

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS DO USO TÓPICO DO ÓLEO DE ANDIROBA PURO E
OZONIZADO EM FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALMENTE
INDUZIDAS EM EQUINOS**

ANDERSON LUIZ DE ARAÚJO

VILA VELHA – ES
FEVEREIRO/2014

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS DO USO TÓPICO DO ÓLEO DE ANDIROBA PURO E
OZONIZADO EM FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALMENTE
INDUZIDAS EM EQUINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

ANDERSON LUIZ DE ARAÚJO

VILA VELHA – ES
FEVEREIRO/2014

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

A663e Araújo, Anderson Luiz de.

Efeitos do uso tópico do óleo de andiroba puro e ozonizado em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos / Anderson Luiz de Araújo. – 2014.

62 f.: il.

Orientador: Clárisse Simões Coelho.

Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2014.

Inclui bibliografias.

1. Equino. 2. Ferimentos e lesões - Tratamento. 3. Óleo de andiroba. I. Coelho, Clárisse Simões. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.108971

ANDERSON LUIZ DE ARAÚJO

**EFEITOS DO USO TÓPICO DE ÓLEO DE ANDIROBA PURO E OZONIZADO
EM FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALMENTE INDUZIDAS EM
EQUINOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha como
pré-requisito do Programa de
Pós-graduação em Ciência
Animal, para obtenção do grau
de Mestre em Ciência Animal

Aprovada em 11 de fevereiro de 2014.

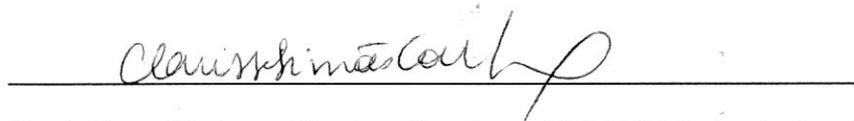
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Vinicius Ricardo Cunha de Souza – UVV-ES



Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes – FMVZ-USP



Prof. Dra. Clarisse Simões Coelho – UVV-ES (orientadora)

DEDICATÓRIA

DEDICO ESTE TRABALHO AOS MEUS PAIS JONATHAN E ELVIRA MEUS AMORES E RAZÃO DA MINHA VIDA, MEUS IRMÃOS ANDRÉIA E CARLOS ANDRÉ. MINHA FERNANDA POR SEMPRE ESTAR DO MEU LADO E A MINHA ORINTADORA CLARISSE POR ESTAR EM CADA FASE NA CONCLUSÃO DESTE TRABALHO. E A TODOS OS ANIMAIS QUE FAZEM PARTE DA MINHA VIDA.

À VOCÊS EU DEDICO.

AGRADECIMENTOS

AGRADEÇO A MEUS PAIS JONATHAN E ELVIRA, PELO AMOR, APOIO E DEDICAÇÃO DURANTE TODA MINHA VIDA.

AOS MEUS IRMÃOS ANDRÉIA E CARLOS ANDRÉ, MEUS AMIGOS INSEPARÁVEIS.

A MINHA NOIVA FERNANDA, POR SER TUDO PRA MIM. E SEUS PAIS E FAMILIARES PELO APOIO, AMIZADE E ATENÇÃO.

A MINHA ORIENTADORA PROF.^a CLARISSE SIMÕES COELHO POR SUA ATENÇÃO, DEDICAÇÃO E COMPREENSÃO COM SEU ORIENTADO.

AOS MEUS ANTIGOS PROFESSORES DA CLINICA DE ANIMAIS DE GRANDE PORTE ANA CLAÚDIA DOS SANTOS VALENTE, GIULIANO FIGUEIRÓ, GRAZIELA BARIONI, GUSTAVO CANCIAN, ODAEL SPADETO E JAIRO JARAMILLO, POR SEREM ALÉM DE PROFESSORES E UM EXEMPLO NA PROFISSÃO, MEUS AMIGOS COM OS QUAIS SEMPRE PUDE CONTAR NAS HORAS DE DÚVIDA E INCERTEZAS, MUITO OBRIGADO.

E AOS MEUS AMIGOS QUE SEMPRE ESTIVERAM COMIGO, SEMPRE QUE FOI PRECISO E TAMBÉM QUANDO NÃO ERA, MUITO OBRIGADO.

A TODOS QUE AJUDARAM DURANTE A REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.

MUITO OBRIGADO A TODOS.

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A:	Avaliação clínica do Equino 1 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região do dorso.....	57
Apêndice B:	Avaliação clínica do Equino 2 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região do dorso.....	58
Apêndice C:	Avaliação clínica do Equino 3 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região do dorso.....	59
Apêndice D:	Avaliação clínica do Equino 4 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região do dorso.....	60
Apêndice E:	Avaliação clínica do Equino 5 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região do dorso.....	61
Apêndice F:	Avaliação hematológica e bioquímica dos equinos utilizados no experimento no momento de seleção dos animais	62

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Pele e cicatrização de feridas cutâneas.....	12
2.2. Uso de plantas medicinais no tratamento de feridas cutâneas.....	16
2.3. Andiroba.....	20
2.4. Oxigênio/ozonioterapia.....	22
3. OBJETIVOS.....	24
4. TRABALHO CIENTÍFICO.....	25
REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICES.....	57

ARAUJO, A.L. M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, fevereiro de 2014. **Efeitos do uso tópico do óleo de andiroba puro e ozonizado em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos.** Orientadora: Clarisse Simões Coelho.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi demonstrar os efeitos do uso tópico do óleo de andiroba (*Carapa guianensis Aubl.*), pura e ozonizada, no tratamento de feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos, visando novas alternativas terapêuticas na referida espécie. Para tal, foram usados cinco equinos adultos, sem raça definida, nos quais foram induzidas cirurgicamente quatro feridas cutâneas em cada lado da região lombar. As lesões foram tratadas diariamente com solução fisiológica isotônica de NaCl 0,9% (controle; GC), solução fisiológica isotônica de NaCl 0,9% ozonizada (controle – ozônio; GO), óleo de andiroba puro (GAP) e óleo de andiroba ozonizado (GAO), com alternância no posicionamento dos tratamentos entre os animais. Um lado de cada equino foi usado para avaliação macroscópica e mensuração de área da ferida e o outro foi usado para avaliação histopatológica. De forma aleatória, foi feita alternância entre os lados. Registros da avaliação macroscópica e coleta de amostras para avaliação histopatológica foram feitos nos dias da cirurgia e com 3, 7, 14 e 21 dias, sendo registrado também o tempo até a cicatrização total das feridas. Foi possível observar um grau de contração de 67,75%, 65,26%, 67,91% e 69,84%, respectivamente, nas feridas dos grupos GC, GO, GAP e GAO, sem diferença significativa entre os mesmos. Foi possível concluir a partir das análises macroscópica e histopatológica que o óleo de andiroba ozonizado teve maior efeito benéfico ao proporcionar uma epitelização mais precoce, já sendo essa detectada aos 14 dias. Além disso, foi possível comprovar o efeito analgésico do óleo de andiroba.

Palavras-chave: Andiroba. Cicatrização. Equinos. Feridas. Ozônio.

ARAUJO, A.L. M.Sc., University Vila Velha - ES, February 2014. **Effects of topical application of pure and ozonized andiroba oil on experimentally induced wounds in horses.** Advisor: Clarisse Simões Coelho.

ABSTRACT

The aim of this research was demonstrate the effects of topical application of andiroba oil (*Carapa guianensis Aubl.*), pure or ozonized, on surgically induced wounds in horses, trying to establish new alternatives for wound healing by second intention. With this purpose, five adult mixed breeds horses were used. Four lesions were surgically performed in each side of lumbar area of each animal. Lesions were daily treated with NaCl 0.9% saline solution (control group; GC), ozonized NaCl 0.9% saline solution (ozone group; GO), pure andiroba oil (GAP) and ozonized andiroba oil (GAO), alternating the treatment positions on each animal. Wounds on one side of the horse were used for macroscopic observations and area mensuration and the ones on the other side for histopathologic analysis, alternating aleatorily between animals. Records of macroscopic evaluation and samples obtained for histopathologic analysis were done at the surgery day and after 3, 7, 14 and 21 days, also recording the time for complete healing. It was possible to observe a wound contraction of 67.75%, 65.26%, 67.91% and 69.84%, respectively, on the groups GC, GO, GAP and GAO. It was possible to conclude that the ozonized andiroba oil had higher benefic effects on the healing process because it leded to epithelization, already on the 14th day. Also, it was possible to observe the analgesic effects of andiroba oil.

Key-words: Andiroba. Healing. Equine. Wounds. Ozone therapy.

1. INTRODUÇÃO

A cicatrização cutânea é alvo de interesses clínico, científico e econômico (HUSSNI et al., 2004; PAGANELA et al., 2009), principalmente na espécie equina na qual a mesma ocorre de forma diferenciada com tendência a formação de tecido de granulação exuberante, podendo assim prejudicar a função do animal (STASHAK, 1994). Segundo Paganela et al. (2009), as afecções cutâneas representam 37% dos casos de equinos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas/RS, sendo que 63% dessas lesões oscilavam entre lacerações, perfurações, incisões e contusões e os 37% restantes eram neoplasias, dermatites e proliferação de tecido de granulação exuberante.

Segundo White (1995), diversas preparações tópicas são utilizadas nas feridas cutâneas em equinos; muitas são ineficientes ou até mesmo prejudiciais à cicatrização, por serem irritantes ou estimularem a formação de tecido de granulação exuberante. Dentre as possíveis alternativas terapêuticas destaca-se a fitoterapia, através do uso de óleos vegetais, e a oxigênio/ozonioterapia. Esses produtos podem ser usados como constituinte principal no protocolo de tratamento ou como um complemento terapêutico.

No Brasil, a utilização de plantas medicinais possui uma grande aceitação, no entanto muitas destas plantas não têm a eficácia comprovada cientificamente. Na área da fitoterapia e uso de óleos vegetais, são vários os estudos realizados com o objetivo de comprovar sua eficácia na cicatrização de feridas em humanos e diversas espécies animais, sendo possível destacar as pesquisas com óleo de copaíba (EURIDES e MAZZANTI, 1995; POSSA et al., 2007), papaína (SANCHEZ NETO et al., 1993), açúcar (PRATA et al., 1988), barbatimão (EURIDES et al., 1996), maracujá (GARROS, et al., 2006), aloe vera, confrey, eucalipto, jojoba, própolis (STASHAK et al., 2004) e o óleo de girassol (MARQUES et al., 2004; ROCHA et al., 2004). Em equinos, destacam-se as citações de Souza et al. (2006), que estudaram a aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas experimentalmente induzidas, Martins et al. (2003), que compararam o uso de barbatimão, calêndula e confrey na cicatrização de pele, e Coelho et al. (2012)

e Oliveira Jr. et al. (2012), que constataram o uso benéfico de óleo de girassol em feridas cutâneas de equinos.

A andiroba é uma árvore alta de folhas alongadas e com pequenas flores brancas (STEFFEN, 2011), descrita pela primeira vez em 1775 na Guiana Francesa pelo botânico francês Jean-Baptiste Christopher Fuseé Aublet (MENEZES, 2005). Na região amazônica é conhecida como rainha da floresta é encontrada em solos úmidos de toda a região, especialmente Amapá, Acre e Pará. Há muitos séculos, suas sementes são usadas contra picadas de cobras, escorpiões, abelhas e aranhas. Seu óleo é obtido das sementes que caem, sem que as árvores sejam derrubadas (MULTIVEGETAL, 2001). Na medicina popular, esse óleo é indicado para dores musculares, tumores, distensão muscular e micoses devido aos seus efeitos antiinflamatórios (MULTIVEGETAL, 2001).

Os usos citados na literatura para a andiroba incluem aplicação ao redor das feridas e escoriações, como óleo de massagem e repelente de insetos e uso tópico em vários tipos de lesões cutâneas, tais como a psoríase (NAYAK et al., 2011). Brito et al. (2001) pesquisaram os efeitos da aplicação do óleo de andiroba *in natura* em feridas cutâneas em ratos. Segundo os autores, apesar dos efeitos antiinflamatórios, a aplicação do mesmo gerou prejuízo no processo de cicatrização com retardo da contração e epitelização das feridas. Pennaforte (2003) avaliou a atividade antiinflamatória e analgésica de óleos de duas plantas amazônicas (copaíba e andiroba) e comprovou que o óleo de andiroba possui atividade analgésica, antialérgica e anti-histamínica inibindo a formação de edema local.

Considerado um oxidante muito poderoso, com potencial redox de 2,07 (HOLMES, 2011), o ozônio é um gás formado na forma tri atômica de oxigênio obtido pela transformação do mesmo através de descargas elétricas (SILVA et al., 2008). O ozônio medicinal é uma mistura gasosa com 5% de ozônio e 95% de oxigênio. Suas principais indicações são em doenças infecciosas, vasculares e isquêmicas, ortopédicas, dermatológicas, pulmonares, renais, hematológicas, neurodegenerativas e auto-ímmunes, de modo isolado ou complementar, sendo veiculado em óleo ou água (SANCHEZ, 2008). Também é indicado no tratamento de feridas por ser oxidante, pela ação bactericida e

bacteriostática e por promover a formação de tecido de granulação (CANDIDO, 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pele e cicatrização de feridas cutâneas

A pele ou tegumento é uma barreira impermeável, responsável pela prevenção das perdas de fluidos, eletrólitos e calor; além disso, é responsável pela proteção contra microorganismos e toxinas (FITCH e SWAIM, 1995).

Em equinos, a espessura da pele varia de acordo com a região do corpo, oscilando de um até cinco milímetros. Normalmente, ela diminui no sentido dorso-ventral na região axial e no sentido distal-proximal nos membros locomotores (MORIELLO et al., 2000).

A pele representa 15% do peso corpóreo (DAYCE et al., 1997) e é o maior e um dos mais complexos órgãos do organismo, sendo constituída pela epiderme, camada constituída por um epitélio superficial, queratinizado e estratificado não vascularizado de origem ectodérmica; e derme, porção conjuntiva de origem mesodérmica. Abaixo da derme, localiza-se a hipoderme, que não faz parte da pele, mas serve de suporte e união aos órgãos/estruturas subjacentes (DAYCE et al., 1997; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

A epiderme, camada mais superficial, é composta por um epitélio pavimentoso estratificado, onde o principal constituinte são os queratinócitos. Além disto, estão presentes um pequeno número de células de Langerhans dendríticas, melanócitos, células de Merkel e linfócitos migratórios. A epiderme pode ser subdividida ainda em quatro estratos ou camadas: camada basal (Stratum basale), camada espinhosa (Stratum spinosum), camada granular (Stratum granulosum) e, a camada mais superficial, camada córnea (Stratum corneum) (JONES et al., 1997).

