UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

BIANCA MOUTINHO GRIZENDI

**Avaliação do processo de cicatrização de feridas em equinos com o uso
de moxabustão**

Pirassununga

2020

BIANCA MOUTINHO GRIZENDI

**Avaliação do processo de cicatrização de feridas em equinos com o uso
de moxabustão**

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Biociência Animal.

Área de Concentração: Biociência Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Gebara Sampaio
Dória

Pirassununga
2020

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G872a Grizendi, Bianca Moutinho
Avaliação do processo de cicatrização de feridas
em equinos com o uso de moxabustão / Bianca
Moutinho Grizendi ; orientadora Renata Gebara
Sampaio Dória. -- Pirassununga, 2020.
99 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Biociência Animal) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Cicatrização. 2. Medicina Alternativa. I.
Dória, Renata Gebara Sampaio , orient. II. Título.

Título: Avaliação do processo de cicatrização de feridas em equinos com o uso de moxabustão

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo para o cumprimento de uma etapa do programa de Mestrado em Biociência Animal.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

RESUMO

GRIZENDI, B. M. **Avaliação do processo de cicatrização de feridas em equinos com o uso de moxabustão**. 2020. 99f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

A cicatrização de feridas em equinos depende do arranjo efetivo dos diversos acontecimentos envolvidos e este processo é usualmente hermético, resultando na cronicidade e formação de tecido de granulação exuberante. Ademais, quando as feridas localizam-se nos membros, alguns elementos afetam negativamente a cicatrização, como mobilidade constante e predisposição à contaminação. Neste sentido, há uma busca constante por recursos terapêuticos alternativos, como a utilização de métodos da Medicina Tradicional Chinesa (MTC). A moxabustão é uma técnica da MTC para tratamento de doenças por meio da comustão de Artemisia. Este estudo tem como objetivo principal a avaliação da qualidade de cicatrização de feridas de pele em equinos com o uso da moxabustão. Foram utilizados oito equinos para indução e tratamento de feridas, nas regiões metacarpo-falangeanas, sendo as mesmas divididas em dois grupos experimentais, moxabustão (MOXA) e controle (CONT). As feridas do grupo MOXA foram tratadas com água e sabão neutro, associando sessões de moxabustão indireta com moxa palito, em dias alternados, enquanto que as feridas do grupo CONT receberam tratamento apenas com água e sabão neutro, também em dias alternados. Avaliações macroscópicas foram realizadas a cada sete dias, até completar 60 dias após a indução das feridas, sendo mensurado também o tempo necessário para completa cicatrização. Ademais, foram coletadas amostras das feridas para avaliações histológicas e expressões dos fatores de crescimento TGF- β 1 e VEGFA, por meio de quantificações dos transcritos dos genes, nos dias 0, 3, 7, 15, 30 e 60 após a indução das feridas. O tratamento com moxabustão não interferiu no tempo de completa cicatrização de feridas de pele em equinos e na expressão de TGF- e VEGFA em relação ao grupo tratado com água e sabão, embora observações macroscópicas e histológicas sugeriram alteração visual positiva para as feridas tratadas com moxabustão. Portanto, a moxabustão em forma de moxa palito apresenta-se como um tratamento

complementar para feridas de equinos, visto que é de fácil aplicação, controla o processo cicatricial, possui preço acessível e apresenta boa aceitabilidade.

Palavras-chave: Feridas. Cicatrização. Moxabustão. Fatores de crescimento. Equinos.

ABSTRACT

GRIZENDI, B. M. **Process evaluation of equine wound healing with the use of moxibustion**. 2020. 99p. M.Sc Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Wound healing in horses depends on the effective arrangement of the various events involved and this is usually hermetic, resulting in chronicity and exuberant granulation tissue formation. In addition, when the wounds are located in the limbs, some elements negatively affect healing, such as constant mobilization and contamination predisposition. In this sense, there is a constant search for alternative therapeutic resources, such as the use of Traditional Chinese Medicine (TCM) methods. Moxibustion is a TCM technique for treating diseases by burning *Artemisia*. The main objective of this study is the quality evaluation of skin wound healing in horses with the use of moxibustion. Eight horses were used for induction and treatment of surgical wounds in the metacarpophalangeal regions, which were divided into two experimental groups, moxibustion (MOXA) and control (CONT). The wounds from the MOXA group were treated with water and neutral soap, associating indirect technique moxibustion sessions with moxa stick on alternate days, while the wounds of the CONT group received treatment only with water and neutral soap, also on alternate days. Macroscopic evaluations were performed every seven days, until 60 days after wound induction, and the time required for complete healing was measured. In addition, wounds samples were collected for histologic evaluations and expressions of TGF- β 1 and VEGFA growth factors by quantification of gene transcripts on days 0, 3, 7, 15, 30 and 60 after wound induction. The treatment with moxibustion did not interfere in the time of complete healing of skin wounds in horses and in the expression of TGF- and VEGFA in relation to the group treated with water and soap, although macroscopic and histological observations suggested positive visual alteration for the wounds treated with moxibustion. Therefore, indirect moxibustion with moxa stick presents itself as a complementary treatment for horse wounds, since it is easy to apply, controls the healing process, has an affordable price and good acceptability.

