos anti-inflamatórios e promover cicatrização de feridas por meio da proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno (COLDREN et al., 2003; LEE et al., 2006; WAN et al., 2012).

Em estudo, Lee et al. (2012) verificaram em técnicas *in vitro* com células humanas normais que a aplicação de asiaticosídeo aumentou as taxas de migração e adesão celular da pele e promoveu um aumento do número de fibroblastos.

Demonstrou-se também que esse ativo apresenta atividade angiogênica (SHUKLA et al., 1999a) e antioxidante (SHUKLA et al., 1999b), para esse último caso, especialmente nos primeiros dias pós-lesão. Os resultados encontrados indicaram que o asiaticosídeo apresenta atividade cicatrizante significativa em modelo de cicatrização normal e crônica (SHUKLA et al., 1999a). Nesse mesmo estudo foi verificado que a aplicação tópica de uma solução de 0,2% de asiaticosídeo em feridas abertas induzidas por “punch” em cobaias, produziu um aumento de 56% na hidroxiprolina (aminoácido que constitui a proteína do colágeno), 57% na resistência à tração, aumento no conteúdo de colágeno e melhor epitelização.

Somboonwong et al. (2012), estudando os efeitos do asiaticosídeo, observaram o efeito cicatrizante pela inibição da inflamação, indução da síntese de colágeno, promoção da angiogênese, indução da vasodilatação e redução do estresse oxidativo em modelo de incisão cirúrgica e queimadura, demonstrando que esse composto tem grande potencial para a reepitelização em diferentes doenças cutâneas.

Várias técnicas de mensuração de áreas de cicatrização têm sido descritas, constituindo-se como um dos aspectos fundamentais da avaliação de feridas, além

de fornecer, de maneira objetiva e sistematizada, parâmetros que indicam a evolução da cicatrização da mesma (CARVALHO et al., 2006).

A avaliação morfométrica macroscópica, ou planimetria, consiste na mensuração da área da ferida com o objetivo de se estabelecer um parâmetro comparativo entre a primeira medida e as demais medidas obtidas durante a evolução do processo cicatricial (CARDINAL et al., 2009). Essa medida abrange mensurações lineares, traçados e fotografias das feridas (CARVALHO et al., 2006).

Técnicas invasivas e não invasivas para mensuração de feridas são descritas (CARVALHO et al., 2006). Em relação às técnicas invasivas para a mensuração de feridas, pode-se destacar o decalque ou traçado de acetato (FALCÃO et al., 2001; GETHIN; COWMAN 2006), que consiste na demarcação pelo contorno do perímetro externo da ferida desenhado em papel ou acetato transparentes estéreis (COOPER, 2000). A partir destas técnicas é possível que a mensuração seja realizada manualmente ou através de programas computacionais (FALCÃO et al., 2001).

Os programas computadorizados eliminam a etapa manual da realização dos cálculos planimétricos, onde após a mensuração, faz-se a digitalização da imagem fotográfica ou do traçado da ferida que foram coletados (CARVALHO et al., 2006).

A planimetria digital é um método de avaliação eficaz para calcular áreas de feridas demonstradas por decalque (FALCÃO et al., 2001). O “Software ImageJ” (“Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA”) é uma ferramenta de fácil utilização e eficaz como método de mensuração e avaliação do processo de cicatrização de feridas cutâneas (RODRIGUES et al., 2013).

Assim, propõe-se estudar a evolução cicatricial de feridas cutâneas, tratadas com a associação do tartarato de ketanserina e asiaticosídeo, em cães, atendidos no Setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV- UNESP- Câmpus de Jaboticabal-SP.

3. OBJETIVOS:

3.1. Objetivo Geral:

Avaliar a solução à base de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) como opção terapêutica, administrada via tópica, para o tratamento por segunda intenção de lesões cutâneas em cães, por meio de planimetria digital e avaliação macroscópica da ferida.

3.2. Objetivos Específicos:

- Avaliar o uso da formulação base de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) como adjuvante no processo de cicatrização de feridas com fechamento por segunda intenção;
- Comparar a evolução do processo cicatricial, através de avaliações macroscópicas de feridas tratadas com a solução à base de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) com feridas tratadas com solução salina 0,9%;
- Capturar e analisar imagens obtidas, por planimetria digital, de feridas tratadas com a solução à base de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) e de feridas tratadas com solução salina 0,9%, para avaliação da área da ferida comparando a evolução do processo de cicatrização por segunda intenção.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP - Câmpus de Jaboticabal-SP, sendo realizado segundo os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), sob número de protocolo 008118/16 (Vigência: 08/06/2016 a 31/08/2017).

Todos os pacientes incluídos no estudo foram oriundos do atendimento clínico-cirúrgico do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (HVGLN) e se encaixaram no projeto obedecendo aos critérios de inclusão/exclusão propostos nesse estudo e mediante anuência de seus tutores, os quais foram informados quanto aos detalhes dos procedimentos e assinaram o "Termo de Consentimento" para a pesquisa.

4.2. Delineamento experimental

4.2.1. Animais

Foram selecionados 13 cães com um total de 19 feridas, todos da rotina clínica-cirúrgica do HVGLN, cujo tratamento instituído foi o manejo para estimular o fechamento da ferida por segunda intenção, independente da região corpórea acometida, como apresentado na Tabela 1.

Os animais foram submetidos à avaliação clínica geral e específica no momento da inclusão do estudo e anteriormente a cada avaliação da ferida. No exame clínico geral foram avaliados os parâmetros fisiológicos, estado nutricional, presença de dor e sinais sistêmicos que sugerissem ocorrência de infecção (apatia, febre, hiporexia/anorexia, entre outros). No exame específico foi realizada a caracterização da ferida, conforme descrição do item 4.6.6 deste estudo.

Avaliações complementares, como exames hematológicos e de imagem, foram solicitados de acordo com a causa da ferida e necessidade de cada paciente,

sendo admitidos apenas pacientes que não tivessem enfermidades concomitantes passiva de interferência direta no processo de cicatrização da ferida.

4.2.2. Randomização

Os animais foram distribuídos por delineamento inteiramente casualizado, em dois grupos (Controle e Tratado).

4.2.3. Unidade experimental

Cada ferida cutânea foi considerada como uma unidade experimental, dessa forma, um mesmo paciente poderia ter mais de uma unidade experimental, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Dados clínicos, de pacientes da espécie canina, referentes a idade, identificação das feridas, grupo experimental, região acometida, origem e comprometimento tecidual das feridas. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017. (Continua)

Paciente	Idade do paciente	ID ¹ da ferida	Grupo	Região da ferida	Origem da ferida	Comprometimento tecidual da ferida
Pity	1 ano	1	Controle	Radio-cárpica, face médio-cranial MTD ²	Atropelamento	Exposição articular Com espaço morto
Pity	1 ano	2	Controle	Tibio-tarso-falangeana, face medio-cranial MPD ³	Atropelamento	Exposição óssea e articular Sem espaço morto
Nymeria	1 ano	3	Tratado	Distal da coxa, face cranial MPD	Mordedura	Sem exposição óssea Sem espaço morto
Jully	5 anos	4	Tratado	Escapulo-umeral, face cranial MTE ⁴	Mordedura	Sem exposição óssea Com espaço morto
Lili	1 ano	5	Controle	Coxofemoral (pós-operatório amputação MPD)	Deiscência de pontos	Sem exposição óssea Com espaço morto
Fofa	7 anos	6	Tratado	Toraco-dorsal direita	Trauma por objeto cortante	Exposição muscular Sem espaço morto
Rubinho	2 anos	7	Tratado	Radio-cárpica, face medial MTD	Atropelamento	Exposição óssea Sem espaço morto
Pimba	4 anos	8	Controle	Tarso-metársica, face medial MPD	Atropelamento	Sem exposição óssea Sem espaço morto
Pimba	4 anos	9	Controle	Metatarso, face medio-cranial MPD	Atropelamento	Sem exposição óssea Sem espaço morto
Pimba	4 anos	10	Controle	Metatarso-falangeana, face médio-cranial MPD	Atropelamento	Com exposição tendínea Sem espaço morto
Pitoco	1 ano	11	Controle	Cervical latero-ventral	Mordedura	Sem exposição óssea Com espaço morto

Tabela 1. Dados clínicos, de pacientes da espécie canina, referentes a idade, identificação das feridas, grupo experimental, região acometida, origem e comprometimento tecidual das feridas. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017. (Continuação)

