



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**COMPARAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE PELE DE TILÁPIA
(*Oreochromis niloticus*) CONGELADA, PELE DE RÃ (*Rana
catesbeiana*) E PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)
ESTERILIZADAS COM RAIOS GAMA, NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDAS EM EQUINOS**

RACHEL PEREIRA DA ROCHA MIRANDA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA/DF
Fevereiro / 2025**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**COMPARAÇÃO DA UTILIZAÇÃO PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)
CONGELADA, PELE DE RÃ (*Rana catesbeiana*) E PELE DE TILÁPIA
(*Oreochromis niloticus*) ESTERILIZADAS COM RAIOS GAMA, NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM EQUINOS**

ALUNA: RACHEL PEREIRA DA ROCHA MIRANDA

ORIENTADORA: RITA DE CÁSSIA CAMPEBELL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: NÚMERO DA DISSERTAÇÃO/2025

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2025**

**UNIVERSIDADE DE
BRASÍLIA**

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

COMPARAÇÃO DA UTILIZAÇÃO PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) CONGELADA, PELE DE RÃ (*Rana catesbeiana*) E PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) ESTERILIZADAS COM RAIOS GAMA, NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM EQUINOS

RACHEL PEREIRA DA ROCHA MIRANDA

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.**

APROVADA POR:

**RITA DE CÁSSIA CAMPEBELL, Doutora, Universidade de Brasília
(ORIENTADORA)**

**ANTÔNIO CARLOS LOPES CÂMARA, Doutor, Universidade de Brasília
(EXAMINADOR INTERNO)**

**FLÁVIA DE ALMEIDA LUCAS, Doutora, Universidade Estadual Paulista
(EXAMINADOR EXTERNO)**

**BRASÍLIA/DF,
11 DE FEVEREIRO DE 2025.**

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus que, por intermédio de Nossa Senhora, me deu a força e a perseverança para realizar esse tão sonhado projeto e espero que continue me guiando pelo caminho da ciência e inovação.

Agradeço imensamente ao meu marido Silvio Augusto pelo companherismo de sempre, desde 1999. Aos meus filhos maravilhosos, Bernardo e Isabela, por entenderem minhas ausências, e aos meus pais por sempre me ajudarem nos meus projetos.

Agradeço a minha querida amiga e orientadora Profa. Dra. Rita de Cássia Campebell, pelo exemplo de pessoa e profissional, pela parceria e confiança no meu trabalho desde a graduação.

Manifesto minha enorme gratidão aos meus colegas de projeto Andressa Borges Aranha, Beatriz Alves de Miranda, Edson Pereira de Oliveira e Maria Fernanda Bruno Gomes.

Agradeço a colaboração do Dr. Bruno S. L. Dallago pela sua ajuda com a análise estatística e pela possibilidade de utilização do termógrafo.

Agradeço a contribuição do Professor Dr. Elmo S. Araújo, do Laboratório de Radiação Gama (GAMALAB), do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco – Recife/PE, pela esterilização das peles de tilápia e rã com raios gama.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal (PPGSA) pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

Agradeço aos residentes, estagiários, médicos veterinários e tratadores do Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília (Hvetão) pela ajuda nos procedimentos e trato com os animais do experimento.

Agradeço ao Laboratório de Patologia da UnB em nome do Professor Doutor Márcio Botelho de Castro e sua orientada de doutorado Isabel Luana de Macêdo pela ajuda na confecção e leitura das lâminas da histopatologia.

Agradeço às empresas “A Peixaria” (Brasília/DF) e ao ranário “Ranajax” (Anápolis/GO) pelo fornecimento das peles de tilápia e de rã respectivamente, e ao Sr. Valdinar Mesquita de Brito (Anápolis, GO, BR) pelo processo de secagem destas peles.

Por fim, agradeço aos animais que participaram dessa pesquisa submetendo-

se aos procedimentos necessários e por terem contribuído para o avanço da ciência.

RESUMO

Na prática clínica envolvendo equinos é frequente a ocorrência de feridas na pele, principalmente devido às respostas comportamentais da espécie. Nesse contexto, foram analisados a fim de comparação os aspectos macroscópicos, microscópicos e termográficos de feridas em seis equinos, induzidas cirurgicamente, cicatrizadas por segunda intenção tratadas topicamente com pele de tilápia congelada (GPTC), pele de tilápia esterilizada (GPTE) e pele de rã (GPR) e ringer com lactato (GC). Foram feitas quatro feridas quadradas com 3 cm, de cada lado da região toracolombar, sendo um lado para a avaliação microscópica com a análise histopatológica e o outro lado para avaliação macroscópica com fotografia, mensuração da área, taxa de contração e termografia. Os seis animais foram escolhidos de maneira aleatória. Em cada animal foi realizado a randomicidade para decidir qual lado seria o da análise histopatológica e o da avaliação macroscópica e termografia, e qual seria a ordem dos tratamentos nas lesões. As feridas foram tratadas diariamente, observando-se a evolução durante o período de 28 dias. As avaliações clínicas com fotografia, termografia e as análises histopatológicas foram realizadas nos dias 0, 3, 7, 14, 21 e 28 depois da realização das feridas. O GPTC apresentou em todos os animais a menor taxa de contração dentre os demais tratamentos empregados. Aos 28 dias a média da taxa de contração foi de 94,98%, 91,26%, 90% e 77,85% para GC, GPTE, GPR e GTPC respectivamente.

Palavras chaves: Pele de Rã, Pele de Tilápia, Feridas, Cavalo, Termografia.

ABSTRACT

In clinical practice involving horses, the occurrence of skin wounds is common, due to the species' behavioral responses. In this context, were analyzed to compare the macroscopic, microscopic and thermography aspects of wounds healing by second intention that were surgically performed and topically treated with frozen tilapia skin (GPTC), sterilized tilapia skin (GPTE), sterilized frog skin (GPR) and Ringer with lactate (GC). Wounds were made on each side of the thoracolumbar region, one side for microscopic evaluation with histopathological analysis and the other side for macroscopic evaluation with photography, area measurement, wound contraction rate and thermography. The 6 animals were chosen randomly. For each animal randomness was performed to decide which side would be the histopathological analysis, which side would be the macroscopic and thermography evaluation and what would be the order of the skin's treatments in the lesions. The wounds were treated daily, observing the evolution of each wound during the period of 28 days. Clinical evaluations with photography, thermography and histopathological analyzes were performed on day 0, 3, 7, 14, 21 and 28 after the wounds were made. In the statistical analysis it was observed that the GPTE showed admirable results, presenting smaller wound area and higher percentage of contraction in 50% of the animals, and the GC showed great results in the other 50%. The GPTC presented in all animals, the lowest contraction rate among the other treatments employed. At 28 days the average contraction rate was 94.98%, 91.25%, 90% and 77.85% for GC, GPTE, GPR and GTPC, respectively.

Key words: Frog Skin, Tilapia Skin, Wounds, Horse, Thermography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1.	A imagem ilustra a complexa interação de células (neutrófilos, macrófagos, fibroblastos) e fatores de crescimento (PDGF, TGF- β , VEGF) durante a fase inflamatória da cicatrização. A infiltração de células inflamatórias, a formação de um coágulo de fibrina e a produção de fatores de crescimento são essenciais para iniciar o processo de reparo tecidual. FGF = fator de crescimento de fibroblastos básico; IGF = fator de crescimento semelhante à insulina; KGF = fator de crescimento de queratinócitos; PDGF = fator de crescimento derivado de plaquetas; TGF = fator de crescimento transformador; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular (THEORET, 2008).....	09
FIGURA 2.	Mudanças na tensão da ferida durante as fases de reparação da ferida (PROVOST, 2019).....	23
FIGURA 3.	Fisiologia da pele humana e do cavalo. (A) Cortes transversais esquemáticos da pele humana (i) e do cavalo (ii). Uma diferença principal entre as espécies é a densidade de folículos capilares. (B) Distribuição do músculo panniculus carnosus em humanos (i) e cavalos (ii) (HARMAN et al, 2021).....	29
FIGURA 4.	Processo de preparo para o congelamento das peles de Tilápia. (A) Limpeza e retirada de vestígios de tecido muscular. (B) Limpeza e imersão em solução fisiológica 0,9%. (C) Acondicionamento em sacos plásticos para congelamento.....	34
FIGURA 5.	Pele de rã embalada em papel cirúrgico, esterilizada por raios gama.	35
FIGURA 6.	Realização das feridas cutâneas nos equinos: (A) Antissepsia do local; (B) Marcação dos moldes; (C) Incisão no formato quadrado de 3cm de lado e feridas realizadas.....	36
FIGURA 7.	(A) Disposição dos esparadrapos e gazes utilizados no curativo (B) Feridas recobertas por atadura.....	38
FIGURA 8.	Avaliação fotográfica com uso de régua de identificação.....	38
FIGURA 9.	Avaliação termográfica dentro da ferida (A), em volta da ferida (B) e na borda da ferida (C).....	40
FIGURA 10.	Imagens fotográficas das feridas dos grupos controle (GC), grupo	

	pele de tilápia congelada (GPTC) e grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28), no Animal 2.....	43
FIGURA 11.	Média da inflamação polimorfonucleares dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã, nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	46
FIGURA 12.	Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) no D7, com inflamação mínima (Letra I) e discreta fibroplasia (início de cicatrização representado pela seta preta). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	46
FIGURA 13.	Imagem histológica da ferida do grupo controle (GC) (A) e do Grupo Pele de Tilápia Congelada (GPTC) (B) no D7, com inflamação de polimorfonuclear intensa com debris celulares (círculo preto), hemorragia (*) e edema (seta vermelha). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	47
FIGURA 14.	Média da quantificação de monócitos das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	48
FIGURA 15.	Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) no D28, com fibroplasia intensa, com neovascularização e infiltrado inflamatório mononuclear discreto (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	48
FIGURA 16.	Média do edema das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	49
FIGURA 17.	Média da avaliação da hemorragia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	51
FIGURA 18.	Imagem histológica da ferida do grupo controle (GC) no D28, com	

	intensa fibroplasia com discreta neovascularização (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	52
FIGURA 19.	Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia congelada (GPTC) no D28, apresentando inflamação de polimorfonuclear intensa (representado pela seta preta) com discreta fibroplasia (círculo), neovascularização (representado pela letra N) e hemorragia (*). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	52
FIGURA 20.	Média da fibroplasia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	53
FIGURA 21.	Imagem histológica da ferida do grupo pele de rã (GPR) no D7, apresentando inflamação mínima com discreta fibroplasia (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	54
FIGURA 22.	Imagem histológica da ferida do grupo pele de rã (GPR) no D28, com fibroplasia intensa com neovascularização e infiltrado mononuclear discretos (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.....	54
FIGURA 23.	Temperatura avaliada com termógrafo, na região interna das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.....	55
FIGURA 24.	Temperatura avaliada com termógrafo, dentro das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.....	56
FIGURA 25.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.....	56
FIGURA 26.	Imagem termográfica na região interna das feridas do Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), no dia 14 (D14), do Animal 3.....	57
FIGURA 27.	Temperatura avaliada com termógrafo, na borda das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.....	58
FIGURA 28.	Comparação dos grupos GC, GPR, GPTC e GPTE de acordo com	

os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28, com diferença de temperatura na borda da ferida com o passar do tempo.....	58
FIGURA 29. Imagem termográfica na região da borda da ferida do Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), no dia 07 (D07), do Animal 6.....	59
FIGURA 30. Imagem termográfica na região em volta da ferida do Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), no dia 14 (D14), do Animal 5.....	60
FIGURA 31. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 1.....	94
FIGURA 32. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 2.....	95
FIGURA 33. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.....	96
FIGURA 34. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 4.....	97
FIGURA 35. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 5.....	98
FIGURA 36. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 6.....	99
FIGURA 37. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada	

	(GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 1.....	100
FIGURA 38.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 2.....	101
FIGURA 39.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.....	102
FIGURA 40.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 4.....	103
FIGURA 41.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 5.....	104
FIGURA 42.	Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 6.....	105

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Tabela estatística da média e desvio padrão da área das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de rã (GPR), grupo pele de tilápia congelada (GPTC) e grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	44
TABELA 2.	Tabela estatística da média e desvio padrão da taxa de contração das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de rã (GPR), grupo pele de tilápia congelada (GPTC) e grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	44
TABELA 3.	Média e desvio padrão da inflamação polimorfonucleares dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã, nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	45
TABELA 4.	Média e desvio padrão da quantificação de monócitos das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	47
TABELA 5.	Média e desvio padrão do edema das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	49
TABELA 6.	Média e desvio padrão da avaliação da hemorragia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	50
TABELA 7.	Média e desvio padrão da neovascularização das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28	

	(D28).	51
TABELA 8.	Média e desvio padrão da fibroplasia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28). (p<0.0001 Tempo x Tratamento).....	53
TABELA 9.	Média e desvio padrão da temperatura dentro das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	55
TABELA 10.	Média e desvio padrão da temperatura na borda das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	57
TABELA 11.	Média e desvio padrão da temperatura em volta das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - Graus Celsius

% - Porcentagem

AST - Aspartato Aminotransferase

CEUA - Comissão de Ética no Uso Animal

FCEV - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

FCbF - Fator de Crescimento Básico de Fibroblastos

EGF - Fator de Crescimento Epidérmico

FGF - Fator de Crescimento Fibroblástico

FC - Frequência Cardíaca

FR - Frequência respiratória

GGT - Gama Glutamil Transferase

HVET/UnB - Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília

IL-1 – Interleucina-1

IL-6 - Interleucina-6

IL-10 – Interleucina-10

IFN- γ - Interferon

MEC - Matriz Extracelular provisória

MMPs - Metaloproteinases da Matriz

MSCs - Células-tronco mesenquimais

PA - Ativador de plasminogênio

PDGF - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PG - Prostaglandina

PMNs - Células polimorfonucleares

SEAGRI-DF – Secretária de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal

T°C - Temperatura Retal

TGE - Tecido de Granulação Exuberante

TI - Termografia Infravermelha

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral alfa

TGF- β - Fator de Crescimento Transformador beta

TNF - Fator de Necrose Tumoral

TPC - Tempo de Preenchimento Capilar

UnB - Universidade de Brasília

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

µm - Micrômetro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	01
1.1	Problemática e relevância	01
1.2	Objetivo geral	02
1.3	Objetivo Específico	03
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	04
2.1	Anatomia da pele	04
2.2	Cicatrização	05
2.3	Respostas vasculares	06
2.4	Respostas celulares	08
2.5	Proliferação	12
2.6	Fibroblastia	13
2.7	Angiogênese	15
2.8	Epitelialização	17
2.9	Contração	20
2.10	Remodelação e maturação	22
2.11	Potencial Terapêutico da Pele de Tilápia e Pele de Rã na Regeneração de Tecidos em Equinos	24
2.11.1	Pele de tilápia	25
2.11.2	Pele de Rã	26
2.12	Equino como modelo experimental em pesquisas na área da cicatrização	28
2.13	Termografia Infravermelha	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Animais	33
3.2	Preparação da pele de tilápia congelada	33
3.3	Preparação da pele de tilápia e pele de rã esterelizada	34
3.4	Realização das feridas	36
3.5	Tratamentos	36
3.6	Avaliação clínica e fotográfica das feridas	38
3.7	Avaliação histopatológica	39
3.8	Avaliação termográfica	40
3.9	Análise estatística	41
4.	RESULTADOS	42
4.1	Avaliação física e macroscópica das feridas	42
4.2	Área da ferida e taxa de contração	43
4.3	Avaliação histopatológica	45
4.3.1	Polimorfonucleares	45
4.3.2	Avaliação de monócitos	47
4.3.3	Edema	48
4.3.4	Hemorragia	50
4.3.5	Neovascularização	51
4.3.6	Avaliação da fibroplasia	52
4.4	Avaliação termográfica	54
4.4.1	Avaliação termográfica dentro da ferida	54
4.4.2	Avaliação termográfica na borda da ferida	57
4.4.3	Avaliação termográfica em volta da ferida	59
5.	DISCUSSÃO	61

6.	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
	Anexo – Fotos de todos os animais	94
	Certificado CEUA	106

1. INTRODUÇÃO

1.1 Problemática e relevância

As feridas, rupturas na continuidade anatômica da pele, geralmente decorrem de traumas locais. Nos equinos são frequentes na prática clínica, sendo um desafio significativo no tratamento (PEREIRA, 2017; COSTA, 2020; SPARKS, 2021).

Em razão de seu comportamento e instinto em resposta aos sustos, o cavalo é muito susceptível a traumas. O processo cicatricial da pele nesta espécie é dificultado por complicações como a perda de tecido, tensão da pele, contaminação e tempo da ocorrência da lesão (PAGANELA et al., 2009; THEORET & WILMINK, 2013).

Devido à frequente perda tecidual e contaminação, aproximadamente 25% das feridas em equinos são tratadas por segunda intenção (LOPEZ et al., 2014; SPARKS, 2021). Este tipo de cicatrização, depende da formação de tecido de granulação (TG) para preencher o leito da ferida, seguido de restauração da barreira epitelial através da reepitelização e, em menor grau, contração da ferida (PEREIRA, 2017; SPARKS, 2021). A formação de tecido de granulação exuberante (TGE) retarda a cicatrização, impedindo a contração e reepitelização (SPARKS, 2021).

Quando essas feridas não cicatrizam, são denominadas feridas crônicas, que em humanos e equinos são consideradas patologicamente semelhantes (WESTGATE, 2011). A cicatrização de feridas defeituosas, que variam de feridas crônicas não cicatrizantes a fibroplasia excessiva, como observado em pacientes com cicatrizes hipertróficas e queloides, também representa um enorme desafio em humanos. Mesmo quando ocorre a cicatrização de uma ferida crônica, a cicatriz resultante pode predispor a problemas clínicos associados à má função dérmica, muitas vezes levando à incapacidade crônica, alteração da sensação e aumento do risco de nova lesão (SPARKS, 2021).

Em relação a área da ferida é importante avaliar a taxa de contração para analisar a eficácia do tratamento, detectar complicações, planejar intervenções e prever o tempo de cicatrização. A atividade dos fibroblastos (miofibroblastos) no tecido de granulação é responsável pela contração da ferida (PAIVA et al., 2002).

A avaliação histopatológica é fundamental para a análise das fases do processo de cicatrização. Durante a fase inflamatória, ocorre a preparação da ferida para a reparação, com a remoção de substâncias estranhas e tecidos necróticos, além

da liberação de mediadores que sustentam a progressão da cicatrização (THEORET, 2008). Além disso, a análise da quantidade de polimorfonucleares (PMNs) no desempenho das funções imunológicas e a taxa de fibroplasia, responsável pela formação do tecido de granulação (TG), são aspectos essenciais para a compreensão da regeneração tecidual (PROVOST, 2019).

Para enfrentar os desafios das feridas complicadas que não cicatrizam, os biomateriais vêm sendo amplamente estudados, tendo como objetivo apoiar a cicatrização natural, estimulando sinais de cura, migração e reepitelização das células epidérmicas, além de modular a resposta imunológica (LIMA-JUNIOR, 2017; SPARKS, 2021).

A pele de tilápia é um biomaterial de destaque por apresentar elevada resistência e flexibilidade, sendo assim opção promissora para curativos. Em casos de queimaduras superficiais de segundo grau, seu uso como curativo oclusivo mostrou-se eficaz na redução da dor, proporcionando um cuidado mais humanizado e de menor custo (LIMA-JUNIOR, 2017; COSTA, 2020).

A pele de rã, rica em lipídios, proteínas e peptídeos, tem sido estudada como xenoenxerto para queimaduras, demonstrando eficácia na cicatrização ao estimular a proliferação celular e acelerar o processo de reparo (RAGHAVAN, 2010; BAZAZ, 2013; LI et al., 2023).

A aferição de temperatura infravermelha (TI) pode detectar alterações no fluxo sanguíneo periférico e é considerada um método preciso e não invasivo (FERREIRA, 2019). Tecidos lesionados frequentemente apresentam variações na temperatura devido a alterações no fluxo sanguíneo (TUNLEY & HENSON, 2004), onde a câmera termográfica detecta o calor da superfície emitido como radiação infravermelha e produz uma imagem que mapeia as diferenças de temperatura no alvo (FERREIRA, 2019).

Assim sendo, um objetivo primordial na área da medicina veterinária equina é identificar terapêuticas que possam acelerar o fechamento e melhorar o reparo geral de feridas, visando o bem-estar animal.

1.2 Objetivo geral

Avaliar a cicatrização de feridas na região toracolombar de equinos, utilizando-se pele de tilápia congelada, pele de rã e pele de tilápia esterilizadas com raios gama.

1.3 Objetivo Específico

Avaliar aspectos clínicos, área da ferida, taxa de contração, alterações histopatológicas e avaliação termográfica na utilização pele de tilápia congelada, pele de rã e pele de tilápia esterilizadas com raios gama em feridas de equinos, comparando o tempo e qualidade da cicatrização entre os grupos, em feridas induzidas de forma experimental na região toracolombar de seis equinos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anatomia da pele

A pele dos equinos é uma estrutura complexa que desempenha várias funções essenciais para o organismo, sendo o maior e mais visível órgão do corpo, atuando como barreira anatômica e fisiológica crucial entre o animal e seu ambiente. Composta por diferentes camadas e estruturas, a pele proporciona proteção contra lesões físicas, químicas e microbiológicas, além de regular a temperatura, oferecer sensibilidade e integrar-se com outros sistemas corporais (KNOTTENBELT, 2009; SCOTT & MILLER, 2011; LI et al., 2023).

Estruturalmente, a pele dos mamíferos é composta por três camadas: epiderme, derme e tecido subcutâneo. A camada mais externa da pele é a epiderme, composta principalmente por células queratinizadas, com espessura média de 0,075 a 1,50 mm e múltiplas camadas de células não vasculares. Essa estrutura impacta na pigmentação, percepção do toque e regulação imunológica. A epiderme atua como barreira protetora contra agentes externos, como bactérias, fungos, substâncias químicas e radiação ultravioleta. Além disso, contém células especializadas, como os melanócitos, que produzem melanina para proteger a pele dos danos causados pela exposição ao sol (KNOTTENBELT, 2009; AL-MAJHALI, 2021).

Logo abaixo da epiderme está a derme, que contém uma variedade de estruturas, incluindo vasos sanguíneos, terminações nervosas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos. A derme é mais espessa (1,5–2,5 mm) e sustenta a epiderme, proporcionando à pele a flexibilidade necessária, devido à presença de proteínas fibrosas, a elastina e reticulina, além do colágeno. A derme fornece suporte estrutural à pele e é responsável pela regulação da temperatura corporal, através do controle da circulação sanguínea e da produção de suor (AL-MAJHALI, 2021; SCOTT et al., 2003).

A camada de tecido subcutâneo, ou hipoderme, é a mais profunda da pele dos equinos, composta por tecido conjuntivo e lóbulos de gordura, atuando como isolante térmico e reserva de energia. As redes de proteínas fibrosas na derme determinam a resistência da pele, sendo o atributo mais importante das características biomecânicas cutâneas. Além disso, a hipoderme contém terminações nervosas e

vasos sanguíneos que fornecem nutrientes e oxigênio às camadas mais superficiais (AL-MAJHALI, 2021; SCOTT et al., 2003).

A pele dos equinos é rica em anexos cutâneos, como pelos e crinas. Os pelos têm diversas funções, incluindo a proteção contra abrasões e regulação da temperatura corporal. Já as crinas, que são os pelos longos presentes na cabeça e pescoço, também podem desempenhar papel na comunicação social entre os animais (SCOTT & MILLER, 2011; KNOTTENBELT, 2009).

Além disso, a pele dos equinos pode variar em espessura e pigmentação dependendo da raça, sexo e idade, assim como fatores genéticos e ambientais. Essa variação pode influenciar na resistência a lesões e na capacidade de se adaptar a diferentes condições ambientais (SCOTT & MILLER, 2011; KNOTTENBELT, 2009).

2.2 Cicatrização

Uma ferida ocorre quando há ruptura na continuidade da pele, e pode ser provocada por fatores externos, como agressões físicas, substâncias químicas, alterações térmicas ou agentes biológicos (QING, 2017).

A cicatrização de feridas em mamíferos adultos, incluindo equinos, é um processo dinâmico dividido em três fases principais: inflamatória, proliferativa e de maturação/remodelação. Em equinos, particularmente em cavalos, esse processo é menos eficiente em comparação com pôneis sendo o estágio inflamatório mais atenuado, mas prolongado, aumentando a suscetibilidade à infecção e prolongando a fase proliferativa, o que frequentemente resulta em feridas crônicas. Essas fases, embora distintas, se sobrepõem e envolvem complexas interações celulares e bioquímicas que coordenam a cicatrização (MAHER, 2018; PROVOST, 2019; ANANTAMA, 2022).

A taxa de cicatrização varia de acordo com a localização das feridas, com feridas no corpo cicatrizando mais rapidamente que feridas distais dos membros, que tendem a ocorrer em áreas de maior movimento, têm menos cobertura de tecidos moles, são mais propensas a infecções e tendem a desenvolver tecido de granulação exuberante (TGE) (MAHER, 2018; ANANTAMA, 2022).

Após uma lesão, uma série de eventos bioquímicos favorecem a reparação do dano e facilitam o processo de cicatrização. Esses eventos desempenham papel crucial na prevenção de perdas excessivas de sangue, fluidos e na redução do risco

de infecções. Além disso, ajudam na remoção de tecidos danificados ou mortos. Qualquer fator que interrompa, altere ou aumente esse processo pode resultar em atrasos na cicatrização ou até mesmo na formação de feridas crônicas que não se curam adequadamente (GUO & DIPIETRO, 2010; OLIVEIRA & DIAS, 2012; LEAL & CARVALHO, 2014; TOTTOLI et al., 2020).

O sucesso da cicatrização de feridas está intimamente relacionado à ação de polipeptídeos biologicamente ativos que influenciam o crescimento, a diferenciação e o metabolismo das células-alvo. Esses fatores incluem fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas, que coordenam os processos de reparação e regeneração celular. Entre eles, destacam-se o fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator de crescimento transformador β (TGF- β), o fator de crescimento fibroblástico (FGF), o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF), além das citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas (IL-1 e IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) (THEORET et al., 2005; BARRIENTOS et al., 2008; QING, 2017).

2.3 Respostas vasculares

A coagulação, que marca o início do processo de cicatrização, ocorre imediatamente após o surgimento da ferida, com a liberação de substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases, desencadeando as fases subsequentes (BROUGHTON, 2006; PAGANELA et al., 2009; PROVOST, 2019).

Nesse momento, a vasoconstrição acontece para minimizar a hemorragia, mediada pela contração do músculo liso e pela liberação de endotelina, tromboxano A₂ e serotonina derivada das plaquetas. A vasoconstrição reflexa, expõe e ativa as plaquetas pela interação com a matriz extracelular da parede do vaso, desempenhando papel crucial na formação do coágulo. A constrição das arteríolas diminui o fluxo sanguíneo, o que leva à hipóxia e acidose tecidual. Esses fatores estimulam a produção de óxido nítrico, adenosina e metabólitos vasoativos, como a histamina, que promovem a vasodilatação e aumentam a permeabilidade vascular. Isso facilita a entrada de células inflamatórias, como mastócitos, neutrófilos e macrófagos, no espaço extracelular ao redor da ferida (SINGH et al., 2017). A

secreção de proteases como hialuronidase, collagenases e hemolisinas desempenha um papel crucial na inibição da ação bacteriana, evitando que a fase inflamatória se prolongue (PAGANELA et al., 2009; PROVOST, 2019).

A lesão da membrana endotelial libera fosfolipídios, que são convertidos em ácido araquidônico e seus metabólitos, regulando o tônus vascular, a permeabilidade e a agregação plaquetária. Inicialmente, a vasoconstrição, que dura de 5 a 10 minutos, é seguida pela vasodilatação mediada por prostaciclina, histamina e óxido nítrico, facilitando a diapedese de células, fluidos e proteínas para o espaço extravascular. O sangue coagulado e as plaquetas agregadas formam um coágulo, ou matriz provisória, que, apesar de fornecer resistência limitada, sela o defeito e previne novos sangramentos (THEORET, 2008; PROVOST, 2019).

O coágulo também atua como uma estrutura, graças à presença de numerosos locais de ligação nas proteínas do sangue que são reconhecidos por receptores de superfície específicos (integrinas) presentes nas células inflamatórias e mesenquimais em migração (THEORET, 2008; PROVOST, 2019). O coágulo formado é composto por colágeno, plaquetas, trombina e fibronectina, e esses componentes liberam citocinas e fatores de crescimento que iniciam a resposta inflamatória. Além disso, o coágulo de fibrina atua como uma estrutura de suporte para a migração de células como neutrófilos, monócitos, fibroblastos e células endoteliais (BROUGHTON, 2006).

A hemostasia é alcançada por meio da compressão dos vasos pelo edema do tecido mole e formação de um tampão de fibrina-plaquetas na ferida. A trombina, o principal fator na formação do coágulo, é fundamental nesse processo (PROVOST, 2019).

Liberada pela ativação das vias de coagulação intrínseca e extrínseca, a trombina cliva o fibrinogênio em monômeros de fibrina, que após a polimerização em fibras de fibrina interagem com a fibronectina plasmática para estabilizar o tampão hemostático que preenche o local da ferida (PROVOST, 2019). A fibronectina é uma glicoproteína que oferece suporte estrutural às fibrilas de colágeno, além de facilitar a adesão e migração dos fibroblastos, também desempenhando papel importante na mediação da contração da ferida (LI et al., 2007).

Este coágulo inicial da ferida é conhecido como matriz provisória da ferida. As plaquetas ativadas dentro do tampão de fibrina-plaquetas direcionam e amplificam a fase inflamatória inicial da cicatrização por meio da liberação de mediadores de reparo

de feridas, mais importante o PDGF e o TGF- β , de seus grânulos de armazenamento. Conforme a cicatrização da ferida progride, os PMNs, macrófagos e fibroblastos podem se ligar seletivamente à matriz provisória da ferida por meio da expressão de receptores de integrina da superfície celular, à medida que migram para iniciar funções imunológicas e sintéticas (PROVOST, 2019).

2.4 Resposta celulares

Os leucócitos são recrutados para o local da lesão por numerosos mediadores vasoativos e quimioatraentes fornecidos pelas vias de coagulação e complemento ativado, além das plaquetas, mastócitos e células mesenquimais lesionadas ou ativadas (THEORET, 2008). A migração de leucócitos para a ferida é ativada pelo colágeno exposto, produtos de degradação da elastina, fatores de complemento, citocinas e alterações na tensão mecânica. Os PMNs são os primeiros tipos de células a entrarem na ferida em grandes números e são uma marca registrada de lesão cutânea aguda (PROVOST, 2019).

Esses sinais iniciam os processos de rolamento, ativação, adesão e, transmigração de células inflamatórias através do endotélio microvascular. Os quimioatraentes estimulam adicionalmente a liberação de enzimas pelos neutrófilos ativados, facilitando sua penetração através das membranas basais vasculares durante a migração. A diapedese de neutrófilos é ainda facilitada pelo aumento da permeabilidade capilar após a liberação de um espectro de agentes vasodilatadores (THEORET, 2008).

O influxo celular inicia-se em minutos, com o número de neutrófilos aumentando progressivamente até atingir um pico entre 1 e 2 dias após a lesão. Os neutrófilos atuam como a primeira linha de defesa em feridas contaminadas, destruindo detritos e bactérias por meio de fagocitose, além de mecanismos enzimáticos e radicais de oxigênio subsequentes. Os neutrófilos têm duas funções principais: remover tecido danificado e bactérias por fagocitose e liberar quimioatraentes para aumentar ainda mais a resposta inflamatória celular inicial. As principais proteinases degradativas liberadas pelos PMNs para remover tecido danificado incluem catepsina G, collagenase intersticial específica de neutrófilos e elastase de neutrófilos. Em 24 horas, os monócitos circulantes começam a entrar na

ferida e se diferenciar em macrófagos (THEORET, 2008; PROVOST, 2019; SEID & BIRHAN, 2019).

A migração e a fagocitose dos neutrófilos cessa quando as partículas contaminantes são removidas do local da lesão. A maioria dessas células fica presa dentro do coágulo, que é eliminado durante as fases posteriores de reparo. Os neutrófilos que permanecem no tecido viável morrem em poucos dias e são fagocitados pelos macrófagos teciduais ou fibroblastos modificados da ferida. Isto marca o término da fase inflamatória inicial de reparo. Embora os neutrófilos ajudem a criar um ambiente favorável para a ferida e sirvam como fonte de citocinas pró-inflamatórias, eles não são essenciais para a reparação em feridas não infectadas (THEORET, 2008; SIMPSON & ROSS, 2009; SEID & BIRHAN, 2019).