A derme, considerada a segunda camada da pele, é rica em fibras colágenas e é formada por folículos pilosos, músculos piloerectores, glândulas sudoríparas e sebáceas, capilares linfáticos; é altamente innervada e vascularizada, sendo responsável pela nutrição da epiderme (PAVLETIC, 1993; DAYCE et al., 1997; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). A derme é a maior camada da pele e é responsável pela força tênsil apresentada pelo tegumento

normal, com colágeno presente de forma abundante. A derme pode ser dividida em duas camadas: a derme papilar e a derme reticular (JONES et al., 1997).

A hipoderme ou subcútis é composta por lóbulos de tecido adiposo. No limite entre a derme reticular profunda e a hipoderme está situado o segundo plexo vascular da pele, sendo denominado de plexo vascular profundo (JONES et al, 1997).

Segundo Andrião et al. (2009), apesar dos equinos apresentarem características histológicas da pele similares à de outros mamíferos, eles apresentam epiderme mais delgada e com ausência de tecido adiposo.

Uma ferida pode ser definida como perda na integridade da pele, produzida por ação traumática que ultrapassa a resistência dos tecidos atingidos de forma intencional ou não (ARAÚJO et al., 1998; THOMASSIAN, 2005; GARROS et al. 2006). Essas lesões podem atingir desde a camada mais superficial da pele até estruturas mais profundas, tais como fâscias, músculos, aponeuroses, articulações, cartilagens, tendões, ossos, órgãos cavitários ou qualquer outra estrutura corporal (THOMASSIAN, 2005; MEHL, 2012). Independente da causa, todas as feridas geram prejuízo ao fluxo sanguíneo, à sensibilidade e geram acúmulo de debris inflamatórios, podendo apresentar diferentes graus de contaminação ou infecção (MAGALHÃES et al., 2008).

As feridas podem ser classificadas como abertas, p.ex., abrasões, erosões, perfurações, incisões, lacerações e queimaduras, ou fechadas, p.ex., contusões e hematomas (HENDRICKSON e VIRGIN, 2005).

Na medicina equina, as feridas são lesões importantes levando à prejuízos econômicos e danos funcionais. Devido a sua elevada prevalência, muitas vezes devido ao próprio comportamento ativo dos animais, diversos estudos são feitos visando determinar medidas terapêuticas que levem à reparação tecidual com uma boa característica cosmética e funcional (STASHAK, 1991; FERREIRA et al., 2006; PAGANELA et al., 2009). Em um estudo retrospectivo, Paganela et. al (2009) relataram que entre os anos de 2000 a 2008 a incidência de feridas cutâneas atendidas em equinos foi 37% no Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas no Rio Grande do Sul, sendo que destas afecções 63% podiam ser classificadas como lacerações, perfurações, incisões e contusões ou 37% se tratavam de neoplasias, dermatites e tecido de granulação exuberante.

O processo de cicatrização de uma ferida cutânea é promovido por uma série de eventos complexos e regulados visando a restauração do tecido (BANKS, 1992; ORTONNE e CLÉVY, 1994, DART et al. 2009). Segundo Paganela et al. (2009), o processo de cicatrização pode ser dividido em cinco fases: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação. A primeira fase da cicatrização é a coagulação, que se inicia imediatamente após o dano tecidual ter ocorrido. Esta fase tem como principal objetivo conter o sangramento através da vasoconstricção e desencadear as fases subsequentes, através da liberação de substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases.

A fase inflamatória é classificada como a segunda fase e tem início com a vasodilatação e a migração de proteínas plasmáticas e células de defesa, como leucócitos. Ocorre ainda a liberação de proteases, tais como hialuronidase, colagenase e hemolisinas, que tem a função de inibir a ação de bactérias durante a cicatrização.

A fase proliferativa pode ser subdividida em três subfases, a reepitelização, a fibroplasia e a neovascularização. A fase de reepitelização ocorre de duas formas. Em feridas de espessura parcial, ela é proveniente da migração de queratinócitos não danificados das bordas dos anexos epiteliais. Nas feridas de espessura total, esta migração é proveniente das margens epidérmicas. Os fatores de crescimento são responsáveis pelo aumento da mitose e a hiperplasia do epitélio.

Na fase de fibroplasia, ocorre a proliferação de fibroblastos a partir da região mais superficial da ferida. Paralelamente ocorre a neovascularização a partir do brotamento endotelial, esta é responsável pela nutrição do tecido de reparação e promove uma aparência rosada e exuberante na lesão. Assim, é formado o tecido de granulação que consiste em vasos sanguíneos neoformados, fibroblastos e seus produtos, tais como o colágeno fibrilar, elastina, fibronectina, proteases e glicosaminoglicanas sulfatadas e não sulfatadas. Este tecido é formado em torno de três a quatro dias após a indução da lesão. Em seguida, o fluxo sanguíneo e a oxigenação são restabelecidos e os vasos neoformados começam a diminuir, iniciando a fase de contração, que se inicia nos bordos da ferida pela diferenciação dos fibroblastos ativados em miofibroblastos que tem a capacidade de formar

conexões com a matriz extracelular e outras células promovendo tensão suficiente para diminuir a lesão.

Os miofibroblastos são responsáveis por aproximar as margens da ferida e por promoverem a sobreposição e o entrelaçamento das fibras de colágeno promovendo suporte para diminuição do tamanho da lesão. A última fase do processo de cicatrização é a fase de remodelação, esta fase dura um longo período, onde os componentes da cicatrização, como o ácido hialurônico e os proteoglicanos são transformados em tecido maduro com características diferenciadas (PAGANELA et al., 2009).

A cicatrização pode ocorrer por primeira, segunda ou terceira intenção, essa última também conhecida como fechamento primário tardio (TURNER e McILWRAITH, 2002). Segundo Paganela et. al (2009), a cicatrização por primeira intenção ocorre em feridas limpas quando os bordos estão próximos, geralmente em lesões cirúrgicas nas quais é possível aproximar as bordas da ferida por meio de suturas. A cicatrização por segunda intenção é realizada em feridas onde não é possível fazer a aproximação das bordas ou feridas apresentando contaminação ou corpos estranhos. Este tipo de cicatrização é mais complexo por ser totalmente dependente da neovascularização e remodelação da matriz celular e sua utilização é indicada para os casos onde não é possível o fechamento primário (AUER e STICK, 1999). Na cicatrização por terceira intenção é feito o tratamento para fechamento em segunda intenção e após este tratamento prévio é realizado a excisão do tecido de granulação ao longo dos bordos da ferida que é, então, suturada para que ocorra a cicatrização por primeira intenção. Este método é muitas vezes utilizado devido a demora do proprietário em chamar o médico veterinário (TURNER e McILWRAITH, 2002).

A melhor forma de manejo das feridas é determinada pelo dano vascular ocorrido, grau de contaminação e viabilidade do tecido circundante (HENDRICKSON e VIRGIN, 2005). Em equinos, o tratamento de feridas representa um desafio para os veterinários (COOMER, 2008), pois na referida espécie o processo de cicatrização ocorre de forma diferenciada. Segundo Wilmink (2004), a fase inflamatória de ferida em equinos, bem como o influxo de leucócitos, ocorre de forma mais lenta, visto que nos cavalos o tecido de granulação permanece irregular com presença de secreção e exsudado

fibrinoso. Este mesmo autor descreve que a formação do tecido de granulação exuberante foi maior nos cavalos quando comparado aos pôneis, pois se verificou que histologicamente a proliferação de fibroblastos nos equinos é maior. Finalmente, a epitelização, que ocorre na fase final do processo de cicatrização, é também um processo muito lento, avançando aproximadamente um milímetro a cada 10 dias no cavalo (WILMINK, 2004).

Segundo White (1995), existem diversas preparações tópicas usadas em feridas nos equinos, sendo algumas ineficientes, podendo até serem prejudiciais à cicatrização, por serem irritantes ou estimularem a formação desse tecido de granulação exuberante. Dentre as possíveis alternativas terapêuticas destaca-se a oxigênio/ozonioterapia e a fitoterapia com o uso tópico de óleos vegetais.

2.2. Uso de plantas medicinais no tratamento de feridas cutâneas

A descoberta de plantas com finalidade terapêutica é reportada desde antes de Cristo (a.C.) tendo sido inclusive descrito por Shen-Nung, considerado o pai da medicina chinesa tradicional, que utilizava curativos com plantas e escreveu um tratado denominado O Herbário, que menciona o uso de plantas (SANTOS, 2006).

Durante vários séculos, a base terapêutica da prática médica foi a utilização de plantas medicinais, hoje denominado como fitoterapia. Com a evolução da indústria farmacêutica a partir século XIX, as moléculas ativas foram extraídas das plantas e reproduzidas artificialmente (BRANCO-NETO et al., 2006).

Apesar da utilização de plantas medicinais ser discutível, muitas vezes pelo desconhecimento da fração ativa do fitoterápico ou pela cultura do indivíduo, diversos fatores contribuem para a utilização de plantas medicinais em práticas relacionadas a saúde, dentre eles podemos destacar o fator econômico e social, sendo uma prática incentivada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (SANTOS et al., 2006).

A utilização de plantas com o objetivo de melhorar o processo de cicatrização vem sendo foco de estudos de vários pesquisadores (SANTOS et al., 2006). Dentre eles, destacam-se alguns. Sanchez Neto et al. (1993) que estudaram o efeito da solução extraída da *Carica papaya* (Mamão ou Mamoeira), papaína a 2%, em ratos Wistar, observando um aumento no tecido de granulação nas fases iniciais promovendo uma cicatrização mais eficaz. Eurides et al. (1996) estudaram o uso tópico de *Stryphnodendron barbatiman martius* (Barbatimão) em feridas de camundongos (*Mus musculus*) notando uma redução no tempo de cicatrização com registro de 21 dias no grupo controle e 19 dias no grupo tratado.

Pennaforte (2003) avaliou em seu estudo a atividade antiinflamatória e analgésica de duas espécies de plantas amazônicas *Copaifera langsdorffii* (copaíba ou balsamo) e *Carapa guianensis* (Andiroba ou angiroba) comprovando este efeito em ambas as espécies. Santos et al. (2006) avaliaram a utilização de *Jatropha gossypifolia* L. (Peão roxo ou Jalopão) em feridas cutâneas em ratos Wistar, relatando diferença significativa entre os grupos estudados somente na microscopia.

Garros et al. (2006), avaliando a *Passiflora edulis* (Maracujá amarelo) em feridas cutâneas de ratos Wistar, descreveram aumento na proliferação fibroblástica no sétimo (7^o) e colagenização no décimo quarto (14^o) dia, porém sem diferenças macroscópicas significativas.

Schirato et al. (2006) avaliaram os efeitos do *Anacardium occidentale* L. (POLICAJU, Caju ou Acaju) na fase inflamatória de feridas cutâneas de camundongos (*Mus musculus*) onde descrevem a eficiência deste fitoterápico no controle da inflamação e a presença de tecido de granulação, porém sem diferenças significantes na redução da área total da ferida.

Mendonça et al. (2009), trabalhando com ratos Wistar, avaliaram a *Aloe vera* L. (Babosa), associada ou não a microcorrente elétrica, onde descrevem resultados diferentes do grupo controle com os diversos tratamentos utilizados, sendo que no grupo tratado com *Aloe vera* o tempo de cicatrização foi menor que o grupo controle, porém os animais tratados com a microcorrente isolada ou associada ao crema a base de *Aloe vera* apresentaram uma fase proliferativa mais precoce em comparação com os demais grupos.

Coelho et al. (2010) avaliaram em um experimento em ratos Wistar os efeitos da sulfadiazina de prata, o extrato de Ipê (*Tabebuia avellanedae*) e o Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) em feridas cutâneas e os autores descreveram que, aos 14 dias de avaliação, os três grupos tratados apresentavam epitelização completa, enquanto o grupo controle apresentava um atraso na cicatrização e já neste período houve diferenças significativas no processo inflamatório e neovascularização. Quanto à presença de fibroblastos e colágeno, a diferença significativa aconteceu aos 30 dias de avaliação. Com base nos resultados encontrados os referidos autores descrevem que a cicatrização foi favorecida nos animais dos grupos tratados.

Batista et al. (2012) testaram a atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*), conhecido também como Buriti ou Coqueiro de Buriti ou ainda Palmeira do Brejo. A atividade antibacteriana foi testada *in vitro*, onde de cinco patógenos testados o óleo foi eficiente na inibição do crescimento de quatro destes.

Em outras espécies também são realizados experimentos avaliando diversos fitoterápicos. Marques et al. (2004) avaliaram a utilização do óleo de semente de girassol (*Helianthus annuus*) em feridas cutâneas em carneiros e relataram redução da área e maior contração da ferida no 7º e 21º dia de avaliação. Os autores relatam a eficiência do óleo de girassol em acelerar o processo de cicatrização e descrevem que o mesmo é uma nova alternativa no tratamento de feridas por segunda intenção. Barroso et al. (2010) estudaram o uso de *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) em feridas cutâneas induzidas em ovinos e relataram a ineficiência do mesmo em comparação aos demais tratamentos utilizados neste experimento, o líquido de Dakin e água. Lima et al. (2012) relataram um caso clínico de um ovino apresentando ferida contaminada onde foi avaliado a utilização de açúcar cristal. Os autores relatam que a utilização do açúcar cristal foi eficiente com um grau de retração de 1,95 mm por dia.

Em equinos, existem algumas pesquisas já realizadas avaliando a utilização da fitoterapia na cicatrização de feridas. Nesta espécie podemos destacar alguns trabalhos. Martins et al. (2003), que avaliaram a eficácia dos fitoterápicos *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Calendula officinalis* (Calêndula) e o *Symphytum officinale* (Confrey), ressaltaram que o barbatimão

e a calêndula podem ser utilizados no tratamento de feridas cutâneas em equinos. Segundo os autores, a calêndula demonstrou ter um melhor efeito na fase inflamatória da cicatrização, com as feridas apresentando bordos menos edemaciados e crostas finas e lisas. O barbatimão favoreceu o processo de fibroplasia, porém houve a presença de exsudato serofibrinoso e abundante deposição de fibrina com a formação de crostas secas, espessas e irregulares. Segundo os autores, este efeito foi proveniente do efeito adstringente do fitoterápico. Os autores relatam que no grupo tratado com confrey foi observado a presença de microabscessos, sendo a cicatrização neste grupo inferior ao tratamento do grupo controle. Ribas et al. (2005) avaliaram a utilização do *Triticum vulgare* (Trigo), na apresentação comercial Bandvet® creme, *Aloe vera* (Babosa) e a solução de nitrofurazona 0,02% em feridas cutâneas em equinos e observaram que as feridas tratadas com o Bandvet® creme apresentaram um processo de cicatrização mais acelerado em comparação aos demais tratamentos. Souza et. al (2006) avaliaram a utilização do *Triticum vulgare* (Trigo) em feridas cutâneas em equinos, onde relatam a eficiência do fitoterápico em acelerar a cicatrização ao estimular a neovascularização, a multiplicação de fibroblastos e a produção de colágeno.