Susi	1 ano	12	Tratado	Tibio-tarso-falangeana, face latero-cranial MPE ⁵	Atropelamento	Exposição óssea e articular Sem espaço morto
July	7 anos	13	Controle	Metatarso-falangeana, face medial MPE	Atropelamento	Exposição articular Sem espaço morto
July	7 anos	14	Controle	Tibio-társica, face medial MPE	Atropelamento	Exposição óssea e articular Sem espaço morto
Aquiles	2 anos	15	Tratado	Cervical dorsal	Desconhecida	Exposição muscular Com espaço morto
Cristal	1 ano	16	Tratado	Joelho, face medial MPD	Desconhecida	Sem exposição óssea Sem espaço morto
Cristal	1 ano	17	Tratado	Distal da coxa, face médio-caudal MPD	Desconhecida	Exposição muscular Sem espaço morto
Cristal	1 ano	18	Tratado	Tíbia proximal, face médio-caudal MPD	Desconhecida	Exposição muscular Sem espaço morto
Branco	7 anos	19	Controle	Distal do úmero, face medial MTD	Mordedura	Exposição muscular Com espaço morto

¹ ID = identificação da ferida

² MTD = membro torácico direito

³ MPD = membro pélvico direito

⁴ MTE = membro torácico esquerdo

⁵ MPE = membro pélvico esquerdo

4.2.4. Estudo cego

A equipe envolvida na etapa experimental, coleta de dados e os proprietários dos animais não souberam qual tratamento foi administrado para cada paciente (estudo cego). A empresa OuroFino Saúde Animal LTDA¹ foi responsável pelas codificações de cada tratamento e os frascos recebidos com os produtos a serem utilizados, foram identificados pelas letras “A” e “B”, conforme Figura 1. A revelação das codificações permaneceu sob posse da empresa em envelope lacrado e somente foi repassado ao pesquisador após a análises dos resultados parciais.

O grupo que recebeu como tratamento a formulação “A” correspondeu ao “Grupo Tratado” (Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%)) e o que recebeu a formulação “B” correspondeu ao “Grupo Controle” (Solução Salina 0,9%).

¹ OuroFino Saúde Animal Ltda – Rodovia Anhanguera-SP, 330, km 298, Distrito Industrial Cravinhos/SP – CEP 14.140-000



Figura 1: Imagem fotográfica dos frascos “spray” identificados como “Formulação A”, contendo Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) e “Formulação B”, contendo Solução Salina 0,9%.

4.2.5. Tamanho amostral e grupos experimentais

As 19 feridas de cães, foram divididas em 02 grupos experimentais, conforme demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1. Distribuição dos grupos experimentais, de pacientes da espécie canina, por tratamento e número de feridas. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Grupo Experimental	Tratamento	Número de Feridas
GT ¹	A	9
GC ²	B	10

¹ GT= Grupo Tratado

² GC= Grupo Controle

4.3. Critérios de inclusão

- Pacientes com feridas cutâneas cujo tratamento escolhido fosse a condução da cicatrização por segunda intenção.

4.4. Critérios de exclusão

- Pacientes com problemas comportamentais que pudessem interferir na condução do estudo;
- Pacientes que possuíssem enfermidades concomitantes que pudessem interferir diretamente no processo de cicatrização;
- Pacientes tratados anteriormente com medicamentos que pudessem interferir na avaliação do produto investigado devido a qualquer intercorrência relacionada ou não ao produto teste.

4.5. Critérios de descontinuação após a inclusão

- Pacientes que apresentassem qualquer enfermidade, ao longo do tratamento, que pudesse interferir no processo de cicatrização da ferida ou que ameaçasse seu bem-estar devido a qualquer condição ou circunstância;
- Pacientes que apresentassem sensibilidade a algum dos componentes da formulação.

4.6. Procedimento experimental

4.6.1. Acompanhamento e avaliação clínica dos pacientes

Durante todo o estudo, a maioria dos pacientes ficaram internados no HVGLN, alojados em canis individuais com água à vontade e alimentação seguindo as recomendações do Setor de Nutrição de Cães e Gatos da FCAV/UNESP, conforme as necessidades de cada paciente. Os cães que não ficaram internados permaneceram sob responsabilidade de seus tutores e retornavam diariamente ao HVGLN para reavaliação clínica e troca de curativos.

Antes de cada avaliação os animais foram submetidos ao exame clínico geral, conforme descrito anteriormente e ao exame clínico específico, no qual foi realizado a caracterização da ferida e o registro das alterações, conforme descrito no item 4.6.6. e 4.6.7. desse estudo.

Durante o tratamento os pacientes foram monitorados de forma individualizada e caso um dos critérios de exclusão fossem identificados o animal era automaticamente eliminado do estudo.

4.6.2. Formulação A – Grupo tratado

A formulação, empresa fabricante, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação do produto estão demonstrados no Quadro 2:

Quadro 2. Formulação, empresa fabricante, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação A – Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%). Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Formulação:	Tartarato de Ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%).
Empresa fabricante:	Ourofino Saúde Animal Ltda.
Via de administração:	Tópica (“spray”).
Forma de aplicação:	Borrifar o produto na área lesionada em quantidade suficiente para promover a total cobertura da mesma.
Condições de conservação:	Conservar em local seco, fresco, ao abrigo da luz solar e sempre fechado. Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos. Conservar em temperatura entre 15°C a 30°C.
Apresentação e identificação:	Produto acondicionado em frasco “spray” branco e identificado pela letra “A”.

4.6.3. Formulação B – Grupo controle

A formulação, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação do produto estão demonstrados no Quadro 3:

Quadro 3. Formulação, via de administração, forma de aplicação, condições de conservação, apresentação e identificação da Formulação B – Solução Salina Estéril 0,9%. Jaboticabal/SP, 2016-2017.

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

4.6.4. Tratamento Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT)

As feridas dos GC (Formulação B) e GT (Formulação A) foram tratadas da seguinte maneira:

1. Realização de tricotomia ampla no momento inicial (T0) e manutenção da mesma nos momentos subsequentes, até completa cicatrização da ferida;
2. Limpeza diária com solução Salina Estéril 0,9% e gaze para remoção de exsudatos e tecidos desvitalizados, quando necessário;
3. Aplicação diária, na forma de “spray”, da Formulação B nas feridas do GC e da Formulação A nas feridas do GT, até completa cobertura da lesão pelo produto.
4. Cobertura da ferida com auxílio de gaze embebida com a Formulação B, para as feridas do GC e com a Formulação A, para feridas do GT;
5. Oclusão das feridas com bandagens conforme a fase da cicatrização, necessidade do paciente e de acordo com a localização da ferida.

A Formulação B do GC e a Formulação A do GT, foram utilizadas como agente único no tratamento tópico das feridas. Animais que possuíam mais de uma ferida, receberam a mesma formulação para o tratamento de todas as unidades experimentais. Concomitantemente, receberam tratamento sistêmico com

analgésicos, protetor gástrico e terapia antimicrobiana sistêmica, conforme a necessidade individual de cada paciente.

4.6.5. Tempos de avaliação das feridas

Além do acompanhamento clínico diário do paciente, as feridas foram mensuradas e avaliadas, nas dependências do HVGLN, em tempos pré-estabelecidos, sendo estes: T0 ou dia da seleção e início do tratamento, T3 ou 3º dia, T7 ou 7º dia, T14 ou 14º dia, conforme Quadro 4.

Quadro 4. Tempos de avaliação da ferida de acordo com as atividades desenvolvidas em ordem cronológica. T0 - dia da inclusão do paciente; T3, T7, T14, representam o 3º, 7º, 14º dias de tratamento, respectivamente. Jaboticabal/SP, 2016-2017.

TEMPO (dias)	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS EM ORDEM CRONOLÓGICA
T0	1. Avaliação clínica do paciente pré-inclusão 2. Avaliação macroscópica da ferida 3. Registro das características e área da ferida 4. Tratamento e curativo da lesão
T3 (3º dia)	1. Avaliação clínica do paciente 2. Avaliação macroscópica da ferida 3. Registro das características e área da ferida 4. Tratamento e curativo da lesão
T7 (7º dia)	1. Avaliação clínica do paciente 2. Avaliação macroscópica da ferida 3. Registro das características e área da ferida 4. Tratamento e curativo da lesão
T14 (14º dia)	1. Avaliação clínica do paciente 2. Avaliação macroscópica da ferida 3. Registro das características e área da ferida 4. Tratamento e curativo da lesão

Animais que precisaram de acompanhamento após 14 dias do início do tratamento, foram acompanhados em intervalos de sete dias sendo realizadas as mesmas atividades descritas anteriormente, até resolução clínica do caso e completa cicatrização da ferida.