O aumento rápido no número de macrófagos em condições inflamatórias ocorre principalmente pela emigração de monócitos da vasculatura, que se diferenciam em macrófagos para ajudar os macrófagos teciduais residentes no local da ferida por dias a semanas. Os monócitos pluripotentes responsivos podem se transformar em macrófagos, cujas propriedades funcionais são determinadas pelas condições do local da mobilização. Semelhante aos neutrófilos, os macrófagos são fagócitos e realizam o desbridamento e a morte microbiana. No entanto, ao contrário dos neutrófilos, os macrófagos desempenham papel crucial nas fases reparadoras da cicatrização (Figura 1) (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019; LI et al., 2023).

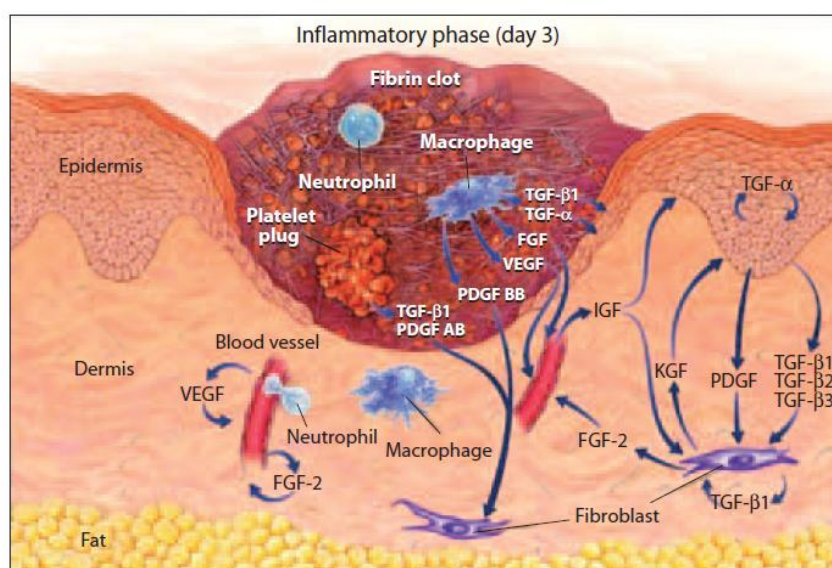


Figura 1. Complexa interação de células (neutrófilos, macrófagos, fibroblastos) e fatores de crescimento (PDGF, TGF-β, VEGF) durante a fase inflamatória da cicatrização. FGF = fator de crescimento de fibroblastos; IGF = fator de crescimento semelhante à insulina; KGF = fator de crescimento de queratinócitos; PDGF = fator de

crescimento derivado de plaquetas; TGF = fator de crescimento transformador; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular (THEORET, 2008).

Ao chegar ao local da inflamação, os macrófagos participam da morte bacteriana por mecanismos semelhantes aos dos neutrófilos. Três proteinases neutras induzíveis foram identificadas nos macrófagos: elastase, collagenase e ativador de plasminogênio (PA). Essas proteinases auxiliam na degradação de tecidos danificados e detritos, essenciais para o reparo das feridas (THEORET, 2008; PROVOST, 2019).

Os macrófagos são as principais células inflamatórias, responsáveis pelo desbridamento, recrutamento de outras células inflamatórias e mesenquimais, indução de angiogênese, fibroplasia e epitelização. A inflamação aguda é crucial para a reparação normal das feridas, especialmente em cavalos, cujas feridas frequentemente são expostas a agentes infecciosos. No entanto, a inflamação prolongada pode retardar a cicatrização e estimular a proliferação crônica da granulação fibroblástica. Isso contribui para a patogênese de doenças com cicatrizes desproporcionais, como fibrose pulmonar, cirrose hepática, glomerulonefrite e quelóides dérmicos em humanos. Cicatrizes extensas ou fibrose de qualquer órgão podem resultar em perda significativa de função. Em cavalos, uma condição comparável é o desenvolvimento de tecido de granulação exuberante em feridas cutâneas de espessura total (THEORET, 2008).

A fibroplasia, ou formação de tecido de granulação, é uma fase essencial da cicatrização de feridas, preenche o espaço da ferida, forma uma barreira contra contaminantes externos, fornece miofibroblastos para a contração e serve de leito para a migração do epitélio (THEORET, 2008; MAHER, 2018).

O tecido de granulação contém vários tipos de células com funções cruciais durante a cicatrização. As células endoteliais formam capilares e vasos sanguíneos, através dos quais oxigênio e nutrientes são transportados para sustentar o metabolismo celular e os leucócitos podem migrar para o local da ferida, realizando limpeza da ferida de agentes contaminantes e detritos, além de recrutar mais células inflamatórias e mesenquimais, iniciando o processo de cicatrização. Os fibroblastos formam a matriz extracelular (MEC) necessária para sustentar a divisão, crescimento e migração celular. A composição da MEC muda gradualmente à medida que é

remodelada através da síntese e degradação simultâneas de seus componentes (THEORET, 2008, ROUSSELLE et al., 2019).

Feridas que não cicatrizam em equinos geralmente se apresentam de três maneiras diferentes: não cicatrizam devido a infecção local secundária a sequestro ósseo, tendão ou ligamento necrótico subjacente ou corpo estranho residual que foi adquirido quando a ferida ocorreu, apresentando algum grau de TGE. Frequentemente, essas feridas serão irregulares e conterão sinus até a origem da infecção/inflamação local. Outra forma, são feridas que param de cicatrizar e se tornam crônicas e secas. Estas feridas não têm TGE e frequentemente necessitam de estimulação para prosseguir com a formação de tecido de granulação. Ou ainda, casos crônicos de TGE no membro distal que resultam em massas grandes e elevadas, frequentemente inervadas até certo ponto, onde o TGE é geralmente muito fibroso e nutrido por grandes vasos sanguíneos (MAHER, 2018).

Histologicamente, o TGE é caracterizado por inflamação crônica e depósitos de fibrina que não foram eliminados pela resposta inflamatória aguda. O tecido tem aparência imatura e caótica devido à sua população celular desorganizada. Em feridas com TGE, a proliferação celular permanece ativa, a contração é retardada, e o tecido de granulação protuberante pode fisicamente impedir a migração epitelial e/ou inibir a mitose das células epiteliais (THEORET, 2008).

Após o trauma, a resposta inflamatória aguda em feridas nos membros dos cavalos é mais fraca nas primeiras três semanas e os níveis de TGF- β são mais baixos nos primeiros 10 dias, em comparação com os pôneis. O TGF- β 1 não apenas estimula a produção de MEC, mas também favorece a diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, incentivando a contração. Níveis iniciais inferiores de TGF- β podem atrasar essa diferenciação, resultando em um número reduzido de miofibroblastos e predominância de fibroblastos rapidamente proliferativos e sintetizantes (THEORET, 2008; ANANTAMA et al., 2022).

Três isoformas de TGF- β são conhecidas: TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3. Entre elas, o TGF- β 1 desempenha papel crucial na formação do tecido de granulação, uma vez que estimula a produção de fibronectina em fibroblastos dérmicos equinos *in vitro* (WATTS & ROSE, 2012; ANANTAMA et al., 2022). Estudos demonstram que as concentrações de TGF- β 1 permanecem significativamente mais elevadas em feridas nos membros do que em feridas na região torácica (THEORET et al., 2001; SCHWARTZ et al., 2002; ANANTAMA et al., 2022; VAN DEN BOOM et al., 2002).

Além disso, a citocina anti-inflamatória IL-10 mostrou-se capaz de limitar os efeitos pró-fibróticos do TGF- β 1 em fibroblastos dérmicos equinos, reduzindo a contratilidade celular, a produção de α -SMA e de colágeno tipo III. Essa inibição levou à diminuição da contração dos fibroblastos e à redução da produção de MEC (WISE et al., 2020; ANANTAMA et al., 2022). Fatores secretados por células mesenquimais do estroma também bloquearam as alterações induzidas pelo TGF- β 1 na morfologia, proliferação, expressão gênica e capacidade contrátil desses fibroblastos, reforçando o papel fundamental do TGF- β 1 nesses processos (HARMAN et al., 2017; ANANTAMA et al., 2022).

Um número reduzido de miofibroblastos significa que a contração da ferida é retardada e ineficiente, enquanto a proliferação dos fibroblastos e a síntese de MEC continuam. A resposta inflamatória aguda fraca é seguida por uma resposta inflamatória persistente ou crônica, devido em parte à presença contínua de contaminantes e tecidos inviáveis não resolvidos pela resposta inicial fraca. Além disso, a contração retardada mantém a área da ferida maior, perpetuando a resposta inflamatória, pois os leucócitos só desaparecem após a migração do epitélio sobre a superfície. A presença significativa de leucócitos no tecido de granulação exposto pode explicar a síntese aumentada de citocinas na ausência de epitélio e reduzir a tensão de oxigênio na ferida, devido ao alto consumo de oxigênio pelos leucócitos. A persistência de mediadores como TGF- β , PDGF e FGF induz fibrose, enquanto prostaglandina (PG) E1, Fator Ativador de Plaquetas e interferon (IFN- γ) inibem a contração da ferida, e outros como fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina IL-1 e IL-6 fazem ambos. A menor tensão de oxigênio estimula ainda mais a proliferação dos fibroblastos e a produção de MEC (THEORET, 2008; PENN et al., 2012; ANANTAMA et al., 2022).

2.5 Proliferação

A fase de proliferação é dividida em três subfases: reepitelização, fibroplasia e neovascularização (PAGANELA et al., 2009; LI et al., 2023). A reepitelização é o processo de cobertura da ferida com um novo epitélio, caracterizado pela migração de queratinócitos após a formação do tecido de granulação (ROUSSELLE et al., 2019). Nessa fase, ocorre a migração de queratinócitos não danificados das bordas dos anexos epiteliais quando a ferida é de espessura parcial, e apenas das margens

epidérmicas em casos de feridas de espessura total. Diferentes fatores de crescimento são responsáveis pelo aumento das mitoses e consequente hiperplasia do epitélio (PAGANELA et al., 2009; LI et al., 2023).

A fase proliferativa do reparo agudo do tecido é ativa no terceiro dia após a lesão, caracterizada por angiogênese, formação de tecido fibroso e de granulação, deposição de colágeno, epitelização e contração da ferida (PROVOST, 2019). A proliferação e migração dos fibroblastos são estimuladas pela baixa saturação de oxigênio e o ambiente ácido presentes no centro da ferida. Além disso, fatores quimiotáticos, como PDGF e TGF- β , juntamente com outros elementos liberados pelos macrófagos, como EGF e FGF, também desempenham papel fundamental nesse processo (LI et al., 2007; THEORET, 2008; KOIVISTO et al., 2011).

2.6 Fibroplasia

A fibroplasia acontece a partir dos fibroblastos, células mesenquimais diferenciadas que proliferam na região mais superficial da ferida. Concomitantemente, ocorre o desenvolvimento de novos capilares por brotamento endotelial. A neovascularização observada nesta fase fornece metabólitos e oxigênio para nutrir o tecido de reparação que prolifera na área lesionada. A nova rede vascular expande-se para o centro da lesão, proporcionando uma aparência rosada e exuberante (PAGANELA et al., 2009).

A fase proliferativa da reparação surge após o declínio da inflamação e é caracterizada pelo surgimento de tecido de granulação, que gradualmente preenche o defeito na ferida. Embora esta fase inicial seja muito ativa em termos celulares, não resulta imediatamente em aumento da resistência da ferida. Nos primeiros 3 a 5 dias após a lesão, células mesenquimais, como fibroblastos, endoteliais e epiteliais, invadem rapidamente a ferida para preparar a síntese e a maturação da matriz ou para a cobertura da área lesionada. No entanto, esses mecanismos de reforço posterior demoram um pouco a ocorrer (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

Os fibroblastos começam a chegar no segundo dia após a lesão e, no quarto dia, são o principal tipo de célula no leito da ferida. O recrutamento do tecido adjacente, a proliferação local e a transformação de células-tronco mesenquimais (MSCs) locais e sistêmicas indiferenciadas em fibroblastos contribuem para o pico no número de fibroblastos de 7 a 14 dias após a lesão. A migração de fibroblastos para a

ferida e sua proliferação subsequente são amplamente reguladas por: PDGF, TGF- β e FGF. Nos primeiros dias após a lesão, os fibroblastos proliferam e migram, enquanto mais tarde sintetizam e reorganizam os componentes, que eventualmente substituirão a matriz provisória dentro do local da ferida. Os fibroblastos sintetizam e liberam colágeno, glicosaminoglicanos, incluindo hialuronano (que facilita a migração celular), glicoproteínas (fibronectina e laminina) elastina e proteoglicanos. Simultaneamente, também secretam proteases, incluindo PMNs, que digerem o coágulo de fibrina para que a substituição pelos novos componentes possa ocorrer (HINZ, 2016; PROVOST, 2019).

Neste estágio de proliferação celular, forma-se o tecido de granulação, composto principalmente por vasos sanguíneos recém-formados, fibroblastos e produtos secretados pelos fibroblastos, tais como colágeno fibrilar, elastina, fibronectina, proteases, glicosaminoglicanas sulfatadas e não sulfatadas. Esse tecido começa a se desenvolver entre três e quatro dias após a lesão inicial, servindo como uma etapa intermediária entre a formação da matriz de fibrina/fibronectina e a reorganização do colágeno (PAGANELA et al., 2009).

O tecido de granulação é formado por três elementos que convergem para a ferida simultaneamente: os macrófagos realizam o desbridamento e produzem citocinas e fatores de crescimento, que estimulam a angiogênese e a fibroplasia; os fibroblastos se proliferam e sintetizam novos componentes da matriz extracelular; e novos vasos sanguíneos transportam oxigênio e nutrientes essenciais para o metabolismo e crescimento das células mesenquimais, conferindo ao tecido de granulação sua aparência característica (SINGER & CLARK, 1999; THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019). Este estroma, rico em fibronectina e hialuronano, substitui o coágulo contendo fibrina para fornecer uma barreira física contra infecções e, o que é mais importante, oferece uma superfície pela qual as células mesenquimais podem migrar (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

Várias moléculas da matriz, bem como quimiotaxinas, citocinas e fatores de crescimento liberados por células inflamatórias, estimulam os fibroblastos da derme adjacente não lesionada e do tecido subcutâneo a proliferar e expressar receptores de integrina para auxiliar na migração para o espaço da ferida. As integrinas são proteínas que atravessam a membrana celular e atuam como os principais receptores de superfície celular para moléculas da matriz extracelular, medindo interações e transdução de sinais entre células e seu ambiente. Elas são particularmente cruciais

para os movimentos migratórios exibidos por células de cicatrização de feridas, como células epiteliais, endoteliais e fibroblastos. A migração precede imediatamente os brotos endoteliais capilares em avanço, mas segue os macrófagos, que abrem caminho ao fagocitarem detritos. Os fibroblastos também possuem um sistema proteolítico ativo para auxiliar na migração para o coágulo sanguíneo de fibrina reticulada (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

A produção de colágeno começa lentamente no segundo ou terceiro dia após o ferimento e atinge o pico de produção em 1 a 3 semanas. Embora os fibroblastos da ferida produzam colágeno tipo I (maduro), que predomina na derme não ferida, quase 30% a 40% do colágeno encontrado na ferida aguda será do tipo III (imaturo). Isso reflete a densa população de vasos sanguíneos contendo colágeno tipo III, no tecido de granulação. À medida que a ferida cicatriza e a vascularização é reduzida, há uma mudança no equilíbrio do conteúdo de colágeno em direção ao tipo I. Além da produção de colágeno, os fibroblastos organizam as moléculas de colágeno em fibras e depois em feixes, que são alinhados paralelamente à superfície da ferida, geralmente ao longo de linhas de tensão máxima. A presença de colágeno e seu arranjo contribuem para a resistência do tecido. Quando o defeito da ferida é preenchido e a homeostase da produção de colágeno e degradação do colágeno é alcançada, os números de macrófagos e fibroblastos são reduzidos pela apoptose, e inicia a maturação e remodelação do tecido (PROVOST, 2019).

2.7 Angiogênese

A angiogênese é iniciada pela agregação de plaquetas e formação do tampão hemostático, que libera fatores como TGF- β , PDGF e FGF. A presença de hipóxia e de neutrófilos no leito da ferida ativa as metaloproteinases, que promovem a liberação de VEGF e a remodelação da matriz extracelular. Junto com outras citocinas, esses processos estimulam o reparo dos vasos sanguíneos e a formação de novos vasos a partir de células endoteliais, facilitando a neovascularização (BROUGHTON, 2006; SINGH et al., 2017).

Além de iniciar a resposta inflamatória por meio da interação com os leucócitos, as células endoteliais microvasculares desempenham papel fundamental na fase proliferativa da reparação. A formação de novos vasos sanguíneos capilares a partir de vasos pré-existentes (angiogênese) é necessária para sustentar o tecido

de granulação recém-formado dentro do leito da ferida (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

A angiogênese, em resposta ao ferimento tecidual e à hipóxia, é um processo complexo e dinâmico mediado por diversos fatores solúveis tanto do soro quanto do ambiente da MEC circundante, em particular indutores angiogênicos, incluindo fatores de crescimento, quimiocinas e enzimas angiogênicas, receptores específicos do endotélio e moléculas de adesão, como integrinas, muitos dos quais são liberados durante a fase inflamatória da reparação (THEORET, 2008; PROVOST, 2019; SEID & BIRHAN, 2019).

A construção de uma rede vascular requer etapas sequenciais que incluem aumento da permeabilidade microvascular, liberação de proteinases pelas células endoteliais ativadas com subsequente degradação local da membrana basal que envolve o vaso existente, migração e brotamento de células endoteliais no espaço intersticial, proliferação de células endoteliais e formação de tecido de granulação e diferenciação em vasos sanguíneos maduros, eventualmente seguido por regressão e involução da vascularização recém-formada à medida que o tecido se remodela (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019; LI et al, 2023). A angiogênese depende não apenas das células e citocinas presentes, mas também da produção e organização de componentes da MEC, que atuam tanto como suporte por meio dos quais as células endoteliais podem migrar, quanto como reservatório e modulador para fatores de crescimento. Assim, as células endoteliais na ponta dos capilares iniciam sua migração para a ferida em resposta a estímulos angiogênicos e à ausência de células vizinhas no segundo dia após a lesão (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

As células endoteliais nas pontas dos capilares adjacentes à ferida são atraídas para a área pela fibronectina, encontrada dentro da matriz provisória, e crescem em resposta às citocinas liberadas por plaquetas e macrófagos a uma taxa de 0,4 a 1,0 mm/dia. O desenvolvimento de excrescências vasculares requer proliferação de células endoteliais que se organizam na arquitetura do vaso. O crescimento de novos vasos também resulta da vasculogênese secundária à mobilização de células progenitoras endoteliais derivadas da medula óssea. Fatores de crescimento como o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV) e o Fator de Crescimento Básico de Fibroblastos (FCbF) desempenham papéis reguladores centrais na neovascularização e subsequente reparo tecidual. O tecido no qual a angiogênese ocorre é denso em alças capilares, resultando na aparência vermelha granular

característica do tecido de granulação. Quando os macrófagos e outras células produtoras de fatores de crescimento não estão mais em um ambiente hipóxico e cheio de ácido láctico, sua produção de fatores angiogênicos para (PROVOST, 2019). Assim, quando o tecido é adequadamente perfundido, a migração e a proliferação de células endoteliais são reduzidas pela ação das metaloproteinases da matriz (MMPs). Eventualmente, os vasos sanguíneos que não são mais necessários sofrem apoptose de células endoteliais (ZHU et al., 2000; PROVOST, 2019; SEID & BIRHAN, 2019).

Conforme o fluxo sanguíneo e a oxigenação são restabelecidos, o principal fator desencadeador da angiogênese é reduzido, levando à diminuição dos vasos sanguíneos neoformados (PAGANELA et al., 2009).

A coloração da ferida torna-se progressivamente mais pálida à medida que o rico leito capilar do tecido de granulação desaparece. O tecido de granulação exuberante, observado em feridas distais nos membros de equinos, é caracterizado microscopicamente por um grande número de micro vasos. Embora a razão pela qual a angiogênese seja mais acentuada nessa região permaneça incerta, é plausível especular que a diminuição localizada no suprimento sanguíneo possa exercer influência por meio da regulação positiva de diversos fatores angiogênicos. De fato, é amplamente reconhecido que a hipóxia estimula a proliferação e a atividade sintética dos fibroblastos. Assim, por meio da regulação positiva de múltiplos fatores angiogênicos, a hipóxia pode resultar em fibrose excessiva. Alternativamente, a deficiência de sinais apoptóticos pode contribuir para a persistência das células endoteliais dos microcapilares e, conseqüentemente, aumentar a atividade angiogênicas (SEID & BIRHAN, 2019).

2.8 Epitelização

O epitélio, presente em todas as superfícies corporais, desempenha papel fundamental como barreira protetora contra o ambiente (BROUGHTON, 2006; THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019). Essa camada é essencial para preservar a homeostase interna, limitando a perda de líquidos e eletrólitos (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019). A camada externa da pele, constituída por epitélio escamoso estratificado e multicelular (epiderme), se conecta à estrutura musculoesquelética através de uma camada de tecido conjuntivo (derme) e uma camada fibrogordurosa (tecido subcutâneo). A epiderme é aderida à derme na região da membrana basal,

uma fina camada rica em glicoproteínas, composta principalmente por laminina e colágeno tipo IV. Essa aderência é garantida pelos hemidesmossomos, que prendem fisicamente as células basais da epiderme à derme subjacente, além das fibrilas de ancoragem de colágeno tipo VII, dispostas verticalmente, que conectam o citoesqueleto (SEID & BIRHAN, 2019).

A rápida cobertura de uma ferida extensa é crucial para a sobrevivência. Além das ações hemostáticas que estabelecem uma barreira temporária, a migração centrípeta das células epiteliais remanescentes abaixo do coágulo contribui para o fechamento da lesão (THEORET, 2008). Embora a migração epitelial se inicie de 24 a 48 horas após a ferida, a formação da borda rosada característica do novo tecido epitelial geralmente só é visível após 4 a 6 dias, variando conforme a espécie animal e as condições específicas da ferida (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019; ANANTAMA et al., 2022).

O processo de reepitelização para restaurar a função de barreira da pele começa imediatamente após o ferimento, desencadeado pela hipóxia local devido à coagulação dos vasos e pela liberação de proteína de choque térmico 90 α (hsp90 α) e pelos queratinócitos basais (PROVOST, 2019). Os queratinócitos suprabasais, que revestem a epiderme e seus apêndices, como folículos capilares e glândulas, iniciam a migração para reparar a lesão. Em poucos dias, ocorre uma regulação positiva de genes que aumenta a proliferação celular, acelerando a reepitelização em lesões superficiais. No entanto, em feridas onde não há epitélio residual, o processo é mais lento, dependendo exclusivamente do movimento centrípeto dos queratinócitos das margens da ferida (PROVOST, 2019; LI et al., 2023). Os primeiros sinais macroscópicos de epitelização em feridas corporais de equinos foram observados somente após 2 semanas da lesão (ANANTAMA et al., 2022).

Os queratinócitos, ao responderem à perda de inibição por contato e à exposição a produtos celulares, como o óxido nítrico, sofrem alterações fenotípicas que lhes permitem migrar e fagocitar detritos. A interação entre queratinócitos e fibroblastos é essencial: os queratinócitos estimulam os fibroblastos a produzirem fatores de crescimento e citocinas, que promovem a proliferação dos queratinócitos. Durante a migração, os queratinócitos se destacam das células vizinhas, desenvolvem pseudópodes com filamentos de actina, e se ligam à matriz extracelular, permitindo o movimento celular. No entanto, a migração dos queratinócitos requer tecido saudável; é prejudicada por fibrina, produtos inflamatórios e tecido de granulação exuberante

(PROVOST, 2019). Assim sendo, o crescimento do TGE dificulta fisicamente a migração dos queratinócitos, pois essas células são incapazes de cobrir o tecido de granulação irregular de rápida proliferação (HACKETT, 2011; KAMUS E THEORET, 2018; ANANTAMA et al., 2022).

Em incisões cirúrgicas, o tecido saudável e a pequena área da superfície da ferida, após a sutura, favorecem uma epitelização rápida, geralmente em poucos dias. Já em lesões traumáticas abertas, há um atraso na epitelização devido à necessidade de remoção do tecido necrótico e ao desenvolvimento de um leito de granulação saudável. Queratinócitos liberam collagenases, MMPs e PA para avançar na ferida. A migração, que começa após 4 a 5 dias, é mais eficaz em ambientes úmidos, pois evita o aumento da crosta, que dificulta o processo (PROVOST, 2019).

Os queratinócitos migram centripetamente pelo leito da ferida até se encontrarem no centro, momento em que a inibição por contato interrompe o movimento. Nesse ponto, iniciam a restauração dos estratos da pele saudável. A nova epiderme, no entanto, é mais frágil, sem os pinos de rede que a ancoram ao tecido conjuntivo e, em feridas de espessura total, carece de camada dérmica, comprometendo a resistência e elasticidade. Embora antes se pensasse que apêndices epidérmicos não se regeneravam, estudos em camundongos mostraram o contrário. Por conta dessa fragilidade, a cura apenas por epitelização, sem contração da ferida, é subótima. O tempo de reepitelização completa varia conforme a área e a localização da ferida, especialmente em cavalos (PROVOST, 2019).

Durante a cicatrização por segunda intenção de uma ferida de espessura total, a epitelização deve aguardar a formação de um leito de tecido de granulação para prosseguir. Feridas na área do flanco de equinos epitelizam a uma taxa de 0,2 mm por dia, em comparação com uma taxa lenta de 0,09 mm por dia para feridas na porção distal dos membros (SEID & BIRHAN, 2019).

Durante a migração, as células epiteliais na margem da ferida passam por alterações fenotípicas que favorecem a mobilidade e a atividade fagocítica. Enzimas degradativas são ativadas para facilitar a ingestão de coágulos e detritos presentes ao longo do caminho migratório. A rota de migração é determinada pela presença de receptores de integrina na superfície das células epiteliais, que interagem com proteínas da matriz extracelular (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

À medida que novas células epiteliais se sobrepõem às da borda da ferida, a proliferação celular é estimulada para manter o avanço da migração, resultando em

aumento da espessura do tecido epitelial. Esse processo histológico, conhecido como hiperplasia epitelial, envolve rápida multiplicação celular, promovendo a recuperação da integridade cutânea (THEORET, 2008). As células epidérmicas na margem da ferida começam a proliferar 1 a 2 dias após a lesão para repor a frente migratória, que corresponde histologicamente à hiperplasia epitelial, pois a mitose celular aumenta 17 vezes em 48 a 72 horas (SEID & BIRHAN, 2019).

2.9 Contração

Além da epitelização, a contração contribui significativamente para o fechamento eficaz de feridas de espessura total. Este processo é definido como a retração tanto da derme quanto da epiderme ao redor de uma área de pele deficiente, que ocorre de todos os lados em direção ao leito da ferida exposta (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019). A retração da ferida é influenciada por fatores como o formato da lesão, ocorrendo de forma mais rápida em feridas lineares e de maneira mais lenta em feridas circulares (SINGH et al., 2017).

A contração geralmente começa na segunda semana após a lesão, quando a ferida tem uma grande quantidade de fibroblastos, tanto de origem local, quanto derivados de MSCs da medula óssea. Esse processo, que pode durar várias semanas, é benéfico por reduzir a área da ferida original em 40% a 80%. O movimento centrípeto da derme e epiderme adjacentes saudáveis sobre a ferida minimiza a área que precisa de epitelização. Em áreas com pele solta, as taxas de contração podem alcançar até 0,75 mm/dia (PROVOST, 2019).

A contração da ferida envolve uma interação altamente coordenada entre a matriz extracelular, citocinas/fatores de crescimento e células, especialmente um tipo especializado de fibroblasto conhecido como miofibroblasto. Estes são os componentes celulares mais abundantes no tecido de granulação saudável e se alinham ao longo das linhas de contração dentro da ferida. Os miofibroblastos se destacam por possuírem um sistema microfilamentoso bem desenvolvido. Além dessas conexões célula-substrato, conexões intercelulares, como junções comunicantes e hemidesmossomas, garantem que as células vizinhas exerçam tensão uma sobre a outra (THEORET, 2008).

A origem dos miofibroblastos ainda não é completamente compreendida, mas diversos precursores foram sugeridos e identificados, como fibroblastos, pericitos de

músculo liso, células progenitoras mesenquimais residentes, células do tecido adiposo, fibrócitos circulantes e MSCs provenientes da medula óssea (HINZ, 2016).

A diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos é essencial para a contração da ferida. O TGF- β 1, liberado por macrófagos e queratinócitos, é o principal indutor dessa transição. A densidade dos fibroblastos e a tensão mecânica na MEC também desempenham função. A mudança para o fenótipo de miofibroblasto é marcada pela aquisição de microfilamentos de actina de músculo liso alfa. Os miofibroblastos formam conexões com moléculas na MEC, como colágeno e fibronectina, transmitindo força durante a contração. A contração desacelera e cessa quando as bordas da ferida se encontram, a tensão externa supera a força dos miofibroblastos, ou a quantidade desses miofibroblastos diminui, seja por apoptose ou reversão ao fenótipo fibroblástico (THEORET, 2008; PROVOST, 2019).

A contração da ferida é dividida em três fases distintas. Uma fase inicial de retardo, em que as bordas da pele se retraem temporariamente e a área da ferida aumenta, precede a invasão fibroblástica significativa na ferida, que é um pré-requisito para a contração. Em seguida, há um período de contração rápida, seguido por um período de contração mais lenta à medida que a ferida se aproxima do fechamento completo. O número de miofibroblastos presentes na ferida parece estar relacionado à necessidade de contração; portanto, à medida que a reparação avança e a taxa de contração diminui, esse número também diminui proporcionalmente (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019). A quantidade de miofibroblastos presentes na ferida parece estar diretamente relacionada à necessidade de contração; assim, à medida que o reparo avança e a taxa de contração diminui, a quantidade dessas células também reduz. (SEID & BIRHAN, 2019).

Durante o processo de contração, a pele ao redor da lesão se estica devido ao crescimento endógeno, resultando em uma aparência estrelada da ferida. A contração é interrompida quando ocorre um dos três eventos seguintes: as bordas da ferida se encontram e a inibição do contato interrompe tanto os processos de epitelização quanto de contração; a tensão na pele circundante se iguala ou excede a força contrátil gerada pelos miofibroblastos ou em feridas crônicas, onde a redução de miofibroblastos no tecido de granulação pode resultar em falha na contração da ferida, apesar da frouxidão na pele circundante. Nesse último caso, o tecido de granulação é pálido e composto principalmente de colágeno e substância fundamental (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019).

2.10 Remodelação e maturação

A última etapa do processo de cicatrização envolve a remodelação tecidual. Ao contrário das fases anteriores, a remodelação dos componentes do colágeno e da matriz, como o ácido hialurônico e as proteoglicanas, persiste por um longo período após a lesão. Este é o período no qual os elementos reparativos da cicatrização são transformados em tecido maduro, com características bem diferenciadas (PAGANELA et al., 2009).

As diferentes fases da reparação não devem ser vistas como ações sequenciais. Cada etapa do processo de cicatrização deve contribuir com seus efeitos no tempo e na intensidade apropriados. Os mecanismos moleculares que controlam as diferentes fases da cicatrização ainda não são completamente compreendidos. No entanto, aparentemente, as citocinas desempenham papel crucial como mediadores celulares. As citocinas são glicoproteínas de sinalização liberadas pela maioria das células nucleadas no corpo agem através de receptores específicos na superfície celular, desencadeando estímulos autócrinos, parácrinos e endócrinos que resultam em migração celular, proliferação e síntese (THEORET, 2008).

A remodelação e a maturação da MEC no tecido de granulação representam a fase final da cicatrização da ferida (THEORET, 2008; PROVOST, 2019), também conhecida como maturação, e consiste na síntese de tecido conjuntivo, lise e remodelação (THEORET, 2008). Essa fase inicia-se na segunda semana do processo de reparo e pode se estender até a formação do tecido cicatricial completo, após 1 a 2 anos. O tecido cicatricial resultante é 15% a 20% mais fraco do que o tecido original (Figura 2) (PROVOST, 2019). Esta fase, mediada por metaloproteinases (CALEY et al., 2015), possibilita a reorganização tecidual através do equilíbrio entre síntese e degradação de colágeno e outras proteínas depositadas e, eventualmente, o tecido recupera estrutura semelhante a original, pela substituição do colágeno tipo 1 pelo colágeno tipo 3 (SINGH et al., 2017).