Key-words: Wounds. Healing. Moxibustion. Growth factors. Equine.

AGRADECIMENTOS

Não tenho boa memória e provavelmente me esqueci de alguém, mas todos que participaram direta ou indiretamente deste, por favor, sintam-se abraçados e agradecidos. Na emoção de terminar essa etapa da minha vida, gostaria de agradecer em especial algumas pessoas:

Minha professora orientadora de mestrado, mamãe Renata, pelo acolhimento, paciência e ajuda neste projeto e na vida.

Meu pai, Eduardo, por me apoiar e me ensinar tanto.

Minha irmã, Érika, pelo amor e carinho de sempre.

Meu namorado e companheiro de aventuras, Átila, por me colocar no foco sempre que me perco.

Meus amigos LACCRE e meus amigos ZMV: Julia, Gustavo, Marília, Pedro, Milena, Luis, Ana, Carolzinha, Jesus, Leticia, Claudia, Neimar. Sem vocês esse experimento não teria acontecido.

Cavalos: Amendoim, Juma, Jasmin, Joia, Judite, Campari, Whisky, George e Golias.

Colegas colaboradores deste projeto: Raquel, profa Fabiana, profa Claudia, Daniel e Daniel.

A Fundação de amparo a pesquisa (FAPESP) que financiou a execução do projeto, sob o número do processo 2018/05969-3, com vigência entre o dia 01 de agosto de 2018 e 30 de novembro de 2020

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

“Healing is a matter of time, but it is sometimes also a matter of opportunity”

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração dos piquetes do setor de equinos da UDCH FZEA/USP	28
Figura 2 - Ilustração esquemática do procedimento experimental com as feridas divididas nos grupos MOXA e CONT. Indução das feridas no dia 0, coleta de amostras de biópsia nos dias 0, 3, 7, 15, 30 e 60 (linhas azuis) e avaliações macroscópicas a cada sete dias (linhas vermelhas).....	29
Figura 3 - Molde utilizado para desenho do contorno da excisão de pele em papel A4 (A). Ilustração do molde desenhado na pele para indução da ferida cirúrgica (B). Ilustração da ferida cirúrgica realizada após remoção de fragmento de pele circular de 2 cm de diâmetro (C).....	30
Figura 4 - Ilustração de bandagem feita com gaze hidrofílica sobre a ferida, envolta com algodão ortopédico, atadura de crepe de 12 cm e esparadrapo para fixação.....	31
Figura 5 - Tratamento de ferida do grupo MOXA utilizando cinco moxas palito acesas em suporte metálico próprio encostado à pele e colocado paralelamente sobre a lesão.....	32
Figura 6 - Desenho de ferida durante a avaliação macroscópica utilizando papel filme e caneta permanente.....	34
Figura 7 - Desenho das feridas passado em papel vegetal.....	34
Figura 8 - Ilustração de biópsia com padronização dos quadrantes da ferida.....	35
Figuras 9A e B - Procedimento de biópsia no quadrante superior esquerdo, realizada no D30 (A). Fragmento de biópsia retirado contendo transição entre epitélio íntegro e ferida (B).....	36