4.6.6. Avaliação macroscópica da ferida

As características macroscópicas das feridas foram classificadas, nos diferentes tempos, em ausente, discreta, moderada e intensa, quanto a presença de:

edema, crosta, tecido de granulação, secreção, reepitelização e tecido desvitalizado (Anexo 1). A descrição de cada classificação segue na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação e descrição da classificação das feridas de acordo com a presença e intensidade da alteração observada. Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Classificação	Descrição
Ausente	Quando não apresentava a alteração
Discreto	Quando menos de 25% da ferida apresentava a característica avaliada
Moderado	Quando 25-75% da ferida apresentava a característica avaliada
Intenso	Quando mais de 75% da ferida apresentava a característica avaliada

4.6.7. Registro das características e área da ferida

Após a avaliação macroscópica das feridas, estas foram fotografadas com câmera digital da marca “Canon”², fixada em tripé e mantida a uma distância constante de 34 cm da área da ferida, mensurados da lente da câmera até a superfície da ferida, com auxílio de uma trena (Figura 2).

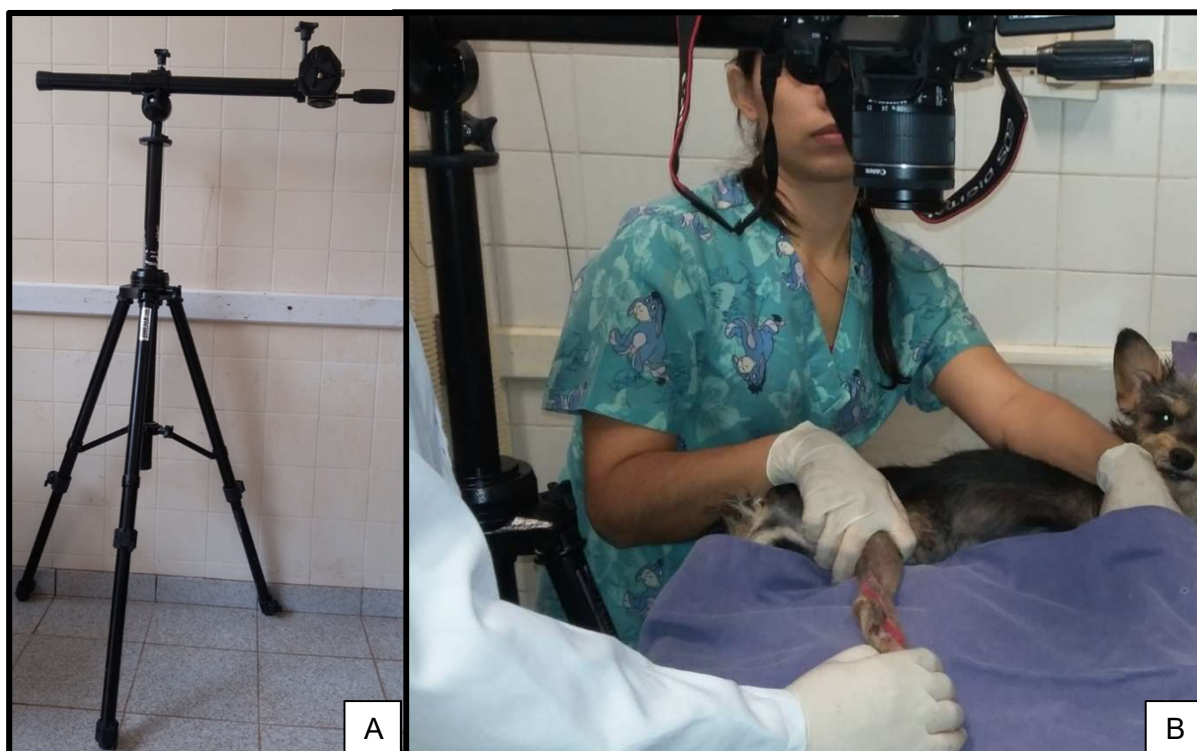


Figura 2. Imagens fotográficas do tripé utilizado para fixação da câmera fotográfica (A). Posicionamento da câmera fotográfica e do paciente para registro da ferida (B). Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Em seguida foi realizado o decalque da lesão, utilizando-se uma película plástica translúcida previamente esterilizada. Esta foi sobreposta à lesão e o desenho foi obtido através da demarcação na película de toda a circunferência da ferida, com auxílio de uma caneta esferográfica de ponta fina, como representado na Figura 3. Ao lado do decalque obtido, foi desenhado um traço com 1 cm de comprimento para servir de escala no momento da análise computacional.



Figura 3. Imagens fotográficas da realização do decalque pela demarcação da circunferência da ferida, com auxílio de uma caneta esferográfica de ponta fina, na película plástica translúcida previamente esterilizada (A e B). Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

4.6.8. Planimetria digital do decalque

Os registros do decalque da ferida, obtidos na película plástica translúcida, foram copiados em scanner digital e posteriormente analisados pelo “software

ImageJ”³ com o objetivo de calcular a área das feridas através da conversão de “pixels” em cm².

Para a mensuração da área (cm²) a imagem foi aberta no programa “ImageJ” e em seguida realizado a padronização da escala da imagem de “pixel” para cm. Para tanto, a mensuração da distância de 1cm foi realizada com auxílio da ferramenta “Straight line selection”, sob o traço previamente desenhado, seguido pela seleção da opção “Set Scale” na guia “Analyse”. (Figura 4A). Na sequência a imagem a ser avaliada foi isolada com auxílio da ferramenta “Rectangular selections”, e da opção “Crop” na guia “Image” (Figura 4B). Para segmentação da imagem, foi selecionado na guia “Image” a opção “Adjust” e depois “Threshold Color”, nessa janela, na opção “Threshold Color” foi selecionado a opção “B&W”, e então a imagem foi convertida em escala de preto e branco (Figura 4C). Na guia “Image”, foi selecionado a opção “Type” e em seguida “8-bit”, para a binarização da imagem. Na sequência, na guia “Process”, foi selecionado a opção “Binary”, seguido pela opção “Close-”, caso tivesse algum ponto dentro da imagem que não havia sido coberto pela cor preta (Figura 4D). Após cobertura de toda a área a ser analisada, foi selecionado na guia “Analyse” a opção “Analyse particles” para mensuração da área em cm² (Figura 5).

³ Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA

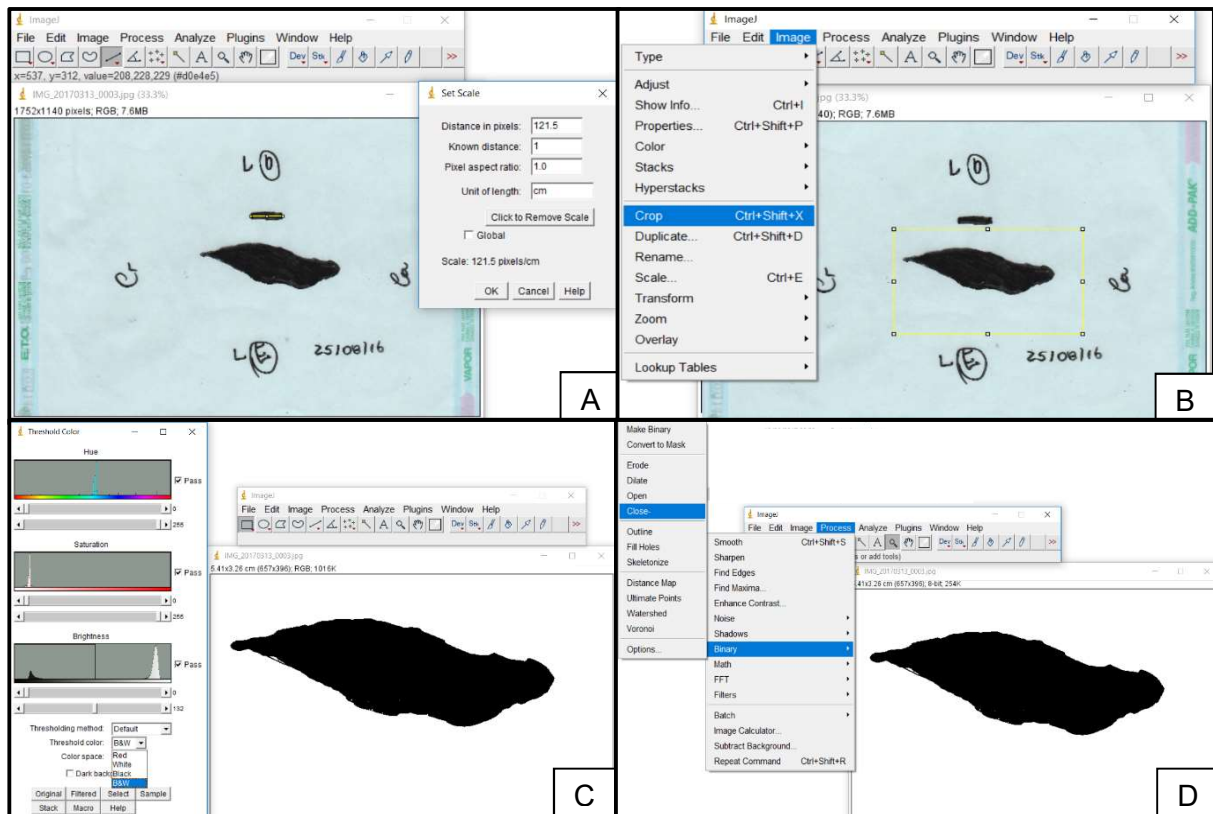


Figura 4. Passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa “ImageJ” versão 1.5j8. A) padronização da escala em centímetros; B) isolamento da área do decalque a ser avaliada; C) e D) Segmentação e binarização da imagem. Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