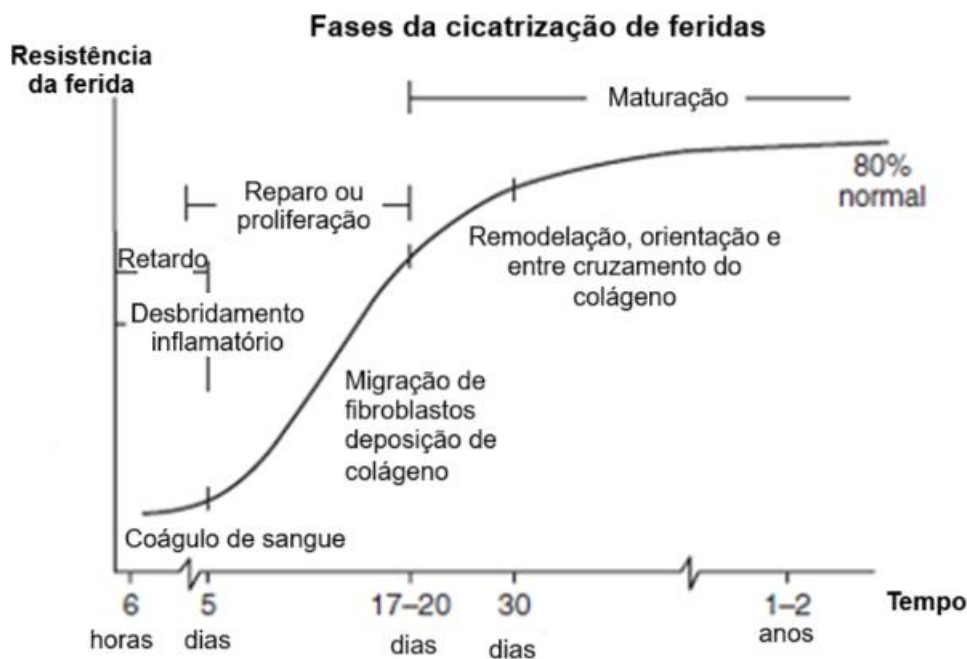


Figura 2. Mudanças na tensão da ferida durante as fases de reparação.
(adaptado - PROVOST, 2019).

Durante essa fase, o ácido hialurônico presente na matriz provisória é gradualmente substituído por proteoglicanos na MEC, o que reduz a proliferação e migração dos fibroblastos. O número de células na MEC diminui lentamente, à medida que os sinais de citocinas e fatores de crescimento diminuem e o conteúdo de colágeno aumenta. A angiogênese diminui e a atividade metabólica da ferida também reduz (PROVOST, 2019).

O colágeno depositado durante a fase de fibroplasia é inicialmente orientado de forma aleatória, oferecendo pouca resistência ao tecido (PROVOST, 2019). Na fase de remodelação, embora a síntese de colágeno continue, a degradação simultânea, mediada pelas MMPs, como collagenase e gelatinase, produzidas por macrófagos, células epiteliais, células endoteliais e fibroblastos, impede o aumento líquido do conteúdo de colágeno (BROUGHTON, 2006; PROVOST, 2019). As fibras de colágeno, antes dispostas aleatoriamente, são reorganizadas em feixes alinhados ao longo das linhas de tensão pelos fibroblastos, aumentando gradualmente a resistência à tração do tecido (PROVOST, 2019).

O ganho de resistência do tecido ocorre de forma gradual: de 20% da resistência do tecido normal em 3 semanas, aumenta para 50% em 3 meses, e chega

a 70% a 80% da resistência do tecido original ao final da maturação (PROVOST, 2019).

2.11 Potencial terapêutico da pele de tilápia e pele de rã na regeneração de tecidos em equinos

Os enxertos de pele são amplamente aplicados para reparo tecidual e são classificados como: autogênicos que são retirados do próprio corpo do indivíduo, sem chance de rejeição imunológica, alogênicos que são retirados de diferentes indivíduos da mesma espécie e xenogênicos que são retirados de uma espécie diferente, mas comumente levando à imunidade, rejeição e transmissão de doenças; isso é frequentemente necessário em casos de feridas grandes, mas também pode levar à rejeição imunológica (DALL'OLIO, 2022).

Os enxertos biológicos obtidos de tecidos como pele são descritos como promotores da cicatrização, pois retardam a formação de tecido cicatricial excessivo. Eles induzem a resposta inflamatória suave, favorecem e mantêm um ambiente úmido que facilita a regeneração e migração de células epiteliais, além de atuarem como barreira antibacteriana que protege a ferida contra infecções (PAGANELA et al., 2009).

Nas aplicações clínicas tanto a pele de tilápia quanto a de rã têm mostrado resultados promissores no tratamento de feridas complexas, crônicas e queimaduras, reduzindo a necessidade de substituições frequentes de curativos e oferecendo uma solução mais acessível em comparação com outros tratamentos tradicionais. A facilidade de obtenção e o baixo custo de produção são fatores que favorecem a aplicação desses biomateriais, especialmente em regiões com recursos limitados (COSTA, 2020).

Para lidar com os desafios apresentados por feridas complicadas que não cicatrizam, os biomateriais têm sido objeto de uma crescente área de investigação (SPARKS, 2021; LI et al., 2023), visando apoiar o processo natural de cicatrização, promovendo sinais de cura, migração e reepitelização de células epidérmicas, além de modular o sistema imunológico (SPARKS, 2021).

2.11.1 Pele de tilápia

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de peixe mais cultivada no Brasil, destacando-se pela excelente aceitação de sua carne no mercado alimentício (PEIXE BR, 2021). Entretanto, sua pele ainda é majoritariamente descartada como subproduto pela indústria.

A pele de tilápia, especialmente da espécie *Oreochromis niloticus*, tem sido pesquisada e utilizada como biomaterial para o tratamento de feridas em animais e humanos. Ela é rica em colágeno tipo I, que desempenha papel fundamental na cicatrização, além de possuir alta resistência, flexibilidade e biocompatibilidade. Suas propriedades incluem: hidratação e proteção da ferida, pois mantém a umidade do leito da ferida, criando um ambiente propício à cicatrização e protegendo contra contaminações externas; aceleração da cicatrização, com menos formação de tecido cicatricial e granulação exuberante; ação antimicrobiana, atuando na redução da contaminação bacteriana, contribuindo para recuperação mais eficiente (COSTA, 2020).

A pele da tilápia é formada predominantemente pela derme, sem qualquer camada epitelial. Na região superficial da derme, as fibras colágenas são compactas e alinhadas de forma paralela, enquanto na porção mais profunda, elas se apresentam mais espessas, dispostas alternadamente em padrões paralelos e transversais (ALVES et al, 2015).

Apresenta características microscópicas semelhantes à estrutura morfológica da pele humana, bem como elevada resistência e extensão à tração em ruptura. A utilização da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras de segundo grau superficial em pacientes humanos mostrou redução da dor, o que contribuiu para um cuidado médico mais humanizado, diminuindo os custos associados (COSTA, 2020; LIMA-JUNIOR et al., 2020).

Estudos de esterilização por radiação gama, conduzidos no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), demonstraram que as diferentes substâncias utilizadas no processo de esterilização não alteraram a estrutura histológica da pele da tilápia. Os testes mostraram que as peles irradiadas apresentaram maior resistência à deformação sob tração e menor alongamento até a ruptura, de maneira dependente da dose de radiação. Esse comportamento foi atribuído à organização mais paralela das fibras colágenas, que, em amostras não

irradiadas, também se dispõem transversal ou verticalmente, possivelmente aumentando o alongamento. A disposição mais paralela dos feixes colagênicos foi particularmente evidente nas doses de 25 kGy e 35 kGy (ALVES et al., 2015; ALVES et al., 2018; COSTA, 2020). Durante o processo de irradiação, as peles foram inicialmente embaladas individualmente em envelopes plásticos duplos, hermeticamente selados e submetidas a um processo adicional de esterilização por radiação (30 kGy) (LIMA JUNIOR, 2017; ALVES et al., 2018; COSTA, 2020; LIMA-VERDE, 2021). Antes de aplicar o curativo, a reidratação da pele foi realizada em solução salina (LIMA JUNIOR, 2017; MIRANDA & BRANDT, 2019; COSTA, 2020; LIMA-JUNIOR et al., 2020a; LIMA-VERDE, 2021).

Silva et al. (2019) e Silva (2022) utilizaram em feridas de equinos a pele de tilápia fresca, que foi imersa em uma solução aquosa de clorexidina a 0,2% por 20 minutos, em seguida lavada com solução salina a 0,9%, seca com gaze e cortada para ser aplicada. Ambos os autores observaram que a pele de tilápia oferece benefícios significativos na cicatrização de feridas crônicas, promovendo uma recuperação mais eficiente e diminuindo a formação excessiva de tecido de granulação, sem ocasionar efeitos colaterais adversos.

Após a divulgação de relevantes relatos de casos sobre o uso do produto em humanos com resultados notáveis (COSTA et al., 2017; COSTA et al., 2019; LIMA-JUNIOR et al., 2019; LIMA-JUNIOR et al., 2020a; LIMA-JUNIOR et al., 2020b), associada à ampla disponibilidade de matéria-prima, ampliou-se a possibilidade de sua aplicação em diversas áreas biomédicas. Essa inovação, capaz de ser produzida com baixo custo, oferece impacto ecológico positivo e sustentável. Dessa forma, o produto destaca-se por sua vantagem competitiva frente aos concorrentes importados e por seu alto potencial de inserção no mercado nacional, gerando benefícios financeiros e sociais expressivos para o sistema de saúde público e privado do Brasil (LIMA-JUNIOR et al., 2021).

2.11.2 Pele de Rã

A pele de rã, principalmente de espécies como a *Rana catesbeiana*, também tem mostrado potencial como biomaterial para tratamento de feridas. Suas principais características incluem: alto teor de colágeno, biocompatibilidade e flexibilidade, sendo compatível com os tecidos do corpo, facilitando sua integração e minimizando

reações adversas, podendo ser facilmente moldada sobre diferentes áreas, com efeito antisséptico, pois apresenta propriedades antimicrobianas naturais (BAZAZ, 2013; MASHREGHI, 2013).

A pele de rã tem importância não apenas na cicatrização de feridas, mas também no aumento da atividade proliferativa das células epidérmicas e dérmicas, que são fundamentais para o processo normal de cicatrização (RAGHAVAN, 2010; LI et al., 2023). Pesquisas demonstraram que os extratos lipídicos da pele de rãs desempenham um papel importante na proliferação e diferenciação de queratinócitos e células fibroblásticas, contribuindo para esses processos celulares essenciais (BAZAZ et al., 20115). Foi constatado que o potencial cicatrizante da pele de rãs está, em grande parte, associado ao seu alto teor de colágeno. Um estudo que investigou a aplicação do colágeno extraído da pele de rãs em culturas celulares revelou aumento significativo na proliferação e aceleração no crescimento de queratinócitos e fibroblastos (KUMAR et al., 2002). Um novo peptídeo derivado da pele de anfíbios, o OA-RD17, apresentou efeitos terapêuticos promissores na cicatrização de feridas, demonstrados tanto em queimaduras profundas de segundo grau e de espessura total em camundongos, quanto em feridas cutâneas *in vivo* de pacientes diabéticos. Esse peptídeo mostrou capacidade de modular importantes mecanismos celulares e moleculares, incluindo a proliferação, migração e polarização de macrófagos, além de estimular a proliferação e migração de queratinócitos (LI et al., 2023).

O curativo *Ranafilm* é produzido em um processo cuidadosamente controlado no criadouro, responsável tanto pelo abate dos animais quanto pela extração e preparação de suas peles. Após uma seleção criteriosa, exemplares adultos de *Rana catesbeiana* têm suas peles retiradas manualmente. Essas peles passam por uma sanitização e um processo de osmose, seguido da aplicação de óleo extraído dos depósitos de gordura do próprio animal. Em seguida, são desidratadas em uma estufa a 38°C e submetidas a uma nova triagem para garantir a qualidade. As peles selecionadas são acondicionadas em embalagens plásticas apropriadas, seladas e esterilizadas por irradiação Gama (20 KGY), assegurando sua segurança e eficácia. Antes do uso, o material é reidratado por 10 a 15 minutos em soro fisiológico, momento em que se torna o curativo finalizado, conhecido como *Ranafilm* (OLIVEIRA, 2002).

2.12 Equino como modelo experimental em pesquisas na área de cicatrização

Na avaliação da terapêutica utilizada na prática clínica, é imperativo que a segurança e a eficácia dos tratamentos, sejam confirmadas em modelos experimentais de cicatrização de feridas. Embora a utilização de roedores, seja o modelo animal mais popular avaliado, nesta espécie, a cicatrização ocorre principalmente através da contração da ferida, diferindo muito de humanos, cuja cicatrização ocorre principalmente por proliferação celular e reepitelização, onde os processos celulares de cavalos se assemelham mais aos dos humanos. Algumas condições clínicas humanas, como quelóides e cicatrizes hipertróficas, se assemelham ao TGE observado na cicatrização de feridas equinas, assim como o desenvolvimento de feridas crônicas que não cicatrizam (THEORET, 2013; SPARKS, 2021).

Além disso, foi demonstrado que o modelo de cicatrização de feridas em equinos produz apenas um leve desconforto aos indivíduos e, mais importante, não requer eutanásia após a conclusão do estudo, reduzindo e refinando assim o uso de animais na pesquisa, sendo um modelo pré-clínico excepcionalmente perspicaz, devido ao seu tamanho, capaz de proporcionar uma nova compreensão e eficácia no tratamento. Demonstrar a eficácia a cicatrização de feridas em equinos não apenas tem relevância em termos de aplicações médicas veterinárias, mas também pode impulsionar significativamente ensaios clínicos em humanos (HARMAN et al., 2021; SPARKS, 2021).

A pele dos equinos apresenta uma organização semelhante à dos humanos, com epiderme, derme e tecido subcutâneo, além de possuir anexos cutâneos como pelos e glândulas sudoríparas e sebáceas, que desempenham papéis importantes na cicatrização. Além disso, a morfologia da pele, a vascularização e a resposta inflamatória são comparáveis às dos humanos, proporcionando resultados mais relevantes e translacionais para a pesquisa em cicatrização (Figura 3) (HARMAN et al., 2021).

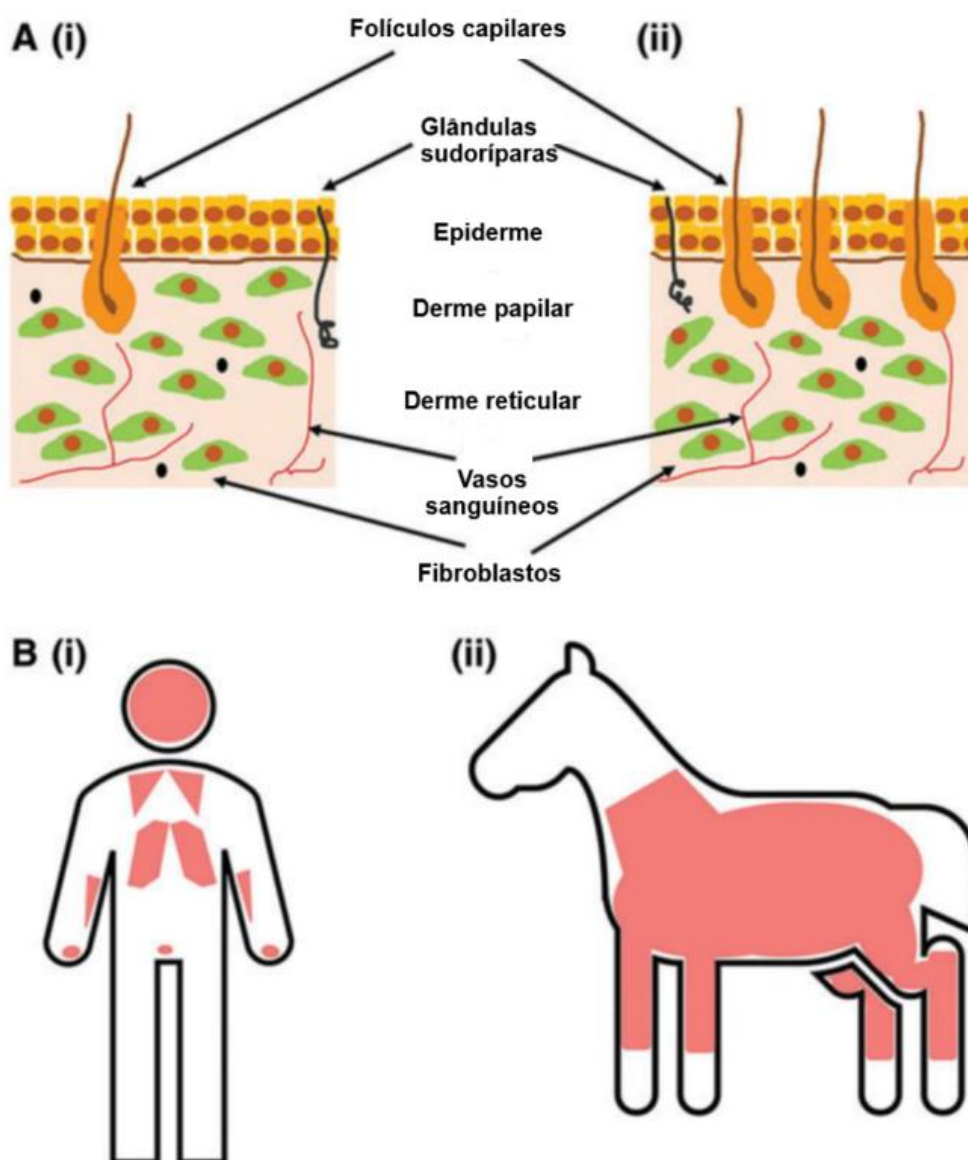


Figura 3. Fisiologia da pele humana e do cavalo. **(A)** Cortes transversais esquemáticos da pele humana **(i)** e do cavalo **(ii)**. Uma diferença principal entre as espécies é a densidade de folículos capilares. **(B)** Distribuição do músculo *panniculus carnosus* em humanos **(i)** e cavalos **(ii)**, adaptado. (HARMAN et al, 2021).

A capacidade dos equinos de desenvolver uma variedade de feridas, incluindo feridas agudas e crônicas, também os torna um modelo útil para estudar diferentes aspectos da cicatrização, como inflamação, proliferação celular, angiogênese, formação de tecido de granulação e remodelação do colágeno (THEORET & WILMINK, 2013). Além disso, a resposta imune pode ser estudada em um contexto mais próximo do ambiente clínico, o que ajuda a prever melhor a eficácia de abordagens terapêuticas em humanos (GERBER et al., 2014).

Em termos de tamanho e manejo, os equinos oferecem vantagens práticas significativas para estudos experimentais em comparação com outros modelos animais, como roedores. Sua pele tem uma área maior, o que permite a criação de feridas de tamanhos mais semelhantes às encontradas em humanos, facilitando a avaliação de tratamentos e intervenções. Além disso, os equinos podem ser manejados e monitorados com relativa facilidade, tornando-os uma opção viável para estudos de longo prazo sobre cicatrização e acompanhamento da resposta ao tratamento ao longo do tempo (HARMAN et al., 2021).

2.13 Termografia Infravermelha

A termografia é uma técnica que utiliza um termógrafo, dispositivo projetado para captar ondas eletromagnéticas na faixa do infravermelho emitidas pela superfície de um corpo. Essa tecnologia permite a criação de um mapeamento bidimensional das variações de temperatura na pele, funcionando como uma medida indireta para avaliar o fluxo sanguíneo em diferentes regiões (WRIGHT et al., 2006; BASILE, 2010).

O calor, sendo uma forma de energia transmitida por essas ondas, pode ser analisado por meio de câmeras termográficas e a temperatura é uma grandeza física que expressa a quantidade de calor presente (BASILE, 2010). Em uma imagem gerada por um termógrafo, é possível visualizar a distribuição da temperatura superficial do corpo, representada por uma escala de cores que geralmente vai do preto (mais frio) ao branco (mais quente) (WRIGHT et al., 2006; BASILE, 2010).

A expressão "imagem térmica" designa a representação gráfica da radiação eletromagnética emitida por uma superfície, que é posteriormente convertida em uma imagem perceptível à visão humana (REDAELLI et al., 2014).

Tecidos lesionados frequentemente apresentam variações na temperatura devido a alterações no fluxo sanguíneo, e isso pode ser observado em imagens térmicas do corpo, o que permite a localização anatômica de anormalidades. A elevação da temperatura superficial está associada ao aumento do aporte sanguíneo local, seja devido a um aumento na atividade metabólica ou a alterações no sistema vascular (TUNLEY & HENSON, 2004). Clinicamente, essa elevação de temperatura está frequentemente relacionada à inflamação e, portanto, é uma resposta secundária a algum tipo de lesão ou injúria. Por outro lado, a redução na temperatura superficial resulta da diminuição da perfusão tecidual, que pode ser causada por desvios

vasculares, trombozes, isquemias ou anomalias no sistema nervoso autônomo (TUNLEY & HENSON, 2004) ou redução no bombeamento sanguíneo secundário (HOFFMANN et al., 2001).

Conforme a Lei de Stefan-Boltzmann, qualquer objeto com temperatura acima do zero absoluto emitirá energia radiante, sendo a quantidade de energia radiante diretamente proporcional à sua temperatura absoluta. Portanto, a aplicação da termografia infravermelha é justificada pela lei termodinâmica que governa a transferência de calor por radiação (REDAELLI et al., 2014; SOROKO & HOWELL, 2018).

Para obter imagens térmicas precisas, é importante seguir alguns cuidados específicos. Isso inclui minimizar a movimentação do animal, reduzir a exposição à radiação solar direta, medir a temperatura ambiente e eliminar possíveis artefatos, como sujeira, poeira ou suor (TURNER, 2001).

A contenção adequada do animal pode ser alcançada com a ajuda de um manejador experiente ou em um espaço de contenção apropriado, como um brete. Para minimizar os efeitos da energia radiante externa, a captura das imagens termográficas deve ser realizada em locais protegidos da luz solar direta. Idealmente, a temperatura ambiente deve estar em torno dos 20°C, embora qualquer temperatura seja aceitável, desde que os animais não estejam suando (TURNER, 2001). Para evitar artefatos na imagem, é possível realizar a escovação da área a ser termografada. No entanto, é importante aguardar aproximadamente 10 minutos após a escovação para permitir a dissipação do calor gerado (SOROKO & MOREL, 2016). Uma distância padrão entre a superfície do equino e a câmera deve ser mantida para todas as imagens, e os equinos devem ter tempo para se acostumarem com o procedimento (FERREIRA, 2019).

A radiação infravermelha emitida pela superfície do corpo do animal abrange comprimentos de onda na faixa de 3 a 50 μm . Essa temperatura corporal é representada por uma imagem colorida no termógrafo, que mostra os valores de temperatura correspondentes. Esse método é não invasivo, pois não requer contato físico com o animal examinado (KADUNC et al., 2020). Um termograma é criado ao converter sinais infravermelhos em imagens pseudocoloridas no espectro visível. Geralmente, os termogramas representam as regiões mais quentes em tons de branco ou vermelho, as áreas de temperatura intermediária em tons de verde e amarelo, e as áreas mais frias em tons de azul e preto (SOROKO & MOREL, 2016).

Os termogramas passam por avaliação visual e são processados por software especializado, que pode extrair informações úteis, como a temperatura média das áreas selecionadas (SILVA et al., 2022). A perfusão sanguínea local é um fator significativo que afeta as variações na temperatura corporal. Áreas do corpo com maior atividade metabólica, como: garupa, cernelha e carúncula lacrimal são objetos de estudos, devido à tendência de apresentarem maiores alterações de temperatura (MOURA et al., 2011; TRINDADE et al., 2019; KADUNC et al., 2020).

A termografia infravermelha tem sido abordada em diversos estudos, incluindo casos em que há aumento do fluxo sanguíneo, atividade metabólica do útero e dos tecidos fetais, podendo ser uma ferramenta valiosa para a detecção de gestação em éguas (DOMINO et al., 2021). As avaliações da região toracolombar e do peso do cavaleiro foram objeto de estudo por parte de Wilk et al. (2020) e Masko et al. (2021). Em um estudo que explorou a correlação entre a termografia infravermelha (TI) e os níveis de lactato sanguíneo, os resultados indicaram que a TI pode ser uma ferramenta complementar às análises de sangue para avaliar como os cavalos de corrida se adaptam ao aumento da carga de trabalho durante o treinamento (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2022). No entanto, a maioria das publicações se concentra em pesquisas relacionadas ao sistema locomotor, abrangendo tanto aspectos fisiológicos quanto patológicos (YANMAZ et al., 2014; TEIXEIRA NETO et al., 2020).

Comparada a outros métodos de diagnóstico por imagem, a termografia infravermelha (TI) é a menos invasiva, pois não faz uso de radiação, materiais radioativos ou ondas ultrassônicas, como ocorre em técnicas convencionais. Pode ser classificada como um método que reflete uma resposta fisiológica, possibilitando a análise em tempo real de alterações ao longo do tempo, gerando uma imagem dinâmica do objeto avaliado. Essa característica constitui uma vantagem significativa em relação a outras modalidades de imagem, como radiografia, tomografia e ressonância magnética, que fornecem apenas representações estáticas (REDAELLI et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília (CEUA/UnB) sob o processo SEI nº 23106.027371/2022-70.

3.1 Animais

O estudo foi realizado no Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília. A seleção englobou seis cavalos saudáveis, compreendendo uma fêmea e cinco machos castrados, provenientes do curral de apreensão da SEAGRI-DF, sem dermatopatias. Todos passaram previamente por exames clínicos, coleta de sangue para hematologia e bioquímica sérica: ureia, creatinina, gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e albumina. Foram vermifugados com pasta oral à base de ivermectina e praziquantel (Padock Plus NF®, CEVA, Paulínia/SP, Brasil) e receberam dose profilática de soro antitetânico (Vencosat®, Vencofarma, Londrina/PR, Brasil) administrado via intramuscular. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais ficaram em baias e/ou piquetes, sendo mantidos durante todo o experimento em boas condições de higiene, com alimentação à base de ração comercial (Nutrina Equinos Premium®, Nutrina Rações e Minerais, Brasília/DF, Brasil), feno de “coastcross” e água à vontade. Durante todo o período experimental, os animais foram avaliados diariamente com aferição das frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), coloração das mucosas aparentes, tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (T°C), motilidade intestinal, atitude e apetite.

3.2 Preparação da pele de tilápia congelada

As peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram fornecidas pela Peixaria Ueda e A Peixaria, ambas localizadas na Quadra 408 Sul, em Brasília/DF. Os peixes, criados até atingirem um peso aproximado de 800 -1000 g, foram sacrificados por meio de atordoamento por choque térmico seguido de sangria. Após o sacrifício, as peles foram cuidadosamente removidas, higienizadas e cortadas de maneira padronizada para o processamento posterior, conforme cita Alves (2015) e Lima-Verde (2021).

Realizou-se um processo de limpeza utilizando água corrente para a remoção de quaisquer impurezas, e os vestígios de tecido muscular foram eliminados com o uso de bisturi e pinças anatômicas (Figura 4A). Suas escamas foram mantidas intactas e foram imersas em solução fisiológica 0,9% (Figura 4B). Após tratadas, foram cuidadosamente acondicionadas em envelope plástico, para serem submetidas a congelamento a temperatura de -20°C (Figura 4C).



Figura 4. Processo de preparo para o congelamento das peles de tilápia. (A) Limpeza e retirada de vestígios de tecido muscular. (B) Limpeza e imersão em solução fisiológica 0,9%. (C) Acondicionamento em sacos plásticos para congelamento.

3.3 Preparação da pele de tilápia e pele de rã esterilizadas

A origem do fornecimento das peles de tilápia e o início do processamento já foi citado anteriormente, na preparação da pele de tilápia congelada.

As peles de rã foram fornecidas pela Ranajax, uma instituição especializada no cultivo da *Rana catesbeiana*, sediada em Anápolis-GO. A Ranajax é unidade especializada no cultivo desta espécie de anuro para produzir produtos e subprodutos de alta qualidade, em conformidade com o "Código de Conduta Responsável para a Sapicultura", documento emitido pela Secretaria de Aquicultura e Pesca da Presidência da República (SEAP/PR) em 2002. A pele foi proveniente de animais sadios abatidos em plantas de processamento industrial inspecionadas pela Agência Federal de Inspeção, que fiscaliza a carne e os subprodutos, incluindo a pele. Sapos pesando aproximadamente 180 g foram sacrificados humanamente na fazenda de rãs, e a pele, incluindo a do corpo e extremidades foi removida.

As peles foram então divididas longitudinalmente em sublotes de 1 kg, armazenados a 2°C. Após aquisição das peles e processo de limpeza, como citados anteriormente, realizou-se a secagem destas utilizando um desidratador. Para isto, placas de metal limpas com água e sabão neutro receberam uma camada de óleo de

peixe ou rã que proporcionou hidratação necessária às peles. Em um ambiente controlado, as placas foram expostas a temperatura de 28°C, durante 45 minutos, para permitir que as peles se soltassem das placas. Após essa fase, as peles passaram por um processo de resfriamento antes de serem embaladas em papel grau cirúrgico, que foi selado e encaminhado para esterilização com raios gama Co-60 (energia gama de aproximadamente 1,25 MeV), em um irradiador Gammacell GC220 irradiador MDS Nordion (Canadá), a uma taxa de dose de aproximadamente 1,44kGy/h, com uma dose total de 25kGy. A esterilização ocorreu no Laboratório de Radiação Gama (GAMALAB), do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco – Recife/PE (Figura 5). O mesmo procedimento ocorreu com as peles de tilápia.



Figura 5. Pele de rã embalada em papel cirúrgico, esterilizada por raios gama.

3.4 Realização das feridas

Os equinos foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 6 horas. A tranquilização foi realizada utilizando cloridrato de xilazina a 10% (Equisedan®, J.A. Saúde Animal, Patrocínio Paulista/SP, Brasil), na dosagem de 1mg/kg, via intravenosa. Realizou-se tricotomia em ambos os lados da região toracolombar, cranial a tuberosidade coxal e ventral aos processos transversos das vértebras lombares L1-L6, e antissepsia com iodopovidona degermante e álcool 70% (Figura 6A). Logo após, foi desenhado o molde com auxílio de caneta cirúrgica à base de violeta e realizada a medição com régua estéril (Figura 6B), e realizado anestesia local infiltrativa com lidocaína 2% sem vasoconstritor (Cloridrato de lidocaína 2%®, Hipolabor Farmacêutica, Belo Horizonte/MG, Brasil). Em ambos os lados da região

toracolombar, cranial ao sacro e ventral ao processo transversal das vértebras lombares (L1-L6), foi realizada incisão de pele, com auxílio de bisturi com lâmina nº 24, com retirada de quatro retalhos cutâneos, no formato quadrado, com 3 cm de cada lado, espaçados a 5 cm cada um. Todas as feridas foram confeccionadas utilizando-se um molde de material esterilizável, quadrangular de 3 cm, para a remoção do fragmento de pele. A profundidade das incisões incluiu pele e tecido subcutâneo, deixando evidente a fáscia da musculatura (Figura 6C).



Figura 6. Realização das feridas cutâneas nos equinos: (A) Antissepsia do local; (B) Marcação dos moldes; (C) Incisão no formato quadrado de 3cm de lado e feridas realizadas.

3.5 Tratamentos

Os animais foram escolhidos aleatoriamente para as avaliações macro e microscópicas, em três cavalos o lado direito foi utilizado para avaliação clínica da ferida e o lado esquerdo para avaliação microscópica, sendo que nos outros três animais, realizou-se o procedimento inverso. A randomização foi realizada utilizando um dado para garantir a alocação imparcial dos tratamentos. Para cada animal, os números do dado foram previamente atribuídos para representar o lado esquerdo e o lado direito. O lado a ser tratado com cada intervenção foi determinado pelo resultado do lançamento do dado. Para a distribuição dos grupos experimentais em suas respectivas posições, foi empregada a mesma estratégia, utilizando o dado para definir a sequência de alocação.

Os tratamentos das feridas foram escolhidos aleatoriamente. As feridas do grupo controle (GC) foram tratadas com a solução de ringer lactato e curativo com duas gazes sobrepostas e esparadrapo. No momento de se aplicar a pele na ferida, a pele de tilápia congelada era retirada do congelador e deixada imersa em solução de ringer lactato com 0,2% de clorexidine, por 20 minutos, para remover qualquer

sujidade, assim como descrito por Silva et al. (2019). Depois foi lavada com solução de ringer lactato e secada em compressa estéril, cortando-a do tamanho da ferida. Realizou-se bandagem da ferida com gaze, esparadrapos e atadura. No momento da aplicação da pele de tilápia ou de rã esterilizadas, se abria a embalagem estéril, cortava-se os quadrados do tamanho da ferida, deixando-as imersas em solução de ringer lactato por 2 minutos, sendo secas em compressa estéril e aplicada na ferida, realizando-se a bandagem com gaze e esparadrapo.

Nos GPR, GPTE e GPTC, o curativo foi realizado todos os dias até o D7 trocando-se as peles e depois do D7, a troca somente era realizada quando a pele se desprendia da região da ferida ou quando a ferida estava com exsudato. Todas as feridas foram limpas com solução de ringer lactato.