Oliveira Junior et. al (2012) avaliaram o uso tópico do óleo de *Helianthus annus* (Girassol) em feridas induzidas no dorso e na face dorso-lateral dos metacarpianos de equinos hípidos e relataram a eficiência do tratamento testado com maior número de células polimorfonucleares, maior angiogênese e um maior alinhamento das fibras colágenas. O grau de contração das feridas também foi acelerado com a utilização do óleo de girassol, onde os referidos autores reportam valores de 90,78% para as feridas lombares tratadas e de 79,27% para as feridas controle; para as feridas na região metacarpiana, o grau de contração foi de 47,63% para as feridas tratadas, frente a um grau de contração de 30,21% para as feridas controle.

Coelho et al. (2012) reportam um caso clínico de um equino apresentando um ferida extensa na região dorsal do metatarso esquerdo onde o óleo de girassol (*Helianthus annus*) foi utilizado como tratamento. Neste relato de caso, os autores destacaram os resultados satisfatórios no uso do referido óleo no processo cicatricial no qual ainda foi possível observar que não houve formação de tecido de granulação exuberante.

2.3. Andiroba

A andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) foi descrita pela primeira vez em 1775 na Guiana Francesa pelo botânico francês Jean-Baptiste Christopher Fuseé Aublet (MENEZES, 2005).

Segundo Steffen (2011), é uma árvore alta de folhas alongadas e com pequenas flores brancas, sendo encontrada desde o Paraguai até a América Central. Na região amazônica é conhecida como rainha da floresta e é encontrada em solos úmidos de toda a região, especialmente Amapá, Acre e Pará. Seu tronco pode chegar a 1,20 m de diâmetro de sua madeira é uma das melhores para uso em construção. Há muitos séculos, suas sementes são usadas no tratamento picadas de cobras, escorpiões, abelhas e aranhas.

A andiroba é uma planta de grande importância no estado do Amazonas, sendo sua madeira utilizada na fabricação de móveis e construção civil e suas sementes utilizadas para a extração do óleo (MENDONÇA e FERRAZ, 2007).

O óleo de andiroba é obtido das sementes que caem, sem que as árvores sejam derrubadas, necessitando de pouco investimento, não promovendo uma ação destrutiva na floresta; assim, garante retorno econômico à população local pela venda do óleo e seus subprodutos, tais como sabonetes e velas (MENDONÇA e FERRAZ, 2007). As sementes são recolhidas, fervidas e armazenadas até a casca apodrecer. Então, são prensadas para extração do óleo. O óleo de andiroba tem alta viscosidade e é rico em estearina e outros ácidos graxos insaturados, principalmente palmítico, esteárico, oléico, linoléico e behênico. Além disso, possui substâncias como triterpenos que tem ação antiinflamatória (MASE, 2011).

Na medicina popular, esse óleo é indicado para dores musculares, tumores, distensão muscular e micoses devido aos seus efeitos antiinflamatórios (MULTIVEGETAL, 2001). Na literatura, seus usos ainda incluem aplicação ao redor das feridas e escoriações, óleo de massagem e repelente de insetos e o uso tópico em vários tipos de lesões cutâneas, tais como a psoríase (NAYAK et al., 2011).

Diversos pesquisadores têm estudado o potencial da andiroba, dentre eles podemos citar algumas. Freire et al. (2006) avaliaram a eficácia da andiroba contra insetos em colônias de Meliponídeos, demonstrando

resultados positivos ao promover ação repelente com a inibição da postura de ovos e a presença de infestação de fórideos adultos em colméias. Farias et al. (2007) avaliaram o potencial acaricida do óleo de andiroba em diferentes diluições (100%, 50%, 30%, 25% e 10%) e descreveram eficácia de 100%, com mortalidade de fêmeas ingurgitadas e redução na postura do *Anocentor nitens* e *Rhipicephalus sanguineus*. Teixeira et al. (2012) utilizaram o óleo de andiroba em camundongos com sépsis intestinal e observaram que os animais tratados tiveram uma sobrevida menor que os demais.

Também podemos citar pesquisadores que estudaram os efeitos da andiroba no tratamento de feridas. Brito et al. (2001) pesquisaram os efeitos da aplicação do óleo de andiroba *in natura* em feridas cutâneas em ratos. Segundo os autores, apesar da confirmação dos efeitos antiinflamatórios, a aplicação do mesmo gerou prejuízo no processo de cicatrização com retardo da contração e epitelização das feridas. Pennaforte (2003) avaliaram a atividade antiinflamatória e analgésica de óleos de duas plantas amazônicas (copaíba e andiroba) e comprovou que o óleo de andiroba possui atividade analgésica, antialérgica e anti-histamínica inibindo a formação de edema local. Penido et al. (2005) induziram pleurisia e edema em membros e orelha de camundongos das linhagens Swiss e C57/Bl10 e comprovaram as propriedades antiedematosas e analgésicas do óleo de andiroba e de uma fração derivada do mesmo de tetranortriterpenóides. Em 2006, Penido et al. descreveram os efeitos antiinflamatórios do óleo de andiroba em camundongos das linhagens Swiss e C57/Bl10 com artrite induzida com zymozan.

Nayak et al. (2011) estudaram os efeitos da aplicação tópica do extrato etanólico das folhas de andiroba em feridas cutâneas de ratos. Os referidos autores comprovaram a eficácia na cicatrização através do aumento da taxa de contração das feridas e maior resistência cutânea, recomendando mais pesquisas para a determinação do ingrediente ativo da andiroba responsável por esses efeitos benéficos. Sant' Ana (2012) avaliou os efeitos do óleo de andiroba puro e ozonizado em feridas cutâneas induzidas em ratos da linhagem Wistar e observou que todas as feridas apresentaram redução significativa na área da ferida ($p < 0,001$), sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Segundo a pesquisa, o grau de contração da ferida no grupo controle (NaCl 0,9%) foi de 93,91%, nas feridas do grupo tratado com

óleo de andiroba (GA) foi de 94,77% e nas feridas tratadas com óleo de andiroba ozonizado (GAO) foi de 86,85%. A avaliação histológica evidenciou maior tecido de granulação no GAO e neoformação conjuntiva nos GC e GA.

2.4. Oxigênio/ozonioterapia

O ozônio é um gás formado na forma de tri atômica de oxigênio (SILVA et al. 2008). Se forma através da transformação do oxigênio em descargas elétricas, onde ocorre a ruptura de moléculas de oxigênio e os átomos separados se combinam com outras moléculas de oxigênio (SILVA et al. 2008). Segundo Franken (2005), ele está presente a cerca de 10 a 50 km da superfície terrestre onde forma uma camada protetora e é formado naturalmente na presença de radiação ultravioleta (HOLMES, 2011). Segundo Kunz et al. (1999), para a produção artificial deste gás é necessário um gerador medicinal, que produz uma carga elétrica de 15000 volts que é aplicado ao oxigênio medicinal, ocorrendo a produção do ozônio pela conjugação de moléculas livres de oxigênio a um átomo do mesmo gás.

O ozônio medicinal é um composto gasoso formado por 95% de oxigênio e 5% de ozônio (BOCCI, 2006). Segundo Sanchez (1993), o ozônio pode ser utilizado veiculado em óleo ou água, sendo indicado para o tratamento de doenças infecciosas, vasculares e isquêmicas, ortopédicas, dermatológicas, pulmonares, renais, hematológicas, neurodegenerativas e auto-imunes.

Outra indicação da utilização do ozônio é o tratamento de feridas, pois possui ação bactericida e bacteriostática e promove a proliferação do tecido de granulação, tanto nas lesões agudas quanto nas crônicas (CANDIDO, 2001). Segundo Souza et al. (2010), bactérias, esporos e vírus são inativados em poucos minutos após a exposição ao ozônio.

A terapia de ozônio é reconhecida pelo sistema de saúde de muitos países, como a Alemanha, França, Itália, Rússia, Austrália, Suíça, Polónia, Ucrânia, Egito, Grécia, Cuba, e em 15 estados dos Estados Unidos. Pesquisas revelam que são realizados mais de 10 milhões de tratamento com ozônio em todo o mundo e que nos países que o seu uso é reconhecido houve redução do uso de antibióticos e analgésicos (BOCCI, 2011).

No Brasil, a oxigênio/ozonioterapia começou a ser praticada a partir de 1975 e na década de 1980, atraiu o interesse de algumas universidades. A

partir de 2000, os estudos ganharam mais volume e, em 2004, após a Primeira Conferência Internacional sobre Uso Medicinal do Ozônio, algumas universidades de São Paulo iniciaram pesquisas envolvendo animais de experimentação. Em abril de 2006, em Belo Horizonte, especialistas de vários países realizaram o primeiro congresso internacional de Oxigênio/ozonioterapia, onde além de atualizar informações, os médicos brasileiros aproveitaram para lançar as bases da ABOZ (Associação Brasileira de Oxigênio/ozonioterapia) (ABOZ, 2011).

As pesquisas realizadas com a oxigênio/ozonioterapia abrangem diversas áreas da saúde. Haddad et al. (2009) avaliaram as alterações promovidas pela oxigênio/ozonioterapia nos constituintes bioquímicos sanguíneos, como a glicose, o fibrinogênio, a creatina fosfoquinase e a gama-glutamilttransferase em equinos e reportaram a manutenção dos valores normais para a maioria dos componentes testados, porém descrevem uma diminuição nos valores de glicose e gama-glutamilttransferase e aumento nos valores de fibrinogênio. Alves et al. (2004) avaliaram os efeitos da utilização da oxigênio/ozonioterapia em equinos apresentando quadros de abdômen agudo associados a injúria de reperfusão no jejuno e recomendaram a utilização desta terapia em animais acometidos por estas afecções. Semelhantemente, Souza et al. (2010) sugeriram que o uso intra-abdominal da ozonioterapia teve um possível efeito benéfico atenuando a resposta inflamatória e a lesão pulmonar aguda resultante de infecção intra-abdominal em ratos, apesar de não observarem melhora nas taxas de sobrevivência. Em bovinos, Pereira e Garcia (2006) pesquisaram a eficiência do gás no tratamento de mastite subclínica relatando uma redução da contagem de células somáticas (CCS) e nos índices de CMT (*California Mastitis Test*).

No tratamento de feridas podemos citar também trabalhos que avaliaram a utilização da oxigênio/ozonioterapia em diversas espécies. Gordillo et al. (2008) citaram que o uso da oxigênio/ozonioterapia auxilia no processo de cicatrização de feridas crônicas de pacientes diabéticos ou com doença arterial periférica ao mobilizar células progenitoras endoteliais derivadas da medula óssea. Entretanto, os mesmos autores ressaltam o risco de toxicidade em casos específicos. Esse uso tópico do oxigênio seria ainda mais importante no tratamento de feridas distais em membros (GORDILLO e SEN, 2009). Garcia et

al. (2008) relataram a eficiência da utilização da terapia com ozônio associado ao óleo de girassol no tratamento de feridas cutâneas em equinos.

Os efeitos terapêuticos da aplicação tópica de óleos ozonizados na cicatrização cutânea foram estudados por Kim et al. (2009) em porquinhos da Índia. Os autores concluíram que o grupo tratado com óleo de oliva ozonizado apresentava um tamanho de ferida significativamente menor e uma área residual de ferida também menor do que o grupo tratado com óleo de oliva pura, além de uma maior presença de fibras colágenas e um maior número de fibroblastos no 7º dia. Esses autores observaram uma maior ativação na expressão de fator de crescimento plaquetário, fator de transformação de crescimento e fator de crescimento endotelial vascular no grupo ozonizado no dia 7 demonstrando que a presença do ozônio pode acelerar o reparo cutâneo.

Sant' Ana (2012) avaliou os efeitos do óleo de andiroba puro e ozonizado no tratamento de feridas cutâneas induzidas experimentalmente na região dorsal de ratos Wistar e observou que todas as feridas apresentaram redução significativa na área da ferida ($p < 0,001$), sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Segundo a pesquisa, o maior grau de contração da ferida foi observado para o grupo tratado somente com o óleo de andiroba. As feridas tratadas com óleo de andiroba ozonizada tiveram menor grau de contração.

3. OBJETIVOS

Considerando-se a particularidade da espécie equina em relação ao seu processo de cicatrização e as novas possibilidades terapêuticas que representam o óleo de andiroba e a oxigênio/ ozonioterapia, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso tópico de óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.), puro e ozonizado, no processo de cicatrização de feridas experimentalmente induzidas na região lombar de equinos hípidos.

4. TRABALHO CIENTÍFICO

O artigo científico foi confeccionado seguindo as Instruções aos Autores estabelecida pela Revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**, obtido no site <http://www.pvb.com.br>

Efeitos do uso tópico do óleo de andiroba puro e ozonizado em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos¹

Anderson L. Araújo^{2*}, Fernanda A. Teixeira², Vinicius R. C. Souza², Clarisse S. Coelho³

ABSTRACT.- Araújo A.L., Teixeira F.A., Souza V.R.C., Coelho C.S. 2013. [Effects of topical application of pure and ozonized andiroba oil on experimentally induced wounds in horses.] Efeitos do uso tópico do óleo de andiroba puro e ozonizado em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Vila Velha, Rua Comissário José Dantas de Melo 21, Vila Velha, ES 29102-770, Brazil. E-mail: clarisse.coelho@uvv.br

The aim of this study was to evaluate clinical and histopathological aspects of topical application of pure and ozonized andiroba oil (*Carapa guianensis* Aublet.) on the healing process of experimentally induced wounds in lumbar area of healthy horses. Five adult horses were used. Eight 6.25-cm² wounds were surgically produced on each horse, being four wounds cranial to the sacrum on each side of the lumbar region. Experimental lesions were treated daily with saline solution (control group; GC), ozonized saline solution (ozone group; GO), pure andiroba oil (GAP) and ozonized andiroba oil (GAO). Macroscopic and histopathological analyses were performed at 3, 7, 14 and 21 days after surgery. On three animals, the left side was used for macroscopic observations and area mensuration and the right side was used for histopathological analysis. On the other two animals, the evaluations were changed. Complete healing time for all wounds was recorded. A wound contraction of 67.75%, 65.26%, 67.91% and 69.84%, was observed, respectively, on the groups GC, GO, GAP and GAO. It was possible to conclude that the ozonized andiroba oil had higher benefic effects on the healing process because it leded to epithelization, already on the 14th day. Also, it was possible to observe the analgesic effects of andiroba oil.