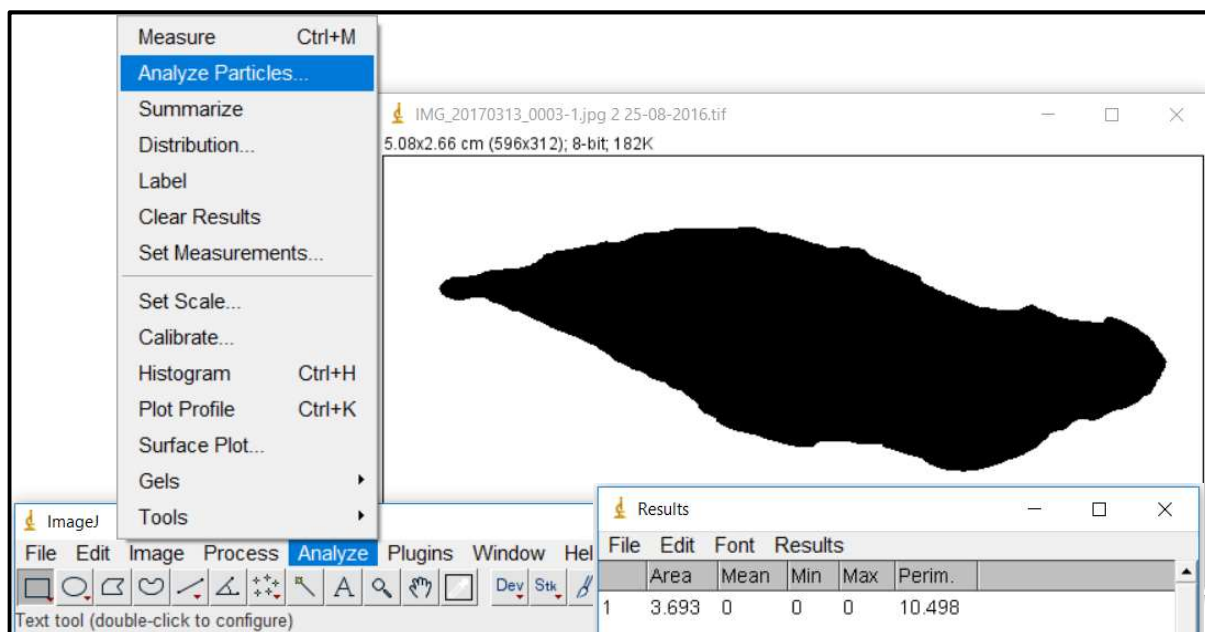


Figura 5. Passos para a mensuração da área do decalque de feridas cutâneas pelo programa “ImageJ” versão 1.5j8. Análise da área (cm²) ocupada pela imagem. Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

4.7. Avaliação dos dados e análise estatística

A análise de correspondência múltipla foi aplicada para verificar a existência de correspondência entre as categorias envolvendo variáveis da avaliação macroscópica de feridas tratadas por segunda intenção em cães. O teste qui-quadrado foi utilizado para verificar associação entre essas categorias. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $P < 0,05$. Os softwares de análise utilizados foram o Graphpad Prism versão 5.0 e o Statistica 7.

Para análise da área das feridas este estudo considerou como unidade experimental, a ferida. O experimento seguiu arranjo fatorial em delineamento inteiramente casualizado duplo cego em relação aos dois grupos de tratamento, controle e tratado.

O valor da área inicial de cada ferida, obtido em T0, foi comparado com os valores de área obtidos nos momentos subsequentes, através da fórmula: $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$, onde AIL se refere à área inicial da lesão; AFL à área final da lesão e ΔA se refere à diferença das áreas de lesão. Os valores das proporções de redução

das lesões (ΔA), demonstra em porcentagem, a redução da ferida no momento inicial (T0) em relação ao momento final avaliado.

Para as variáveis área da ferida em cm^2 , diferença da área da ferida em relação ao tempo zero em cm^2 , diferença da área da ferida em relação ao tempo zero em porcentagem, o arranjo fatorial seguiu modelo 2 x 4, composto por 2 tratamentos (controle e tratado) e quatro tempos (tempo 0, tempo 3, tempo 7 e tempo 14), totalizando oito tratamentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de tipo de tratamento, tempo e interação tratamento * tempo. Quando diferenças foram detectadas no teste F, médias entre os quatro momentos foram comparadas pelo teste de Tukey. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. As análises estatísticas foram realizadas com software SAS versão 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação macroscópica da ferida

As variáveis da avaliação macroscópica das feridas foram analisadas por correspondência múltipla, não sendo observado diferença estatística entre elas ($P>0,05$). Este fato pode estar associado ao número reduzido de feridas avaliadas no estudo.

Apesar de não ter sido observado diferença estatística na análise acima citada, em uma análise descritiva das características macroscópicas das lesões, observadas nos diferentes momentos, é possível pontuar alterações importantes no processo de cicatrização de algumas lesões do grupo tratado quando comparado com o grupo controle.

5.1.1. Edema

A presença de edema foi notificada em escores ausente, discreto, moderado e intenso. No grupo controle, 70% das feridas apresentavam edema no primeiro dia de avaliação. Destas, 50% foram em grau discreto e 20% em grau moderado. No terceiro dia de avaliação, 33,3% das lesões apresentaram a característica analisada de forma discreta e os outros 66,6% foram notificados com edema ausente nesse mesmo dia. No T7, 40% das lesões foram classificadas com edema discreto e no T14 100% das feridas se encontravam com a característica ausente.

No grupo tratado a condição se deu de forma discreta em 33,3%, moderada em 22,2% e intensa em 11,1% das lesões avaliadas, totalizando 66,6% das feridas apresentando edema no primeiro dia de atendimento. No T3, 33,3% das lesões apresentavam a alteração. Destas 22,2% em grau discreto e 11,1% em grau moderado. No T7 as lesões apresentaram edema em grau discreto com 33,3% e no T14 100% das feridas se encontravam com a característica ausente.

O edema ocorrido na região das lesões é consequência do aumento da permeabilidade vascular que se desenvolve na fase inflamatória da ferida, como uma resposta tecidual protetora. Este evento pode durar até sete dias (HEDLUND, 2008; HOSGOOD, 2013). No T3 do grupo tratado, a porcentagem de feridas

apresentando edema foi igual à porcentagem do grupo controle, porém no primeiro grupo, das 33,3% feridas que apresentaram a característica, 11,1% foi de forma moderada, enquanto que no GC, as 33,3% das lesões que possuíam edema foram classificadas como discreto. Esse fator pode estar relacionado com a ação do tartarato de ketanserina, capaz de promover aumento da permeabilidade vascular o que resulta em resposta inflamatória mais intensa na fase inicial da cicatrização (JUAN et al., 2000; HEDLUND, 2008).

5.1.2. Tecido de granulação

A presença do tecido de granulação também foi classificada em escores como ausente, discreto, moderado e intenso. No grupo controle, 100% das feridas não apresentaram essa característica no primeiro dia de avaliação. No T3, 55,5% das lesões apresentavam tecido de granulação, sendo 33,3% classificadas em grau discreto e 22,2% em grau moderado. No T7, 100% das feridas apresentavam tecido de granulação. Destas 50% foram classificadas em discreto e 50% em moderado. No T14, essa característica foi observada em 10% das lesões de forma discreta, 10% de forma moderada e 40% de forma intensa, totalizando 60% das lesões com tecido de granulação.