O curativo consistiu na aplicação de duas gazes sobrepostas, fixadas por esparadrapo (três fitas posicionadas verticais entre cada grupo, uma cranial e outra caudal as feridas e outras duas na posição dorsal e ventral a cada uma delas) (Figura 7A), gazes percorrendo o dorso para evitar que o esparadrapo não grudasse aos pelos e provocasse dor e incômodo ao animal ao serem retirados e complementadas pela aplicação de ataduras, as quais foram dispostas de modo a cobrir integralmente a região dorsal e abdominal dos animais (Figura 7B).

Todos os seis equinos receberam fenilbutazona (Equipalazone®, CEVA, Paulínia/SP, Brasil) na dose de 4,4 mg/kg, SID e dipirona (D-500®, Zoetis, Campinas/SP, Brasil) na dose de 25mg/kg, BID, via intravenosa imediatamente no pós-cirúrgico e durante três dias, para controle de dor e edema.



Figura 7. (A) Disposição dos esparadrapos e gazes utilizados no curativo (B) Feridas recobertas por atadura.

3.6 Avaliação clínica e fotográfica das feridas

Foram realizadas avaliações clínicas e fotográficas no dia da intervenção cirúrgica (D0) e posteriormente no terceiro (D3), sétimo (D7), décimo quarto (D14), vigésimo primeiro (D21) e vigésimo oitavo (D28) dias. No decorrer da avaliação clínica, foram observados: edema, hiperemia, hemorragia local, formação de crosta, formação de coágulo, natureza e quantidade de exsudato, desenvolvimento de tecido de granulação e processo de epitelização. Através da observação fotográfica, utilizando-se réguas (Figura 8), para identificar a data da avaliação, o nome do animal, o lado da ferida no dorso e o grupo de tratamento correspondente, foram realizadas análises objetivas das seguintes medidas: determinação da área da ferida e a taxa de contração. A determinação da área da ferida foi realizada usando o Software Image J (Wayne Rasband National Institutes of Health, EUA). O grau de contração foi calculado conforme a fórmula proposta por Ramsey et al. (1995): taxa de contração (%) = $100 \times (F0 - FA)/F0$, onde F0 representa a área original da ferida imediatamente após sua produção e FA representa a área da ferida no tempo de avaliação (0, 3, 7, 14, 21 ou 28 dias) expresso em porcentagem.



Figura 8. Avaliação fotográfica com uso de régua de identificação.

3.7 Avaliação histopatológica

A avaliação histológica foi realizada no dia da cirurgia (D0) e nos dias (D3), (D7), (D14), (D21) e (D28), retirando-se fragmentos abrangendo os limites da ferida e tecido íntegro, utilizando-se um punch de 6 mm de diâmetro, realizando-se um botão anestésico previamente, com 1mL de lidocaína a 2%, sem vasoconstritor (Cloridrato de lidocaína 2%®, Hipolabor Farmacêutica, Belo Horizonte/MG, Brasil). Os fragmentos foram retirados centralizados em sentido horário, evitando-se áreas previamente submetidas a procedimentos de biópsia. Após a remoção, os fragmentos foram imersos em frascos contendo formol a 10%, e encaminhados ao laboratório de

Patologia Veterinária da Universidade de Brasília, onde foram removidos para álcool 70%, corados com hematoxilina e eosina, sendo confeccionadas lâminas. Na análise microscópica avaliou-se a inflamação: relação de neutrófilos, eosinófilos e monócitos; proliferação celular: fibroblastos e neovascularização, e presença de úlceras e hemorragia, comparando-se os tratamentos. Objetivando-se padronizar os parâmetros avaliados, foi instituída uma escala para avaliar os aspectos de inflamação e proliferação, sendo (-) raros ou ausentes, (+) discreto, (++) moderado e (+++) acentuado.

A avaliação da dor foi realizada por meio da observação dos animais no brete e seu comportamento, considerando parâmetros como postura, movimentação, expressão facial, reatividade durante a realização da limpeza, no curativo.

3.8 Avaliação termográfica

O registro da imagem termográfica de cada ferida dos animais foi realizado no dia da cirurgia (D0) e nos dias (D3), (D7), (D14), (D21) e (D28), do lado da avaliação clínica, com o objetivo de detectar algum aumento de temperatura local, condizente com um processo inflamatório e correlacionar esses achados juntamente com os laboratoriais. Foi utilizado um termógrafo modelo T420 (FLIR®) e o software FlirTools com resolução de 320 x 240 pixels, sensibilidade térmica de 0,04°C e faixa de captura de temperaturas entre -20°C e 650°C.

A demarcação das áreas para registro das temperaturas de interesse, foram feitas com uso do software Flir Tools® (v5.13, FLIR Systems) por meio das ferramentas elipse (ellipse measurement) e caixa (box measurement). As áreas de temperaturas medidas foram: dentro da ferida, em volta da ferida e na borda da ferida (Figura 9). Foram realizados três registros de cada região, sendo escolhido para a análise o com melhor definição e nitidez.

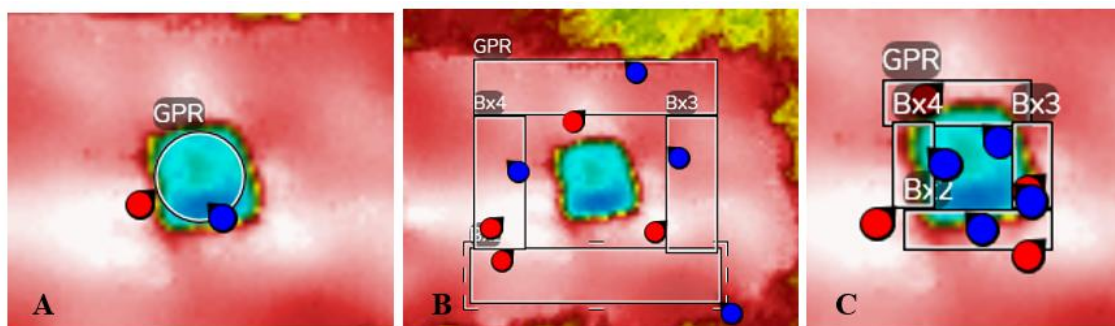


Figura 9. Avaliação termográfica dentro da ferida (A), em volta da ferida (B) e na borda da ferida (C).

Para se obter imagens térmicas confiáveis, foram observados alguns cuidados como a contenção mínima do animal, restrição da energia radiante externa, mensuração da temperatura ambiente e a remoção de artefatos, como serragem, lama, poeira ou suor. A contenção foi realizada em um brete, que para ter efeitos reduzidos da energia radiante, em área de sombra, protegida de correntes de ar, assim como descrito por TURNER (2001). Foi padronizada a avaliação termográfica, sempre no período da manhã, até as 10 horas, para que a temperatura ambiente estivesse na faixa dos 20°C. Antes da realização das feridas cirúrgicas, a fim de se evitar artefatos na imagem, foi realizada escovação do dorso do animal, cronometrado 10 minutos sem qualquer intervenção sobre o animal, visando a estabilização do calor transitório gerado pela escovação, conforme indicação de SOROKO & HOWELL (2018), assim como as imagens térmicas, que foram obtidas em seguida, considerando a distância de 1 m entre a câmera e as feridas, em um ângulo perpendicular (90°) à região alvo.

Nas mensurações pós-operatórias, 10 minutos antes da realização das imagens térmicas a bandagem foi removida, com a retirada manual de debris não aderidos sem causar sangramento para avaliação termográfica.

3.9 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, considerando o dia de experimento e o tratamento (GC, GPR, GPTE e GPTC) como variáveis fixas. Para destacar diferenças significativas, foram conduzidos testes de Wilcoxon em pares. Todas as análises foram executadas no software SAS (v9.4, Cary, Carolina do Norte), adotando um nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação física e macroscópica das feridas

Em todo período experimental, os animais não apresentaram alterações na avaliação física, nos parâmetros de FC, FR, TPC, T°C, motilidade e atitude, que pudessem ser associadas às feridas cirúrgicas. Durante a realização das feridas e biópsias, as variáveis cardiorrespiratórias mantiveram-se estáveis durante todo o procedimento, sugerindo que o bloqueio anestésico foi satisfatório, pois sinais de estímulo simpático, como taquicardia ou taquipnéia, não foram evidenciadas. Paralelamente, durante a realização do procedimento, não ocorreram alterações comportamentais que pudessem ser sugestivas de sensação dolorosa, sendo possível a observação de que todos os animais apresentaram-se pouco reativos ao ambiente, com comportamento calmo e tendência à sonolência.

Do primeiro ao sétimo dia as feridas apresentaram edema e sensibilidade, e os animais ficaram mais reativos para realizar os curativos, no entanto os parâmetros se mantiveram dentro da normalidade estabelecida para a espécie equina. Durante a realização das biópsias, os animais não apresentaram dor durante o procedimento, mas tinham mais reatividade ao toque nas regiões periféricas nos primeiros 7 dias, mesmo com a utilização da fenilbutazona no pós-operatório.

Na avaliação macroscópica das feridas observou-se nos primeiros 7 dias, sangramento, coágulos, exsudato e crostas, em todas as feridas de todos os grupos, sendo mais evidentes em GPTC. Foi observado que o processo inflamatório agudo se evidenciou até o D7, demonstrando-se macroscopicamente com a expansão da ferida, formação de tecido de granulação, exsudato, edema, calor e sensibilidade. O tecido de granulação foi notado no D7, em todos os grupos e o tecido de epitelação a partir do D14 iniciando a redução no tamanho da ferida, porém no GPTC com mais retardo. No D28 observou-se mais de 80% de cicatrização das feridas e maior área de tecido de epitelação (Figura 10).

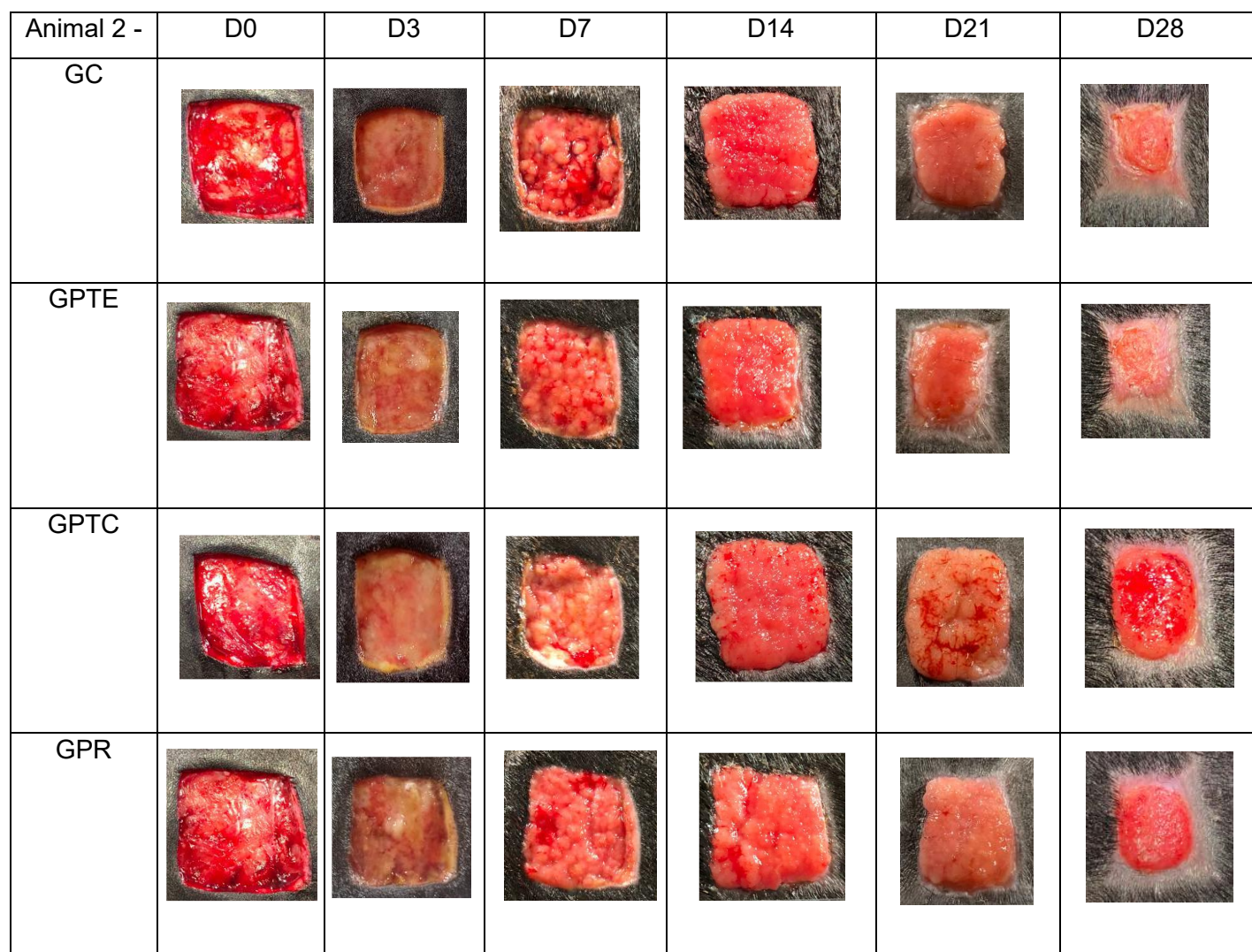


Figura 10. Imagens fotográficas das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28), no Animal 2.

4.2 Área da ferida e taxa de contração

Em relação a área da ferida, observou-se aumento não significativo no D7 no GC e GPTC, e o GPTC apresentou a maior área no D14, em comparação ao GC. Em relação ao tempo, todos os grupos apresentaram diminuição significativa da área da ferida em relação ao D0, a partir do D14 (Tabela 1).

Tabela 1. Tabela estatística da média e desvio padrão da área das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de rã (GPR), grupo pele de tilápia congelada (GPTC) e grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Área da ferida							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	10,38a	1,26	10,91a	1,85	10,74a	1,33	10,34a	1,57
3	9,32a	2,39	9,90a	2,04	10,16a	1,81	9,19a	1,39
7	10,51a	2,70	10,79a	2,68	12,63a	2,96	10,19a	2,11
14	3,7bA	1,14	4,69bAB	1,06	6,50bB	1,32	4,28bAB	1,03
21	1,39bc	0,89	2,15c	0,86	3,75c	1,43	1,84bc	0,85
28	0,52c	0,45	1,07c	0,89	2,37c	0,51	0,95c	0,58

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observou-se efeito negativo na taxa de contração devido aumento da área da ferida no D7 no GC e GPTC e diferença significativa da taxa de contração da ferida, em todos os grupos, a partir do D14. O GPTC apresentou menor taxa de contração significativa em relação ao GC nos D14 e D21. Apesar de não haver diferença significativa, o GC apresentou maior taxa de contração a partir de D14, seguido do GPTE, GPR e GPTC (Tabela 2).

Tabela 2. Tabela estatística da média e desvio padrão da taxa de contração das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de rã (GPR), grupo pele de tilápia congelada (GPTC) e grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Taxa de contração							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
3	10,68a	18,06	8,99a	13,54	5,57b	10,90	10,62a	9,57
7	-0,42a	18,37	1,70a	17,70	-16,36a	15,19	2,21a	6,76
14	64,44bB	9,92	57,19bAB	6,43	39,78cA	7,61	58,55bAB	7,87
21	86,55cB	8,23	80,30cAB	7,23	65,23dA	11,54	82,31dAB	7,23
28	94,98c	4,23	89,99c	8,40	77,85d	4,63	91,26d	4,94

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.3 Avaliação histopatológica

4.3.1 Polimorfonucleares

Na avaliação histopatológica todos os dados foram contabilizados e analisados pelo Laboratório de Patologia Veterinária da UnB, por meio de microscopia com a realização de microfotografias, e análise quantitativa dos dados.

Na avaliação da inflamação, observou-se aumento significativo de PMNs em todos os grupos no D3, permanecendo aumentado no D7 no GC, e até D28 no GPTC. O GPTC apresentou aumento significativo de PMNs, em relação aos outros grupos no D3 e D28, ao GPR e GPTE no D7 e D14 (Tabela 3) (Figura 11 a 13).

Tabela 3. Média e desvio padrão da inflamação PMNs dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã, nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Polimorfonucleares							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
3	2,00bA	155	2,00bA	0,63	3,00cB	0,00	2,16bAB	0,75
7	2,00bB	0,63	1,00abA	0,63	2,17bcB	0,41	0,83aA	0,41
14	1,00abAB	0,63	0,33aA	0,52	1,83bB	0,41	0,83aA	0,75
21	0,67a	0,52	0,33a	0,52	1,16b	0,75	0,83a	0,52
28	0,00aA	0,00	0,50aAB	0,55	1,16bB	0,98	0,00aA	0,00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). $P = 0,045$ – Interação: Tempo x TTO

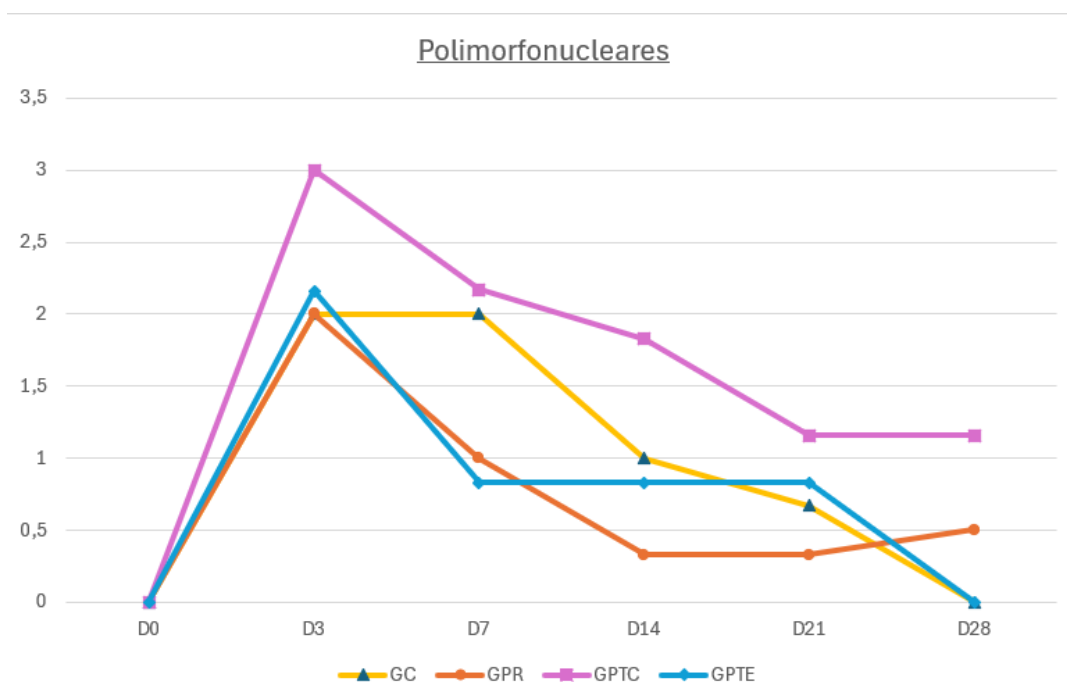


Figura 11: Média de PMNs dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã, nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

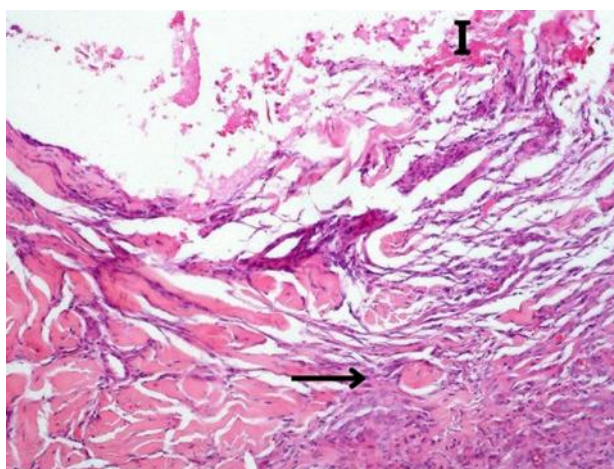


Figura 12. Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) no D7, com inflamação mínima (Letra I) e discreta fibroplasia (início de cicatrização representado pela seta preta). HE, objetiva de 10x. Animal 4

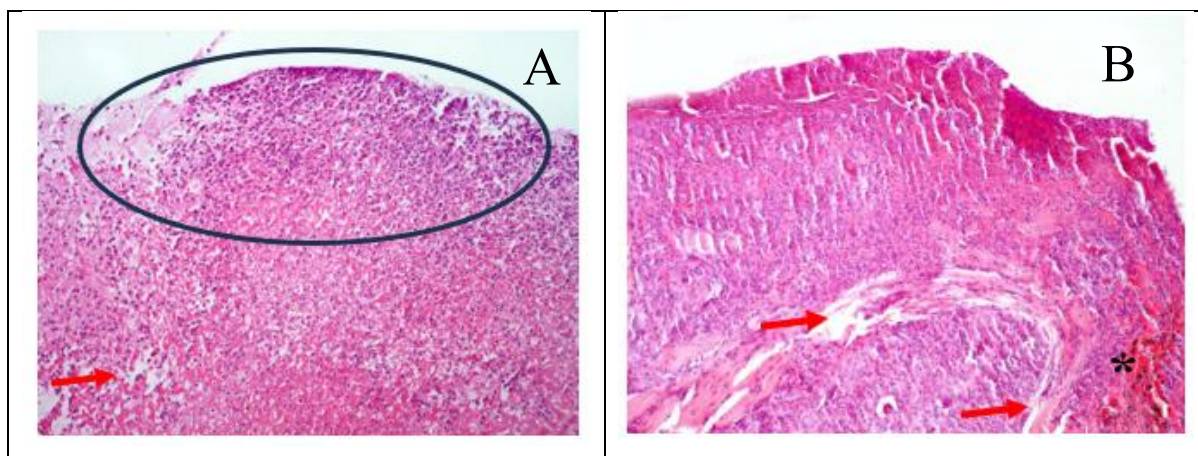


Figura 13. Imagem histológica da ferida do grupo controle (GC) (A) e do grupo pele de tilápia congelada (GPTC) (B) no D7, com inflamação de polimorfonuclear intensa com debris celulares (círculo preto), hemorragia (*) e edema (setas vermelhas). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

4.3.2 Avaliação dos monócitos

Na avaliação dos monócitos houve aumento significativo no GPR a partir do D14, no GPTE a partir do D21, no D21 no GC e no D28 no GPTC. Observou-se diferença entre os grupos. O GPR apresentou a maior média em relação aos outros grupos no D14, e o GPTC e o GC apresentaram as menores médias nos D21 e D28 respectivamente (Tabela 4) (Figura 14 e 15).

Tabela 4. Média e desvio padrão de monócitos das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Monócitos							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
3	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
7	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,16a	0,41	0,00a	0,00
14	0,33abAB	0,52	0,66 bB	0,52	0,00aA	0,00	0,16abA	0,41
21	0,83 bB	0,41	0,83 bB	0,41	0,16a A	0,41	0,66 bcB	0,52
28	0,33ab A	0,52	0,83 bB	0,41	0,83 bB	0,75	1,00 cB	0,00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A,B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). $p = 0,033$ Tempo x Tratamento

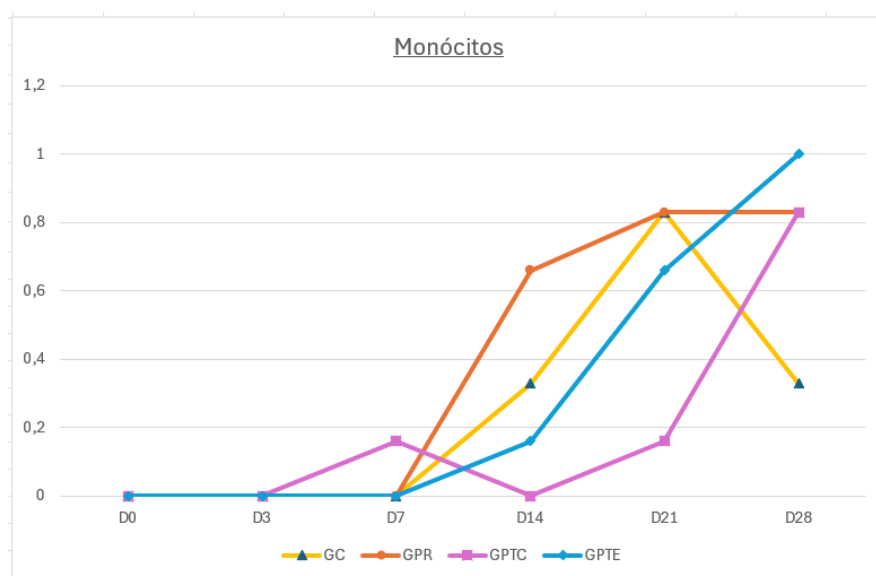


Figura 14: Média de monócitos das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

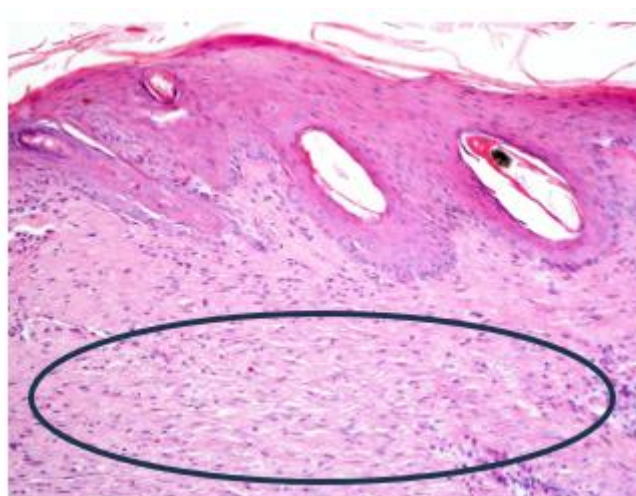


Figura 15. Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) no D28, com fibroplasia intensa, com neovascularização e infiltrado inflamatório mononuclear discreto (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

4.3.3 Edema

Em relação ao edema observou-se aumento significativo no D3 em todos os grupos, mantendo-se elevado até D14 no GC e até D21 no GPTC. Observou-se

menor edema no GPR no dia D3 em relação ao GPTC, no D7 no GPR e GPTE em relação ao GC e GPTC e maior edema no GPTC em relação ao GPR e GPTE no D14 e em relação a todos os outros grupos no D21 (Tabela 5) (Figura 16).

Tabela 5. Média e desvio padrão do edema das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Edema							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
3	2,33 ^c AB	0,82	2,00 ^b A	0,00	2,83 ^c B	0,41	2,16 ^b AB	0,41
7	2,00 ^c B	0,89	0,50 ^a A	0,55	1,66 ^b B	0,52	0,66 ^a A	0,82
14	0,83 ^b AB	0,75	0,33 ^a A	0,82	1,50 ^b B	0,55	0,50 ^a A	0,55
21	0,00 ^a A	0,00	0,16 ^a A	0,41	1,33 ^b B	0,52	0,00 ^a A	0,00
28	0,00a	0,00	0,16a	0,41	0,50a	0,55	0,00a	0,00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). $P = 0,0002$ Tempo x Tratamento

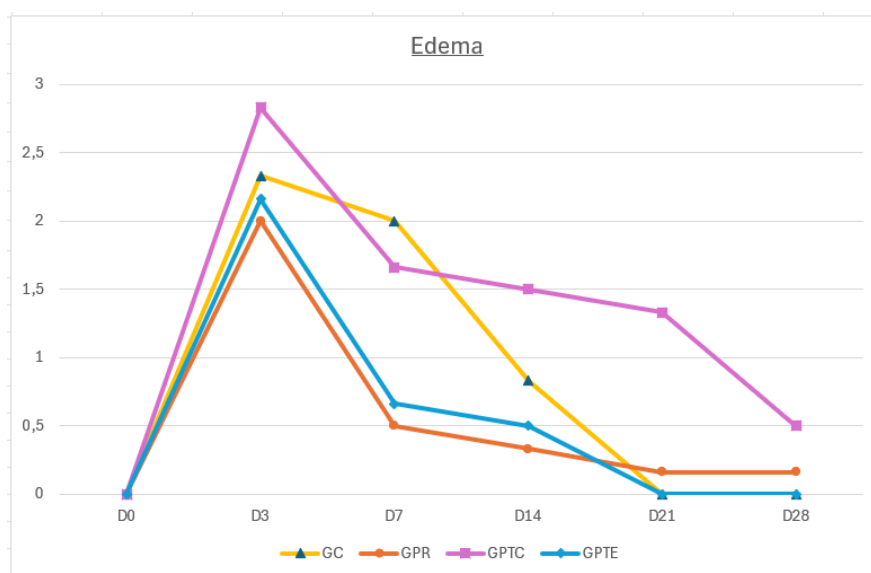


Figura 16: Média do edema das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

4.3.4 Hemorragia

Observou-se hemorragia apenas nos primeiros 7 dias em todos os grupos, se estendendo até o D14 no GC e GPTC. No D3 observou-se menor hemorragia significativa no GPR em comparação com o GC e GPTC, e no D14 no GPR e GPTE (Tabela 6) (Figura 17).

Tabela 6. Média e desvio padrão da avaliação da hemorragia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Hemorragia							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
3	1,50cB	0,55	0,83bA	0,75	1,50bB	0,55	1,16bAB	0,41
7	0,16a	0,41	0,16a	0,41	0,00a	0,00	0,16a	0,41
14	0,83bB	0,41	0,00aA	0,00	0,33aAB	0,52	0,00aA	0,00
21	0,00a	0,00	0,16a	0,41	0,16a	0,41	0,00a	0,00
28	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

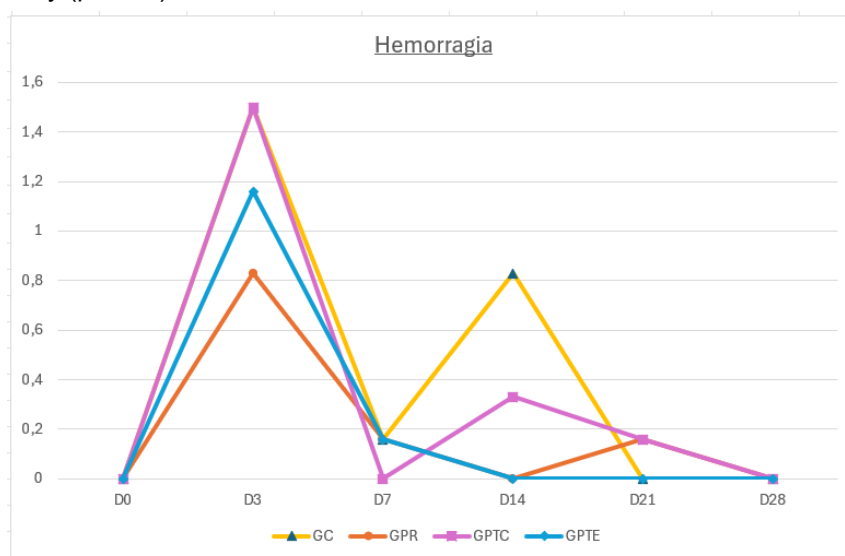


Figura 17: Média da avaliação da hemorragia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

4.3.5 Neovascularização

Em relação a neovascularização, observou-se aumento significativo em todos os grupos a partir do D7 (Tabela 7) (Figura 18 e 19).