INDEX-TERMS: Andiroba, healing process, equines, wounds, ozone therapy.

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Vila Velha (UVV-ES).

³ Programa de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Vila Velha (UVV-ES). Rua Comissário José Dantas de Melo 21, Vila Velha, ES 29102-770, Brasil. *Autor para correspondência: clarisse.coelho@uvv.br

RESUMO.- O objetivo do presente estudo foi avaliar os aspectos clínicos e histopatológicos da aplicação tópica do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.), puro e ozonizado, sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos. Cinco equinos adultos foram usados. Oito feridas de 6,25-cm² foram cirurgicamente induzidas em cada animal, sendo quarto de cada lado da região lombar, craniais ao sacro. As lesões experimentais foram tratadas diariamente com solução salina (grupo controle; GC), solução salina ozonizada (grupo ozônio; GO), óleo de andiroba puro (GAP) e óleo de andiroba ozonizado (GAO). Avaliações macroscópicas e histopatológicas foram realizadas nos dias 3, 7, 14 e 21 após o procedimento cirúrgico. Em três animais, o lado esquerdo foi usado para observações macroscópicas e mensuração de área e o lado direito para avaliação histopatológica. Nos outros dois animais, as avaliações foram invertidas. O tempo para a completa cicatrização das feridas foi registrado. Foi observado um grau de contração de feridas de, respectivamente, 67,75%, 65,26%, 67,91% e 69,84%, para os grupos GC, GO, GAP e GAO, sem diferença significativa entre os mesmos. Foi possível concluir a partir das análises macroscópica e histopatológica que o óleo de andiroba ozonizado teve maior efeito benéfico ao proporcionar uma epitelização mais precoce, já sendo essa detectada aos 14 dias. Além disso, foi possível comprovar o efeito analgésico do óleo de andiroba.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Andiroba, cicatrização, equinos, feridas, oxigênio/ozonioterapia.

INTRODUÇÃO

O processo de cicatrização é alvo de interesse clínico, científico e econômico (Hussni 2004, Paganela et al. 2009), principalmente na espécie equina, na qual a cicatrização cutânea tende a ocorrer de forma diferenciada com tendência a formação de tecido de granulação exuberante, prejudicando assim a função do animal (Stashak 1994). Segundo Paganela et al. (2009), as afecções cutâneas representam 37% dos casos de equinos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas/RS, sendo que 63% dessas lesões oscilavam entre lacerações, perfurações, incisões e contusões e os 37% restantes eram neoplasias, dermatites e proliferação de tecido de granulação exuberante.

Segundo White (1995), diversas preparações tópicas são utilizadas nas feridas cutâneas em equinos; muitas são ineficientes ou até mesmo prejudiciais à cicatrização, por serem irritantes ou estimularem a formação de tecido de granulação exuberante, sendo possível destacar algumas citações.

Souza et al. (2006) estudaram a aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas experimentalmente induzidas e observaram intensificação da migração de células reparadoras ao local, multiplicação de fibroblastos e maior produção de colágeno, com melhor alinhamento desses, nas feridas tratadas. Martins et al. (2003) compararam o uso de barbatimão, calêndula e confrey na

cicatrização de pele e, apesar de não haver diferenças significativas entre as áreas das feridas, as observações macroscópicas, histopatológicas e a retração centrípeta da lesão revelaram que o barbatimão teve efeito benéfico, seguido pela calêndula. Coelho et al. (2012) descreveram a recuperação de uma potra de 18 meses de idade com uma lesão grave na superfície dorsal do metatarso esquerdo tratado com óleo de girassol (*Helianthus annuus*). Oliveira Jr. et al. (2012) avaliaram a utilização do óleo de girassol (*Helianthus annuus*) em feridas cutâneas experimentalmente induzidas e descreveram o excelente processo de cicatrização com um maior número de células polimorfonucleares, maior angiogênese e um maior alinhamento das fibras colágenas no grupo tratado, além de um grau de contração de 90,78% para as feridas lombares tratadas e de 79,27% para as feridas controle, já para as feridas na região metacarpiana, o grau de contração foi de 47,63% para as feridas tratadas, frente a um grau de contração de 30,21% para as feridas controle.

Dentre as possíveis alternativas terapêuticas destacam-se o uso de óleos vegetais e, mais recentemente, oxigênio/ozonioterapia, que podem ser usados como protocolo principal ou como complemento terapêutico.

São vários os estudos realizados com o objetivo de comprovar a eficácia de óleos de origem vegetal e fitoterápicos na cicatrização de feridas em humanos e diversas espécies animais, sendo possível destacar as pesquisas com óleo de copaíba (Eurides & Mazzanti 1995, Possa et al. 2007), papaína (Sanchez Neto et al. 1993), açúcar (Prata et al. 1988), barbatimão (Eurides et al. 1996), maracujá (Garros et al. 2006), aloe vera, confrey, eucalipto, jojoba, própolis (Stashak et al. 2004) e o óleo de girassol (Marques et al. 2004, Rocha et al. 2004).

A andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) é uma árvore alta de folhas alongadas e com pequenas flores brancas (Steffen 2011), descrita pela primeira vez em 1775 na Guiana Francesa pelo botânico francês Jean-Baptiste Christopher Fuseé Aublet (Menezes 2005). Diversas são as pesquisas realizadas com o óleo de andiroba com intuito de comprovar suas qualidades como repelente de insetos (Freire et al. 2006), no controle de ácaros (Farias et al. 2006) e no combate da sépsis intestinal (Teixeira et al. 2012)

Brito et al. (2001) pesquisaram os efeitos da aplicação do óleo de andiroba in natura em feridas cutâneas em ratos. Segundo os autores, apesar dos efeitos antiinflamatórios, a aplicação do mesmo gerou prejuízo no processo de cicatrização com retardo da contração e epitelização das feridas. Pennaforte (2003) avaliou a atividade

antiinflamatória e analgésica de óleos de duas plantas amazônicas (copaíba e andiroba) e comprovou que o óleo de andiroba possui atividade analgésica, antialérgica e anti-histamínica inibindo a formação de edema local. Penido et al. (2005) induziram pleurisia e edema em membros e orelha de camundongos das linhagens Swiss e C57/B110 e comprovaram as propriedades antiedematosas e analgésicas do óleo de andiroba e de uma fração derivada do mesmo, rica em tetranortriterpenóides. Em 2006, Penido et al. comprovaram os efeitos antiinflamatórios do óleo de andiroba em camundongos das linhagens Swiss e C57/B110 com artrite induzida com zymozan.

Considerado um oxidante muito poderoso, com potencial redox de 2,07 (Holmes 2011), o ozônio é um gás formado na forma tri atômica de oxigênio obtido pela transformação do mesmo através de descargas elétricas (Silva et al. 2008). O ozônio medicinal é uma mistura gasosa com 5% de ozônio e 95% de oxigênio. Suas principais indicações são em doenças infecciosas, vasculares e isquêmicas, ortopédicas, dermatológicas, pulmonares, renais, hematológicas, neurodegenerativas e auto-imunes, de modo isolado ou complementar, sendo veiculado em óleo ou água (Sanchez 2008, Travagli et al. 2010). Também é indicado no tratamento de feridas por ser oxidante, pela ação bactericida e bacteriostática e por promover a formação de tecido de granulação (Candido 2006).

Os efeitos terapêuticos da aplicação tópica de ozônio na cicatrização cutânea foram estudados por Kim et al. (2009) em porquinhos da Índia. Os autores concluíram que o grupo tratado com óleo de oliva ozonizado apresentava um tamanho de ferida significativamente menor e uma área residual de ferida também menor do que o grupo tratado com óleo de oliva pura, além de uma maior presença de fibras colágenas e um maior número de fibroblastos no 7º dia. Esses autores observaram uma maior ativação na expressão de fator de crescimento plaquetário, fator de transformação de crescimento e fator de crescimento endotelial vascular no grupo ozonizado no dia 7 demonstrando que a presença do ozônio pode acelerar o reparo cutâneo. Semelhantemente, Valacchi et al. (2010) avaliaram a eficiência do óleo de sésamo e do óleo de sésamo ozonizado em três concentrações diferentes. Segundo o referido autor, o óleo ozonizado na concentração de 1631 ± 64 mEq/1000 foi capaz de acelerar o processo de cicatrização na fase inicial.

Sant' Ana (2012) avaliou os efeitos do óleo de andiroba puro e ozonizado no tratamento de feridas cutâneas experimentais na região dorsal de ratos Wistar e observou que todas as feridas apresentaram redução significativa na área da ferida ($p <$

0,001), sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Segundo a pesquisa, o grau de contração da ferida no grupo controle (NaCl 0,9%) foi de 93,91%, nas feridas do grupo tratado com óleo de andiroba (GA) foi de 94,77% e nas feridas tratadas com óleo de andiroba ozonizado (GAO) foi de 86,85%. A avaliação histológica evidenciou maior tecido de granulação no GAO e neoformação conjuntiva nos GC e GA. Garcia et al. (2008) relataram a formação de abundante quantidade de tecido regenerado na periferia da lesão original, redução da área da ferida e ausência de crostas e o crescimento de pelos no tecido neoformado, mostrando a eficiência da utilização da terapia com ozônio associado ao óleo de girassol no tratamento de feridas cutâneas em três equinos atendidos na rotina do hospital veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Considerando-se a particularidade da espécie equina em relação ao seu processo de cicatrização e as novas possibilidades terapêuticas que representam o óleo de andiroba e a oxigênio/ozonioterapia, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso tópico de óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) puro e ozonizado sobre o processo de cicatrização de feridas experimentalmente induzidas na região lombar de equinos hípidos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto de pesquisa teve aprovação da Comissão de Ética, Bioética e Bem-estar Animal (CEUA - UVV-ES), sendo registrado sob o número 216/2012. Cinco animais, da espécie equina, hípidos, sem raça definida, foram usados no experimento. Os animais pesavam entre 160 e 380 kg ($278 \pm 79,5$ kg), com idade entre três e 13 anos ($8,4 \pm 3,6$ anos). Os animais utilizados foram considerados aptos após exame minucioso envolvendo a avaliação clínica (sem dermatopatias) e hemograma. Os equinos foram mantidos estabulados no Centro Capixaba de Hipismo - CCH, na cidade de Serra, Espírito Santo, onde passaram por um período de duas semanas de adaptação. Cada equino foi vermifugado (ivermectina 200 µg/kg PV, via oral), vacinado contra influenza, tétano e encefalomielite (Vencofarma) e os dentes grosados para remoção de pontas dentárias. A alimentação dos animais baseou-se no relato de Ralston (1988) e os mesmos foram alimentados com feno (*Cynodon dactylon*) e sal mineral *ad libitum* e ração comercial a 1% do peso corporal (12% de proteína) sendo mantidos em baias individuais entre os períodos de avaliação. A água também foi fornecida *ad libitum*.

A solução isotônica ozonizada (usada no grupo ozônio; GO) e o óleo de andiroba ozonizado (GAO) foram produzidas por meio de um gerador de ozônio (Ozone&Life® modelo O&L 3.0 RM). O equipamento possui um regulador de fluxo de oxigênio que permite variações do fluxo de 0 a 1,0L/min. Quanto maior o fluxo de oxigênio menor a concentração de ozônio. O oxigênio usado era armazenado em cilindro de oxigênio medicinal. Trezentos mililitros de solução isotônica de cloreto de sódio (NaCl 0,9%) foram colocados em uma proveta de vidro graduada (1000 mL), com um fluxo 0,3L/mL de oxigênio, concentração 25mg e dosador 9 por um período de tempo de 02h30min e, através do borbulhamento, foi obtido a solução de NaCl a 0,9%, com 1.125 mg ou de massa de ozônio. Após o preparo, a solução foi distribuída em frascos âmbar de 50 ml, os frascos foram lacrados e armazenados em geladeira a 4°C. O mesmo procedimento foi repetido no preparo do óleo de andiroba ozonizado. Ambas as soluções, além do óleo de andiroba puro, foram encaminhadas ao Laboratório de Produtos Naturais na UVV-ES para análises de índice de peróxido, saponificação e índice de iodo.

Os equinos foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, com livre acesso à água. Com o equino em tronco de contenção, a sedação foi feita usando xilazina 10% (1 mg/kg, IV) e foi feita anestesia local usando lidocaína 2% sem vasoconstritor (bloqueio em U invertido) em ambos os lados. Após tricotomia e antissepsia do campo operatório usando solução de iodo-povidona 5% e álcool a 70%, foram feitas quatro feridas cutâneas de 6,25 cm² cada (2,5x2,5 cm), craniais ao sacro, em cada lado da região lombar (ventral a L1-L6), com auxílio de bisturi número 22, em cada equino, totalizando 8 feridas / animal. A excisão abrangeu a pele e tecido subcutâneo. Após a cirurgia, cada equino foi medicado com fenilbutazona (4,4 mg/kg, IV) a cada 24 horas por três dias para controlar edema e dor.

O início do tratamento ocorreu 12 horas após a indução cirúrgica das lesões e foi mantido diariamente até a cicatrização total das feridas, utilizando-se sequencialmente e bilateralmente no sentido crânio-caudal, para as feridas lombares, os seguintes tratamentos: (1) Solução isotônica de cloreto de sódio (NaCl 0,9%) (GC); (2) Solução isotônica de cloreto de sódio ozonizada (GO); (3) Óleo de andiroba puro (GAP); (4) Óleo de andiroba ozonizada (GAO). Inicialmente foi feita a limpeza das mesmas com gaze embebida em solução isotônica de cloreto de sódio (NaCl a 0,9%). Em seguida, foi feita aplicação dos tratamentos supracitados com auxílio de gaze nas feridas. De forma aleatória, foram alternados o posicionamento dos tratamentos.

Em três equinos, as feridas lombares localizadas no lado esquerdo foram destinadas à avaliação macroscópica (observação da presença de edema, hiperemia, exsudação, tecido de granulação e crostas), à mensuração de área (usando paquímetro universal marca Vonder®) e ao registro fotográfico (usando uma câmera digital, marca Sony, modelo Cyber-Shot DSC-H9, 16,2 mega, a uma distância de cerca de 30 cm para obtenção de um bom foco, conforme descrito por Magalhães et al., 2008). Tais avaliações foram realizadas nos momentos 0 (logo após o procedimento cirúrgico) e após 3, 7, 14 e 21 dias.