No grupo tratado essa condição se deu de forma discreta em 11,1% e ausente em 88,9% das lesões avaliadas no T0. No terceiro dia de avaliação 66,6% das feridas possuíam tecido de granulação. Destas, 22,2% em grau discreto, 33,3% em grau moderado e 11,1% em grau intenso. No T7, 88,8% das lesões apresentavam a característica, sendo 44,4% de forma discreta e 44,4% de forma moderada. No T14, 100% das feridas apresentavam tecido de granulação. Destas, 25% em grau discreto, 50% em grau moderado e 25% em grau intenso.

A formação de tecido de granulação acontece na fase de proliferação e reparo do processo de cicatrização, sendo caracterizado pela intensa angiogênese. Este evento pode se iniciar a partir do terceiro dia de ferida. (PITZER; PATEL, 2011; HOSGOOD, 2013). Segundo Hosgood (2013) a cicatrização de feridas acontece de forma dinâmica e se realiza em fases de duração imprecisa, se apresentando de forma sobreposta em algum grau; por exemplo, a fase de proliferação e reparo se iniciará antes que a fase inflamatória termine. No presente estudo foi possível

observar esses eventos tanto no GC quanto no GT, porém no GT houve uma maior porcentagem de lesões com tecido de granulação em grau moderado e intenso nos momentos T3 e T14, quando comparado com o grupo controle. Este fato pode estar relacionado com a ação do Tartarato de ketanserina e o Asiaticosídeo, capazes de estimular e acelerar a formação do tecido de granulação, fazendo com que a fase proliferativa e de reparo se inicie de forma precoce e se mantenha de forma efetiva até a fase de maturação (JANSSEN et al., 1989; JUAN et al., 2000; LEE et al., 2012; HOSGOOD, 2013).

A Figura 6, mostra a sequência de imagens do processo de cicatrização da lesão 1 desse estudo, tratada com solução salina 0,9% (Grupo controle). Esse paciente tinha um ano de idade e apresentou uma ferida causada por atropelamento, localizada na face médio-cranial da região radio-cárpica do membro torácico direito, com exposição articular e formação de espaço morto.

A Figura 7, mostra a sequência de imagens do processo de cicatrização da lesão 7, tratada com solução de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) (Grupo tratado). Esse paciente tinha dois anos de idade e apresentou uma ferida causada por atropelamento, localizada também na face médio-cranial da região radio-cárpica do membro torácico direito, com exposição óssea, mas sem a formação de espaço morto.

Apesar da lesão 7 ser semelhante à lesão 1 em relação à idade do paciente, causa, localização e disposição da ferida, estas apresentaram tamanhos de áreas (cm^2) diferentes no tempo inicial, sendo que a ferida 7 (GT) apresentou área de $6,633 \text{ cm}^2$ e a ferida 1 (GC) de $1,845 \text{ cm}^2$.

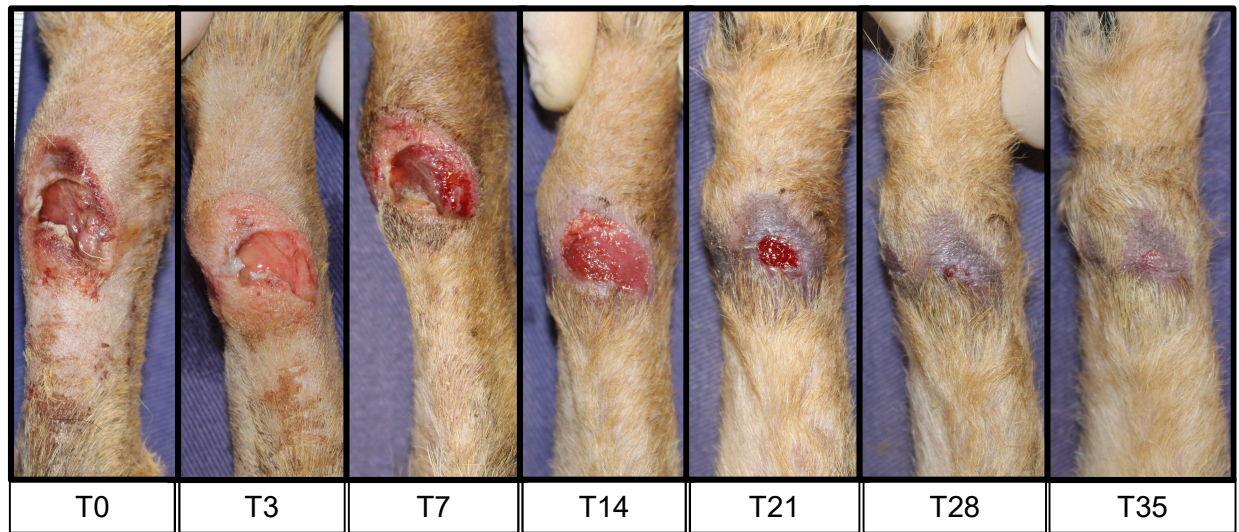


Figura 6. Evolução do processo cicatricial da lesão 1 do grupo controle nos diferentes tempos.

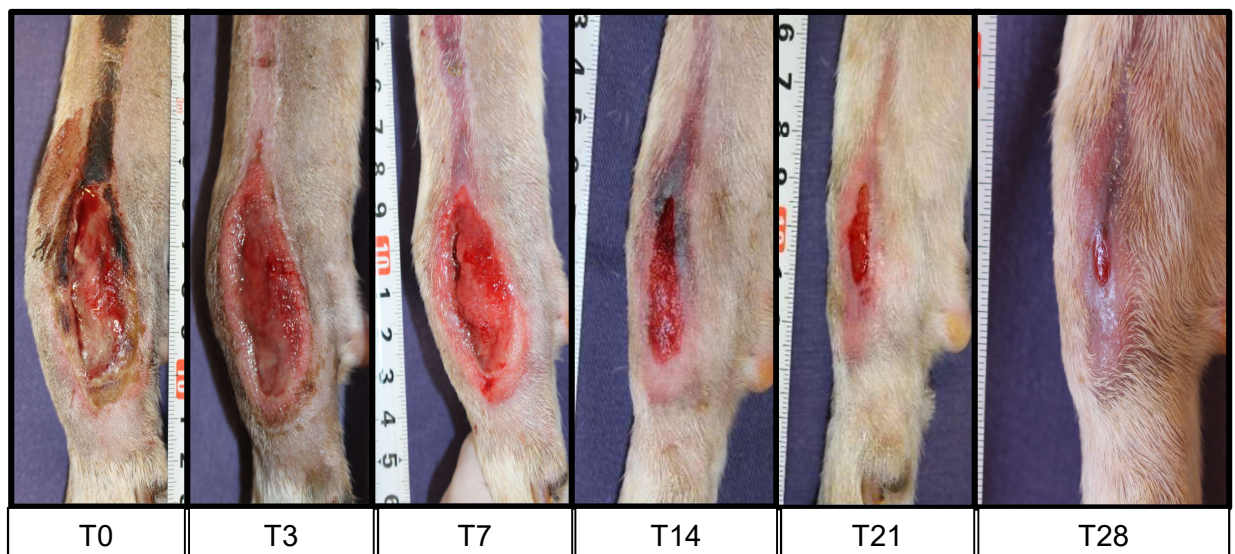


Figura 7. Evolução do processo cicatricial da lesão 7 do grupo tratado nos diferentes tempos.

Segundo Vitug et al. (1986) e Janssen et al. (1989) o Tartarato de ketanserina é um composto que age promovendo vasodilatação no leito da ferida o que favorece o processo de angiogênese e formação do tecido de granulação. Ao comparar o processo de cicatrização dessas duas lesões foi possível observar maior formação

de tecido de granulação no T3, T7 e T14 da lesão 7 (GT) em relação à lesão 1 (GC), esses períodos correspondem à fase de proliferação e reparo da ferida.

Segundo Shukla et al. (1999a), Lee et al. (2012) e Wan et al. (2012) o asiaticosídeo é um composto que possui ação anti-inflamatória e antioxidante, além de estimular o processo de fibroplasia, deposição de colágeno e epitelização da ferida. No processo de cicatrização da lesão 7 (GT) desse estudo, foi possível observar maior redução da área (cm^2) do T14 ($2,679 \text{ cm}^2$) em relação à T0 ($6,636 \text{ cm}^2$) quando comparado com a cicatrização da lesão 1 (GC) nos mesmos momentos (T14= $1,681 \text{ cm}^2$ e T0= $1,845 \text{ cm}^2$). A porcentagem de redução do T14 em relação à T0 apresentando uma redução, em porcentagem do T14 em relação ao T0 da lesão 7 (GT) foi de 59,6% e da lesão 1 (GC) foi de 8,9%. Esses valores coincidem com a ação dos compostos, relatada pelos autores supracitados, reforçando a importante ação na fase inflamatória e de proliferação e reparo das feridas.