Tabela 7. Média e desvio padrão da neovascularização das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Neovascularização							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0.00a	0.00	0.00a	0.00	0.00a	0.00	0.00a	0.00
3	0.00a	0.00	0.00a	0.00	0.00a	0.00	0.00a	0.00
7	1.33b	1.03	1.66b	0.52	0.83b	0.75	1.33b	0.82
14	1.66b	0.52	1.50b	0.55	2.00d	0.63	1.66b	0.52
21	1.16b	0.41	1.16b	0.41	1.66cd	0.52	1.16b	0.41
28	1.00b	0.00	1.16b	0.41	1.16bc	0.41	1.00b	0.00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). $P < 0.0001$ Efeito de Tempo

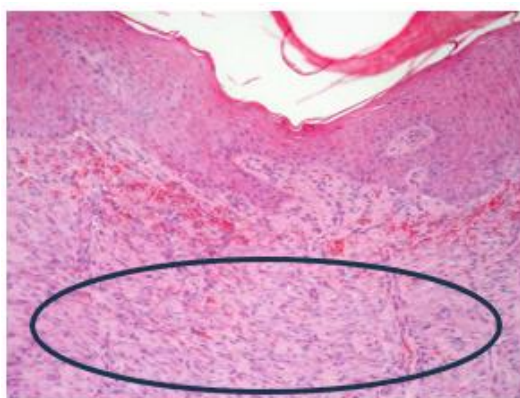


Figura 18. Imagem histológica da ferida do grupo controle (GC) no D28, com intensa fibroplasia com discreta neovascularização (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

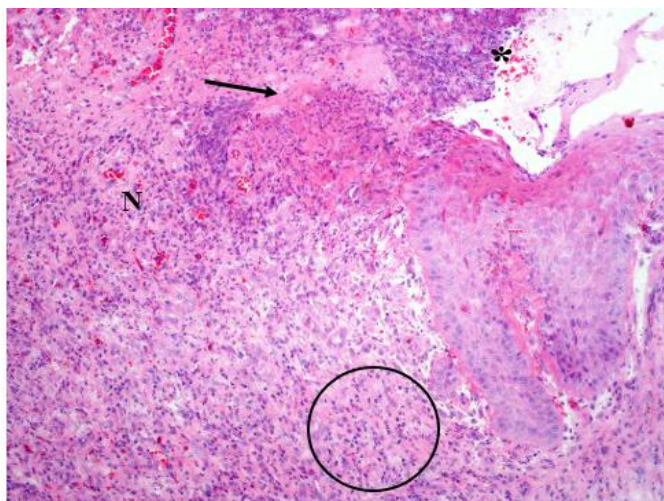


Figura 19. Imagem histológica da ferida do grupo pele de tilápia congelada (GPTC) no D28, apresentando inflamação de polimorfonuclear intensa (representado pela seta preta) com discreta fibroplasia (círculo), neovascularização (representado pela letra N) e hemorragia (*). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

4.3.6 Avaliação da fibroplasia

Na fase proliferativa do processo de cicatrização, observou-se (Tabela 8) aumento significativo da fibroplasia em todos os grupos a partir de D7, e maior taxa de fibroplasia no GPR no D7 e D14 em relação ao GC e GPTC, e menor taxa de fibroplasia no GPTC em relação a todos outros grupos nos dias D14 a D28.

O GPTC apresentou no D28 inflamação com presença intensa de PMNs, discreta fibroplasia, neovascularização e hemorragia (Figura 20 a 22).

Tabela 8. Média e desvio padrão da fibroplasia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28). ($p < 0.0001$ Tempo x Tratamento)

Tempo	Fibroplasia							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
3	0,00a	0,00	0,16a	0,41	0,00a	0,00	0,00a	0,00
7	0,66bA	0,52	1,50bB	0,55	0,66bA	0,52	1,00bAB	0,63
14	2,16cB	0,75	2,83cC	0,41	1,00bA	0,00	2,50cBC	0,55
21	3,00dB	0,00	3,00cB	0,00	1,83cA	0,41	2,83cB	0,41
28	3,00dB	0,00	3,00cB	0,00	2,00cA	0,63	3,00cB	0,00

a,b,c, Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

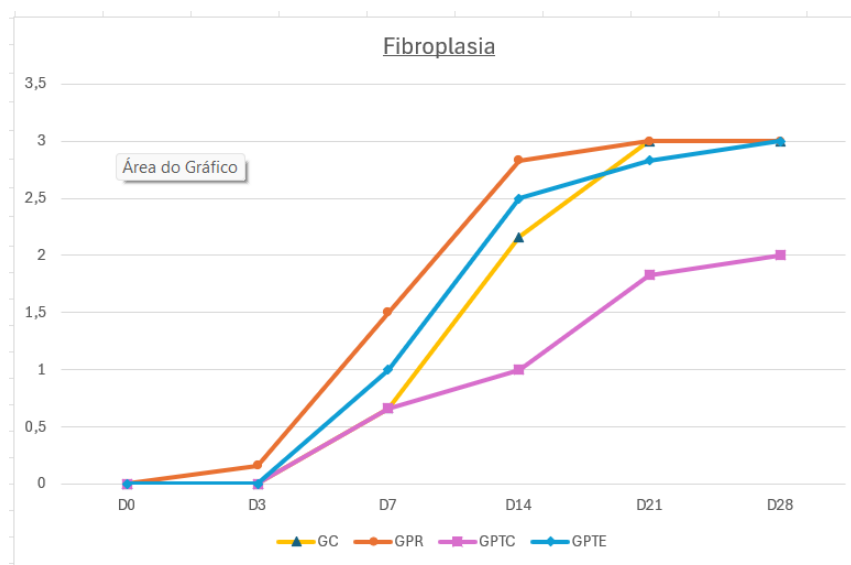


Figura 20: Média da fibroplasia das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

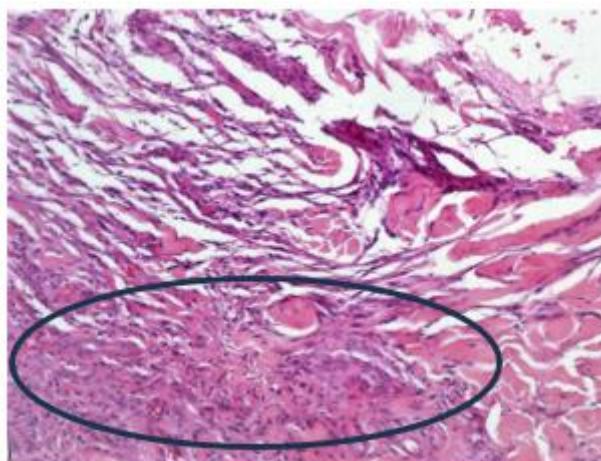


Figura 21. Imagem histológica da ferida do grupo pele de rã (GPR) no D7, apresentando inflamação mínima com discreta fibroplasia (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

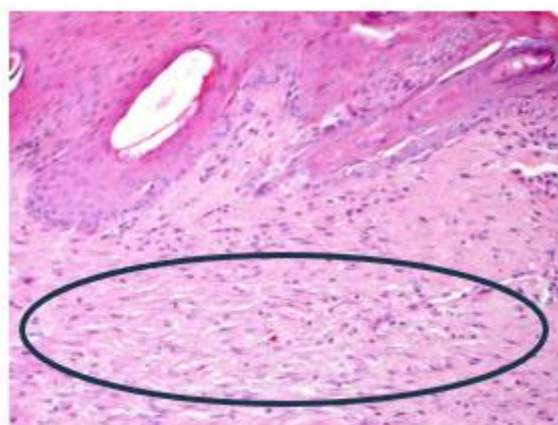


Figura 22. Imagem histológica da ferida do grupo pele de rã (GPR) no D28, com fibroplasia intensa com neovascularização e infiltrado mononuclear discretos (círculo). HE, objetiva de 10x. Animal 4.

4.4 Avaliação termográfica

Na termografia, foram realizadas três avaliações em locais distintos: dentro da ferida, na borda da ferida e em volta da ferida.

4.4.1. Avaliação termográfica dentro da ferida

Na avaliação termográfica dentro das feridas não houve diferença significativa entre os grupos analisados, com aumento significativo em todos os grupos entre D3 e D7, persistindo até D14 no GPTC, e até D28 no GPTE (Tabela 9) (Figuras 23 a 26).

Tabela 9. Média e desvio padrão da temperatura dentro das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Temperatura dentro das feridas							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	31,23a	1,42	31,21a	1,55	30,95a	1,49	31,21a	1,25
3	34,08b	1,08	34,53b	1,15	34,20c	0,96	34,51c	0,77
7	34,65b	0,76	34,50b	0,92	34,96c	1,24	34,23c	1,28
14	31,63a	1,17	31,85a	1,17	32,10b	1,41	32,13ab	2,18
21	32,63ab	1,63	32,05a	1,31	32,08ab	1,77	32,40b	0,85
28	33,46ab	2,45	32,60a	1,90	31,91ab	1,74	33,28bc	1,92

a, b, c Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferenças significativas ($P < 0,05$) no teste de Tukey.

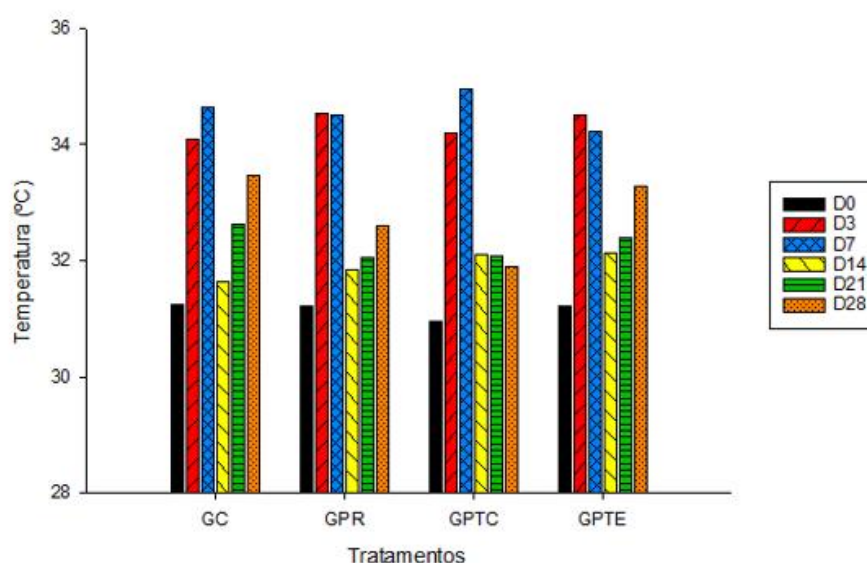


Figura 23. Temperatura avaliada com termógrafo, na região interna das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.

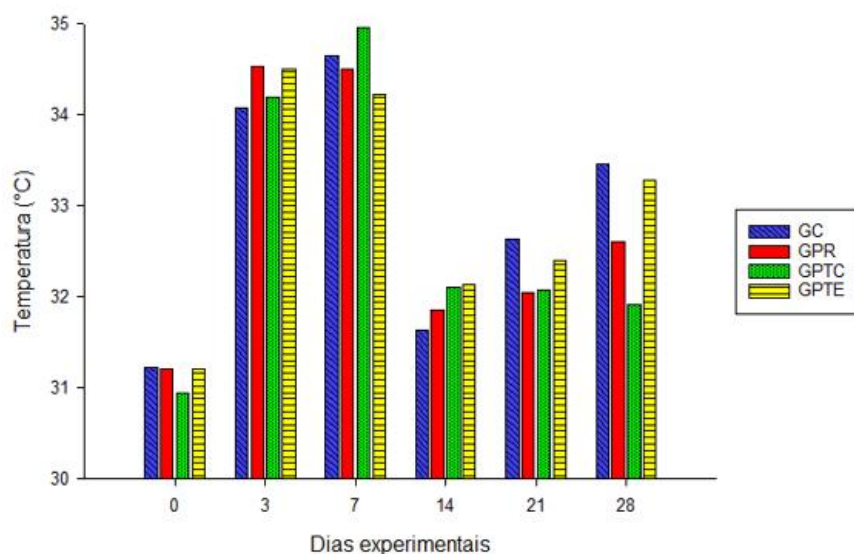


Figura 24. Temperatura avaliada com termógrafo, dentro das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.

Animal 3 -	D0	D3	D7	D14	D21	D28
GC						
GPTE						
GPTC						
GPR						

Figura 25. Imagem termográfica na região interna das feridas do Grupo controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.

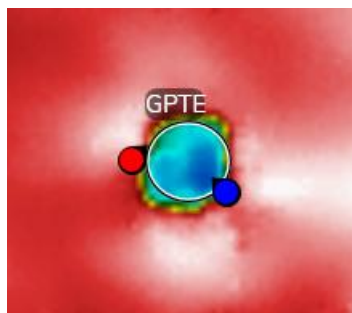


Figura 26. Imagem termográfica na região interna das feridas do Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), no dia 14 (D14), do Animal 3.

4.4.2. Avaliação termográfica na borda da ferida

Na avaliação termográfica na borda das feridas não houve diferença significativa entre os grupos analisados, com aumento significativo em todos os grupos entre D3 e D7 (Tabela 10) (Figura 27 a 29).

Tabela 10. Média e desvio padrão da temperatura na borda das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Temperatura na borda das feridas							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	31,92a	1,09	31,85a	1,12	31,98a	1,13	31,88a	1,08
3	35,71b	0,99	35,93b	0,79	35,98b	0,75	35,90b	0,97
7	36,07b	0,73	35,80b	0,92	35,91b	0,97	35,75b	1,03
14	34,45ab	1,46	34,72ab	1,76	34,68ab	1,41	34,61ab	1,69
21	34,66ab	1,40	34,75ab	1,39	34,69ab	1,37	34,90ab	1,02
28	34,21a	2,65	33,84ab	2,04	33,92ab	2,24	34,16ab	1,96

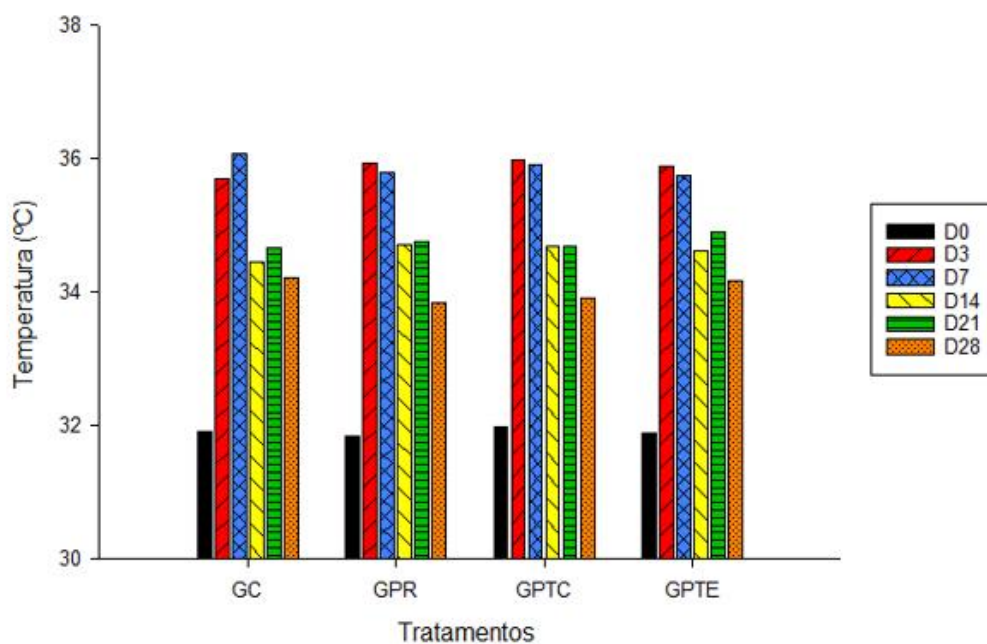


Figura 27. Temperatura avaliada com termógrafo, na borda das feridas, entre os grupos GC, GPR, GPTC e GPTE, de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28.

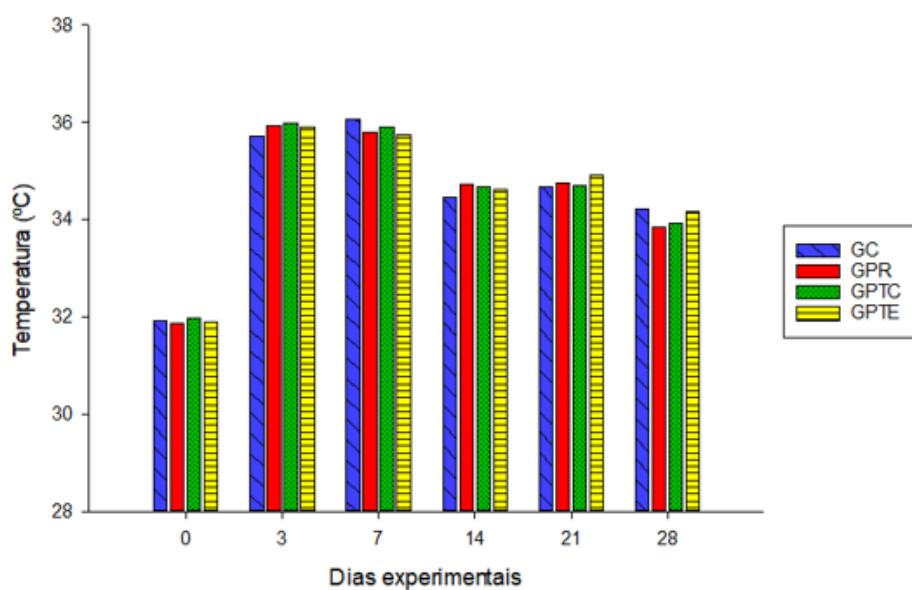


Figura 28. Comparação dos grupos GC, GPR, GPTC e GPTE de acordo com os dias de tratamento analisados D0, D3, D7, D14, D21 e D28, com diferença de temperatura na borda da ferida.

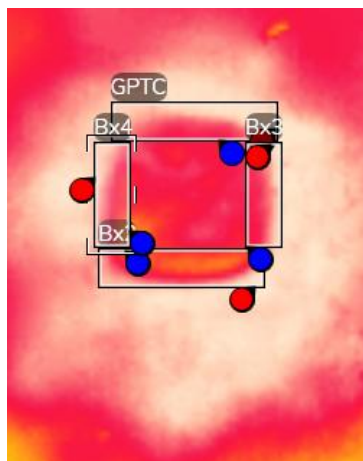


Figura 29. Imagem termográfica na região da borda da ferida do Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), no dia 07 (D07), do Animal 6.

4.4.3. Avaliação termográfica em volta da ferida

Na avaliação termográfica em volta das feridas não houve diferença significativa entre os grupos analisados, com aumento não significativo em todos os grupos no D3 e redução a partir de D7 (Tabela 11, Figura 30).

Tabela 11. Média e desvio padrão da temperatura em volta das feridas dos grupos controle (GC), grupo pele de tilápia congelada (GPTC), grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE) e grupo pele de rã (GPR), nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21), 28 (D28).

Tempo	Temperatura em volta das feridas							
	GC		GPR		GPTC		GPTE	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	33,71	1,15	33,94	1,24	33,50	1,01	33,74	1,12
3	35,96	1,61	36,45	1,05	36,66	0,95	36,35	1,13
7	36,35	1,00	36,11	1,14	36,52	0,77	36,20	1,02
14	34,98	2,07	35,03	1,98	34,90	1,91	34,45	2,40
21	34,99	2,07	35,95	1,34	35,98	1,22	35,29	2,08
28	34,19	2,88	34,73	2,15	34,77	2,45	34,36	2,33

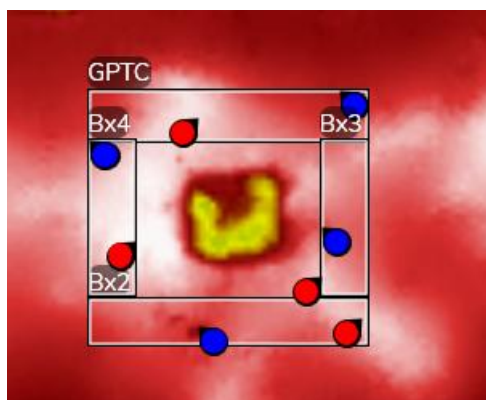


Figura 30. Imagem termográfica na região em volta da ferida do Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), no dia 14 (D14), do Animal 5.

5. DISCUSSÃO

Em equinos, muitas são as opções adotadas para o tratamento de feridas e a cicatrização por segunda intenção é indicada em função do tempo decorrido, do grau de contaminação e da perda de tecido lesado (HUSSNI et al., 2004).

As feridas clínicas apresentam uma ampla diversidade, o que impacta diretamente as taxas e os padrões de cicatrização, influenciados por fatores relacionados tanto à ferida quanto ao paciente, além do estágio de cicatrização. Elementos como localização, profundidade, dimensão, carga bacteriana e diversidade microbiana da ferida afetam o processo de cicatrização. No que diz respeito ao paciente, aspectos como idade e estado físico podem provocar variações. Além disso, o tempo de existência da ferida também interfere na velocidade da recuperação (BJARNSHOLT et al., 2008, WILMINK et al., 2020)

Segundo Madison & Gronwall (1992), o formato da ferida não interfere no tempo de cicatrização em equinos, mas a padronização é importante para a melhor interpretação dos tratamentos utilizados, assim como na avaliação da retração e área das feridas experimentalmente induzidas no dorso dos equinos. Dessa forma, o tamanho das feridas foi estabelecido, em conduta semelhante a realizada por Martins et al. (2003), Souza et al. (2006), Oliveira Jr. et al. (2012), Lucas et al. (2017), Resende (2024) e Campebell et al. (2025).

A escolha do número de 6 animais utilizados no experimento foi fundamentada em diversas referências da literatura científica, que validam a utilização de amostras reduzidas para estudos experimentais na área de cicatrização de feridas e tratamentos terapêuticos. Oliveira Jr et al. (2012) avaliaram o uso de óleo de semente de girassol em feridas de 6 equinos, utilizando feridas bilaterais, sendo um lado para avaliação clínica e o outro para coleta de material histopatológico. Souza et al. (2006) também utilizaram 6 cavalos para testar o efeito do *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas, enquanto Martins et al. (2003) e Kauer et al. (2020) avaliaram a ação de fitoterápicos no processo cicatricial de feridas em 6 equinos. De forma semelhante, Celeste et al. (2013) utilizou 6 equinos para investigar a termografia em feridas com tecido de granulação exuberante. Ferreira (2019) empregou 6 bezerros para avaliação termográfica de feridas, destacando a relevância de amostras pequenas em estudos de alta sensibilidade. Embora alguns pesquisadores tenham optado por utilizar 8 animais, como Harmon et al. (2017) e Lucas et al. (2017), que analisaram tratamentos

fitoterápicos em feridas, a tendência atual no estudo de feridas é a diminuição do número de animais, como forma de alinhar-se aos princípios éticos de redução no uso de modelos animais, sem comprometer a qualidade dos dados obtidos.

A administração de fenilbutazona durante os três primeiros dias proporcionou maior conforto e redução da dor, sendo o efeito favorável, apesar de se observar nestes dias pós-cirúrgicos, um grau leve de incômodo durante a realização dos curativos. O uso deste anti-inflamatório não esteroide foi descrito por Oliveira Jr. et al. (2012), Martins et al. (2013), Tracey et al. (2014) e Lucas et al. (2017), Resende (2024) e Campebell et al. (2025) em trabalhos semelhantes e a sua administração sistêmica teria influenciado em todas as feridas tanto controle como experimentais. Desconforto dos animais durante os curativos, nos primeiros dias após a realização das feridas, também foi citado por Gomez et al. (2004) e Resende (2024).

A opção por separar as feridas em dois lados, destinando um para a avaliação macroscópica e outro para a coleta de biópsias, foi adotada de forma estratégica. Essa abordagem visa garantir que as coletas de tecido não interferissem nas medições da área da ferida e no grau de contração, conforme metodologia utilizada por Martins et al. (2003) e Souza et al. (2006).

A randomização foi realizada utilizando um dado para garantir a alocação imparcial dos tratamentos. Esse método foi escolhido para evitar qualquer influência subjetiva na alocação dos tratamentos, garantindo que o procedimento minimizasse potenciais vieses pré-existent (KARA-JUNIOR, 2014). Conforme também realizado por Kauer et al. (2020) em estudo randomizado, com a sequência de tratamentos aplicada de forma alternada em cada animal, garantindo distribuição equilibrada entre as regiões e minimizando a influência da localização das lesões nos resultados.

Ainda que muitas alternativas diferentes de tratamento sejam satisfatórias para o manejo de determinada ferida, o método selecionado deve fornecer um ambiente favorável, permitindo progressão natural para não retardar o processo de reparação (PAGANELA et al., 2009). O tratamento inicialmente deve promover a limpeza da ferida, deixando-a livre de contaminação e em seguida a utilização de algum curativo local, seja pomadas, uso de tratamentos tópicos ou até mesmo curativos oclusivos. Entretanto deve-se escolher com muito critério o melhor curativo para determinada ferida, levando também em consideração o local do ferimento e sua profundidade, pois a escolha incorreta pode atrapalhar o processo de cicatrização e ainda estimular o crescimento de tecido de granulação exuberante (MARTINS, 2003).

A pele de tilápia é composta por feixes de colágeno compactados, longos e organizados, em disposição paralela/horizontal e transversal/vertical, predominantemente, do tipo I, demonstrando elevada resistência e extensão à tração em quebra. O colágeno configura-se como um dos principais componentes dos biomateriais, devido à sua característica de orientar e definir a maioria dos tecidos, além de possibilitar biodegradabilidade e biocompatibilidade, que favorecem a sua aplicação. A tilápia está dentre os peixes mais consumidos no mundo e apenas 1% da pele é reaproveitada para o artesanato, o restante é descartada. Sendo assim, o tratamento utilizando a pele de tilápia pode gerar menor custo, quando comparado ao tratamento convencional, sendo utilizado um material comumente descartado (ALVES et al., 2015).

A utilização da pele de tilápia, tanto esterilizada quanto congelada não provocou reação alérgica no local ou a redor da ferida em nenhum dos animais, não apresentando sinais de prurido ou ardência, conforme citado também por Costa et al. (2020).

Os xenoenxertos foram empregados pela primeira vez para cobertura de feridas por volta de 1500 a.C., sendo a pele de rã o primeiro material utilizado. Esse método foi retomado na era moderna com o *Ranafilm*, um produto derivado da pele do sapo (*Rana catesbeiana*), aplicado em algumas regiões do mundo, como Vietnã e Brasil (SARTO PICCOLO, 2008). A eficácia da pele de rã como curativo biológico, cobrindo toda a espessura de feridas e queimaduras, foi comprovada na cicatrização de lesões em humanos (SAI et al., 1995; ADORNO, 2005; SARTO PICCOLO et al., 2008), além de secreções dérmicas de rãs utilizadas com essa finalidade (MASHREGHI et al., 2013).

A escolha da pele de rã como curativo deve-se à sua composição única, rica em lipídios, proteínas e peptídeos (KUMAR et al., 2002; GOMES et al., 2007), bem como aos componentes bioativos presentes em suas secreções dérmicas (MASHREGHI et al., 2013). Os lipídios possuem potencial farmacêutico e terapêutico no reparo de feridas (RAGHAVAN et al., 2010), enquanto peptídeos como a ranalexina, secretados pela pele, exibem atividade antimicrobiana (CLARK et al., 1994).

Embora Falcão et al. (2002) não tenham identificado benefícios significativos no uso da pele de rã como curativo oclusivo em feridas de cães, Liu et al. (2014) observaram resultados positivos em feridas dérmicas de espessura total em

camundongos, identificando o peptídeo AH90, que demonstrou capacidade de promover a migração celular e acelerar o processo de cicatrização, incluindo reepitelização e contração do tecido de granulação.

O tipo de processamento demonstrou interferência durante e ao final da cicatrização, pois a pele de tilápia para ser utilizada como curativo oclusivo deve passar por um processo extremamente rigoroso de desinfecção e esterilização e preferencialmente, ainda, testes microbiológicos para garantir maior segurança. Segundo Alves et al. (2015), o uso de esterilização química e radioesterilização são os meios mais efetivos para o preparo da pele de tilápia. Uma vez que o uso da pele de tilápia congelada não apresentou resultados tão satisfatórios quanto os observados nos outros grupos, mesmo após passar pelo processo de desinfecção com clorexidina, conforme descrito por Silva et al. (2019) e Silva (2022), o grupo tratado com pele de tilápia congelada (GPTC) apresentou maior incidência de contaminação e formação de tecido de granulação.

Durante a primeira semana dos pós cirúrgico, na fase inflamatória inicial, edema, coágulos, hiperemia e hemorragia foram observados em todos os animais de todos os grupos, de forma discreta a acentuada, sendo mais acentuada no D3 e discreta no D7, assim como relatado por Gomez et al. (2004), Resende (2024) e Campebell et al. (2025) durante os sete primeiros dias de avaliação.

No grupo tratado com pele de rã (GPR), observou-se que o exsudato apresentava odor característico e coloração amarelada, mantendo um ambiente úmido protegido pela membrana nos primeiros 7 dias, o qual regrediu gradualmente à medida que o tecido de granulação preenchia a ferida. A manutenção de um ambiente úmido favorece a cicatrização, pois contém nutrientes e fatores de crescimento que estimulam o desenvolvimento de células endoteliais e fibroblastos, promovendo granulação e epitelização (MARTINS et al., 2003). Em humanos, porém, Adorno (2005) não observou acúmulo de exsudato em feridas tratadas com pele de rã como xenoenxerto.

A redução da área da ferida e a taxa de contração são indicadores fundamentais para avaliar a eficácia do processo cicatricial, refletindo a capacidade do tecido de reorganizar sua matriz extracelular e migrar miofibroblastos para o fechamento da ferida (PAIVA et al., 2002). Neste estudo, foram observadas diferenças importantes nesses parâmetros entre os grupos experimentais, destacando os efeitos dos diferentes biomateriais na cicatrização.

Os resultados demonstraram que o grupo pele de tilápia congelada (GPTC) apresentou a maior área residual no D7 e D14, acompanhada por redução menos acentuada até o D28, indicando desempenho inferior no estímulo à reorganização tecidual. Além disso, o GPTC apresentou excesso de exsudato desde o D3, edema até o D21 e tecido de granulação exuberante na maioria dos animais. Segundo Sibbald et al. (2011), o excesso de exsudato está associado a processos inflamatórios persistentes, colonização bacteriana crítica ou infecção sistêmica, fatores que podem atrasar a cicatrização. Abbade (2006) também ressalta que a maceração das bordas da ferida causada pelo excesso de exsudato prejudica a migração dos queratinócitos para o centro da lesão, retardando o fechamento e o surgimento do tecido de epitelização.

No grupo controle (GC), foi observado aumento não significativo da área da ferida no D7, resultando em uma taxa de contração negativa nesse período. Contudo, a partir do D14, o GC apresentou uma redução significativa da área, demonstrando a capacidade do tecido de iniciar o fechamento natural após a fase inflamatória, alinhando-se às observações de Singh et al. (2017), que destacam a necessidade de uma inflamação controlada para a progressão eficiente da cicatrização.

Em contraste, os grupos pele de rã (GPR) e pele de tilápia esterilizada (GPTE) apresentaram melhor desempenho no controle da área da ferida, com reduções significativas a partir do D14. O GPR apresentou menor redução da área inicial em relação ao GC, o que pode ser explicado pelo maior tamanho inicial da média das feridas nesse grupo. Mashreghi et al. (2013), sugerem que componentes bioativos da pele de rã, como peptídeos e lipídios específicos, têm efeitos anti-inflamatórios e regenerativos, que promovem a formação de tecido de granulação e a transição eficiente para a fase proliferativa.

A taxa de contração das feridas apresentou diferenças significativas entre os grupos ao longo do tempo. No D7, o GC e o GPTC exibiram taxas negativas devido ao aumento da área das feridas nesse período, refletindo a persistência da inflamação inicial e um atraso no recrutamento de miofibroblastos. Apenas na segunda semana de reparo (a partir do D14) foi observado aumento significativo da taxa de contração em todos os grupos, o que está alinhado aos achados de Hosgood (2007), que relata que os fibroblastos começam a adquirir o fenótipo de miofibroblastos somente nesse período, contribuindo efetivamente para a contração.

O GPTC, no entanto, apresentou a menor taxa de contração nos D14 e D21, sugerindo que talvez, o congelamento comprometeu sua capacidade de estimular a reorganização tecidual e a contração da ferida. Lima-Junior et al. (2017) destacam que biomateriais com alterações estruturais, como o colágeno desnaturado, têm menor capacidade de interação com o tecido lesionado, o que pode explicar a persistência da inflamação e a menor taxa de contração observada no GPTC.

Por outro lado, o GPTE apresentou taxas de contração superiores ao GPTC e consistentes ao longo do tempo, refletindo os benefícios de um biomaterial bem processado. Segundo Costa (2020), a esterilização por radiação gama preserva as propriedades estruturais e funcionais do colágeno, favorecendo a organização tecidual. O GPR também demonstrou taxas de contração comparáveis às do GPTE, reforçando o papel de biomateriais bioativos, como a pele de rã, no estímulo à migração de miofibroblastos e no fechamento eficiente da ferida (BAZAZ et al., 2013).

As implicações clínicas dos achados deste estudo corroboram a literatura existente, como relatado por Stashak (1991), que descreve taxas de contração média de 0,8 a 1,0 mm/dia em feridas extensas de equinos. O desempenho superior dos grupos GPTE e GPR destaca seu potencial terapêutico, principalmente em feridas complexas que demandam modulação eficiente da inflamação e estímulo precoce à contração. Em contrapartida, o GPTC mostrou limitações, reforçando a necessidade de melhorar os métodos de conservação por congelamento para preservar suas propriedades bioativas.

A hemorragia é um dos indicadores fundamentais na avaliação do processo inflamatório e cicatricial de feridas, representando a resposta inicial ao trauma tecidual e a eficiência dos mecanismos hemostáticos e de reparação vascular (THEORET, 2008; PROVOST, 2019). Os resultados deste estudo demonstraram diferenças significativas no padrão de hemorragia entre os grupos experimentais ao longo do tempo, destacando o impacto dos biomateriais testados na modulação dessa resposta.