As medidas obtidas na mensuração foram usadas para estimar a área das feridas conforme Prata et al. (1988) e Magalhães et al. (2008), usando a seguinte equação:

$A = \pi \times R \times r$, onde A representa a área, R representa o eixo maior e r representa o eixo menor.

O grau de contração das feridas foi calculado por equação proposta por Ramsey et al. (1995):

Porcentagem de contração = $100 \times (F0 - FA) / F0$, onde F0 representa a área original da ferida e FA representa a área no momento da avaliação, feita com 21 dias.

Nesses mesmos três equinos, as lesões lombares do lado direito foram destinadas à biópsia, realizadas nos momentos 0 (logo após o procedimento cirúrgico) e com 3, 7, 14 e 21 dias após. Para tal, os animais foram sedados usando xilazina 10% (1 mg/kg, IV) e após anestesia local usando lidocaína 2% sem vasoconstritor (bloqueio em U invertido), mantendo o animal em estação, foi feita a tricotomia e antissepsia do campo operatório usando solução de iodo-povidona 5% e álcool a 70%. A avaliação histológica foi feita sem o conhecimento do tratamento que o animal recebia, para evitar a indução de resultados (Wendt 2005). O fragmento biopsiado compreendeu os limites da ferida e tecido íntegro, usando punch de 6 mm. Após a retirada, os fragmentos foram imersos em frascos contendo formol a 10% onde permaneceram por 12 horas e identificados com o dia da retirada, número do animal, sendo encaminhados ao laboratório de Patologia Veterinária. As peças histológicas foram processadas e feitos os cortes em parafina na espessura de 4µm com auxílio de um micrótomo (LEICA RM 2125 RT; Leica Licrosystems). Posteriormente os mesmos foram corados com Hematoxilina Eosina (HE) sendo observados em microscopia óptica nos aumentos de 100x e 400x (Olympus DX51, Olympus). Na lâmina foram analisados a presença de células predominantes na reação inflamatória (infiltrado de células polimorfonucleares - PMN), formação de tecido de granulação, neovascularização e fibrose.

Nos demais equinos, foi feita a inversão dos lados (lado esquerdo para a microscopia e lado direito, macroscopia). Essa escolha foi feita de forma aleatória.

Diariamente, os animais foram submetidos às avaliações de frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, tempo de preenchimento capilar, mucosas oral, oculares e vaginal, em relação a sua coloração, aspecto e presença de lesões, motilidade intestinal, frequência de defecação e micção, apetite e finalmente avaliação da ferida cirúrgica. Foi feito o registro do período para total cicatrização das feridas em todos os tratamentos.

A análise dos resultados foi realizada utilizando-se o programa estatístico computadorizado GraphPad InStat (versão 3.0). Devido à distribuição gaussiana dos dados registrados, os dados foram avaliados através de testes paramétricos (análise de variância – ANOVA) seguido da comparação entre médias (teste de Tukey) com nível de significância de 5%. Nessas análises levou-se em consideração a influência dos tratamentos sobre o processo de cicatrização.

RESULTADOS

Os equinos foram avaliados diariamente durante todo o período do experimento e não demonstraram quaisquer alterações na avaliação clínica geral.

As análises do óleo de andiroba puras e ozonizadas estão representadas no Quadro 1.

No Quadro 2 estão apresentados os valores médios e desvios-padrão das áreas das feridas lombares ao longo do período experimental, onde é possível observar a redução significativa da área da ferida para todos os grupos estudados ($p < 0,0001$). Na comparação entre os momentos para os diferentes tratamentos, houve diferença significativa ($p = 0,0188$) na área das feridas somente no dia 14 da avaliação, onde é possível constatar o menor valor de área para as feridas do GAO. Nos demais momentos não houve diferença significativa ($p=0,3124$ no dia 3; $p=0,0622$ para o dia 7; $p=0,8543$ para o dia 21). O grau de contração registrado nas feridas foi de 67,75%, 65,26%, 67,91% e 69,84%, respectivamente, para os grupos GC, GO, GAP e GAO.

Na avaliação macroscópica (Figura 1), foi possível observar que as principais diferenças entre os grupos foram registradas entre o 7º e o 14º dia de tratamento, quando as feridas do GAO apresentaram formação de tecido de granulação e uma área de transição bem definida, não apresentando a formação de tecido de granulação exuberante ultrapassando os bordos da ferida e a presença de exsudato inflamatório.

Com 21 dias de tratamento foi possível observar a quase completa cicatrização das feridas do GAO.

Outro fato a ser destacado na avaliação macroscópica foi que nos grupos em que foi utilizado o ozônio (GAO e GO) não houve o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante. Tanto no GC quanto no GAP, o tecido de granulação exuberante foi observado a partir do 14º dia de tratamento. Vale ressaltar que em nenhuma ferida houve tratamento específico para o tecido de granulação exuberante. O mesmo teve seu crescimento controlado com os protocolos terapêuticos estabelecidos previamente.

A partir do 3º dia de tratamento, foi detectada a ausência de dor nas feridas tratadas com andiroba (GAO e GAP), diferente do que foi observada para as feridas do GC e GO.

O tempo de cicatrização das feridas foi acompanhado, sendo encontrada uma pequena diferença, não significativa, entre os tratamentos realizados ocorrendo aos 30 dias para o GAO e para o GAP, de 32 dias para o GO e de 31 dias para o GC.

Na avaliação histopatológica (Figura 2), no primeiro dia de avaliação (dia 3) todos os grupos estavam semelhantes, apresentando ausência de colagenização e proliferação fibroblástica discreta. Pode-se observar moderada proliferação vascular, acentuada presença de polimorfonucleares (PMN) e discreta visualização de mononucleares (MN). Diferenças importantes foram notadas a partir do 7º dia de tratamento quando foi observada proliferação fibroblástica, discreta proliferação vascular com presença de infiltrado de polimorfonucleares e mononucleares nas feridas de GAO, GA e GO quando comparadas com o GC.

No 14º dia de avaliação, pode-se observar a maior diferença entre os grupos testados. Neste momento, as feridas do GAO apresentavam proliferação fibroblástica moderada, colagenização acentuada e moderada proliferação vascular; ainda pode ser encontrado a presença de discreto infiltrado polimorfonuclear e mononuclear na ferida e áreas de epitelização. No GAP e GO estes achados foram observados, porém não foi observado áreas de epitelização. O GC apresentava condição inferior aos demais grupos, onde além de não ser possível observar área de epitelização, ainda eram observados proliferação fibroblástica discreta, colagenização moderada, proliferação vascular, infiltrado PMN e MN discretos.

A avaliação histopatológica do 21º dia revelou que as feridas do GAO apresentavam uma epitelização avançada, proliferação fibroblástica e colagenização

acentuada, moderada proliferação vascular e presença de infiltrado PMN e discreta visualização de MN. No GAP pode ser observado a epitelização avançada, porém uma moderada proliferação fibroblástica, colagenização acentuada e uma moderada proliferação vascular com discreto infiltrado PMN e MN. No GO apresentava uma moderada epitelização e proliferação fibroblástica, porém inferior aos tratamentos GAO e GAP, com colagenização acentuada e proliferação vascular moderada apresentando discreto infiltrado PMN e MN. O GC apresentava avanços satisfatórios na cicatrização, porém com uma evolução inferior aos demais tratamentos, apresentando epitelização moderada, proliferação fibroblástica e colagenização moderada e acentuada proliferação vascular, com moderado infiltrado PMN e MN.

DISCUSSÃO

A escolha do tamanho das feridas foi baseada em trabalhos realizados de forma semelhante em equinos, como Martins et al. (2003), Souza et al. (2006) e Oliveira Jr. et al. (2012). A profundidade das lesões foi semelhante à descrita por Rocha et al. (2004), Magalhães et al. (2008) e Oliveira Jr. et al. (2012) e abrangia a pele e tecido subcutâneo, não envolvendo a musculatura adjacente. A área total da ferida foi semelhante ao apresentado pelos autores supracitados, porém diferiu no formato onde apenas Oliveira Jr. et al. (2012) realizaram feridas quadradas como no presente experimento e os demais feridas com formato circular. Essa padronização é essencial para a realização de estudos comparativos de diferentes terapias no processo de cicatrização de feridas cutâneas em equinos.

Para evitar interferência das biopsias na área da ferida, foi destinado um lado do animal para a avaliação macroscópica e outro para a coleta das biopsias como também protocolado por Martins et al. (2003), Souza et al. (2006) e Oliveira Jr. et al. (2012).

Semelhante ao protocolo feito por Oliveira Jr. et al. (2012) e conforme a recomendação de livros textos sobre clínica e cirurgia em equinos como Turner & McIlwraith (2002), foi realizado a administração de antiinflamatório não esteroidal (AINE), fenilbutazona, na dose terapêutica recomendada pela literatura com o objetivo de minimizar o edema e a reação dolorosa no pós operatório. Apesar de Hussni et al. (2010) relatarem que a fenilbutazona retarda o processo de cicatrização por segunda intenção, os efeitos antiinflamatórios da mesma influenciaram as feridas controle e tratamento de forma igual. Um aspecto importante é que mesmo com a administração do AINE, ocorreu reação de sensibilidade dolorosa local nos animais do GO e GC. Esta

reação não foi observada nos animais do GAO e GAP, nos quais houve o uso do óleo de andiroba, no terceiro dia de tratamento. Esse achado foi semelhante à descrição de Penido et al. (2005), que justificaram os efeitos analgésicos do óleo de andiroba devido ao bloqueio de mediadores inflamatórios (bloqueio da geração de eicosanóides).

O acompanhamento clínico dos animais foi realizado até o fechamento total das feridas. Esses períodos foram ligeiramente inferiores ao descrito por Souza et al. (2006), que citaram período de 35 dias para as feridas lombares tratadas com *Triticum vulgare*, e superiores ao descrito por Martins et al. (2003), que reportaram 21 dias nas feridas tratadas com barbatimão e confrey e 26 dias para calêndula, e Oliveira Jr. et al. (2012), que citaram 21 dias para a cicatrização de feridas lombares usando óleo de girassol. Garcia et al. (2008) descreveram período de 40 dias para cicatrização de feridas tratadas com água bidestilada ozonizada e óleo de girassol ozonizado, porém em seu experimento as feridas foram induzidas em membros de equinos, local sabidamente de cicatrização mais complicada e demorada (Oliveira Jr. et al. 2012).

O grau de contração das feridas estudadas na presente pesquisa foi ligeiramente inferior ao resultados descrito por Oliveira Jr. et al. (2012) nas feridas lombares usadas como controle (com uso de solução de NaCl 0,9%) para as quais o valor foi de 79,27%. Os melhores resultados desse autor foram descritos com o uso do óleo de girassol que levou a um grau de contração de 90,78%, bem acima dos valores registrados para todos os tratamentos da presente pesquisa. Isso sugere que o óleo de girassol, em comparação com óleo de andiroba puro ou ozonizado, promoveria uma aceleração no processo de cicatrização com o desenvolvimento mais rápido do tecido de granulação. Segundo Oliveira Jr. et al. (2012), o óleo de girassol estimula a resposta inflamatória por ter em sua composição o ácido linoléico, sabido precursor do ácido aracdônico. Isso justificaria a mais rápida formação de tecido de granulação e epitelização, além da ação fibroblástica no tecido de granulação.

Semelhante ao encontrado na presente pesquisa, Brito et al. (2001) reportaram um retardo na cicatrização de feridas com o uso do óleo de andiroba, apesar de destacarem seus efeitos antiinflamatórios. Segundo Penido et al. (2005), a ação antiinflamatória do referido óleo é atribuída aos limonóides, tetranortriterpenóides que promovem a inibição do influxo celular e formação de edema em ratos. Talvez essa inibição de influxo celular, que já é lenta em equinos (Wilmink 2004), seja responsável pelo atraso no processo de cicatrização observado em ambas as pesquisas. Segundo Stashak (1994), a presença de células polimorfonucleares nos primeiros dias de

cicatrização é essencial, pois elas são responsáveis pela fagocitose de microorganismos e remoção dos restos celulares facilitando o crescimento do tecido de granulação. Em trabalhos com equinos, Souza et al. (2006) justificaram a redução no tempo de cicatrização das feridas tratadas com *Triticum vulgare* em decorrência do elevado número de PMN. A análise histopatológica feita no 3º dia de avaliação não revelou diferença entre os grupos estudados, com a presença de infiltrado de PMN em GO, GAO e GAP, contradizendo o atraso no tempo de cicatrização.

Em relação à influência do uso do ozônio sobre o grau de contração, os resultados apenas sugerem que no grupo tratado com o óleo de andiroba ozonizado (GAO) houve maior grau de contração (69,84%), apesar das diferenças para os demais grupos não terem sido significativas. Isso corrobora com a pesquisa de Kim et al. (2009) que, em porquinhos da Índia, observaram uma maior contração das feridas, com consequente redução da área residual das feridas, no grupo tratado com óleo ozonizado quando comparados aos grupo controle e grupo tratado com óleo puro, com diferenças significativas nessas comparações. Estudos prévios demonstraram que o ozônio inibe a expressão de citocinas próinflamatórias, tais como interleucina 1 e fator de necrose tumoral e respostas adaptativas incluindo a ativação da ciclooxigenase 2 nos queratinócitos (Valacchi et al. 2004). Tendo essa linha de pensamento, era esperado que nas feridas do GO da presente pesquisa fosse observado um grau de contração maior, porém, apesar de não ser significativa a diferença para os demais grupos estudados, nesse grupo o grau de contração foi o menor, com 65,26%. Vale ressaltar que nesse grupo o ozônio foi misturado a solução de NaCl 0,9% e, segundo Kim et al. (2009), o ozônio mantém seu estágio ativo por um período mais longo de tempo quando misturado aos óleos e, por isso, o óleo de oliva e o óleo de girassol têm sido comumente usados como forma tópica para uso do mesmo. Sant'Ana (2012) descreveram um menor grau de contração nas feridas experimentais em ratos tratadas com óleo de andiroba ozonizada, não observando diferenças significativas entre elas e os grupos controle e óleo puro. Segundo a autora, as diferenças com a literatura podem ser em função das diferentes concentrações de ozônio usadas, sendo necessário, portanto, que concentrações ideais sejam estabelecidas, pois como qualquer outra substância química, doses insuficientes podem não produzir resultados satisfatórios e doses excessivas podem ser prejudiciais.