Figuras 10A e B - Ferida do grupo MOXA no dia 20, anterior à sessão de moxabustão (A). Mesma ferida após a sessão, apresentando aspecto úmido, brilhante e amarelado (B).....	40
Figura 11 - Gaze hidrófila retirada na troca de curativo. Gaze do lado esquerdo, com menor quantidade de secreção, pertencente à ferida do grupo MOXA e gaze do lado direito, com maior quantidade de secreção, pertencente à ferida do grupo CONT, ambas com 21 dias de cicatrização.....	41
Figuras 12A e B - Ferida do grupo MOXA, com aspecto não exsudativo e com formação de crosta cicatricial classificada como 3 (A). Ferida do grupo CONT, do mesmo animal e avaliada no mesmo dia com tecido de granulação exuberante, aspecto úmido e sem a presença de crosta cicatricial (B).....	41
Figuras 13A, B, C e D - Ferida do grupo MOXA nos momentos, 7 (A), 14 (B), 21 (C) e 28 (D).....	42
Figuras 14A, B, C e D - Ferida do grupo MOXA nos momentos, 35 (A), 42 (B), 49 (C) e 56 (D).....	43
Figuras 15A, B, C e D - Ferida do grupo CONT nos momentos 7 (A), 14 (B), 21 (C) e 28 (D).....	44
Figuras 16A, B, C e D - Ferida do grupo CONT nos momentos 35 (A), 42 (B), 49 (C) e 56 (D).....	45
Figuras 17 A e B - Ferida do grupo MOXA antes (A) e após (B) a sessão de moxabustão.....	45

Figuras 18 A, B, C e D - fotomicrografias de pele de equino. A: momento 1, grupo CONT. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: área ulcerada contendo infiltrado inflamatório, restos celulares, necrose do colágeno. B: momento 1, grupo MOXA. Ausência da epiderme. Seta preta: epitélio de folículo piloso. Seta vermelha: necrose da derme, contendo infiltrado inflamatório acentuado. C: momento 2, grupo CONT. Seta preta: reepitelização. Seta vermelha: necrose do colágeno e infiltrado inflamatório. D: momento 2, grupo MOXA, Seta preta: reepitelização. Seta vermelha: necrose do colágeno e infiltrado inflamatório. Seta verde: crosta, composta por células inflamatórias, edema, fibrina e restos celulares. HE, aumento de 200X.....52

Figuras 19 A, B, C e D - fotomicrografias de pele de equino. A: momento 3, grupo CONT. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo discreto infiltrado inflamatório moderado, hemorragia e extenso edema. B: momento 3, grupo MOXA. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: área ulcerada contendo infiltrado inflamatório, restos celulares, neovascularização. C: momento 4, grupo CONT. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo acentuado infiltrado inflamatório, hemorragia, desarranjo dos fibroblastos e edema. D: momento 4, grupo MOXA. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo acentuado infiltrado inflamatório, hemorragia, desarranjo dos fibroblastos e edema. Seta verde: crosta. HE, aumento de 200X.....53

Figuras 20 A e B - fotomicrografias de pele de equino. A: momento 5, grupo CONT. Seta preta: hiperplasia da epiderme. Seta vermelha: fibroblastos desorganizados da derme, com discreto infiltrado inflamatório. B: momento 5, grupo MOXA. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: fibroblastos desorganizados da derme, com discreto infiltrado inflamatório, necrose do colágeno e neovascularização. HE, aumento de 200X.....54