Nos grupos controle (GC) e pele de tilápia congelada (GPTC), a hemorragia foi mais persistente, estendendo-se até o D14. No GC, essa persistência reflete a ausência de intervenção terapêutica, deixando o controle do sangramento exclusivamente dependente das respostas endógenas. No GPTC, por outro lado, a maior persistência da hemorragia pode ser atribuída às alterações estruturais do biomaterial decorrentes do processo de congelamento. Estudos prévios (LIMA-

JUNIOR et al., 2017; COSTA, 2020) indicam que o congelamento pode degradar proteínas essenciais, como o colágeno, reduzindo a capacidade do biomaterial de promover a hemostasia e estabilizar os vasos sanguíneos.

Em contraste, os grupos GPR e GPTE apresentaram um controle mais eficiente da hemorragia. No GPR, os níveis de hemorragia foram significativamente menores já no D3, indicando a capacidade do biomaterial de acelerar o controle inicial do sangramento. Esse desempenho pode ser atribuído à composição bioativa da pele de rã, que inclui colágeno bem preservado e peptídeos bioativos com propriedades hemostáticas e anti-inflamatórias (BAZAZ, 2013; LI et al., 2023).

O GPTE também demonstrou resultados positivos, com redução significativa da hemorragia no D14, destacando-se em relação ao GC e GPTC. A radiação gama utilizada na esterilização do biomaterial parece ter preservado suas propriedades estruturais e funcionais, permitindo uma interação mais eficiente com o tecido lesionado e uma resposta hemostática aprimorada (ALVES et al., 2015).

Os dados sugerem que o GPR foi o grupo com o melhor desempenho geral no controle da hemorragia, seguido pelo GPTE, enquanto o GPTC apresentou os piores resultados. A presença prolongada de hemorragia, como observado no GPTC, pode prejudicar a transição para a fase proliferativa da cicatrização, aumentando o risco de complicações como infecções e a formação excessiva de tecido de granulação. O controle precoce da hemorragia é essencial para garantir uma cicatrização eficiente e minimizar riscos (SINGH et al., 2017).

A inflamação é uma etapa essencial do processo de cicatrização, sendo caracterizada pela infiltração de células imunológicas, como os PMNs, que desempenham funções fundamentais na defesa contra agentes infecciosos e na preparação do tecido lesionado para a regeneração (PROVOST, 2019). No entanto, a persistência prolongada de PMNs pode indicar uma inflamação desregulada, prejudicando a progressão para as fases proliferativa e de remodelação.

Os resultados deste estudo evidenciaram diferenças significativas nos níveis de PMNs entre os grupos experimentais ao longo do tempo, refletindo os efeitos distintos dos biomateriais testados. No grupo controle (GC), observou-se um aumento significativo de PMNs no D3 e D7, com redução progressiva até o D28. Esse padrão é esperado em feridas não tratadas, onde o controle do processo inflamatório depende exclusivamente dos mecanismos endógenos, como sugerido por Balbino et al. (2005) e Reinke & Sorg (2012). Contudo, a presença prolongada de PMNs no D7 indica um

atraso na resolução inflamatória, podendo comprometer a eficiência do reparo tecidual.

O grupo pele de tilápia congelada (GPTC) apresentou os níveis mais elevados de PMNs em comparação aos demais grupos nos D3, D14 e D28. Esses achados sugerem que o congelamento do biomaterial pode ter alterado suas propriedades bioativas, intensificando a resposta inflamatória. Segundo Lima-Junior et al. (2017) e Alves et al. (2015), alterações estruturais em biomateriais, como o colágeno, podem desencadear uma inflamação prolongada e menos eficaz, retardando a cicatrização e aumentando o risco de complicações, como formação excessiva de tecido de granulação.

Em contraste, os grupos pele de rã (GPR) e pele de tilápia esterilizada (GPTE) demonstraram um controle mais eficiente da inflamação. No GPR, foi observada uma redução significativa de PMNs no D7, com manutenção dessa redução até o D14, indicando uma modulação inflamatória precoce e eficaz. Esses achados corroboram os estudos de Mashreghi et al. (2013), que utilizaram pomadas contendo secreções de pele de rã e atribuíram seus efeitos anti-inflamatórios à presença de peptídeos bioativos. Raghavan et al. (2010) também observaram redução da fase inflamatória em ratos tratados com extratos lipídicos de pele de rã, sugerindo que as especializações evolutivas dos anfíbios conferem propriedades regenerativas e moduladoras da inflamação. Bazaz et al. (2013) reforçam esse potencial ao relatar efeitos anti-inflamatórios com a aplicação de formulações de pele de rã em pó, que resultaram na aceleração do processo cicatricial.

O GPTE, por sua vez, apresentou os menores níveis de PMNs no D7, com um comportamento equilibrado até o D28. A esterilização por radiação gama preservou as propriedades estruturais e funcionais do biomaterial, permitindo uma modulação eficiente da inflamação (ALVES et al., 2015; COSTA, 2020). Essa capacidade de controle inflamatório é crucial para garantir a transição ordenada para as fases subsequentes da cicatrização, como observado por Singh et al. (2017), que destacaram a importância de uma resposta inflamatória bem regulada para evitar inflamações crônicas ou atrasos na regeneração.

Neste experimento, a diminuição significativa dos PMNs no GPR no D7 e a manutenção dessa redução até o D14 reforçam o potencial terapêutico da pele de rã, alinhando-se às observações de Raghavan et al. (2010); Bazaz et al. (2013) e Mashreghi et al. (2013). A presença de peptídeos bioativos e lipídios específicos da

pele de anfíbios pode ser um fator determinante na modulação inflamatória e no estímulo à regeneração. Esse comportamento sugere que o GPR promove uma inflamação eficiente e bem regulada, facilitando a transição para a fase proliferativa.

Por fim, os resultados indicam que, enquanto o GPTC esteve associado a uma inflamação mais intensa e prolongada, os grupos GPR e GPTE se destacaram pelo controle eficiente da resposta inflamatória, alinhando-se à literatura que enfatiza o papel dos biomateriais bioativos na promoção de uma cicatrização rápida e de qualidade (SPARKS, 2021).

Os monócitos desempenham um papel crucial na cicatrização de feridas, agindo como precursores de macrófagos que regulam o equilíbrio entre inflamação e reparação tecidual. Além disso, eles atraem fibroblastos e estimulam a síntese e maturação do colágeno, contribuindo diretamente para a regeneração do tecido. Após se diferenciarem em macrófagos, são responsáveis pela fagocitose de tecidos mortos e fragmentos, promovendo a limpeza da ferida (BALBINO et al., 2005; REINKE & SORG, 2012).

Os resultados deste estudo demonstraram diferenças significativas na concentração de monócitos entre os grupos experimentais ao longo do tempo, destacando o impacto dos biomateriais na modulação da resposta inflamatória. No GC houve aumento significativo no número de monócitos no D21, seguido por uma redução no D28. Esse padrão reflete o comportamento típico de feridas não tratadas, em que a inflamação persiste por períodos mais longos antes de iniciar sua resolução (THEORET, 2008; SEID & BIRHAN, 2019; LI et al., 2023).

No GPTC, o aumento significativo de monócitos no D21 e D28 sugere uma resposta inflamatória mais prolongada e menos eficiente. Alterações estruturais causadas pelo congelamento podem comprometer as propriedades bioativas do biomaterial, resultando em ativação contínua dos monócitos para compensar o ambiente inflamatório desregulado. Estudos prévios (LIMA-JUNIOR et al., 2017) destacam que biomateriais malconservados podem intensificar a inflamação, prolongando a presença de células imunológicas e atrasando a transição para as fases proliferativa e de remodelação.

Por outro lado, o GPR demonstrou aumento significativo no número de monócitos no D14 e, especialmente, no D28. Esse padrão indica uma maior capacidade do biomaterial em promover o controle e a resolução da inflamação, comparado ao GC. Li et al. (2023) corroboram esses achados ao demonstrar que

peptídeos derivados de anfíbios, como o OA-RD17, facilitam a proliferação e migração de macrófagos, otimizando o processo cicatricial. A maior presença de monócitos no GPR sugere uma resposta mais eficiente e coordenada, com potencial terapêutico que inclui a modulação do processo inflamatório e a facilitação da transição para as fases subsequentes da cicatrização.

O GPTE apresentou aumento significativo no número de monócitos nos D21 e D28, indicando resposta inflamatória mais prolongada, porém bem controlada. A esterilização por radiação gama parece ter preservado as propriedades bioativas do biomaterial, permitindo uma ativação sustentada e eficiente dos monócitos no momento crítico da cicatrização. Esse estímulo controlado pode garantir a limpeza mais eficaz da ferida e uma transição ordenada para a fase de remodelação (ALVES et al., 2015).

A análise geral dos resultados sugere que os grupos GPR e GPTE apresentaram os melhores desempenhos no manejo da resposta inflamatória, enquanto o GPTC demonstrou limitações, possivelmente associadas à perda de propriedades funcionais devido ao congelamento. A literatura enfatiza que níveis adequados e temporais de monócitos são essenciais para equilibrar inflamação e reparo, e sua modulação descontrolada pode levar à inflamação crônica ou atraso na cicatrização (SINGH et al., 2017).

Observou-se diferença significativa em relação ao edema entre os grupos experimentais ao longo do período de avaliação, refletindo as características específicas de cada tratamento testado. O edema, uma resposta inflamatória comum no processo de cicatrização, é frequentemente associado ao aumento da permeabilidade vascular e acúmulo de líquidos devido à migração celular para o local da lesão. O controle eficaz dessa resposta inflamatória é crucial para uma transição eficiente para as fases subsequentes da cicatrização (PROVOST, 2019).

No GC o edema foi mais evidente entre D3 e D14, com diminuição progressiva até o D21, momento em que o edema se tornou praticamente inexistente. Esse comportamento é esperado em feridas sem intervenção terapêutica adicional, onde o organismo depende exclusivamente das respostas endógenas para controlar o processo inflamatório. Por outro lado, o GPTC apresentou os níveis mais elevados de edema, especialmente no D14 e D21, evidenciando uma resposta inflamatória mais intensa e prolongada. Esses achados sugerem que o congelamento pode ter degradado componentes estruturais do biomaterial, como o colágeno, levando à

liberação de mediadores inflamatórios que intensificam a inflamação. Estudos prévios (LIMA-JUNIOR et al., 2017; COSTA, 2020) indicam que o congelamento pode comprometer as propriedades biológicas de biomateriais, reduzindo sua eficácia em modular a inflamação.

Em contrapartida, os grupos GPR e GPTE apresentaram melhores desempenhos no controle do edema. O GPR apresentou níveis significativamente menores de edema já no D3 em comparação ao GPTC, mostrando uma redução consistente ao longo do tempo. No D7, tanto o GPR quanto o GPTE apresentaram menores níveis de edema em relação ao GC e GPTC, sugerindo que esses biomateriais possuem propriedades anti-inflamatórias mais efetivas. Essas propriedades podem ser atribuídas à presença de colágeno e componentes bioativos que favorecem a modulação da resposta inflamatória (BAZAZ, 2013; LI et al., 2023). Além disso, a radiação gama utilizada no GPTE parece preservar melhor as características biológicas do biomaterial, como apontado por Alves et al. (2015) e Costa (2020), promovendo uma resposta inflamatória mais regulada e estável.

No D14 e D21, o GPTC apresentou os maiores níveis de edema entre todos os grupos, o que evidencia a persistência de uma resposta inflamatória inadequada e a dificuldade em transitar para a fase proliferativa da cicatrização.

Foi observada redução significativa da hemorragia no GPR nos dias 3 e 14, além de diminuição significativa do edema no 7º dia, com tendência de menor edema também no 14º dia, embora sem diferença estatística. A redução do edema pode ter sido influenciada pela remoção facilitada do curativo, possivelmente devido à maior quantidade de secreção, já que, conforme Andrade et al. (1992), cada troca de curativo pode resultar em lesões nas células epiteliais recém-formadas devido à aderência.

O tempo e a intensidade do edema refletem o equilíbrio entre a vasodilatação inicial e a estabilização vascular subsequente, influenciadas por mediadores inflamatórios como PGs e citocinas (SINGH et al., 2017). Assim, biomateriais que promovem uma rápida resolução da inflamação inicial, como o a pele de rã e de tilápia esterilizadas têm maior potencial de sucesso na cicatrização de feridas complexas.

A neovascularização é um processo essencial na cicatrização de feridas, responsável pela formação de novos vasos sanguíneos que garantem o fornecimento de oxigênio e nutrientes às células em proliferação. Este estudo evidenciou diferenças significativas na evolução da neovascularização entre os grupos experimentais,

destacando o impacto dos diferentes biomateriais testados no estímulo à angiogênese (PAGANELA et al., 2009).

A partir do D7, foi observado aumento significativo da neovascularização em todos os grupos, marcando o início da transição para a fase proliferativa da cicatrização. Esse comportamento é consistente com o esperado, uma vez que essa fase é caracterizada por intensa atividade angiogênica, essencial para a formação do tecido de granulação (PROVOST, 2019).

No GC, a neovascularização apresentou aumento gradual, atingindo níveis moderados até o D28. Esse padrão reflete o processo natural de cicatrização, no qual a angiogênese ocorre sem intervenções externas. Embora esperado, esse aumento foi menos eficiente em comparação aos grupos tratados com biomateriais, que possuem propriedades bioativas capazes de acelerar e intensificar a formação de novos vasos (PASSARINI JUNIOR et al., 2012).

O GPTC destacou-se pelo maior aumento na neovascularização no D14 em comparação aos demais grupos, evidenciando um estímulo angiogênico robusto nesse período. No entanto, essa resposta pode ter sido menos controlada, refletindo a influência de uma inflamação prolongada e potencialmente exacerbada devido às alterações estruturais do biomaterial causadas pelo congelamento. Estudos prévios indicam que o congelamento pode comprometer a integridade do colágeno e de outros componentes do biomaterial, resultando em uma angiogênese inicial mais intensa, porém de qualidade inferior (LIMA-JUNIOR et al., 2017).

Por outro lado, o GPR e GPTE apresentaram respostas mais consistentes e equilibradas ao longo do tempo. No GPR, o estímulo à neovascularização foi significativo e uniforme, particularmente entre o D7 e o D21, sugerindo que a pele de rã possui componentes bioativos, como peptídeos anti-inflamatórios e colágeno bem preservados, que modulam a angiogênese de maneira eficaz (BAZAZ, 2013; LI et al., 2023). Da mesma forma, o GPTE demonstrou resultados favoráveis, mantendo níveis consistentes de neovascularização até o D28. A esterilização por radiação gama parece preservar as propriedades estruturais e funcionais do biomaterial, favorecendo uma resposta angiogênica mais estável (ALVES et al., 2015; COSTA, 2020).

Os dados sugerem que o GPR foi o grupo mais eficaz no estímulo à angiogênese, seguido pelo GPTE, enquanto o GPTC apresentou um pico acentuado no D14, possivelmente associado à inflamação prolongada. Esses resultados destacam o papel dos biomateriais na modulação da angiogênese, evidenciando a

importância de estimular uma resposta eficiente e controlada para garantir uma cicatrização de qualidade (LI et al., 2023).

A formação equilibrada de novos vasos sanguíneos é essencial para a transição para a fase de remodelação e maturação tecidual. Enquanto a angiogênese descontrolada, como observado no GPTC, pode comprometer a qualidade do tecido reparado, uma resposta angiogênica consistente e controlada, como no GPR e GPTE, promove cicatrização mais eficiente.

A fibroplasia é um marco central da fase proliferativa no processo de cicatrização de feridas, caracterizada pela proliferação de fibroblastos, deposição de matriz extracelular e início da reorganização tecidual. Essa etapa é essencial para garantir a formação de tecido de granulação e estabelecer as bases para a remodelação e maturação do tecido (THEORET, 2008; SIMPSON & ROSS, 2009; SEID & BIRHAN, 2019). Os resultados deste estudo evidenciaram diferenças significativas na taxa de fibroplasia entre os grupos experimentais, destacando os efeitos específicos dos biomateriais testados.

Os dados demonstraram aumento significativo da fibroplasia em todos os grupos a partir do D7, alinhando-se ao esperado para o início da fase proliferativa, quando os fibroblastos começam a migrar para a ferida e depositar colágeno tipo III, que será posteriormente substituído por colágeno tipo I (BALBINO et al., 2005; REINKE & SORG, 2012). No entanto, diferenças notáveis foram observadas nos níveis e progressão da fibroplasia entre os grupos.

O GPR apresentou os maiores índices de fibroplasia no D7 e D14, superando significativamente o GC e o GPTC. Esses achados podem ser atribuídos às propriedades bioativas da pele de rã, como peptídeos antimicrobianos e fatores regenerativos, que promovem o recrutamento e a proliferação de fibroblastos. A migração de fibroblastos, responsáveis pela síntese da matriz colágena, é um indicador positivo de reparo (PASSARINI JUNIOR et al., 2012). No estudo de Liu et al. (2014) com feridas em ratos tratadas com AH90, um peptídeo extraído da pele de rã, foi observado aumento na expressão do marcador de diferenciação de miofibroblastos, α -SMA, sugerindo uma transição acelerada de fibroblastos para miofibroblastos, promovendo maior contração da ferida e, conseqüentemente, uma cicatrização mais rápida. Além disso, esses resultados estão alinhados com pesquisas que mostram aumento na produção de hidroxiprolina, indicando maior deposição de colágeno após a aplicação de pele de rã em feridas (SAI et al., 1995; RAGHAVAN et

al., 2010). As propriedades das secreções da pele de rã podem evidenciar efeitos positivos, promovendo o aumento do número de fibroblastos e da neovascularização na região da ferida, resultado direto da facilitação da migração celular no tecido lesionado (MASHREGHI et al., 2013).

Por outro lado, o GPTC apresentou os menores índices de fibroplasia, especialmente entre os dias D14 e D28, em comparação a todos os outros grupos. Esse desempenho inferior pode estar relacionado à persistência da inflamação, como evidenciado pela presença de PMNs, discreta fibroplasia e sinais de hemorragia no D28. Lima-Junior et al. (2017) sugerem que alterações estruturais no colágeno e outras proteínas devido ao congelamento podem comprometer a interação do biomaterial com as células do tecido lesionado, resultando em menor estímulo à proliferação de fibroblastos.

O GC e GPTE apresentaram aumentos consistentes na fibroplasia ao longo do tempo, com o GPTE exibindo resultados comparáveis ao GPR. Esses achados sugerem que a esterilização por radiação gama preserva as propriedades funcionais do biomaterial, como a integridade do colágeno, permitindo uma resposta tecidual eficaz (ALVES et al., 2015; COSTA, 2020). No GC, o aumento progressivo da fibroplasia reflete a capacidade endógena do organismo de conduzir o processo cicatricial, embora de forma mais lenta e menos eficiente que os grupos tratados.

A epitelização se iniciou no D14 na maioria dos animais, sendo mais evidente nos GPTE no D21 e no GC no D28. A acelerada epitelização no GPTE corrobora com o relatado por Garros et al. (2006), devido a ação dos ácidos graxos em feridas cutâneas, evitando a desidratação tecidual, mantendo a ferida úmida e estimulando a epitelização e a angiogênese.

A termografia infravermelha (TI) é uma técnica não invasiva que permite monitorar alterações térmicas associadas à inflamação, vascularização e metabolismo tecidual, sendo amplamente utilizada no estudo de processos inflamatórios e de cicatrização (TUNLEY & HENSON, 2004; REDAELLI et al., 2014). Neste estudo, a termografia foi empregada para avaliar três regiões distintas: dentro da ferida, na borda da ferida e em volta da ferida. Os resultados demonstraram dinâmicas térmicas variadas entre os grupos experimentais ao longo do tempo, refletindo as respostas biológicas específicas de cada tratamento.

A análise termográfica dentro da ferida revelou aumento significativo da temperatura em todos os grupos entre os dias D3 e D7. Esse aumento está

relacionado à resposta inflamatória inicial, caracterizada pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , que estimulam a vasodilatação e o aumento do fluxo sanguíneo local (BALBINO et al., 2005). No entanto, diferenças importantes surgiram nos períodos subsequentes: no GPTC, os níveis elevados de temperatura persistiram até o D14, enquanto no GPTE, essa elevação foi mantida até o D28. Esses achados indicam que o GPTC pode estar associado a uma inflamação mais prolongada, possivelmente devido às alterações estruturais causadas pelo congelamento, que intensificam a resposta inflamatória (LIMA-JUNIOR et al., 2017).

Por outro lado, o GPTE apresentou manutenção da temperatura elevada até o D28, devido a um aumento do fluxo sanguíneo causado pelo processo inflamatório de cicatrização (TUNLEY & HENSON, 2004).

Na borda das feridas, foi observado aumento significativo da temperatura em todos os grupos entre D3 e D7, indicando uma intensa atividade metabólica nessa região. A borda é a zona onde ocorre a migração de queratinócitos e fibroblastos, além de formação de tecido de granulação, processos que geram calor metabólico (REINKE & SORG, 2012). Não houve diferenças significativas entre os grupos nesse período, o que sugere que, apesar das propriedades distintas dos biomateriais, a atividade metabólica inicial na borda foi semelhante entre os tratamentos.

Em volta da ferida, a temperatura aumentou de forma não significativa no D3 em todos os grupos, seguida de uma redução gradual a partir do D7. Esse padrão é consistente com a resolução da inflamação inicial, indicando que a resposta inflamatória foi restrita à área da lesão sem se espalhar para os tecidos adjacentes. A redução progressiva da temperatura reflete o retorno do metabolismo local aos níveis basais, compatível com a transição para as fases proliferativa e de remodelação (SINGH et al., 2017).

Na avaliação termográfica, observou-se aumento na temperatura devido à inflamação e ao aumento do fluxo sanguíneo decorrente da lesão. Um dos principais sinais de inflamação é o aumento da temperatura local, consequência do aumento do suprimento sanguíneo, como citado por Redaelli et al. (2014). À medida que o tempo avançou e a ferida cicatrizou, verificou-se uma diminuição na temperatura, o que está em conformidade com as expectativas para o processo de reparo tecidual.

Esses achados evidenciam que a termografia é um método não invasivo eficaz para avaliar a inflamação e o aumento do aporte sanguíneo, conforme afirmam Basile et al. (2010) e Redaelli et al. (2019), que destacam o uso da TI como uma

ferramenta útil para monitorar tratamentos sem causar interferências, e como indicador de estresse fisiológico. Basile et al. (2010) e Silva et al. (2022) enfatizam ainda que a termografia é amplamente empregada na medicina equina para prevenção, diagnóstico precoce e prognóstico de lesões, com crescente reconhecimento no bem-estar animal, sendo reconhecida por organismos internacionais de esportes equestres como apta a tal propósito.

Na comparação entre os grupos os resultados demonstraram que, embora os padrões gerais de aumento e redução de temperatura tenham sido semelhantes entre os grupos, o GPTC apresentou uma resposta térmica mais prolongada, com temperaturas elevadas persistindo até o D14 dentro da ferida. Esse comportamento pode estar relacionado ao atraso no controle da inflamação observado em outros parâmetros, como edema e hemorragia. Em contrapartida, o GPTE e o GPR exibiram uma transição mais eficiente, com redução térmica consistente a partir do D14, refletindo uma modulação inflamatória mais eficaz. O GPTE, em especial, manteve elevações térmicas moderadas até o D28, sugerindo maior estímulo angiogênico e metabólico, alinhando-se às observações de Costa (2020).

6. CONCLUSÃO

A elevada incidência de feridas em equinos, aliada às dificuldades inerentes ao processo de cicatrização, ressalta a necessidade de investigar modalidades terapêuticas alternativas que reduzam a morbidade e otimizem a recuperação clínica desses animais. Nesse contexto, o estudo dos efeitos de biomateriais, como a pele de tilápia e a pele de rã, representa uma contribuição relevante para o manejo clínico de feridas na medicina veterinária.

Os resultados obtidos demonstram que a pele de tilápia esterilizada apresenta características promissoras, como baixa reação inflamatória, indução eficiente da contração das bordas da ferida e aceleração da cicatrização. O uso da pele de tilápia congelada revelou limitações, incluindo menor adesão à ferida, maior contaminação e retardo no processo de cicatrização, indicando a necessidade de melhorias no seu processamento e aplicação.

Por sua vez, a pele de rã destacou-se por sua capacidade de modular a resposta inflamatória, evidenciada pela redução mais rápida do edema e da hemorragia, além de uma fibroplasia mais intensa nas fases iniciais da cicatrização. Esses achados indicam que este biomaterial pode ser um valioso aliado no manejo de feridas em equinos, particularmente em casos de inflamação persistente ou necessidade de regeneração acelerada.

Embora o estudo tenha fornecido “insights” valiosos, desafios permanecem, especialmente no que se refere à padronização da esterilização, à definição do tempo ideal de permanência dos enxertos e ao manejo pós-aplicação. Além disso, futuros estudos são essenciais para validar os achados em amostras maiores, explorar mecanismos moleculares subjacentes e avaliar a aplicabilidade desses biomateriais em condições clínicas mais variadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, LP.F.; LASTORIA S. Abordagem de pacientes com úlcera da perna de etiologia venosa. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.81, n.6, p.509-522, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962006000600002>

ADORNO, J. Avaliação histológica e imunohistoquímica de cicatrização com curativo de pele de rã (*Rana catesbeiana*) em pacientes vítimas de queimaduras. 73p. (**Dissertação - Mestrado em Ciências Médicas**) - Universidade de Brasília. Brasília, Distrito Federal, 2005.

AL-MAJHALI, S. H.; KHAIRUDDIN, N. H.; RAZAK, I. S. A.; RADZI, Z.; RAHMAN, M. T.; SAPALO, J. T.; MAYAKI, A. M.; CZERNUSZKA, J. T. Biomechanical effects of unidirectional expansion using anisotropic expanders in horse skin tissue. **Journal of Equine Veterinary Science**. 99, 103399, 2021.

ALVES, A. P. N. N.; VERDE, M. E. Q. L.; FERREIRA JÚNIOR, A. E. C.; SILVA, P. G. B.; FEITOSA, V. P.; LIMA JÚNIOR, E. M.; MIRANDA, M. J. B. M.; FILHO, M. O. M.; Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Queimaduras**. v.14, n.3, p.203-210, 2015.

ALVES A.P.N.N., LIMA JUNIOR E.M.L., PICCOLO N.S., MIRANDA M.J.B., VERDE M.E.Q.L., FERREIRA JUNIOR A.E.C., SILVA P.G.B., FEITOSA V.P., BANDEIRA T.J.P.G., MATHOR M.B., MORAES FILHO M.O. Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile Tilapia skin submitted to different sterilization methods. **Cell Tissue Bank**. v.19, p.373–382. 2018. <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9681-y>.

ANANTAMA N. A., CHEYNE C. D., MARTENS A., ROTH S. P., BURK J., SPIEGELAERE W. D., MICHLER J. K., The granulation tissue: A narrative and scoping review of basic and clinical research of the equine distal limb exuberant wound healing disorder. **The Veterinary Journal**. v.280, 2022, 105790, ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105790>.

ANDRADE, M.N.B.; SEWARD, R.; MELO, J.R.C. Curativos. **Revista Médica de Minas Gerais**. v.2, n.4, p.228-36, 1992.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.41, n.1, p.27-51, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>

BARRIENTOS, STEPHAN et al. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**. v.16, n.5, p.585-601, 2008.

BASILE, R.C.; BASILE, M.T.; FERRAZ, G.C.; PEREIRA, M.C.; QUEIROZ-NETO, A. Metodologia de avaliação quantitativa de termografia no acompanhamento de processos inflamatórios em equinos. **Anais da XI Conferência Anual ABRAVEQ**. n.29, p.230-231, 2010.

BAZAZ, M. R.; MASHREGHI, M.; SHAHRI, N. M.; MASHREGHI, M.; ASOODEH, A.; RASSOULI, M. B.; GOLMOHAMMADZADEH, S. Pharmaceutical application of frog skin on fullthickness skin wound healing in mice. **Pharmaceutical Biology**. v.51, n.12, p.1600-1606, 2013. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.804846>.

BAZAZ, M. R.; MASHREGHI, M.; SHAHRI, N. M.; MASHREGHI, M.; ASOODEH A.; RASSOULI, M. B.; Evaluation of antimicrobial and healing activities of frog skin on guinea pigs wounds. **Jundishapur Journal of Microbiology**. v.8, n.8, e21218. 2015. <https://doi.org/10.5812/jjm.21218v2>

BROUGHTON G. 2ND, JANIS J.E., ATTINGER C.E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v.117, n.7, Suppl:12S-34S, 2006 <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2>. PMID: 16799372.

BJARNSHOLT T., KIRKETERP-MOLLER K., JENSEN P.O., MADSEN K.G., PHIPPS R., KROGFELT K., et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. **Wound Repair Regen**. v.16, p.2–10, 2008.

CALEY, M. P.; MARTINS, V. LC; O'TOOLE, E. A. Metalloproteinases and wound healing. **Advances in Wound Care**. v.4, n.4, p.225-234, 2015.

CAMPEBELL, R. C., OLIVEIRA, A. B., FAGUNDES, J. L. A., FORTES, B. N. A., VEADO, H. C., MACEDO, I. L., DALLAGO, B. S. L., BARUD, H. S., ADORNO, J., SALVADOR, P. A. V., SANTOS, P. S., CASTRO, M. B. Evaluation of bacterial cellulose/alginate-based hydrogel and frog skin dressings in equine skin wound healing. **Gels**. v.11, n.107, p.1-14. 2025. <https://doi.org/10.3390/gels11020107>

CELESTE, C.J.; DESCHESNE K.; RILEY C.B.; THEORET C.L.; Skin temperature during cutaneous wound healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder: kinetics and anatomic-site differences. **Veterinary Surgery**. v.42, n.2, p.147-53. 2013, <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2012.00966.x>.

CLARCK, D.P.; DURELL, S.; MALOY, W.L.; ZASLOFF, M. Ranalexin. A novel antimicrobial peptide from bullfrog (*Rana catesbeiana*) skin, structurally related to the bacterial antibiotic, polymyxin. **Journal of Biological Chemistry**. v.269, p.10849-10855, 1994.

COSTA, B.A. et al. Avaliação da redução do uso de analgésicos por pacientes ambulatoriais de um centro de queimados de referência em fortaleza com a aplicação da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras de segundo grau superficial. XXXVI **Encontro de Iniciação Científica**. Encontros Universitários da UFC, 2017. 29.

COSTA, B.A. et al. Use of Tilapia skin as a xenograft for pediatric burn treatment: a case report. **Journal of Burn Care & Research**. v.40, n.5, p.714-717, 2019.

COSTA, B. O.; LIMA JÚNIOR E. M.; FECHINE, F. V.; ALVES, A. P. N. N.; DE MELO, M. M. O.; RIBEIRO, W. L. C.; SIQUEIRA, J. P.; DE MORAES FILHO, M. O. Utilização da pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) como xenoenxerto em um equino com ferimento traumático. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.48, Suppl 1, p.506, 2020.

COSTA, B.O. Avaliação da eficácia da pele de tilápia (*oreochromis niloticus*) como xenoenxerto em úlceras cutâneas traumáticas em equinos. 116p. **Dissertação - Doutorado em Ciências Médico-cirúrgicas** - Universidade Federal do Ceará. Ceará, Fortaleza, 2023

DALL'OLIO, A.J.; MATIAS, G.D.S.S.; CARREIRA, A.C.O.; DE CARVALHO, H.J.C.; VAN DEN BROEK CAMPANELLI, T.; DA SILVA, T.S.; DA SILVA, M.D.; ABREU-SILVA, A.L.; MIGLINO, M.A. Biological graft as an innovative biomaterial for complex skin wound treatment in dogs: a preliminary report. **Materials**. v.15, p.6027, 2022. <https://doi.org/10.3390/ma15176027>

DOMINO, M.; BOROWSKA, M.; KOZŁOWSKA, N.; ZDROJKOWSKI, L.; JASINSKI, T. J.; SMYTH, G.; MANSKO, M. Advances in thermal image analysis for the detection of pregnancy in horses using infrared thermography. **Sensors**. v.22, n.1, p.191, 2021.

FALCÃO, S.C.; LOPES, S.L.; COELHO, A.R.B.; ALMEIDA, E.L. Pele de *Rana catesbeiana* como curativo biológico oclusivo no tratamento de feridas cutâneas produzidas em cães. Alterações macroscópicas e microscópicas resultantes da interação desses tecidos. Estudo preliminar. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.17, n.3, 2002.

FERREIRA, C. A.; JEUNE, S. S.; RAYBURN, M. C.; CHIGERWE, M. Thermographic evaluation of primary closure and second intention healing in dairy calves. **Veterinary Surgery**. 1–7, 2019. <https://doi.org/10.1111/vsu.13188>.

GARROS I.D.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 Cirúrgica Brasileira**. v.21, suppl 3, p.55-65, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000900009>

GERBER, P. A. et al. The top skin-associated genes: a comparative analysis of human and mouse skin transcriptomes. **Biological Chemistry**, v.395, n.6, p.577-591, 2014.