Apesar dessa desvantagem com relação ao tempo de cicatrização total e grau de contração das feridas, é essencial dentro das pesquisas com feridas em equinos uma

avaliação macroscópica e histológica visto que o processo inflamatório na referida espécie ser diferenciado, com tendência a formação de tecido de granulação exuberante, que retarda a cicatrização (Oliveira 1992).

Na avaliação macroscópica nenhum dos tratamentos utilizados neste experimento provocou irritação na área da ferida, diferente da descrição de Ribas et al. (2005), que reportaram irritação local, hiperemia e edema com a utilização do extrato de *aloe vera* e nitrofurazona. Também não foram observados formação de crostas e exsudado serofibrinoso em nenhuma das feridas do presente trabalho, fato que foi descrito por Martins et al. (2003), com a utilização do barbatimão. A presença de hiperemia em todas as feridas avaliadas com três dias após a indução das feridas foi similar ao descrito por Ribeiro et al. (2009), que avaliaram em seu experimento a utilização da ketanserina na cicatrização de feridas induzidas em equinos. Segundo o referido autor, a presença de hiperemia, secreção, edema ao redor da ferida e sensibilidade dolorosa são achados clínicos comuns e esperados do primeiro ao terceiro dia, associados ao pico da fase inflamatória. Diferentemente, na presente pesquisa, não foi observada a formação de edema e secreção e isso pode ser justificado pelo uso do antiinflamatório do 1º ao 3º dia no presente trabalho, fato que não foi descrito por Ribeiro et al. (2009).

Um importante fato a ser destacado na avaliação macroscópica das feridas, é que naquelas em que foi feito o uso do ozônio (GO e GAO), não houve o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante, o que representa uma informação importante quando se pesquisa novos protocolos terapêuticos para feridas em equinos. Outra vantagem observada nas feridas do GAO foi o aparecimento do tecido de granulação de forma mais precoce do que os demais grupos. Segundo Stashak (1994), o tecido de granulação é importante ao propiciar uma superfície sobre a qual as células epiteliais migrarão e por conter os fibroblastos responsáveis pela formação de colágeno.

A análise histopatológica reforça os achados macroscópicos, com o GAO apresentando vantagens pelos motivos supracitados segundo Stashak (1994), tais como presença de proliferação fibroblástica, colagenização e neovascularização no 14º dia de avaliação levando a epitelização em alguns trechos da ferida. Esse autor ainda reforça a importância da neovascularização que favorece o processo de cicatrização ao aumentar o aporte de nutrientes e de células para o local afetado.

Os resultados observados em GO foram inferiores a GAP e GAO e tal fato, conforme citam Kim et al. (2009), poderia ser justificado pela possibilidade do ozônio perder parte de suas atividades benéficas quando veiculado à solução fisiológica.

CONCLUSÕES

Foi possível concluir a partir da análise dos resultados que, dentre os protocolos terapêuticos avaliados o óleo de andiroba ozonizado apresentou maior efeito benéfico ao proporcionar uma epitelização mais precoce, detectada aos 14 dias nas avaliações macroscópica e histopatológica, efeito analgésico e menor formação de tecido de granulação exuberante. Tais resultados sugerem que o óleo de andiroba ozonizado pode ser usado como opção terapêutica no tratamento de feridas cutâneas em equinos.

REFERÊNCIAS

- Brito N.M.B., Silva P.R.F., Silva G.C.F., Casella S.F.M., Sampaio A.R.S. & Carvalho R.A. 2001. Avaliação macroscópica de feridas cutâneas abertas, em ratos, tratadas com óleo de andiroba. Rev. para. Med. 15:17-22. (Resumo)
- Candido L.C. 2006. Tratamento clínico de feridas agudas e crônicas. SENAC.
- Coelho C.S., Gama J.A.N., Oliveira Junior L.A.T., Souza V.R.C., Endringer D.C. & Lenz D. 2012. Use of extracts of sunflower-seed oil (*Helianthus annuus L.*) for the treatment of cutaneous injuries in equine metatarsus: a case report. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu. 14:125-129.
- Eurides D. & Mazzanti A. 1995. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii*). Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, MG. 11p.
- Eurides D., Mazzanti A., Belleti M.E., Silva L.A.F., Fioravante M.C.S., Trancoso Neto N. S., Campos V. A., Lemos R. C., E Silvestrino Junior P. L. 1996. Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman martius*). Revista da FZVA Uruguaiana. 3 : 30-40.
- Farias M.P.O., Sousa D.P., Arruda A.C., Arruda M.S.P., Wanderley A.G., Alves L.C. & Faustino M.A.G. 2007. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis* Aubl.

- (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu. 9: 68-71.
- Freire D.C.B., Brito-Filha C.R.C., & Carvalho-Zilse G.A. 2006. Efeito dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa sp.*) e Copaíba (*Copaifera sp.*) sobre forídeo, pragas de colmeias, (Diptera: Phoridae) na Amazônia Central. Acta Amazonica. 36:365 – 368.
- Garcia C.A., Stanziola L., Oliveira O.M., Andrade R.S., Cabariti L.V., Anjos L.C.T. & Cubas J.P.C. 2008. Eficiência da ozonioterapia na regeneração de lesões cutâneas em equinos – relato de caso. Anais do 35º Conbravet, Gramado, p.
- Garros I.C., Campos A.C.L., Tâmara M.E., Tenório S.B., Torres O.J.M., Agulham M. Â., Araújo A.C.F., Santis-Isolan P.M.B., Oliveira R.M.E. & Arruda E.C.M. 2006. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos: estudo morfológico e histológico. Acta Curúrgica Brasileira. 21 : 55-65.
- Holmes, J.A. 2011. History of ozone. 2011. Disponível em: <http://www.the-ozone.cc/HTMLOzoneF/articles/ch1.html>. Acesso em 28 de ago 2013.
- Hussni C.A., Gianini C.G., Alves A.L.G., Nicoletti J.L.M., Thomassian A., Crocci A.J. & Sequeira J.L. 2004. Cicatrização cutânea por segunda intenção em equinos tratados com vedaprofeno. Archives of Veterinary Science. 9: 87-92.
- Hussini C.A., Groh T.M., Alves A. L.G., Crocci A.J., Nicoletti J.L.M. & Watanabe M.J. 2010. Efeitos da fenilbutazona na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em equinos. Braz. J. Vet. Res. 47: 262-267.
- Kim H.S., Noh S.U., Han Y.W., Kim K.M., Kim H.K.H.O. & Park Y.M. 2009. J Korean Med Sci. 24: 368-74.
- Magalhães M.S.F., Fachine F.V., Macedo R.N., Monteiro D.L.S., Oliveira C.C., Brito G.A.C., Moraes M.E.A. & Moraes M.O. 2008. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. Acta Cir. Bras. 23: 262-269.
- Marques S.R., Peixoto C.A., Messias J.B., Albuquerque A.R. & Silva Júnior V.A. 2004. The effects of topical application of sunflower-seed oil on open wound healing in lambs. Acta. Cir. Bras. 19: 196-205.
- Martins P.S., Alves A.L.G., Hussni C.A.; Sequeira J.L.; Nicoletti J. L. M. & Thomassian A. 2003. Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em equinos. Arch. Vet. Scie. 8 : 1-7.

- Menezes A.J.E.A. 2005. O histórico do sistema extrativo e a extração de óleo de andiroba cultivado no município de tomé-açu, estado do Pará. Sociedade brasileira de economia e sociologia rural. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pará. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/82547/1/142.pdf>. Acesso em 28 dez 2013.
- Oliveira H.P. 1992. Traumatismos nos animais domésticos. Cad. Téc. Esc. Vet., 7: 01-57.
- Oliveira Junior L.A.T., Souza, V.R.C., Endringer, D.C., Hendrickson, D.A. & Coelho, C. S. 2012. Effects of topical application of sunflower-seed oil on experimentally induced wounds in horses. J. Eq. Vet. Scie. 32 : 139-145.
- Paganela J.C., Ribas L.M., Santos C.A., Feijó L.S., Nogueira C.E.W.E. & Fernandes C. G. 2009. Abordagem clínica de feridas cutâneas em eqüinos. RPCV. 104 : 13-18.
- Penido C., Costa K.A., Pennaforte R.J., Costa M.F.S., Pereira J.F.G., Siani A.C. & Henriques G.M.O. 2005. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. Inflamm. res. 54: 295–303.
- Penido C., Conte F.P., Chagas M.S.S., Rodrigues C.A.B., Pereira J.F.G. & Henriques M.G.O. 2006. Antiinflammatory effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on zymosan-induced arthritis in mice. Inflamm. res. 55: 457– 464.
- Pennaforte R. 2003. Estudo da atividade antiinflamatória de duas espécies de plantas amazônicas. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003. (Resumo)
- Possa D.V., Reis I.D., Grecelle C.Z. & Schons S.V. 2007. Contribuição ao estudo morfométrico de cicatrização de feridas cutâneas de segunda intenção com óleo de copaiba, em ratos. Proceedings of V Salão de Iniciação Científica, Ciência & Conciência, 2007.
- Prata M.B., Haddad C.M., Goldenberg S., Simões M.J., Moura L.A.R. & Trabulsi L.R. 1988. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas: estudo experimental em ratos. Acta Cir. Bras. 3: 43-48.
- Ralston S.L. 1988. Equine Clinical Nutrition: Specific problems and solutions. Compendium on Continuing Education. 10: 356-363.

- Ramsey D.T., Pope E.R., Wagner-mann C., Berg J.N.J. & Swain S. 1995. Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, v. 56, p. 941-949.
- Ribas L.M., Nogueira C.E.W., Beira F.T.A., Alburquerque L.P.A.N., Kickhofel E. 2005. Efeito cicatrizante do extrato aquoso de *Triticum vulgare* em feridas do tecido cutâneo de eqüinos. *A Hora Veterinária*. 147 : 27-29.
- Ribeiro G., Martins C.B., Silva M.A.G., Borges V.P. & Lacerda Neto. 2009. Uso tópico de ketanserina na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61: 144-148.
- Rocha R.P., Rocha E.L.P., Hames R.L. & Sposeto T.B. 2004. Estudo comparativo do processo de cicatrização com o uso do óleo de semente de girassol e triglicérides de cadeiamédia: modelo experimental em ratos. *Sci. Med.* 14: 203-208.
- Sanchez C.M.S. 2008. A utilização do óleo ozonizado para o tratamento tópico de lesões em porquinho da índia (*cavia porcellus*)- relato de caso. Monografia (Trabalho de conclusão do curso) - Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens. 37.
- Sanchez Neto R., Barone B., Teves D.C., Novo N. F., Juliano Y. 1993. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína 2%. *Acta Cir. Bras.* 8 : 18-23.
- Sant'ana G. C. S. F. 2012. Efeito terapêutico do óleo de andiroba ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos da linhagem wistar. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vila Velha. 38-45.
- Silva A.S., Silva A.L.C., Corrêa A.L.C. 2008. O conhecimento de profissionais de enfermagem sobre ozonioterapia tópica em feridas. XII INIC/ VII EPG univap. 1-4. Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2008/anais/arquivosINIC/INIC0834_01_A.pdf. Acesso em 15 out 2013.
- Souza D.W., Machado T.S.L., Zoppa A.L.V., Cruz R.S.F; Gárague A.P., & Silva, L. C. L.C. 2006. Ensaio da aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em eqüinos. *Rev. Bras. PI. Med.* 8 : 9-13.
- Stashak T.S. 1994. Principles of wound healing, p 1-18. In: Stashak, T. S. *Equine wound management*. London: Lea & Febiger. 679p.
- Stashak T.S., Farstvedt E. & Othic A. 2004. Dressings: Indications and Best Use. *Clin Tech Equine Pract* 3:148-163.

- Steffen P.G. & Montanha M. 2011. Andiroba - Uma Árvore Ecologicamente Rentável. Redação EcoTerra Brasil. Disponível em: <http://www.ecoterrabrasil.com.br/home/index.php?pg=ecoentrevistas&tipo=temas&cd=810>. Acesso em 20 de ago 2013.
- Teixeira R.K.C., Houat A.P., Costa F.L.S., Saraiva Filho J.CP., Yasojima E.Y. & Brito M.V.H. 2012. Efeito do óleo de andiroba na sobrevida de camundongos submetidos à sepse abdominal. *Rev Bras Clin Med.*10: 407-409.
- Travagli V., Zanardi G., Valacchi G. & Bocci V. 2010. Ozone and Ozonated Oils in Skin Diseases: A Review. Hindawi Publishing Corporation *Mediators of Inflammation*. 2010: 1 – 9.
- Turner A.S., Mcilwraith C.W. 2002. Tratamento de ferimentos, p 103-108. In: Turner A.S., Mcilwraith C.W. *Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte*. São Paulo: Editora Roca. 333p.
- Valacchi G., Pagnin E., Corbacho A.M., Olano E., Davis P.A., Packer L. & Cross C.E. 2004. In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology & Medicine*, 36: 673 – 681.
- Valacchi G., Lim Y., Belmonte G., Miracco C., Zanardi I., Bocci V. & Travagli V. 2010. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Rep Reg.* 19: 107–115.
- Wendt S.B.T. 2005. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. 85p.
- Wilmink J.M., Van Weeren P.R. 2004. Differences In Wound Healing Between Horses And Ponies: Application Of Research Results To The Clinical Approach Of Equine Wounds. *Clinical Techniques In Equine Practice.*, V.3, N.2, P. 123-1133.
- White, G.W. 1995. Maltodextran nf powder: a new concept in equine wound healing. *J. Eq. vet. Scie.* 15 : 296-298.

Quadro 1. Índice de acidez, peróxido, saponificação e de iodo do óleo de andiroba puro e ozonizado usado no tratamento de feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos.

Ensaio	Óleo de Andiroba Puro	Óleo de andiroba Ozonizado
Data	16/12/2011	16/12/2011
Índice de acidez *	19,0±0,4	18,7±0,2
Índice de peróxido *	3,9±0,0	51,1±5,6
Índice de saponificação *	301±3	269±1,0
Índice de iodo *	9,2±0,4	5,8±0,6

*Valores expressos em /100g, mEq/Kg, em KOH por g de óleo.

Quadro 2. Valores médios e desvios-padrão das áreas das feridas lombares experimentalmente induzidas em equinos tratadas com solução salina NaCl 0,9% (GC), solução salina ozonizada (GO), óleo de andiroba puro (GAP) e óleo de andiroba ozonizado (GAO).