A Figura 8, mostra a sequência de imagens do processo de cicatrização da lesão 2 desse estudo, tratada com solução salina 0,9% (Grupo controle). Esse paciente tinha um ano de idade e apresentou uma ferida causada por atropelamento, localizada na face médio-cranial da região tíbio-tarso-falangeana do membro pélvico direito, com exposição óssea e articular e sem formação de espaço morto.

A Figura 9, mostra a sequência de imagens do processo de cicatrização da lesão 12 desse estudo, tratada com solução de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%) (Grupo tratado). Esse paciente tinha um ano de idade e apresentou uma ferida causada por atropelamento, localizada na face latero-cranial da região tíbio-tarso-falangeana do membro pélvico esquerdo, com exposição óssea e articular e sem formação de espaço morto.

Apesar da lesão 2 ser semelhante à lesão 12 em relação à idade do paciente, causa, localização e características da ferida, estas apresentaram tamanhos de áreas (cm^2) diferentes no tempo inicial, sendo que a ferida 12 (GT) apresentou área de $25,370 \text{ cm}^2$ e a ferida 2 (GC) de $16,755 \text{ cm}^2$.



Figura 8. Evolução do processo cicatricial da lesão 2 do grupo controle nos diferentes tempos.



Figura 9. Evolução do processo cicatricial da lesão 12 do grupo tratado nos diferentes tempos.

Quando comparado a evolução cicatricial da ferida 2 (GC), com área de ferida no T0 de 16,755 cm², com a ferida 12 (GT), com área de ferida no T0 de 25,700 cm² é possível observar que apesar da lesão 12 (GT) ser maior, a formação do tecido de granulação e recobrimento do tecido ósseo aconteceu de forma primária quando comparado com a lesão 2 (GC). A formação do tecido de granulação saudável pode

ter sido favorecida pela ação do Tartarato de ketanserina devido a sua capacidade de aumentar a microvascularização e melhora da perfusão tissular. Além proporcionar uma resposta inflamatória mais efetiva na fase inicial da cicatrização e controle mais eficiente da infecção na ferida (JUAN et al., 2000; HEDLUND, 2008).

5.2. Planimetria digital do decalque

As Tabelas 3 e 4 apresentam os valores de área (cm²) mensurados por planimetria digital do decalque da ferida e a porcentagem de redução da ferida calculado pela fórmula $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$, onde AIL se refere à área inicial da lesão; AFL à área final da lesão, no momento avaliado e ΔA se refere à diferença das áreas de lesão. Os valores negativos apresentados na coluna de porcentagem de redução da área da ferida, evidenciam o aumento da área da lesão, que pôde ser observado em alguns momentos. A Tabela 3 expõe os dados do GC e a Tabela 4 do GT.

Tabela 3. Evolução das feridas do Grupo Controle (GC), por meio do valor de área (cm²) mensurada por planimetria digital do decalque e porcentagem de redução da ferida, calculado pela fórmula $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Ferida	Momento (dias)	Área (cm ²)	Redução da Ferida (%) em relação ao momento inicial (T0) $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$
1	T0	1,845	0,000
	T3	1,518	17,724
	T7	1,841	0,217
	T14	1,681	8,889
	T21	0,336	81,789
	T28	0,076	95,881
	T35	0	100,000
2	T0	16,755	0,000
	T3	12,574	24,954
	T7	9,201	45,085
	T14	6,637	60,388
	T21	3,208	80,853
	T28	2,048	87,777
	T35	0,658	96,073
	T42	0,074	99,558
5	T0	4,233	0,000
	T3	2,500	40,940
	T7	0,887	79,046
	T14	0	100,000
8	T0	0,162	0,000
	T3	0,170	-4,938
	T7	0,265	-63,580
	T14	0	100,000
9	T0	0,554	0,000
	T3	0,647	-16,787
	T7	0,577	-4,152
	T14	0,519	6,318
	T21	0	100,000
10	T0	2,191	0,000
	T3	1,817	17,070
	T7	1,287	41,260
	T14	0,657	70,014
	T21	0	100,000
11	T0	1,806	0,000
	T3	1,611	10,797
	T7	1,337	25,969
	T14	0	100,000
13	T0	3,152	0,000
	T3	2,960	6,091
	T7	2,257	28,395
	T14	1,316	58,249
	T21	0,519	83,534
	T28	0	100,000
14	T0	6,088	0,000
	T3	5,088	16,426
	T7	4,229	30,535
	T14	2,866	52,924
	T21	0	100,000
19	T0	8,157	0,000
	T3	0	0,000
	T7	7,349	9,906
	T14	2,394	70,651
	T21	0,640	92,154
	T28	0	100,000

Tabela 4. Evolução das feridas do Grupo Tratado (GT), por meio do valor de área (cm²) mensurada por planimetria digital do decalque e porcentagem de redução da ferida, calculado pela fórmula $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$. Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

Ferida	Momento (dias)	Área (cm ²)	Redução da Ferida (%) em relação ao momento inicial (T0) $\Delta A = ((AIL - AFL) / AIL) * 100$
3	T0	4,222	0,000
	T3	3,502	17,054
	T7	2,567	39,199
	T14	0,397	90,597
	T21	0	100,000
4	T0	1,947	0,000
	T3	1,557	20,031
	T7	0,835	57,114
	T14	0,184	90,550
	T21	0	100,000
6	T0	6,013	0,000
	T3	5,097	15,234
	T7	3,693	38,583
	T14	0,730	87,860
	T21	0	100,000
7	T0	6,633	0,000
	T3	12,234	-84,441
	T7	9,243	-39,349
	T14	2,679	59,611
	T21	1,145	82,738
	T28	0,339	94,889
	T35	0	100,000
12	T0	25,370	0,000
	T3	22,781	10,205
	T7	24,712	2,594
	T14	16,127	36,433
	T21	8,571	66,216
	T28	4,269	83,173
	T35	2,357	90,709
	T42	1,193	95,298
	T49	0	100,000
15	T0	14,922	0,000
	T3	15,817	-5,998
	T7	8,540	42,769
	T14	2,912	80,485
	T21	1,315	91,188
	T28	0,743	95,021
	T35	0	100,000
16	T0	0,845	0,000
	T3	0,302	64,260
	T7	0	100,000
17	T0	7,801	0,000
	T3	8,516	-9,165
	T7	6,087	21,972
	T14	8,535	-9,409
	T21	8,525	-9,281
	T28	3,808	51,186
	T35	2,301	70,504
	T42	1,180	84,874
	T49	0,421	94,603
	T56	0	100,000
18	T0	9,489	0,000
	T3	5,600	40,984
	T7	4,321	54,463
	T14	2,194	76,878
	T21	2,058	78,312
	T28	0,613	93,540
	T35	0,257	97,292
	T42	0	100,000

Nota-se que as feridas 8 e 9 (GC) apresentaram aumento da área (cm²) da lesão em relação ao momento inicial, nos momentos T3 e T7. Esse mesmo evento aconteceu com as feridas 7, 15 e 17 (GT), nos momentos T3 e T7; T3 e T3, T14 e T21, respectivamente. Segundo Madison e Gronwal (1992), o aumento da área da ferida acontece devido o processo de contração das feridas, que em sua fase inicial, faz com que as bordas da lesão se organizem apresentando uma retração de forma centrífuga. O aumento da área das lesões registrado logo após o traumatismo se deve, segundo Barber (1990), à associação da perda da tensão ao edema da pele.

Quando comparado a extensão das lesões do GC em relação às do GT, nota-se uma maior extensão (cm²) das feridas incluídas nesse segundo grupo. Na Tabela 5 é possível observar a diferença de médias de área da ferida (cm²) do GC que foi de 2,81 enquanto que do GT foi de 6,84.

O grupo tratado e grupo controle foram ainda avaliados em relação às variáveis área da ferida em cm², diferença da área da ferida em relação ao tempo zero (T0) em cm², diferença da área da ferida em relação ao tempo zero (T0) em porcentagem, como observado na Tabela 5.

Tabela 5. Relação das variáveis área da ferida (cm²), diferença da área da ferida em relação ao T0 (cm²) e diferença da área da ferida em relação ao T0 (%) do Grupo Tratado (GT) e Grupo Controle (GC). Pacientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal/SP, 2016-2017.