GOMES, A.; GIRI, B.; SAHA, A.; MISHRA, R.; DASGUPTA, S.C.; DEBNATH, A.; GOMES, A. Bioactive molecules from amphibian skin: Their biological activities with reference to therapeutic potentials for possible drug development. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.45, p.579–593, 2007.

GOMEZ, J.H.; SCHUMACHER, J.; LAUTEN, S.D. et al. Effects of 3 biologic dressings on healing of cutaneous wounds on the limbs of horses. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v.68, p.49-55, 2004.

GUO, S.A.; DIPIETRO, L.A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, v.89, n.3, p.219-229, 2010.

HACKETT, R.P., How to Prevent and Treat Exuberant Granulation Tissue. **American Association of Equine Practitioners** (AAEP), San Antonio, Texas, USA, p 367–373, 2011.

HAMED, M. A. A.; ABOUELNASR, K. S. B.; EL-ADL, M.; ABO ELFADL, D.; FARAG, A. E.; LASHEN, S. E.; Effectiveness of Allogeneic Platelet-Rich Fibrin on Second-Intention Wound Healing of Experimental Skin Defect in Distal Limb in Donkeys (*Equus asinus*). **Journal of Equine Veterinary Science**. v.73, p. 131-138. 2019.

HARMAN, R.M., BIHUN, I.V., VAN DE WALLE, G.R., Secreted factors from equine mesenchymal stromal cells diminish the effects of TGF-beta1 on equine dermal fibroblasts and alter the phenotype of dermal fibroblasts isolated from cutaneous fibroproliferative wounds. **Wound Repair and Regeneration**. v.25, p.234–247, 2017.

HARMAN R. M., THEORET C. L., VAN DE WALLE G. R. The Horse as a Model for the Study of Cutaneous Wound Healing. **Advances in Wound Care**. v.10, n.7, p.381-399. <https://doi.org/10.1089/wound.2018.0883>.

HARMON, C.C.G.; HAWKINS, J.S.; LI, J.; CONNELL, S.; MILLER, M.; SAENGER, M.; FREEMAN, L.J. Effects of topical application of silver sulfadiazine cream, triple antimicrobial ointment, or hyperosmolar nanoemulsion on wound healing, bacterial load, and exuberant granulation tissue formation in bandaged full-thickness equine skin wounds. **American Journal Veterinary Research**. v.78, n.5, p.638-646. 2017.

HEAD, M. J.; DYSON, S. Talking the temperature of equine thermography. **Veterinary Journal**. v.3, n.162, p.166-167, 2001.

HINZ, B. The role of myofibroblasts in wound healing. **Current Research in Translational Medicine**. v.64, n.4, p.171-177, 2016.

HOFFMANN, K. L.; WOOD, A. K.; GRIFFITHS, K. A.; EVANS, D. L.; GILL, R. W.; KIRBY, A. C.; Doppler sonographic measurements of arterial blood flow and their repeatability in the equine foot during weight bearing and non-weight bearing. **Research in Veterinary Science**. 70(3), 199–203, 2001. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2001.0461>

HOSGOOD, G. Reparo de feridas e resposta tecidual específica à lesão. In: SLATER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, v.1, 2007, p.66-86.

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.

KADUNC, N. Č.; FRANGEŽ, R.; KRULJC, P.; Infrared thermography in equine practice. **Veterinarska Stanica**. v.51, n.2, p.109-116, 2020.

KAMUS, L., THEORET, C. Choosing the best approach to wound management and closure. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**. v.34, p.499–509, 2018.

KAMUS, L.J., THEORET, C., COSTA, M.C., Use of next generation sequencing to investigate the microbiota of experimentally induced wounds and the effect of bandaging in horses. **PLoS One**. 13, e0206989, 2018.

KARA-JUNIOR, N. Definition of population and randomization of sample in clinic surveys. **Revista Brasileira de Oftalmologia**. v.73, n.2, p.67-68, 2014.

KAUER, D. P.; ALONSO, J. D. M.; GUSHIKEN, L. F. S.; LEMOS, M.; PADOVANI, C. R.; RODRIGUES, C. A.; ALVES, A. L. G.; WATANABE, M. J.; BASTOS, J. K.; PELLIZZON, C. H.; HUSSNI, C. A.; Experimental skin wound treatment with *Copaifera langsdorffii* Desf Kuntze (Leguminosae) extract and oil-resin in horses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.57, n.3, 166095. 2020. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2020.166095>.

KNOTTENBELT, D. C. Basic principles of equine dermatology. In: **Pascoe's principles & practice of equine dermatology**. 2nd edition, Missouri: Elsevier Limited, 2009. p.1-9.

KOIVISTO, L., HÄKKINEN, L., LARJAVA, H. Re-epithelialization of wounds. **Endodontic Topics**. v.24, n.1, p.59-93, 2011.

KUMAR, K.V.; SAI, K.P.; BABU, M. Application of frog (*Rana tigerina Daudin*) skin collagen as a novel substrate in cell culture. **Journal of Biomedical Materials Research**. v.61, p.197–202, 2002.

LEAL, E.C; CARVALHO, E. Cicatrização de feridas: o fisiológico e o patológico. **Revista Portuguesa de Diabetes**. v.9, n.3, p.133-143, 2014.

LI, J., CHEN, J., KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in Dermatology**. v.25, n.1, p.9-18, 2007.

LI, C.; FU, Z.; JIN, T.; LIU, Y.; YIN, S.; WANG, Z.; HUANG, Y.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; LI, J.; WU, Y.; HE, L.; TANG, J.; WANG, W.; YANG, X.; A frog peptide provides new strategies for the intervention against skin wound healing. **Cellular & Molecular Biology Letters**. v.28, n.61, p.1-32. 2023. <https://doi.org/10.1186/s11658-023-00468-3>

LIMA-JUNIOR, E. M.; PICOLLO, N.S.; MIRANDA, M.J.B.; RIBEIRO, W.L.C.; ALVES, A.P.N.N.; FERREIRA, G.E.; PARENTE, E. A.; MORAES-FILHO, M. O.; Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**. v.16, n.1, p.10-18, 2017.

LIMA-JÚNIOR, E.M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; FECHINE, F. V.; DE MORAES, M. E. A.; SILVA-JUNIOR, F. R.; SOARES, M. F. A. D. N.; ROCHA, M. B. S.; LEONTSINIS, C. M. P.; Innovative treatment using tilapia skin as a xenograft for partial thickness burns after a gunpowder explosion. **Journal of Surgical Case Report**. v.6, p.1–9. 2019.

LIMA-JUNIOR, E. M.; MORAIS FILHO M. O.; ROCHA, M. B. S.; PAIER, C. R. K.; RODRIGUES, F. A. R.; COSTA, B. A., Uso da pele de tilápia em medicina regenerativa: Status e perspectivas. **Revista Brasileira de Queimaduras**. v.19, n.1, p.78-83, 2020.

LIMA-JÚNIOR, E.M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; UCHÔA, A. M. D. N.; MARTINS, C. B.; MORAES, M. E. A.; SALES ROCHA, M. B.; FECHINE, F. V.; Tratamento de queimaduras de segundo grau profundo em abdômen, coxas e genitália: uso da pele de tilápia como um xenoenxerto. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**. v.35, n.2, p.243-248, 2020a.

LIMA-JÚNIOR, E.M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; ROHLER, A. V. P.; SALES ROCHA, M. B.; FECHINE, F. V.; FORTE, A. J.; ALVES, A. P. N. N.; SILVA JÚNIOR, F. R.; MARTINS, C. B.; MATHOR, M. B.; MORAES, M. E. A.; Innovative burn treatment using tilapia skin as a xenograft: a phase II randomized controlled trial. **Journal of Burn Care & Research**. v.41, n.3, p.585–592, 2020b. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irz205>

LIMA-JÚNIOR, E.M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; FECHINE, F. V.; VALE, M. L.; DIÓGENES, A. K. L.; NEVES, K. R. T.; UCHÔA, A. M. D. N.; SOARES, M. F. A. D. N.; DE MORAES, M. E. A.; Nile tilapia fish skin–based wound dressing improves pain and treatment-related costs of superficial partial-thickness burns: a phase III randomized controlled trial. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v.147, n.5, 2021.

LIMA VERDE, M. E. Q.; FERREIRA-JÚNIOR, A. E. C.; BARROS-SILVA, P. G. D.; MIGUEL, E. D. C.; MATHOR, M. B., LIMA-JÚNIOR, E. M.; MORAES-FILHO, M. O. D.; ALVES, A. P. N. N. Nile tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) for burn treatment: ultrastructural analysis and quantitative assessment of collagen. **Acta Histochemica**. v.123, n.6, 151762, ISSN 0065-1281. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2021.151762>.

LIU, H.; MU, L.; TANG, J.; SHEN, C.; GAO, C.; RONG, M.; ZHANG, Z.; LIU, J.; WU, X.; YU, H.; LAI, R. A potential wound healing-promoting peptide from frog skin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biololy**. v.49, p.32-41, 2014.

LÓPEZ, C.; CARMONA, J. U. Platelet-rich plasma as an adjunctive therapy for the management of a severe chronic distal limb wound in a foal. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.34, p.1128–1133, 2014.

LUCAS, F.A.; KANDROTAS, A.L.; NARDIN NETO, E.; SIQUEIRA, C.E.; SANTO ANDRÉ, G.; BROMERSCHENKEL, I.; PERRI, S.H.V. Copaiba oil in experiment in experimental wound healing in horses. **Ciência Rural**. v.47: 04, e20151292, 2017.

MADISON J.B.; GRONWALL R.R. Influence of wound shape on wound contraction in horses. **American Journal of Veterinary Research**. v.53, n.9, p.1575-1578. PMID: 1416358, 1992.

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. **Archives of Veterinary Science**. v.8, n.2, p.1-7, 2003. <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v8i2.402>

MARTINS, E.A.N.; INVERNIZZI, M.S.; CAMPOS, M.G.N.; et al. Emprego de membrana de quitosana em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em equinos. **Ciência Rural**. v.43, n.10, p.1824-1830, 2013.

MASHREGHI, M.; REZAZADE, B. M.; MAHDAVI, S.I N.; et al. Topical effects of frog “*Rana ridibunda*” skin secretions on wound healing and reduction of wound microbial load. **Journal of Ethnopharmacology**. v.145, p.793–797, 2013.

MAHER, M.; KUEBELBECK, L. Nonhealing wounds of the equine limb. **Veterinary Clinics of Equine**. v.34, p.539–555, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2018.07.007> 0749-0739/18/^a

MASKO, M.; BOROWSKA, M.; DOMINO, M.; JASINSKI, T.; ZDROJKOWSKI, L.; GAJEWSKI, Z. A novel approach to thermographic images analysis of equine thoracolumbar region: The effect of effort and rider’s body weight on structural image complexity. **BMC Veterinary Research**. v.17, n.1, p.1-12, 2021.

MIRANDA, M. J. B. D.; BRANDT, C. T.; Xenoenxerto (pele da Tilápia-do-Nilo) e hidrofibra com prata no tratamento das queimaduras de II grau em adultos. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**. v.34, n.1, p.79-85. 2019.

MOURA, D. J.; MAIA, A. P. A.; VERCELLINO, R. A.; MEDEIROS, B. B. L.; SARUBBI, J.; GRISKA, P. R. Uso da termografia infravermelha na análise da termorregulação de cavalo em treinamento. **Engenharia Agrícola**. v.31, p.23-32, 2011.

OLIVEIRA, C.R.D. Propriedades físicas e biológicas do novo curativo constituído da pele da rã *Rana catesbeiana*. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2002.

OLIVEIRA, J.R., 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. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.32, n.3, p.139-145, 2012.

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

PAGANELA, J. C.; RIBAS, L. M.; SANTOS, C. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W.; FERNANDES, C. G.; Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.104, p.569-572 2009.

PAIVA, L. A.; DE ALENCAR CUNHA, K. M.; SANTOS, F. A.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S.; Investigation on the wound healing activity of oleoresin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Phytotherapy Research**. v.16, n.8, p.737-739, 2002. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1049>.

PASSARINI JUNIOR, J.R.; GASPI, F.O.G.; NEVES, L.M.G.; ESQUISATTO, M.A.M.; SANTOS, G.M.T.; MENDONÇA, F.A.S. Application of *Jatropha curcas* L. seed oil (Euphorbiaceae) and microcurrent on the healing of experimental wounds in Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.27, n.7, p.441–447, 2012.

PEIXE BR, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuário peixe BR da piscicultura 2021**. São Paulo, p. 71, 2021.

PENN, J.W., GROBBELAAR, A.O., ROLFE, K.J., The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. **International Journal of Burns and Trauma**, v.2, p.18–28, 2012.

PEREIRA, R C. DA F.; CÔRTE, F. D. D. L.; BRASS, K. E.; AZEVEDO, M. D. S.; GALLIO, M.; CANTARELLI, C.; DAU, S. L.; CEZAR, A. S.; INKELMANN, M. A. Evaluation of three methods of platelet-rich plasma for treatment of equine distal limb skin wounds. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.72, p.1–7, 2017.

PROVOST, P. J. Wound healing. In: AUER, J. A.; STICK, J. A.; KÜMMERLE, J. M.; PRANGE, T. **Equine surgery**. 5th ed Missouri: Editora Elsevier. 2019. p.3-65.

QING, C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound. **Chinese Journal of Traumatology**. v.20, n.4, p.189-193, 2017.

RAGHAVAN K, V.; BABU, M.; RAJARAM, R; et al. Efficacy of frog skin lipids in wound healing. **Lipids in Health and Disease**. v.9, p.74, 2010. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-9-74>

RAMSEY, D. T.; POPE, E. R.; WAGNER-MANN, C.; BERG, J. N.; SWAIM, S. F.; Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.56, n.7, p.941-949, 1995.

REDAELLI, V.; BERGERO, D.; ZUCCA, E.; FERRUCCI, F.; COSTA, L. N.; CROSTA, L.; LUZI, F.; Use of thermography techniques in equines: principles and applications. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.34, p. 345-350, 2014.

REDAELLI V., LUZI F., MAZZOLA, S., BARIFFI, G. D., ZAPPATERRA M., COSTA L. N. & PADALINO B. The Use of Infrared Thermography (IRT) as an Indicator of Stress in Endurance-Trained Horses: A Pilot Study. **Animals**. v.9, n.84, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9030084>.

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

RESENDE, A. M., MIRANDA, B. A., SILVA, L. B., OLIVEIRA, A. B., CASTRO, M. B., MACÊDO, I. L., DALLAGO, B. S. L., BARUD, H. S., BORGES, M. A. C., RIBEIRO, C. A., DIAS, D. S., CAMPEBELL, R. C. Evaluation of *Platonia insignis* Mart. (Bacuri Butter) and Biopolymers from the Puree of *Allium cepa* L. (Yellow Onion Bulb) for Wound Healing in Horses. **Pharmaceutics**. v.16, n.11, p.1457, 2024.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16111457>

ROUSSELLE, P., MONTMASSON, M., GARNIER, C. Extracellular matrix contribution to skin wound re-epithelialization. **Matrix Biology**, v.75, p.12-26, 2019.

SAI, K.P.; REDDY, P.N.; BABU, M. Investigations on wound healing by using amphibian skin. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.33, p.673–676, 1995.

SARTO PICCOLO, N.; SARTO PICCOLO, M.; SARTO PICCOLO, M.T. The use of frog skin as a biological dressing for temporary cover of burn wounds. In: EISENMANN-KLEIN, M.; NEUHANN-LORENZ, C. (eds) **Innovations in plastic and aesthetic surgery**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p.129-137. https://doi.org/10.1007/978-3-540-46326-9_16

SCHWARTZ, A.J., WILSON, D.A., KEEGAN, K.G. Factors regulating collagen synthesis and degradation during second intention healing of wounds in the thoracic region and the distal aspect of the forelimb of horses; **American Journal of Veterinary Research**. v.63, p.1564, 2002.

SEID, A.M.; BIRHAN, M.A Review on equine wound management and healing process. **Online Journal of Animal and Feed Research**. v.9, n.2, p.68-85, 2019.

SIBBALD, R.G.; GOODMAN, L.; WOO, K.Y.; KRASNER, D.L.; SMART, H.; TARIQ, G.; AYELLO, E.A.; BURRELL, R.E.; KEAST, D.H.; MAYER, D.; NORTON, L.; SALCIDO, R.S. Special considerations in wound bed preparation 2011: an update. **Advances in Skin and Wound Care**. v.24, n.9, p.415-436, 2011.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.ASW.0000405216.27050.97>

SILVA, S.C.; RÍSPOLI, V.F.P.; GRANER, C.; SÁ, L.R.M.; BELLI, C.B.; DE ZOPPA A.L.V. Using tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) as an occlusive biological curative in equine wounds: short communication. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.56, n.4, p.1-5, e154079, 2019. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2019.154079>.

SILVA, T.; SOARES, C.; MARIZ, A.; MAIA, T.; PIERRE BARNABÉ, E. Use of thermography in clinical and sports evaluations of equine animals: A review. **Research, Society and Development**. v. 11, n. 8, 2022.

SILVA, S. C. D. Clinical and histopathological evaluation of tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) as an occlusive biological curative in equine wounds. 2022. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-30052022-142216/>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SINGER, A.J.; CLARK R.A.F. Cutaneous wound healing; **The New England Journal of Medicine**. v.341, p.738-746, 1999.

SOROKO, M.; HOWELL, K. Infrared thermography: current applications in equine medicine. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.60, p. 90-96, 2018.

SOROKO, M.; MOREL, M. C. G. Equine thermography in practice. **Wallingford: CAB International**. 2016. 117p.

SOUZA, D.W.; MACHADO, T.S.L.; ZOPPA, A.L.V.; CRUZ, R.S.F.; GÁRAGUE, 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. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.8, n.3, p.9-13, 2006.

STASHAK, T.S. Principles of wound healing. In: Equine wound management. **London: Lea e Febiger**. 1991. p.1-15.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H. CHAPTER 1 - Structure and Function of the Skin, In: **Equine Dermatology**, 2nded., Missouri: Elsevier W.B. Saunders Company, p.1-28, 2011.

SCOTT, D. W.; MILLER, JR. W.H.; GRIFFIN, C.E.; MULLER, G.H. **Muller and Kirk's small animal dermatology. Elsevier Health Sciences**, 2003.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C. The physiology of wound healing. **Surgery**, v.35, n.9, p.473-477, 2017.

SPARKS, H. D.; SIGAEVA, T.; TARRAF, S.; MANDLA, S.; POPE, H.; HEE, O.; DI MARTINO, E. S.; BIERNASKIE, J.; RADISIC, M.; SCOTT, W. M. Biomechanics of wound healing in an equine limb model: effect of location and treatment with a peptide-modified collagen-chitosan hydrogel. **ACS Biomaterials Science & Engineering Journal**. v,7, p.265-278, 2021. <https://dx.doi.org/10.1021/acsbmaterials.0c01431>

TEIXEIRA NETO, A. R.; PEREIRA, J. R. M.; SANTOS, A. B.; ALMEIDA, R. M.; DALLAGO, B. S. L. Changes in surface temperature of upper fore and hindlimbs of horses submitted to four beat gait exercise determined by thermography. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.72, p.1566-1570, 2020.

THEORET, C. L. Physiology of wound healing. In: STASHAK. T.S.; THEORET, C. L. **Equine wound management**. 2nd ed., Iowa: Wiley-Blackwell. 2008. p.5-28.

THEORET, C. L. The pathophysiology of wound repair. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v.21, n.1, p.1-13. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2004.11.001>, 2005.

THEORET, C.L.; BARBER, S.M.; MOYANA, T.N.; GORDON, J.R., Expression of transforming growth factor beta (1), beta (3), and basic fibroblast growth factor in full-thickness skin wounds of equine limbs and thorax. **Veterinary Surgery** v.30, p.269-277, 2001.

THEORET, C.L.; OLUTOYE, O.O.; PARNELL, L.K.S.; HICKS, J.; Equine exuberant granulation tissue and human keloids: A comparative histopathologic study. **Veterinary Surgery**, v.42, p.783–789, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2013.12055.x>

THEORET, C.; WILMINK, J.M. Aberrant wound healing in the horse: naturally occurring conditions reminiscent of those observed in man. **Wound Repair and Regeneration**, v.21, n.3, p.365-371, 2013.

TRACEY, A. K.; ALCOTT, C. J.; SCHLEINING, J. A.; SAFAYI, S.; ZABACK, P. C.; HOSTETTER, J. M.; REINERTSON, E. L.; The effects of topical oxygen therapy on equine distal limb dermal wound healing. **Canadian Veterinary Journal**, v.55, p.1146-1152, 2014.

TRINDADE, P. H. E.; FERRAZ, G. C.; LIMA, M. L. P.; NEGRÃO, J. A.; COSTA, M. J. R. P. Eye surface temperature as a potential indicator of physical fitness in ranch horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.75, p.1-8, 2019.

TOTTOLI, E.M, DORATI, R., GENTA, I., CHIESA, E., PISANI, S., CONTI, B. Processo de cicatrização de feridas cutâneas e novas tecnologias emergentes para tratamento e regeneração de feridas cutâneas. **Farmacêutica**, v.12, n.8, p.735, 2020.

TUNLEY, B. V.; HENSON, F. M. D. Reliability and repeatability of thermographic examination and the normal thermographic image of the thoracolumbar region in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v.36, p.306-312, 2004.

TURNER, T. A. Diagnostic thermography. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.17, p. 95-113, 2001.

VAN DEN BOOM, R., WILMINK, J.M., O'KANE, S., WOOD, J., FERGUSON, M.W.J., Transforming growth factor-beta levels during second- intention healing are related to the different course of wound contraction in horses and ponies. **Wound Repair and Regeneration**, v.10, p.188–194, 2002.

WATTS, E.J.; ROSE, M.T., Extracellular matrix expression by equine oral and limb fibroblasts in in vitro culture. **Research in Veterinary Science**, v.92, p.213–218, 2012.

WESTGATE, S. J.; PERCIVAL, S.L.; KNOTTENBELT, D.C.; CLEGG, P.D.; COCHRANE, C.A. Microbiology of equine wounds and evidence of bacterial biofilms. **Veterinary Microbiology** v.150, p.152–159, 2011.

WILK, I.; WNUK-PAWLAK, E.; JANCZAREK, I.; KACZMAREK, B.; DYBCZYNSKA, M.; PRZETACZNIK, M. Distribution of superficial body temperature in horses ridden by two riders with varied body weights. **Animals**, v.10, n.2, p.340, 2020.

WILMINK, J.M.; LADEFOGED, S.; JONGBLOETS, A.; VERNOOIJ, J.C.M. The evaluation of the effect of probiotics on the healing of equine distal limb wounds. **PLoS One**, v.15, n.7, e0236761, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236761>.

WISE, L.M.; STUART, G.S.; SRIUTAIK, K.; ADAMS, B.R.; RILEY, C.B.; THEORET, C.L. Antifibrotic actions of equine interleukin-10 on transforming growth factor-beta1-stimulated dermal fibroblasts isolated from limbs of horses. **Frontiers in Veterinary Science**, v.18; n.7:577835. 2020. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.577835>.

WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ, O.; MASKO, M.; DOMINO, M.; WINNICKA, A. Infrared thermography correlates with lactate concentration in blood during race training in horses. **Animals**, v.10, n.11, p. 2072, 2022.

WRIGHT, C.; KRONER, C.I.; DRAIJER, R. Non-invasive methods and stimuli for evaluating the skin's microcirculation. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v.54, n.1, p.1-25, 2006. ISSN 1056-8719.

YANMAZ, L. E.; OKUMUĞ, Z.; DOĞAN, E.; GÖKHAN, M. S. Basic principles of thermography in horses. **Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi**: Ekim. p. 126. Ulusal veteriner cerrahi kongresi, 2014.

YANMAZ, L. E.; OKUMUS, Z.; DOĞAN, E. Instrumentation of thermography and its applications in horses. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n.7, p.858-62, 2007.

ZHU, W.H., GUO, X., VILLASCHI, S. Regulation of vascular growth and regression by matrix metalloproteinases in the rat aorta model of angiogenesis. **Lab. Invest.**, v.80, p.545, 2000.

ANEXO – Fotos de todos os animais

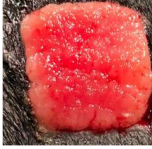
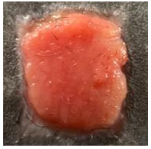
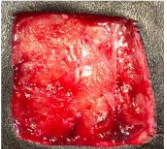
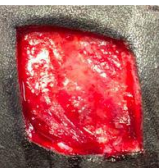
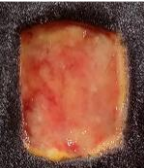
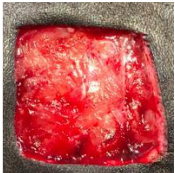
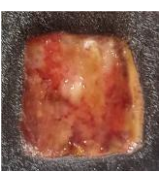
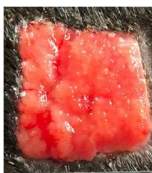
Animal 1	D0	D3	D7	D14	D21	D28
GC						
GPTE						
GPTC						
GPR						

Figura 31. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 1.

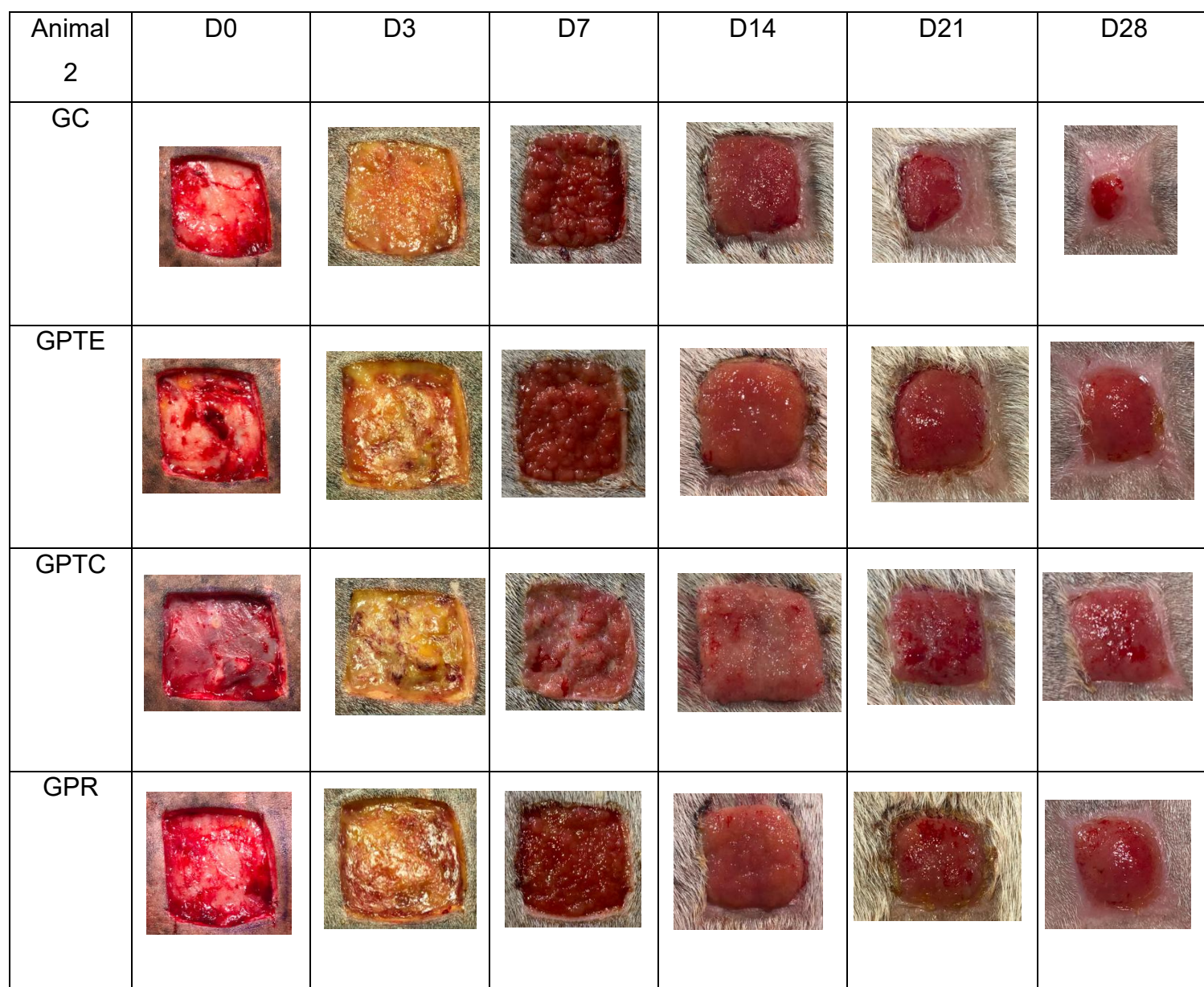


Figura 32. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 2.

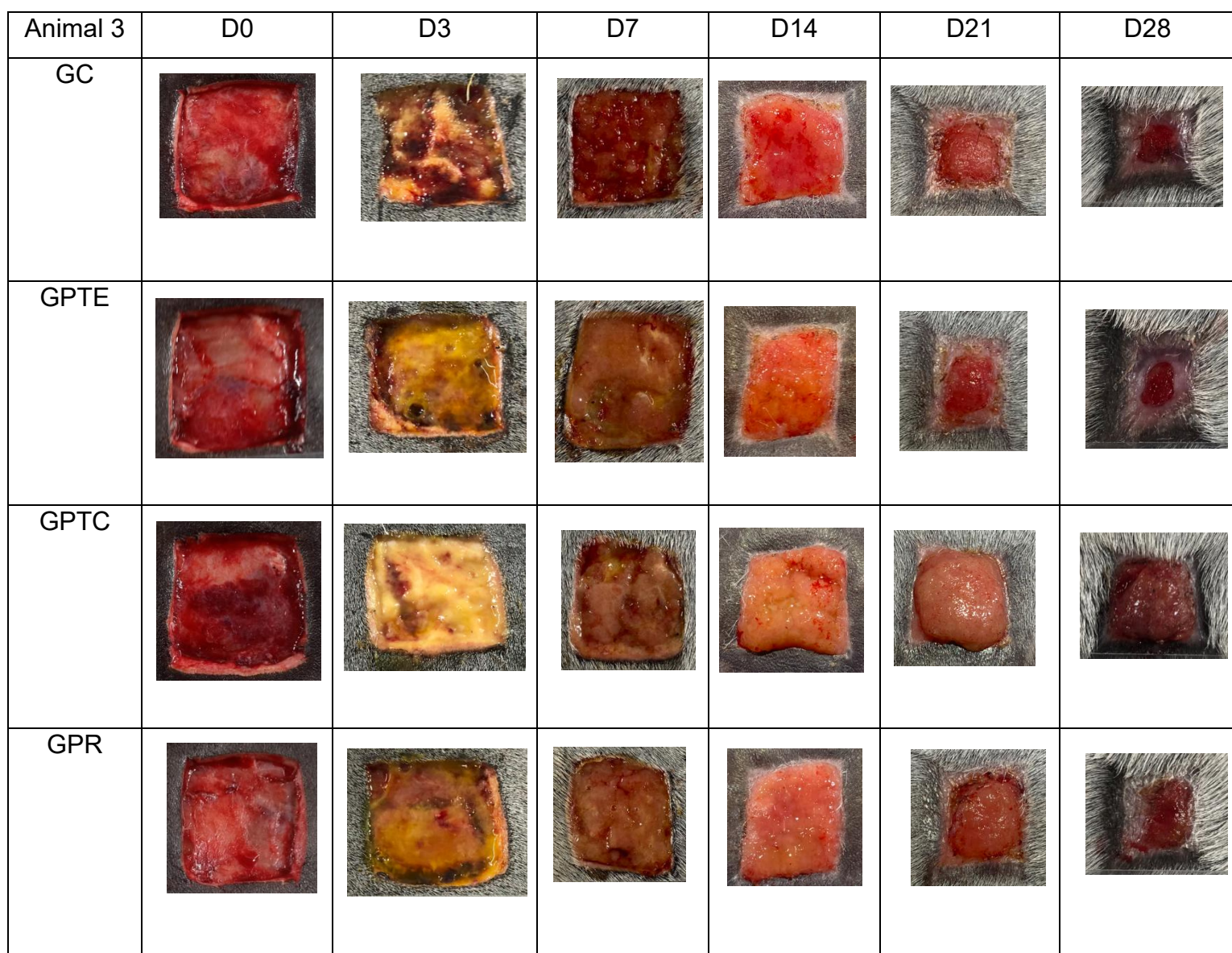


Figura 33. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.