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21	p
GC	19,63±0,00 ^{a*}	22,40±3,93 ^{ab}	25,11±2,06 ^b	12,12±0,27 ^{AC}	6,33±1,65 ^d	<0,0001
GO	19,63±0,00 ^a	21,21±3,17 ^{ab}	24,09±2,71 ^b	13,44±0,71 ^{BC}	6,82±1,37 ^d	<0,0001
GAP	19,63±0,00 ^a	20,60±3,55 ^{ab}	22,49±2,69 ^b	12,49±1,91 ^{AC}	6,30±0,96 ^d	<0,0001
GAO	19,63±0,00 ^a	25,05±4,71 ^{ab}	20,82±2,19 ^b	10,14±2,11 ^{cdA}	5,92±2,24 ^d	<0,0001

* Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) obtido pelo teste de Tukey. / Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna denotam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) obtido pelo teste de Tukey.

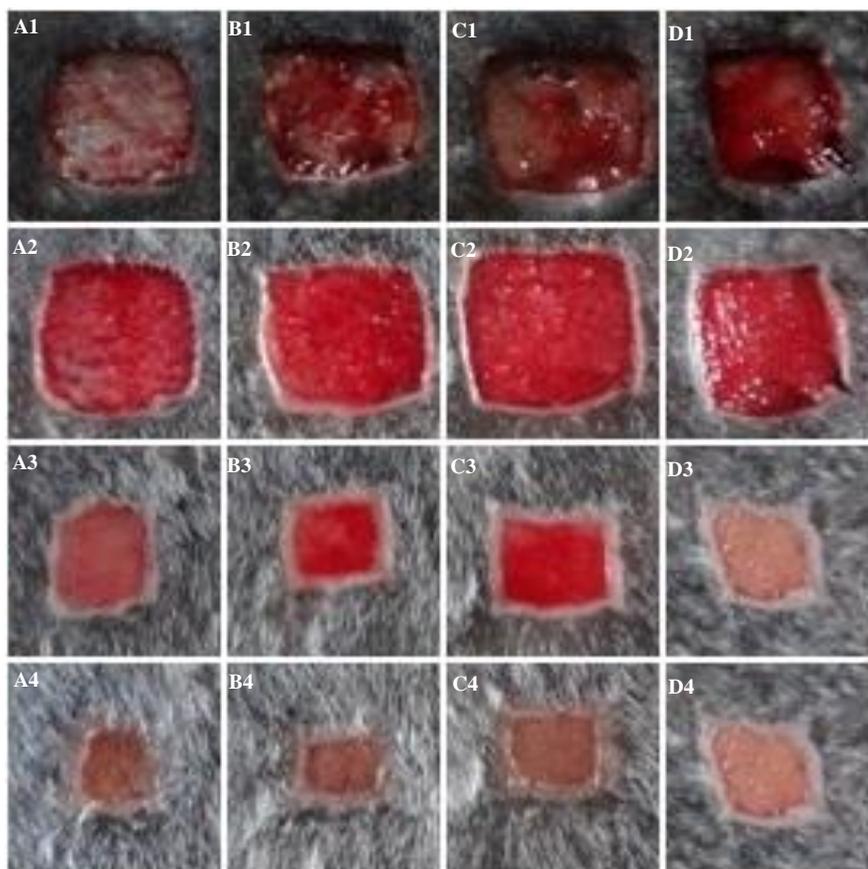


Figura 1. Registro fotográfico das avaliações macroscópicas das feridas cutâneas lombares experimentalmente induzidas em equinos tratadas com óleo de andiroba ozonizada (GAO) – A, com óleo de andiroba puro (GAP) – B e com solução salina ozonizada (GO) – C e das feridas controle (GC) – D, nos momentos 1 (dia 3); 2 (dia 7), 3 (dia 14) e 4 (dia 21). Destaca-se a presença de tecido de granulação em GAP (B) e GC (D) no momento 3 e o processo de cicatrização avançada em GAO (A) no momento 4, com 21 dias.

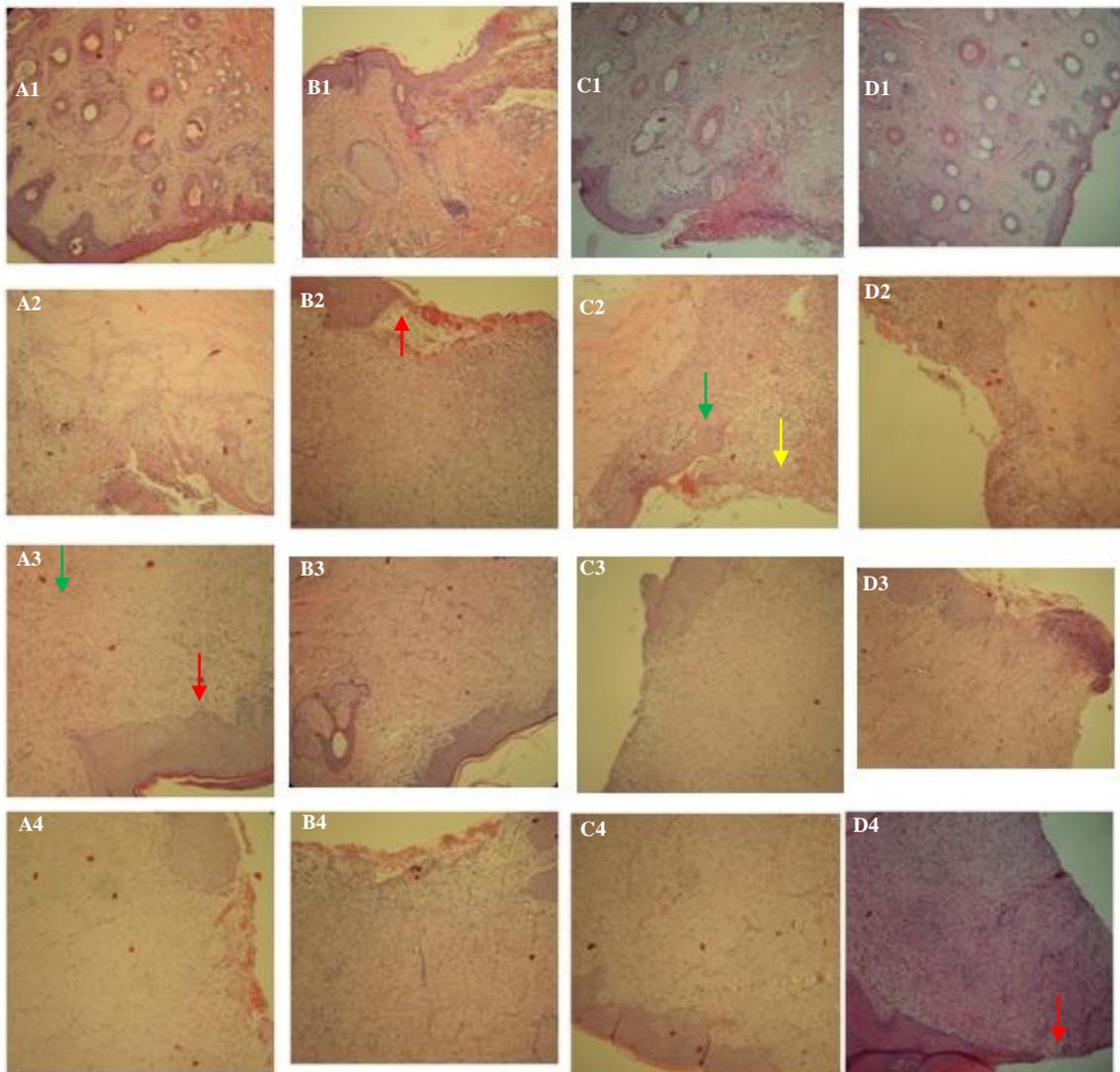


Figura 2. Imagens fotográficas dos cortes histopatológicos das feridas cutâneas lombares experimentalmente induzidas em equinos tratadas com óleo de andiroba ozonizada (GAO) – A, com óleo de andiroba puro (GAP) – B e com solução salina ozonizada (GO) – C e das feridas controle (GC) – D, nos momentos 1 (dia 3); 2 (dia 7), 3 (dia 14) e 4 (dia 21). Destaca-se no GAO, momento 3 (A3) pode ser observado áreas de epiteliação completa (seta vermelha) e proliferação fibroblástica moderada (seta verde). No GAP, no momento 2 (B2), pode ser observado epiteliação incompleta (seta vermelha). No GO, momento 2 (C2), pode ser observado epiteliação incompleta (seta verde), presença de fibrina (seta amarela) e proliferação fibroblástica moderada (seta vermelha). No GC, momento 4 (D4), pode ser observado epiteliação incompleta (seta vermelha). (Objetiva de 10X).

REFERÊNCIAS

ABOZ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA. Disponível em: <http://www.aboz.org.br/Web/secoes_site.asp?id=1>. Acesso em: 20 de abr. 2013.

ALVES, G. E. S.; ABREU, J. M. G.; RIBEIRO FILHO, J. D.; MUZZI, L. A. L.; OLIVEIRA, H. P.; TANNUS, R. J; BUCHANAN, T.; Efeitos do ozônio nas lesões de reperfusão do jejuno em equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 56, n. 4, p. 433-437, 2004.

ANDRIÃO, N. A.; ARAÚJO, M. L.; IBRAHIM, A. F.; CATTELAN, J. W.; CRUZ, C. Histologia, histoquímica e morfometria da epiderme e ductos sudoríparos do tegumento de equinos. **ARS Veterinária**, v. 25, n. 1, p. 32-37, 2009.

ARAUJO, C. R. F.; SOUZA, F. Z. A.; GRECA, F. H.; GUERREIRO, M. H. C. P. M.; LEITE, A. L.; MANSUR, A. E. C.; KANTOR, D. C.; NASSIF, A. E. Effects of Agarol® and Trigliceril® on cutaneous wound healing: experimental study in rats. **Acta. Cir. Bras.**, v.13, p. 232-7, 1998.

AUER J.; STICK J..Wound Management. In:_____ **Equine surgery**. Philadelphia: WB Saunders. 2ª ed.1999, p. 937.

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

BARROSO, J. E. M.; XIMENES, F. H. B.; LEITE, C. R.; MUSTAFA, V. S.; BORGES, J. R. J.; CASTRO, M. B.; GODOY, R. F. Comparação entre os efeitos de diferentes tratamentos na cicatrização de pele em ovinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4 n. 4, p. 298-302, 2010.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; FREITAS, C. I. A.; MEDEIROS, A. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa L.* **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.

BOCCI, A.V. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. **Archives of Medical Research University of Siena**, v 37, p. 425–435, 2006.

BRANCO NETO, M. L. C.; FILHO, J. M. R.; MALAFAIA, O.; FILHO, M. A. O.; CZECZKO, N. G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V. R.; TEIXEIRA, H. M.; AGUIAR, L. R. F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) no processo de cicatrização de pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, (Suplemento 2), p. 17-22, 2006.

BRITO, N. M. B.; SILVA, P. R. F. S.; SILVA, G. C. F.; CASELLA, S. F.; SAMPAIO, A. R. S.; CARVALHO, R. A. Avaliação macroscópica de feridas cutâneas abertas, em ratos, tratadas com óleo de andiroba. **Rev. Para. Med.**, v. 15, n. 2, p. 17-22, 2001.

CANDIDO, L. C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: SENAC, 2001.

CANDIDO, L. C. **Tratamento clínico de feridas agudas e crônicas**. 2006. Disponível em < <http://www.feridologo.com.br/acontecelivro.htm>>. Acesso em: 5 de abril de 2013

COELHO, J. M.; ANTONIOLLI, A. B.; SILVA, D. N.; CARVALHOS, T. M. M. B.; PONTES, R. J. C.; ODASHIRO, A. N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 37, n. 1, p. 45-51, 2010.

COELHO, C. S.; GAMA, J. A. N.; OLIVEIRA JÚNIOR, L. A. T.; SILVA, B. S. F.; SOUZA, V. R. C.; ENDRINGER, D. C.; LENZ, D. Use of extracts of sunflower-seed oil (*Helianthus annus L.*) for the treatment of cutaneous injuries in equine metatarsus: a case report. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.1, p.125-129, 2012.

COOMER, RICHARD. P. C. Management of Traumatic Wounds in Horses. p.1-7, 2008. Disponível em:

<http://www.sid.ir/En/VEWSSID/J_pdf/11592008S18.pdf>. Acesso em: 25 de abril de 2013.

DART, A. J.; PERKINS, N. R.; JEFFCOTT, L. B.; CANFIELD, P. Effect of bandaging on second intention healing of wounds of the distal limb in horses. **Australian Veterinary Journal**, v 87, n. 6, p. 215–218, 2009. doi: 10.1111/j.1751-0813.2009.00428.x

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, Cornelis Johannes Gerardus. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 663 p.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba

(*Copaifera langsdorfii*). Estudo experimental. 11 p. Trabalho de conclusão de curso.

(Graduação em Medicina Veterinária) – Uberlândia, 1995.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; BELLETI, M. E.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTE, M. C. S.; TRONCOSO NETO, N. S.; CAMPOS, V. A.; LEMOS, R. C.; SILVESTRINI JÚNIOR, P. L. Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barmatimão (*Stryphnodendron barmatiman martius*). **Revista da FZVA**, v. 2/3, n. 1, p. 30-40, 1995/1996.

FARIAS, M. P. O.; SOUZA, D. P.; ARRUDA, A. C.; ARRUDA, M. S. P.; WANDERLEY, A. G.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis Aubl.* (andiroba) no controle do *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 9, n. 4, p. 68-71, 2007.

FERREIRA, C.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P. et al. Utilização de pomada à base de ácidos graxos essenciais no tratamento de ferida cutânea em um

equino: relato de caso. **Revista Universidade Rural**: Série Ciências da Vida, v. 26, p. 99-100, 2006.

FITCH, R.; SWAIM, S. F. The role of epithelialization in wound healing. **The Compendium**, Louisiana, v. 17, n. 2, p. 167-177, 1995.

FRANKEN, M.S. The Application of Ozone Technology for Public Health and Industry. 2005 Disponível em <<http://www.emo3.com/files/Laurence%20Franken>>, Acesso em 21 jan 2012.

FREIRE, D. C. B.; BRITO-FILHA, C. R. C.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Efeitos dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa sp.*) e copaíba (*Copaifera sp.*) sobre forídeo, pragas de colmeias, (Diptera: Phoridae) na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 365 – 368, 2006.

GARCIA, C.A.; STANZIOLA, L.; OLIVEIRA, O.M.; ANDRADE, R.S.; CABARITI, L.V.; ANJOS, L.C.T.; CUBAS, J.P.C. Eficiência da ozonioterapia na regeneração de lesões cutâneas em eqüinos – relato de caso. P. 1-4, 2008. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0184-3.pdf>>. Acesso em: 17 de maio de 2013.