	Tempos de Cicatrização				Média	EPM ¹	P-valor		
	T0	T3	T7	T14			Tempo	TR ²	Tempo* TR
Área da ferida (cm²)									
Controle	4,08	3,20	2,43	1,51	2,81	0,82			
Tratado	8,58	8,37	6,66	3,75	6,84	0,82			
Média	6,33 ^a	5,79 ^a	4,54 ^{ab}	2,63 ^b		1,17	0,1297	0,0011	0,8317
³ DA de ⁴ T0- ⁵ TT (cm²)									
Controle	0,0	0,87	1,65	2,56	1,27	0,37			
Tratado	0,0	0,20	1,91	4,83	1,73	0,37			
Média	0,0 ^a	0,54 ^a	1,78 ^{ab}	3,69 ^b		0,55	<0,001	0,3917	0,2550
³ DA de ⁴ T0- ⁵ TT (%)									
Controle	0,0	12,47	20,30	61,86	23,66	4,37			
Tratado	0,0	7,57	35,26	68,11	27,73	4,37			
Média	0,0 ^a	10,02 ^{ab}	27,78 ^b	64,98 ^c		6,18	<0,001	0,5130	0,6981

¹ EPM= erro padrão da média; ² TR= tratamento; ³ DA= diferença da área; ⁴ T0= tempo zero; ⁵ TT= todos os tempos

Nas feridas do GC foi observado maior redução de área (cm²), em relação ao T0, no T3 (0,87 cm²) quando comparado com o mesmo momento do GT (0,20 cm²). Essa situação aconteceu de forma inversa, entre os grupos, no T7, sendo que a maior redução de área da ferida (cm²) em relação ao T0 foi no GT (1,91 cm²) quando comparado com GC (1,65 cm²), porém não foi observado diferença estatística entre os grupos nesses momentos. No T14 a redução da área das feridas, em relação a T0, foi mais evidente no GT (4,83 cm²) do que no GC (2,56 cm²), sendo observado diferença estatística entre as médias de GC e GT quando comparado T14 (3,69^b) com T3 (0,54^a).

Em relação à porcentagem de redução da área das feridas, em relação a T0, é possível observar maior porcentagem no T7 (35,26 cm²) e T14 (68,11 cm²) do GT, quando comparado com T7 (20,30 cm²) e T14 (61,86 cm²) do GC, evidenciando diferença estatísticas entre as médias de GC e GT quando comparado T14 (64,98^c) com T7 (27,78^b) e T14 (64,98^c) com T3 (10,02^{ab}).

A redução de área em cm² e porcentagem é mais evidente em T7 e T14 do GT, quando comparada com o GC, sendo justificada pela ação do Tartarato de ketanserina e Asiaticosídeo na fase de inflamação e proliferação e reparo da lesão. Esses compostos atuam acelerando o processo de contração da ferida, o que acarreta em maior diminuição da área da mesma (JANSSEN et al., 1989; JUAN et al., 2000; LEE et al., 2012; HOSGOOD, 2013).

6. CONCLUSÃO

O tratamento de feridas, por segunda intenção, com a formulação à base de Tartarato de ketanserina (0,345%) e Asiaticosídeo (0,20%), mostrou-se efetivo na fase de inflamação e proliferação e reparo da lesão quando comparado às feridas tratadas com solução salina 0,9%, por estimular o processo inflamatório na fase inicial da lesão, bem como o processo de proliferação e reparo, auxiliando na formação do de tecido de granulação de forma mais rápida e saudável e no melhor desenvolvimento do processo de contração da ferida.

7. REFERÊNCIAS ⁴

- ANDRADE, M. N. B.; SEWARD, R.; MELO, J. R. C. Curativos. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 4, n. 2, p. 228-236, 1992.
- APELQVIST, J.; CASTENFORS, J.; LARSSON, J.; STENSTRÖM, A.; PERSSON, G. Ketanserin in the treatment of diabetic foot ulcers with severe peripheral vascular disease. **International Angiology**, Italy, v. 9, p. 120, 1990.
- BALASUBRAMANIAM, G.; LEE, H. S.; MAH, S. C. Differences in the acute and chronic antihypertensive mechanism of action of ketanserin in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** United States, v. 264, p. 129-134, 1993.
- BARBER, S. M. Second intention wound healing in the horse: The effect of bandages and topical corticosteroids. **Proc. Annu. Conv. Am. Equine Pract.**, v. 35, p.107-116, 1990.
- BARNES, J; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. Fitoterápicos. Trad. ROSÁRIO, B. A.; PIZZATO, R. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2012.
- BERNAL, J. A.; ALEGRÍA, P.; HERNÁNDEZ, G. Ketanserina gel en trastornos de cicatrización. **IMI.**, v.20, p.161-166, 1993.
- BOJARB, J. W. Wound management. **Modern Veterinary Practice**, Canada, v. 63, n. 10, p. 791-796, 2006.
- BOUNAMEAUX, H.; DEVOS, P.; VERHAEGUE, R. Acute effect of ketanserin on the leg perfusion assessed by doppler pressure measurements and (201) TC scintigraphy in patients with intermittent claudication. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, New York, v. 7, p. 1083-1086, 1985.
- CAMPBELL, K. L.; LICHTENSTEIGER, C. A. Structure and function of the skin. In: CAMPBELL, K. L. **Small animal dermatology secrets**.1. ed. Chile, 2004, cap. 1, p. 1-9.
- CARDINAL, M.; EISENBUD, D. E.; ARMSTRONG, D. G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, St. Louis, v. 17, p. 173-178, 2009.
- CARVALHO, D. V.; GOMES, F. S. L.; CARMO, D. J. A. C.; BATISTA, J. A.; VIANA, M. N. Planimetria como método para mensuração de feridas. **Revista Mineira de Enfermagem**, Belo Horizonte, v. 10, n. 4, p. 425-428, 2006.

⁴ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: 2002

COLDREN, C. D.; HASHIM, P.; ALI, J. M.; OH, S.; SINSKEY, A. J.; RHA, C. Gene Expression Changes in the Human Fibroblast Induced by *Centella asiatica* Triterpenoids. **Planta Medicinal**, New York, v. 69, p. 725-732, 2003.

COOPER, D. M. Assessment, measurement, and evaluation: their pivotal roles in wound healing. In: Bryant, R. A. **Acute and chronic wounds: nursing management**. 2. ed. St. Louis: Mosby: 2000. cap. 4, p. 51-83.

FALCÃO, C. S.; COELHO, B. R. A.; ALMEIDA, L. E.; GALDINO, M. P. A. C. Modified process of image reproduction and amplification for measurement of area by planimetry: application in plain wounds produced in dogs treated by occlusive skin frog dressings. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 165-169, 2001.

FERREIRA, A. S.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; CAMPOS, A. D.; MENDONÇA, A. C. Mensuração de área de cicatrização por planimetria após aplicação do ultra-som de baixa intensidade em pele de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 12, n. 5, p. 351-358, 2008.

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

GETHIN, G.; COWMAN, S. Wound measurement comparing the use of acetate tracings and Visitrak digital planimetry. **Journal of Clinical Nursing**, England, v. 15, n. 4, p. 422-427, 2006.

HASHIMOTO, G. Illustrated Cyclopedia of Brazilian Medicinal Plants. **ABOC-SHA**, Japan, p. 1171, 1996.

HEDLUND, C. S. Cirurgia do Sistema Tegumentar. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Elsevier, 2008. cap. 15, p. 159-259.

HOSDOOD, G. Biologia da Cicatrização de Feridas. In: WILLIAMS, J.; MOORES, A. **Bsava Manual de Feridas Em Cães e Gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2013. cap. 1, p. 1-14.

JANSSEN, P.; JANSSEN, H.; CAUWENBERGH, G.; De DONCKER, P.; De BEULE, K.; LEWI, P.; TYTGAT, H. F.; LAPIÈRE, C. M. Use of topical ketanserin in the treatment of skin ulcers: a double-blind study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, St. Louis, v. 21, p. 85-90, 1989.

JUAN, J. S.; GLORIA, I. L. Q.; SERRANO, G.; TORRES-MENDOZA, B. M. Estudio comparativo entre ketanserina y dextranómero en el tratamiento de úlceras en enfermos de lepra. **Instituto Dermatológico Guanajuatense**, México, v. 3, n. 8, p. 518-522, 2000.

KARAYANNOPOULOU, M.; TSIOLI, V.; LOUKOPOULOS, P.; ANAGNOSTOU, T. L.; GIANNAKAS, N.; SAVVAS, I.; PAPAZOGLU, L. G.; KALDRYMIDOU, E. Evaluation of the effectiveness of an ointment based on Alkannins/Shikonins on second

intention wound healing in the dog. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, Canadá, v. 75, p. 42-48, 2011.

LEE, J. H.; KIM, H. L.; LEE, M. H.; YOU, K. E.; KWON, B. J.; SEO, H. J.; PARK, J. C. Asiaticoside enhances normal human skin cell migration, attachment and growth in vitro wound healing model, Germany, v. 19, n. 13, p. 1223-1227, 2012.