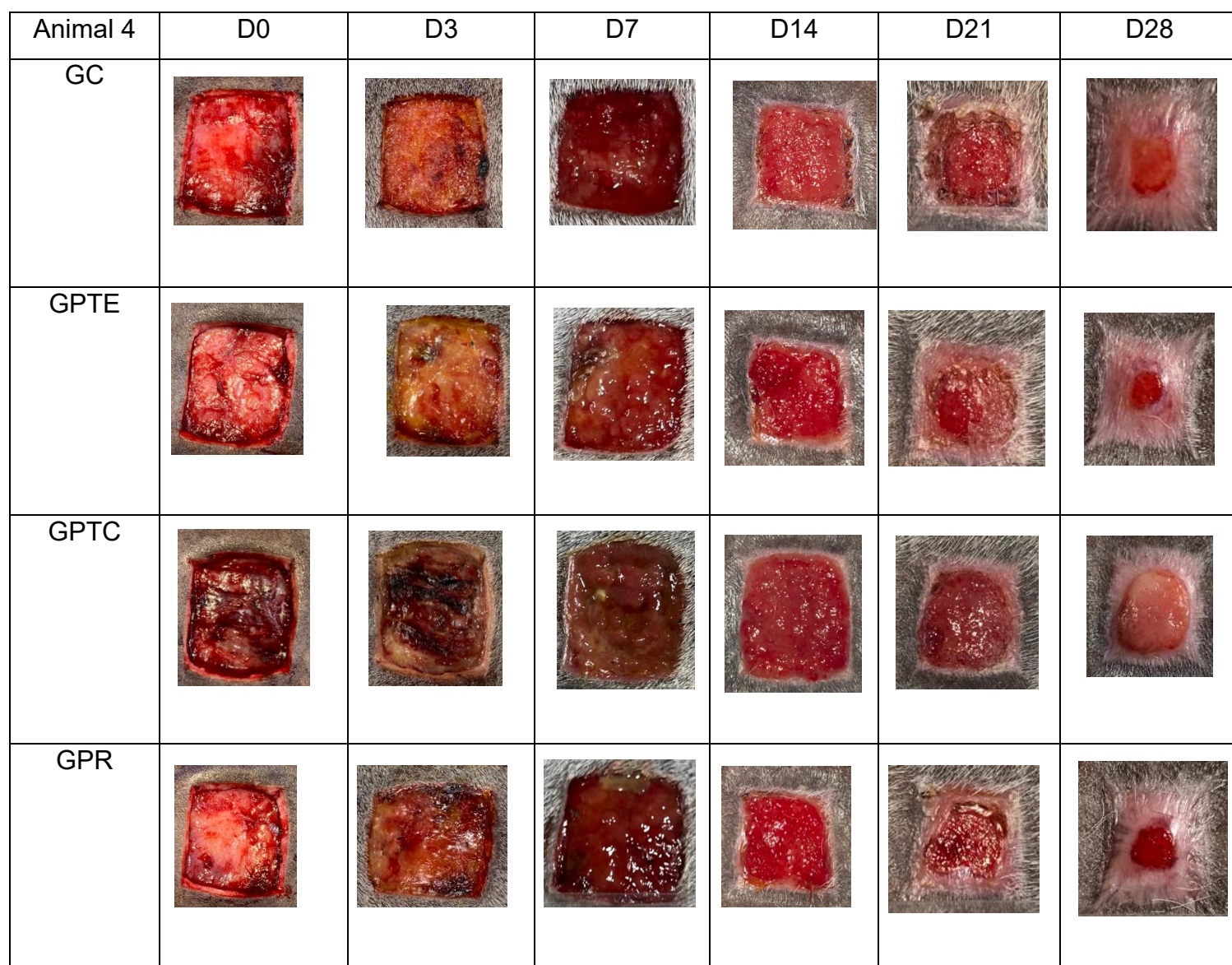


Figura 34. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTe), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 4.

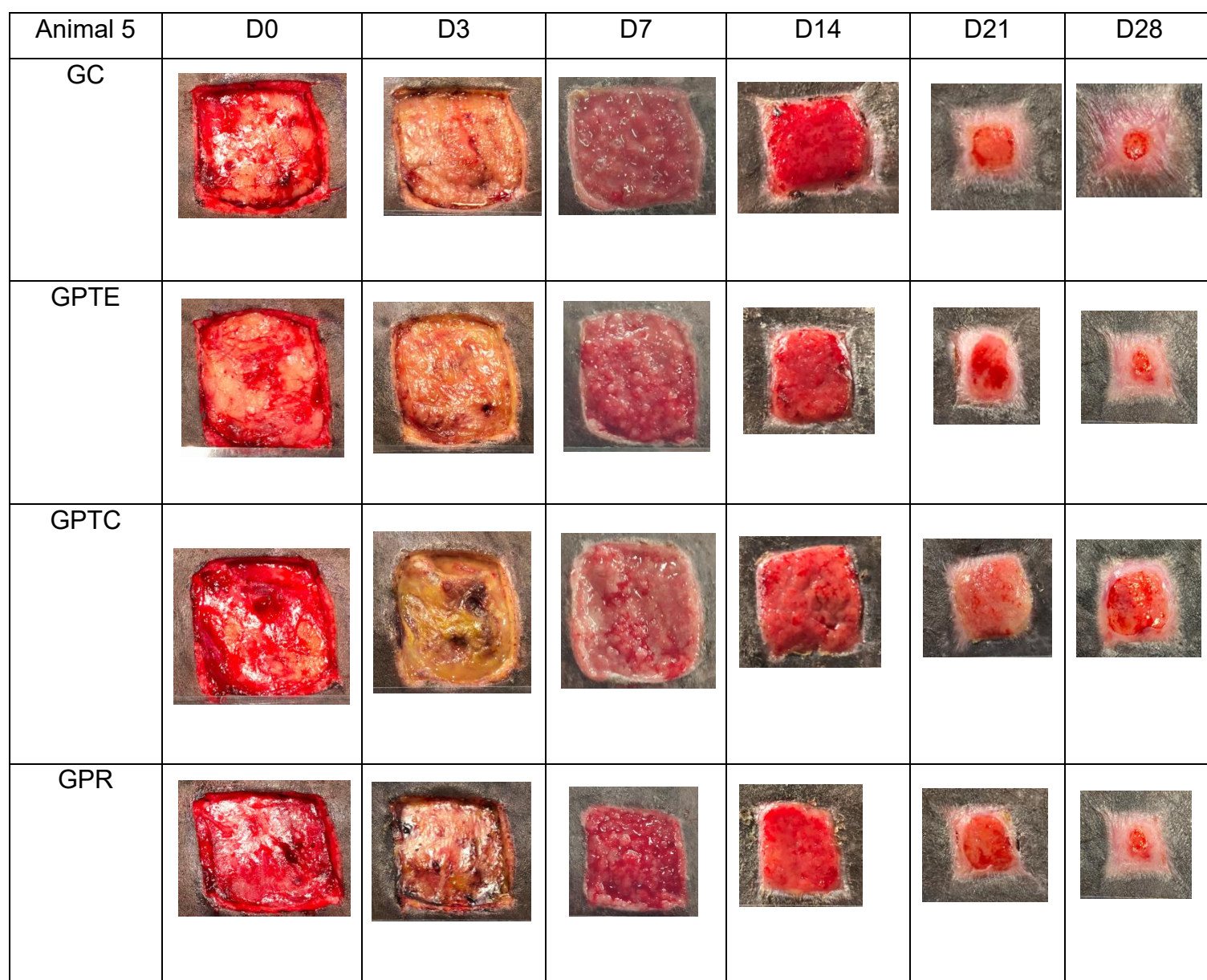


Figura 35. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 5.

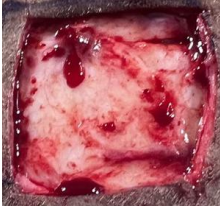
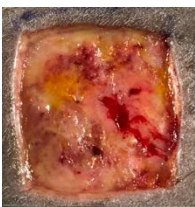
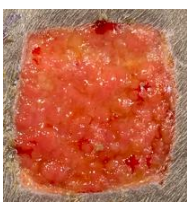
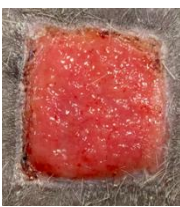
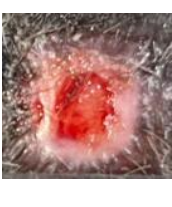
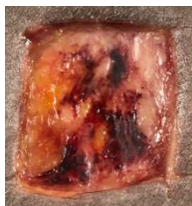
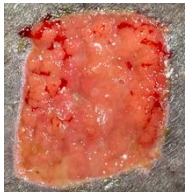
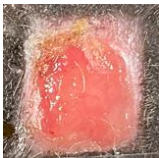
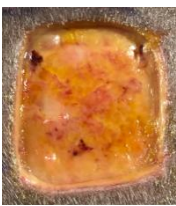
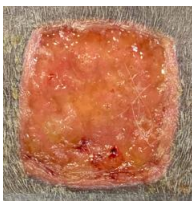
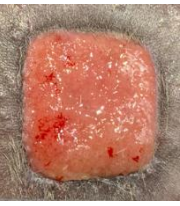
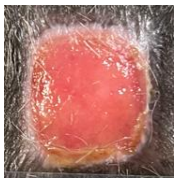
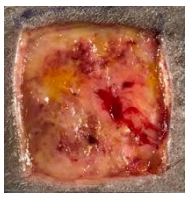
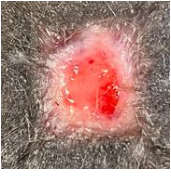
Animal 6	D0	D3	D7	D14	D21	D28
GC						
GPTE						
GPTC						
GPR						

Figura 36. Fotografia das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 6.

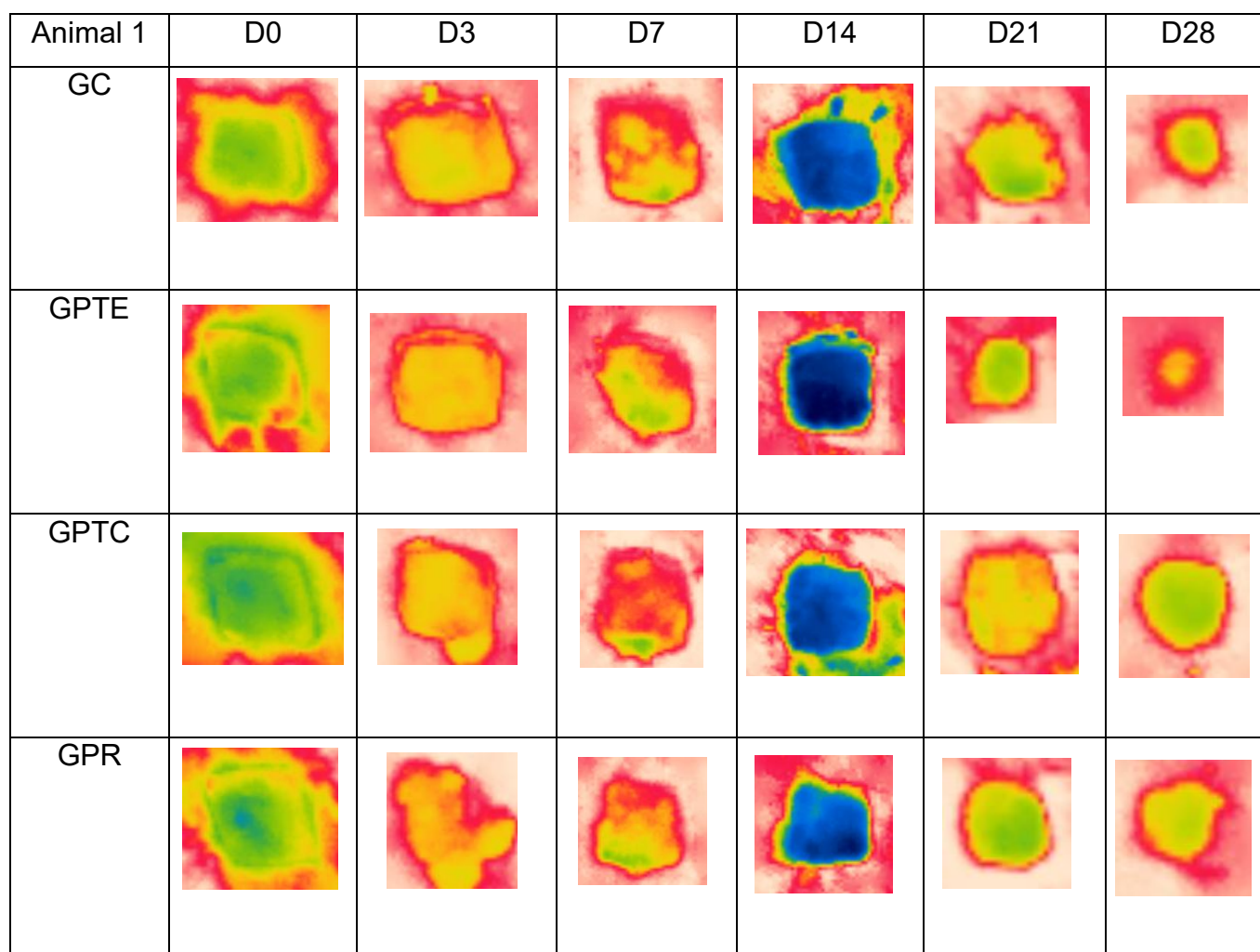


Figura 37. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTe), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 1.

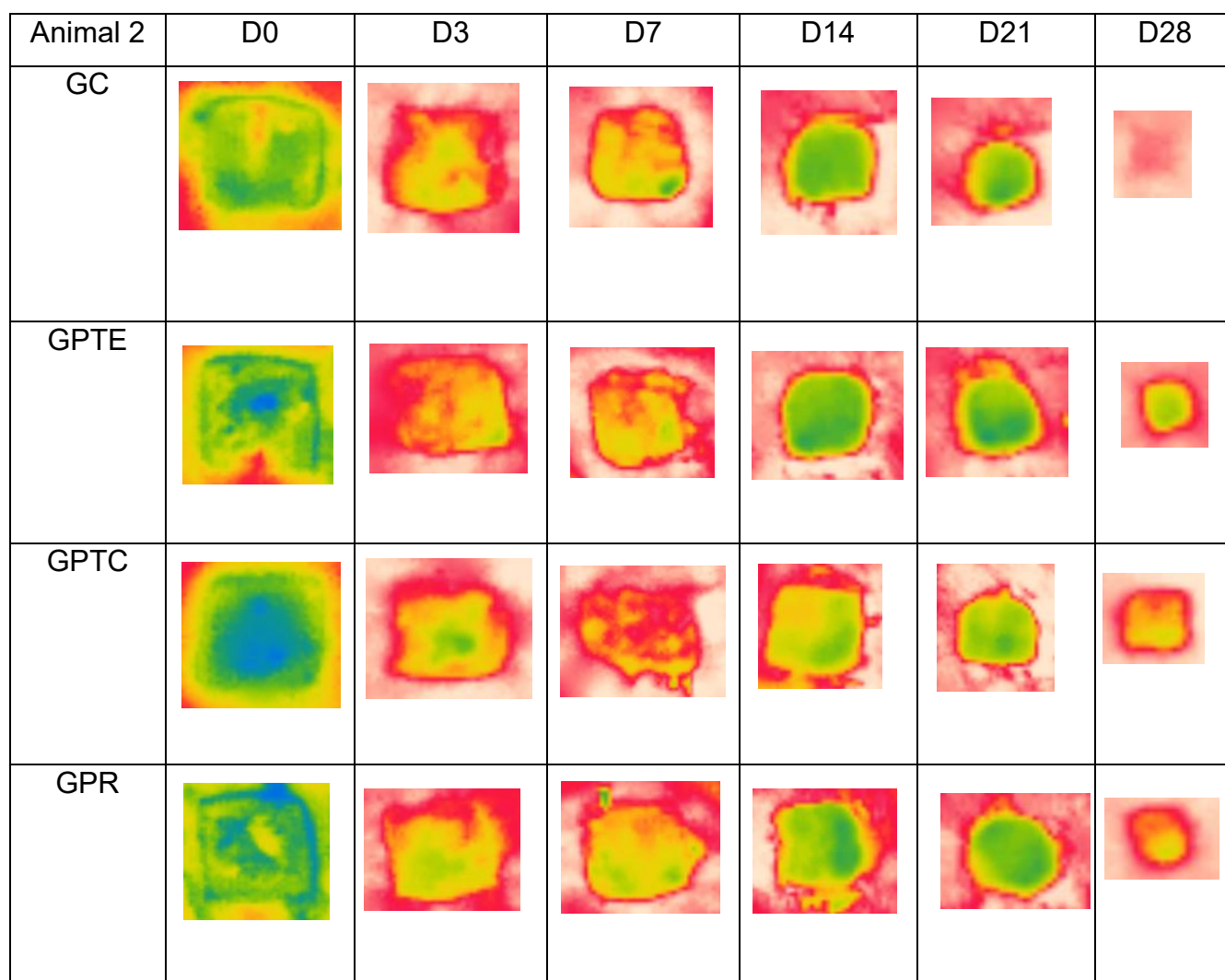


Figura 38. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 2.

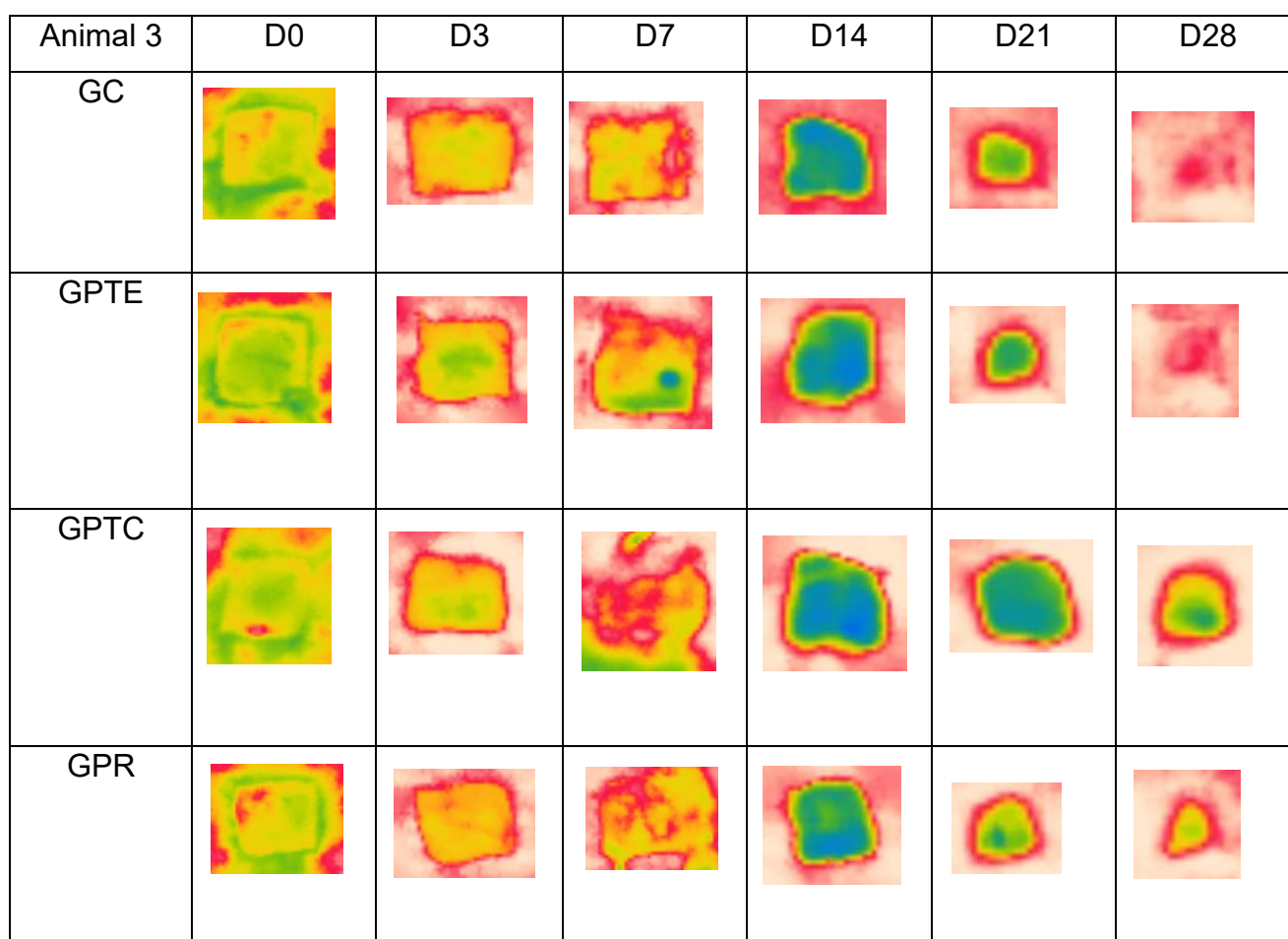


Figura 39. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 3.

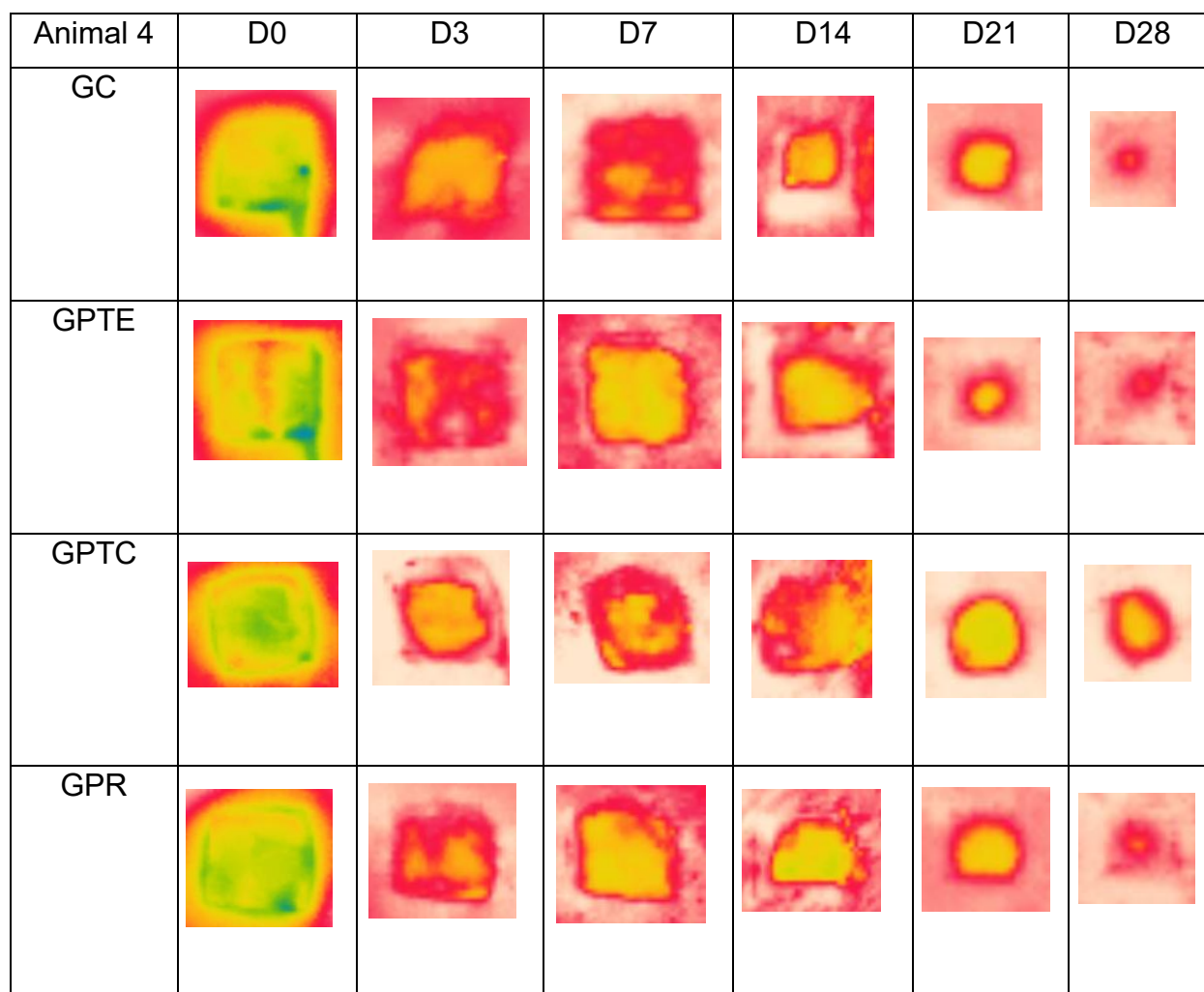


Figura 40. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 4.

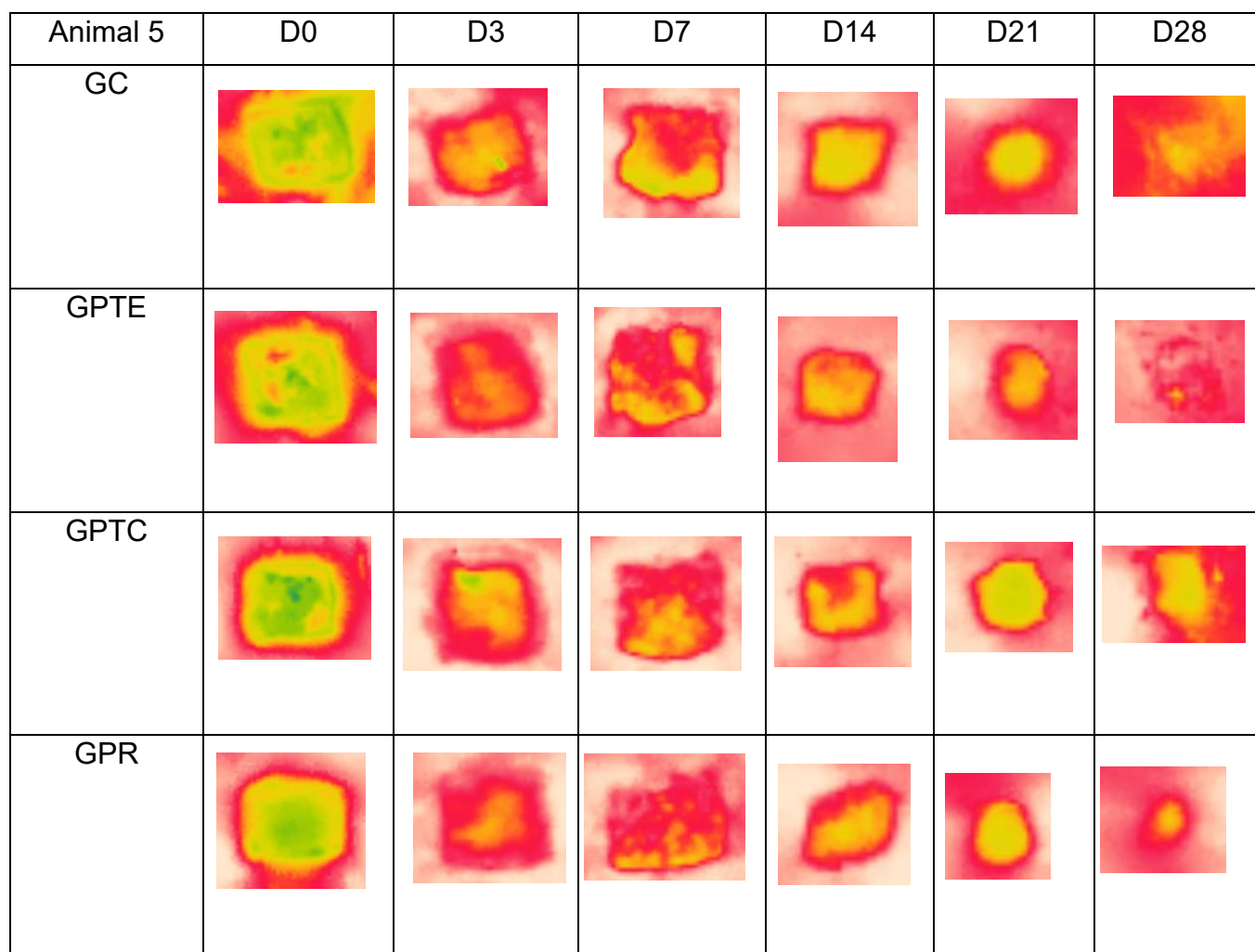


Figura 41. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 5.

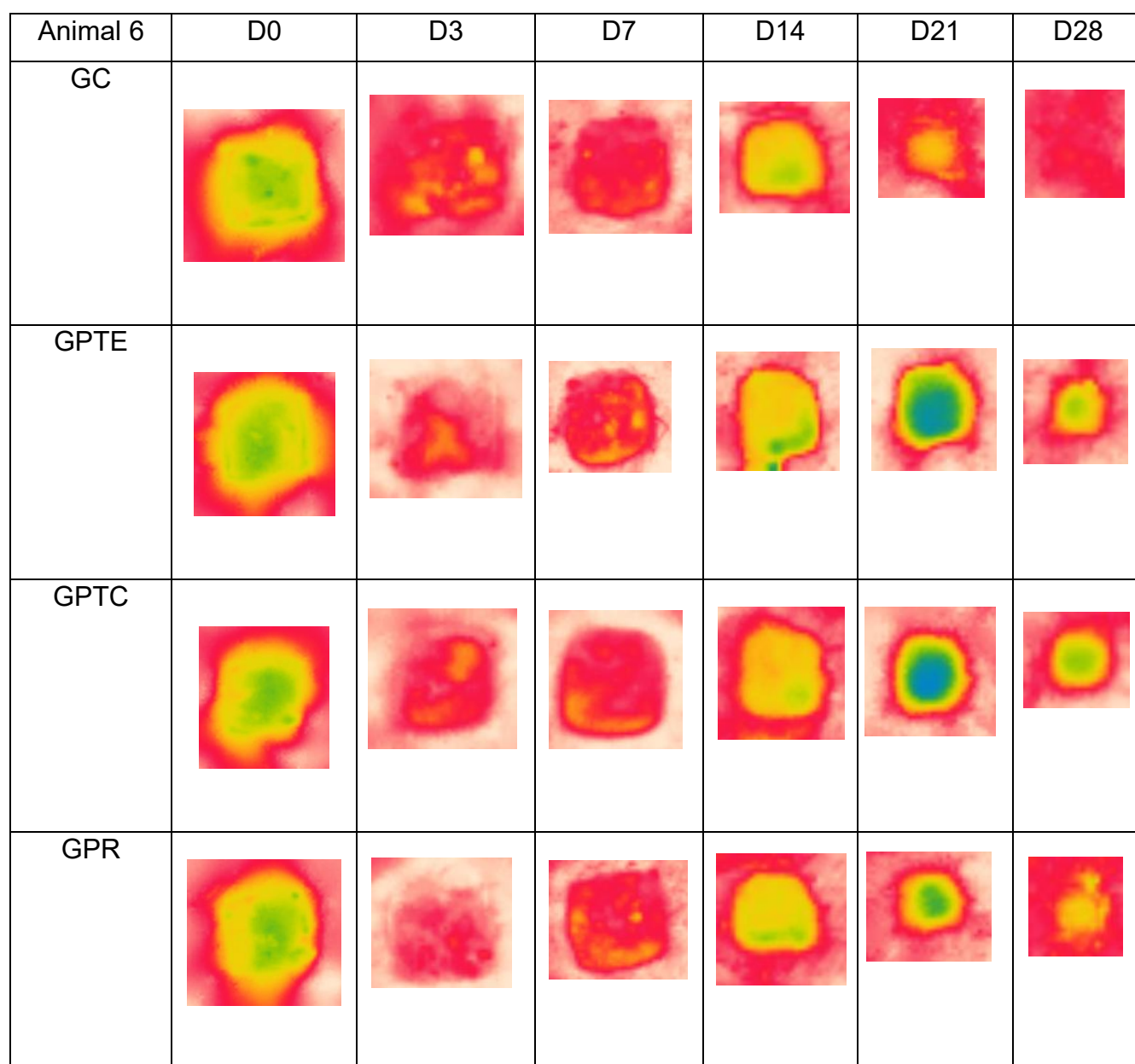


Figura 42. Imagem termográfica das feridas do Grupo Controle (CG), Grupo pele de tilápia esterilizada (GPTE), Grupo pele de tilápia congelada (GPTC), e Grupo pele de Rã (GPR) nos dias 0 (D0), 03 (D3), 07 (D7), 14 (D14), 21 (D21) e 28 (D28), do Animal 6.

**Universidade de Brasília**

Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 26 de maio de 2022.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de ensino intitulado **“COMPARAÇÃO DA UTILIZAÇÃO PELE DE RÃ (*Rana catesbeiana*) E DA PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) CONGELADA OU ESTERILIZADA COM RAIOS GAMA, NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM EQUINOS**”, SEI n.º 23106.027371/2022-70, sob responsabilidade da Professora Rita de Cássia Campebell, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 173ª reunião ordinária, realizada em 11/5/2022.

Este projeto foi aprovado para utilização de *Equus caballus* (6 machos e fêmeas), provenientes da SEAGRI-DF.

O presente certificado é válido pelo período de 01/9/2022 a 29/9/2023.

*Carina Krewer*

Dra. Carina da Costa Krewer

Coordenadora da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.