GARROS, I. C.; CAMPOS, A. C. L.; TÂMBARA, E. M.; TENÓRIO, S. B.; TORRES, O. J. M.; AGULHAM, M. A.; ARAÚJO, A. C. F.; SANTIS-ISOLAN, P. M. B.; OLIVEIRA, R. M.; ARRUDA, E. C. M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta. Cir. Bras.**, v. 21, suplemento 3, p. 55-65, 2006.

GORDILHO, M.G.; ROY, S.; KHANNA, S.; SCHLANGER, R.; KHANDELWAL, S.; PHILIPS, G.; SEN, C.K.; Topical oxygen therapy induces VEGF expression and improves closure of clinically presented chronic wounds. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**; v. 35(8), p.957–964. 2008. doi:10.1111/j.1440-1681.2008.04934.x.

HADDAD, M. A.; SOUZA, M. V.; HINCAPIE, J. J.; RIBEIRO JUNIOR, J. I.; RIBEIRO FILHO, J. D.; BENJAMIN, L. A. Comportamento de componentes

bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonioterapia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 3, p. 539-546, 2009.

HENDRICKSON, D. A.; VIRGIN, J. Factors that affect equine wound repair. **Vet Clin Equine** 21, p.33–44, 2005. doi:10.1016/j.cveq.2004.11.002

HOLMES, J. A History of Ozone. 2011. Disponível em: <<http://www.the-ozone.cc/HTML/OzoneF/articles/ch1.html>> Acesso em: 28 de ago 2013.

HUSSNI, C. A.; GIANINI, C. G.; ALVES, A. L. G.; NICOLETTI, J. L. M.; THOMASSIAN, A.; CROCCI, A. J.; SEQUEIRA, J. L. Cicatrização cutânea por segunda intenção em equinos tratados com vedaprofeno. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 87-92, 2004.

JONES C. T; HUNT D. R. e KING W. N; **Patologia Veterinária**, 6 ed, Capítulo 17, 1997, p. 831 – 886.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KUNZ, A.; FREIRE, R.; ROHWEDDER, J. J. R.; DURAN, N. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 425-428, 1999.

LIMA, D. C. M.; GONÇALVES, R. C.; TANAKA, N. M.; SILVA, L. C.; CUNHA FILHO, L. F. C. Açúcar cristal no processo cicatricial de ferida contaminada em ovino. UNOPAR. **Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 2, p. 111-114, 2012.

MAGALHÃES, M.S.F.; FECHINE, F. V.; MACEDO, R. N.; MONTEIRO, D. L. S.; OLIVEIRA, C. C.; BRITO, G. A. C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. **Acta Cir. Bras.**, v. 23, n. 3, p. 262-269, 2008.

MARQUES, S. R.; PEIXOTO, C. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; SILVA JÚNIOR, V. A. The effects of topical application of sunflower-seed oil on open wound healing in lambs. **Acta. Cir. Bras.**, v. 19, n. 3, p. 196-205, 2004.

MARTINS, P. S.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; SEQUEIRA, J. L.; NICOLETTI, J. L. M.; THOMASSIAN, A. Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em equinos. **Arch. Vet. Scie.**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2003.

MASE. Produtos químicos farmacêuticos. Disponível em: <<http://www.mase.com.br/literaturas-mostra.asp?L=27>>. Acesso em: 20 junho de 2011.

MEHL, A. Feridas na clínica pediátrica: diagnóstico e tratamento. *Pediatria Moderna*, v.48, n. 11, Nov. 2012. Disponível em:<http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=5222&fase>. Acesso em: 25 de junho 2013.

MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica.**, v. 37, n. 3, p. 352-364, 2007.

MENDONÇA, F. A. S.; PASSARINI JUNIOR, J. R.; ESQUISATTO, M. A. M.; MENDONÇA, J. S.; FRANCHINI, C. C.; SANTOS, G. M. T. Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 24, n. 2, p.150-155, 2009.

MENEZES, A.J.E.A. O histórico do sistema extrativo e a extração de óleo de andiroba cultivado no município de Tomé-açu, estado do Pará. Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia rural. **Embrapa Amazônia Oriental**. Belém, Pará: 2005. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/82547/1/142.pdf>>. Acesso em 28 dez 2013.

MORIELLO A. K; DEBOER J. D. e SEMRAD D.S; *Enfermidades da Pele*
In: _____ REED M. S; BAYLY WM. W; **Medicina Interna Equina**, 2000,
Capitulo 10, p. 442-480

MULTIVEGETAL. *Fitocosméticos com plantas medicinais*. São Paulo.
Disponível em: < <http://blog.multivegetal.com/oleo-de-andiroba-medicinal-de-a-a-z/> >. Acesso em: 01 maio, 2011.

NAYAK, B. S.; KANHAI, J.; MILNE, D. M.; PEREIRA, L. P.; SWANSTON, W. H.
Experimental evaluation of ethanolic extract of *Carapa guianensis* L. leaf for its
wound healing activity using three wound models. **Evidence-based Compl.
and Alternative Med.**, 2011. DOI 10.1093/ecam/nep160.

OLIVEIRA JR., L. A. T.; SOUZA, V. R. C.; ENDRINGER, D. C.;
HENDRICKSON, D. A.; COELHO, C. S. Effects of topical application of
sunflower-seed oil on experimentally induced wounds in horses. **J. Eq. Vet.
Scie.**, v. 32, n. 3, p. 139-145, 2012.

ORTONNE, J. P.; CLÉVY, J. P. Physiology of cutaneous cicatrization. **Rev.
Prat.**, v. 44, n. 13, p. 1733-1737, 1994.

PAGANELA, J. C.; RIBAS, L. M.; SANTOS, C. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C.
E. W.; FERNANDES, C. G. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos.
RPCV, v. 104, n. 569-572, p.13-18, 2009.

PAVLETIC, M. Basic principles of wound healing. *Atlas of small animal
reconstructive
surgery*. Philadelphia: J.B. Lippincott. p. 11–8, 1993.

PENNAFORTE, R. J. *Estudo da atividade antiinflamatória de duas espécies de
plantas amazônicas*. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, 2003.

PEREIRA, M. T. C.; GARCIA, C. A. Eficácia da ozonioterapia no tratamento de mastite subclínica de vacas em lactação. **Vet. Not.**, v. 12, n. 2, p. 109-115, 2006.

POSSA, D.V.; REIS, I.D.; GRECELLE, C.Z.; SCHONS; S.V. Contribuição ao estudo morfométrico de cicatrização de feridas cutâneas de segunda intenção com óleo de copaiba, em ratos. In: Proceedings of V Salão de Iniciação Científica, **Ciência & Conciência**, 2007.

PRATA, M.; HADDAD, C. GONDENBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em ratos. **Acta Cir. Bras.**, v. 3, p. 43-48, 1988.

RIBAS, L. M.; NOGUEIRA, C. E. W.; BEIRA, F. T. A.; KICKHÖFEL, I. A. Efeito cicatrizante do extrato aquoso de *Triticum vulgare* em feridas do tecido cutâneo de equinos. **A Hora Veterinária**, v. 25, n. 147, p. 27-29, 2005.

ROCHA, R. P.; ROCHA, E. L. P.; HAMES, R. L.; SPOSETO, T. B. Estudo comparativo do processo de cicatrização com o uso do óleo de semente de girassol e triglicérides de cadeia-média: modelo experimental em ratos. **Sci. Med.**, v. 14, n. 3, p. 203-208, 2004.

SANCHEZ NETO, R. BARONE, B.; TEVES, D. C. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Acta. Cir. Bras.**, v. 8, n. 1, p. 18-23, 1993.

SANCHEZ C.M.S. *A utilização do óleo ozonizado para o tratamento tópico de lesões em porquinho da índia (cavia porcellus)- relato de caso*. Monografia (Trabalho de conclusão do curso) - Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens, 2008.

SANT'ANA ,GLAUCIA CRISTINA DOS SANTOS FRANÇA DE. Efeito terapêutico do óleo de andiroba ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos da linhagem Wistar. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Universidade Vila Velha. p. 38-45. 2012.

SANTOS, M. F. S.; CZECZKO, N. G.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS FILHO, J. M.; ALENCAR, B. L. F.; MALAFAIA, O.; RIBAS, C. A. P. M.; TRAUTWEIN, V. M.; HENRIQUES, G. S.; MAIA, J. M. A.; BITTENCOURT, R. C. A. Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), p. 2-7 2006.

SBI . SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA. Ozonioterapia pode reduzir custos de tratamentos e diminuir a aplicação de antibiótico de antibióticos e analgésicos. Disponível em: <<http://www.infectologia.org.br/default.asp>>. Acesso em: 21 de abril 2013.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; LIMA FILHO, J. L.; LEÃO, A. M. A. C.; PORTO, A. L. F. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo de cicatrização de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, n.1, 2006.

SILVA, A. S.; SILVA, A. L. C.; CORRÊA A. L. C. O conhecimento de profissionais de enfermagem sobre ozonioterapia tópica em feridas. XII INIC/ VII EPG univap p.1-4, 2008. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2008/anais/arquivosINIC/INIC0834_01_A.pdf> Acesso em: 5 de abril de 2013.

SOUZA, D. W.; MACHADO, T. S. L.; ZOPPA, A. L. V.; CRUZ, R. S. F.; GARAGUE, A. P.; SILVA, L. C. L. C. Ensaio da aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. **Rev. Bras. Pl. Medic.**, v. 8, n. 3, p. 9-13, 2006.

SOUZA, Y. M.; FONTES, B.; MARTINS, J. O. M.; SANNOMIYA, P.; BRITO, G. S.

YOUNES, S. R. Evaluation of the effects of ozone therapy in the treatment of intraabdominal infection in rats. **Clinics**, v.65, n. 2 p. 195-202, 2010.

STASHAK, T. S. Principles of wound healing. In: STASHAK, T. S. *Equine wound management*. London: Lea & Febiger, 1994. p. 1-18.

STASHAK, T.S.; FARSVEDT, E.; OTHIC, A. Update on wound dressings: indications and best use. **Clin. Tech. eq. pract.**, v. 3, p. 148-163, 2004.

STEFFEN P G MONTANHA M. Andiroba - Uma Árvore Ecologicamente Rentável. Redação EcoTerra Brasil. Disponível em: <<http://www.ecoterrabrasil.com.br/home/index.php?pg=ecoentrevistas&tipo=temas&cd=810>>. Acesso em 20 de dez 2013.

TEIXEIRA, R. K. C.; HOUAT, A. P.; COSTA, F. L. S.; SARAIVA FILHO, J. C. P.; YASOJIMA, E. Y.; BRITO, M. V. H. Efeito do óleo de andiroba na sobrevivência de camundongos com submetidos a à sepse abdominal. **Rev Bras Clin Med.**, v. 10, n. 5, p. 407-409, 2012.

THOMASSIAN ARMEN. **Enfermidades dos cavalos**. São Paulo: Editora Varela. 4. ed. p. 29-32, 2005.

TURNER A. SIMON; McILWRAITH C. WAYNE. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo: Editora Roca. p. 103-108, 2002.

WHITE, G.W. Maltodextran, NF POWDER: A new concept in equine wound healing. **J. Eq. Vet. Scie.**, v. 15, p. 296-298, 1995.

WILMINK, J.M.; VAN WEEREN, P.R. Differences in wound healing between horses and ponies: application of research results to the clinical approach of equine wounds. **Clinical Techniques in Equine Practice.**, v.3, n.2, p. 123-1133, 2004.

APÊNDICES

Apêndice A: Avaliação clínica do Equino 1 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região lombar.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Frequência cardíaca (bpm)	44	36	39	28	28
Frequência respiratória (mpm)	16	22	16	12	20
Temperatura corpórea (°C)	37,8	37,6	38,3	37,3	37,4
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	3	2	2	2	2
Coloração de mucosas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas
Motilidade intestinal	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Apetite	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Defecação / micção	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Apêndice B: Avaliação clínica do Equino 2 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região lombar.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Frequência cardíaca (bpm)	42	36	37	36	24
Frequência respiratória (mpm)	22	18	20	20	20
Temperatura corpórea (°C)	37,3	37,8	37,6	37,4	37,3
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	2	2	2	2	2
Coloração de mucosas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas
Motilidade intestinal	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Apetite	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Defecação / micção	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Apêndice C: Avaliação clínica do Equino 3 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região lombar.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Frequência cardíaca (bpm)	36	44	41	32	24
Frequência respiratória (mpm)	24	23	26	20	20
Temperatura corpórea (°C)	37,7	38,2	39,5	37,8	37,5
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	2	2	2	2	2
Coloração de mucosas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas
Motilidade intestinal	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Apetite	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Defecação / micção	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Apêndice D: Avaliação clínica do Equino 4 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região lombar.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Frequência cardíaca (bpm)	42	36	44	36	40
Frequência respiratória (mpm)	24	20	23	20	20
Temperatura corpórea (°C)	37,7	38,4	38,6	37,4	37,1
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	2	2	2	2	2
Coloração de mucosas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas
Motilidade intestinal	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Apetite	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Defecação / micção	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Apêndice E: Avaliação clínica do Equino 5 nos momentos antes e com 3, 7, 14 e 21 dias depois a indução experimental de feridas na região lombar.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Frequência cardíaca (bpm)	48	48	48	40	44
Frequência respiratória (mpm)	22	16	17	20	23
Temperatura corpórea (°C)	38,7	38,9	38,1	38,1	38,1
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	2	2	2	2	2
Coloração de mucosas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas	Róseas
Motilidade intestinal	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Apetite	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Defecação / micção	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Apêndice F: Avaliação hematológica e bioquímica dos equinos utilizados no experimento no momento de seleção dos animais.

	Equino 1	Equino 2	Equino 3	Equino 4	Equino 5
Hemácias	7,39	7,7	8,27	7,11	7,46
HB	14,3	14,6	15,5	13,7	14,4
HT%	38,4	39,8	39,5	32,7	37,9
LEUCOCITOS	8500	8700	9000	11500	11900
NEUTROFILOS	72	76	64	72	66
LINFOCITOS	25	21	34	19	33
EOSINOFILOS	2	0	0	1	0
BASOFILOS	0	0	0	0	0
MONOCITOS	1	3	2	8	1
PLAQUETAS	191,000	119,000	174,000	147,000	149,000
PROT. PLAS.	7,4	7,2	7	7,2	7,6
FIBRINOGENIO	200	400	300	200	200
AST	228	198	250	252	203
CK	192	178	125	135	200
CRETININA	1,65	1,58	1,49	1,75	1,178
UREIA	42,5	46,2	44,8	50	47,8
GGT	5,2	5	3,8	4,9	5