LEE, J. H.; LEE, J.; JUNG, E.; KIM, Y.; PARK, J.; PARK, J.; HONG, S.; KIM, J.; HYUN, C.; KIM, Y. S.; PARK, D. Asiaticoside induces human collagen I synthesis through TGFbeta receptor I kinase (TbetaRI kinase)-independent Smad signaling. **Planta Medicinal**, New York, v. 72, n. 4, p. 24-328, 2006.

MACGRATH, M. H.; SIMON, R. H. Wound geometry and the kinetics of wound contraction. **Plastic and Reconstructive Surgery**, United States, v. 72, n. 1, p. 66-73, 1983.

MACHADO, C.; CHIN, E. W. K.; IOSHII, S. O.; FILHO, R. T.; BATHEN, A. V. Influence of nicotine on healing of vesical sutures in rabbits. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 22, n. 6, p. 479-484, 2007.

MADISON, J.B.; GRONWALL, R.R. Influence of wound contraction in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 53, p.1575-1578, 1992.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MAQUART, F. X.; BELLON, G.; GILLERY, P; WEGROWSKI, Y.; BOREL, J. P. Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from Centella asiatica. **Connective Tissue Research**, London, v. 24, n. 2, p. 107-120, 1990.

MARTÍNEZ-DE JESÚS, F. R.; MORALES-GUZMÁN, M.; CASTAÑEDA, M.; PÉREZ-MORALES, A.; GARCÍA-ALONSO, J.; MENDIOLA-SEGURA, I. Randomized single-blind trial of topical ketanserin for healing acceleration of diabetic foot ulcers. **Archives of Medical Research**, United States, v. 28, p. 95-99, 1997.

PATERSON, S. Introduction – structure and function. In:_____. 2. ed. **Manual of skin diseases of the dog and cat**. Oxford, 2008. cap. 1, p. 1-8.

PAVLETIC, M. M. Axial partner skin flaps. In:_____. **Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery**. 3. ed. Iowa: Wiley – Blackwell, 2010. cap. 13, p. 357-378.

PITZER, G.B.; PATEL, K.G. Proper care of early wounds to optimize healing and prevent complications. **Facial Plast Surg Clin N Am**. v. 19, n. 1, p. 491-504, 2011.

RODRIGUES, D. F.; MENDES, F. F.; DIAS, T. A.; DE LIMA, A. R.; DA SILVA, L. A. F. O programa *ImageJ* como ferramenta de análise morfométrica de feridas cutâneas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, V. 9, n. 17, p. 1955-1963, 2013

ROSENDORF, C.; MURRAY, G. D. Ketanserin versus metoprolol and hydrochlorothiazide in essential hypertension. **Journal of Hypertension**, London, n. 4, p. 109, 1986.

SAS "Statistical Analysis System", versão 9.1, Cary, NC, USA, 2003.

SCEMONS, D.; ELSTON, D. Nurse to nurse: cuidados com feridas. **Porto Alegre: Artmed**; 2011.

SCHNEIDER, S. H.; TENDLER, M.; APELIAN, A.; JAGENEAU, A. H.; KHACHADURIAN, A. K. Effects of ketanserin a 5-HT₂-receptor antagonist, on the blood flow response to temperature changes in the diabetic foot. **Journal of Clinical Pharmacology**, England, v. 25, p. 413-417, 1985.

SHUKLA, A.; RASIK, A. M.; JAIN, G. K.; SHANKAR, R.; KULSHRESTHA, D. K.; DHAWAN, B. N. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 65, p. 1–11, 1999 (a).

SHUKLA, A.; RASIK, A. M.; DHAWAN, B. N. Asiaticoside induced elevation of antioxidant levels in healing wound. **Phytotherapy Research**, England, v. 13, p. 50-54, 1999 (b).

SOMBOONWONG, J.; KANKAISRE, M.; TANTISIRA, B.; TANTISIRA, M. H. Wound healing activities of different extracts of *Centella asiatica* in incision and burn wound models: an experimental animal study. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.12, p.103, 2012. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/103>

TANG, B.; ZHU, B.; LIANG, Y.; BI, L.; HU, Z.; CHEN, B.; ZHANG, K.; ZHU, J. Asiaticoside suppresses collagen expression and TGF- β /Smad signaling through inducing Smad7 and inhibiting TGF- β RI and TGF- β RII in keloid fibroblasts. **Archives Dermatological Research**, Germany, v. 303, p. 563–572, 2011.

TROTTER, G. W. Principles of early wound management. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 485-489, 1989.

VITUG, A. C.; SCHNEIDER, S. H.; KHACHADURIAN, A. K. Effects of a serotonin S₂ antagonist on total and nutritive blood flow in the diabetic foot. **Clinical Research**, v. 34, p. 867, 1986.

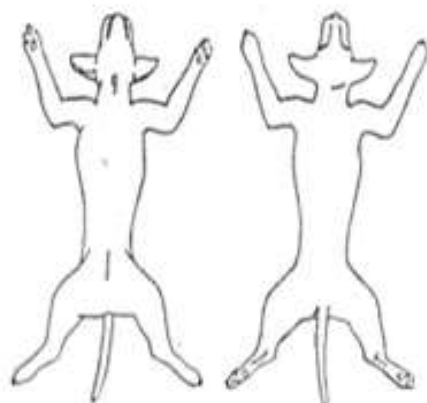
WAN, J.; GONG, X.; JIANG, R.; ZHANG, Z.; ZHANG, L. Antipyretic and antiinflammatory effects of asiaticoside in lipopolysaccharide-treated rat through up-regulation of heme oxygenase-1. **Phytotherapy. Research**, New York, v. 27, p. 1136–1142, 2012.

ZIMMERMANN, M. A membrana de látex como implante para correção de defeitos musculares em cães e coelhos. 2007. 52 f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

ZÚNIGA –MENDONZA, O.; MORALES-VÁSQUEZ, S. Eficacia de la aplicación tópica de ketanserina gel al 2% (sufrexal™) versus sulfadiacina de plata crema al 1% en el tratamiento de úlceras venosas: ensayo clínico abierto, prospectivo, comparativo al azar. **Revista Médica de Los Post Grados de Medicina-UNAH**, Honduras, v. 8, n. 1,2,3, p. 3-10, 2003.

8. APÊNDICE

	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FERIDAS	Nº: EC
	Identificação do Estudo: F038-CAE-GAT-EFI	Versão: 00 Data: 20/04/2016 Revisão: -



Nome: _____

Espécie: ☐ Canina ☐ Felina

Idade: _____

Sexo: ☐ Feminino ☐ Masculino

Peso: _____

Tratamento: ☐ Formulação A ☐ Formulação B

Data 1º atendimento: _____

(DD/MM/AA)

Data da avaliação: _____

(DD/MM/AA)

Origem da Ferida: _____

TAMANHO DA LESÃO:

Maior diâmetro: _____ Menor diâmetro: _____

ESCALA	%	EDEMA	PRESENÇA DE CROSTA	TECIDO DE GRANULAÇÃO	SECREÇÃO QUANTIDADE
Ausente	0	☐	☐	☐	☐
Discreto	<25%	☐	☐	☐	☐
Moderado	25-75%	☐	☐	☐	☐
Intenso	>75%	☐	☐	☐	☐
LOCALIZAÇÃO					

ESCALA	SECREÇÃO ASPECTO	ESCALA	COLORAÇÃO DA FERIDA	ESCALA	%	ADERÊNCIA
Ausente	☐	Pálida	☐	Ausente	0	☐
Exsudato Inflamatório	☐	Rósea	☐	Discreto	<25%	☐
Purulento	☐	Azulada	☐	Moderado	25-75%	☐
Hemorrágico	☐	Enegrecida	☐	Intenso	>75%	☐
LOCALIZAÇÃO		LOCALIZAÇÃO		LOCALIZAÇÃO		

Este documento é CONFIDENCIAL. O seu conteúdo, assim como o próprio documento não podem ser copiados ou divulgados a qualquer terceiro sem a expressa autorização da Ourofino Saúde Animal.

	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FERIDAS	Nº: EC
	Identificação do Estudo: F038-CAE-GAT-EFI	Versão: 00 Data: 20/04/2016 Revisão: -

ESCALA	%	PRESENÇA DE INFECÇÃO	PRESENÇA DE REEPITELIZAÇÃO	PRESENÇA DE NECROSE
Ausente	0	☐	☐	☐
Discreto	<25%	☐	☐	☐
Moderado	25-75%	☐	☐	☐
Intenso	>75%	☐	☐	☐
LOCALIZAÇÃO				

Realizado por: _____	Data: _____
----------------------	-------------