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 A, B, C, D, E e F - Escore de variável analisada de acordo com o grupo, sendo membro direito o grupo CONT e membro esquerdo o grupo MOXA.48
- Gráfico 2 - Evolução da área da ferida com relação a cada grupo, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA.....49
- Gráfico 3 - Tempo de fechamento da ferida com relação a cada grupo, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA.....50
- Gráfico 4 - Tempo de fechamento da ferida de cada grupo relacionado ao sexo dos animais, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA.....50
- Gráficos 5 A, B, C e D - Evolução das feridas ao longo tempo com relação a hiperplasia de epiderme, hiperqueratose, reepitelização de borda e presença de úlcera, sendo a linha rosa o grupo CONT e a linha azul o grupo MOXA.....55
- Gráficos 6 A, B, C, D e E - Evolução das feridas ao longo tempo com relação a presença de edema, fibrina, necrose e organização de colágeno e presença de novos vasos, sendo a linha rosa o grupo CONT e a linha azul o grupo MOXA.....56
- Gráfico 7 - Concentração da expressão dos fatores de crescimento TGF- β 1 e VEGFA em cada momento, comparando-se os dois grupos, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA. Unidade: ng/ μ L.....59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Primers utilizados na caracterização da cicatrização das feridas.....	37
Tabela 2 - Média $\pm$ desvio padrão do tempo de fechamento das feridas nos grupos CONT, representado pelo membro D e MOXA, representado pelo membro E.....	45
Tabela 3 - Média $\pm$ desvio padrão do tempo de fechamento das feridas nos grupos CONT, representado pelo membro D e MOXA, representado pelo membro E, separando-se fêmeas e machos.....	45
Tabela 4 - Moda do escore das variáveis borda, edema, hemorragia, crosta, secreção e tipo de secreção para as feridas de ambos os grupos.....	47
Tabela 5 - Características avaliadas na análise histológica em cada momento, quanto ao infiltrado inflamatório e hemorragia predominante, segundo cada grupo experimental.....	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1	Pele.....	16
2.2	Feridas e cicatrização.....	17
2.3	Cicatrização de feridas nos membros de equinos.....	20
2.4	Tratamento de feridas em equinos.....	21
2.5	Moxabustão.....	22
3	OBJETIVO.....	24
3.1	Objetivos específicos.....	24
	Hipótese.....	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1	Local e animais.....	26
4.2	Delineamento experimental.....	27
4.3	Indução da ferida.....	28
4.4	Tratamentos.....	30
4.5	Avaliações cicatriciais.....	32
4.5.1	AVALIAÇÕES MACROSCÓPICAS.....	32
4.5.2	AVALIAÇÕES HISTOLÓGICAS.....	34
4.5.3	AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE VEGFA E TGF-B1.....	35
4.6	Análise estatística.....	37
5	RESULTADOS.....	39
5.1	Resultados macroscópicos.....	39
5.2	Resultados histológicos.....	51
5.3	Resultados biomoleculares.....	59
6	DISCUSSÃO.....	60
7	CONCLUSÃO.....	69
	EQUIPE DE TRABALHO.....	70
	REFERÊNCIAS.....	71
	APÊNDICE.....	77

1 INTRODUÇÃO

A espécie equina é uma das mais predispostas à ocorrência de injúrias acidentais, provavelmente devido ao temperamento e ao tipo de trabalho normalmente exercido (KNOTTENBELT, 2003; PAGANELA et al., 2009). Dentre as dermatopatias mais comuns em equinos no Brasil estão sarcoide e carcinoma de células escamosas (origem neoplásica) e pitiose e tecido de granulação exuberante (origem não neoplásica) (ASSIS-BRASIL et al., 2015). Pessoa et al. (2014) relataram que 26,35% das dermatopatias em equinos são feridas traumáticas e 7,28% caracterizam-se por tecido de granulação exuberante, sendo que 82,05% destas localizam-se nos membros. Em estudo retrospectivo realizado por Assis-Brasil et al (2015), o tecido de granulação exuberante foi a segunda maior afecção em termos de prevalência nos equinos com dermatopatias.

O manejo das feridas em equinos tem como objetivo principal retornar o animal a sua função da maneira mais rápida possível, sempre respeitando fatores individuais como a causa e comprometimento de estruturas (CASTON, 2012), além das condições financeiras do proprietário (DART et al., 2017). As lesões de pele em equinos, como as feridas, comprometem a estética e causam perdas econômicas com diversos procedimentos e tratamentos (ASSIS-BRASIL et al., 2015).

Dentre as dificuldades encontradas na cura de feridas em equinos estão o manejo clínico dessas lesões e a cicatrização demorada. No contexto clínico, grande parte das feridas de pele em equinos não são passíveis de reaproximação dos bordos e cicatrização por primeira intenção. Isso ocorre devido a alguns fatores como a perda extensa de tecido, tensão excessiva da pele, contaminação significativa ou tempo excessivo decorrido até o atendimento veterinário inicial. Neste sentido, o reparo normalmente ocorre por segunda intenção, com a formação de tecido de granulação. Este tipo de cicatrização está sujeito a várias complicações, as quais favorecem a presença de feridas crônicas difíceis de cicatrizar, possivelmente estimuladas pela presença de infecção ou pelo manejo incorreto das mesmas (THEORET; WILMINK, 2013).

Portanto, a alta ocorrência de feridas em equinos, associada às dificuldades relacionadas à cicatrização justifica o incentivo às pesquisas nesta área, de forma a reduzir as perdas econômicas, o tempo gasto e evitar a utilização de numerosos

fármacos, potencialmente tóxicos, como se pratica com a terapia tradicional (HUSSNI et al., 2010; MARTINS et al., 2013; MIRAGLIOTTA et al., 2014; MORAES et al., 2014; SORENSEN et al., 2014; TRACEY et al., 2014; MUSTAFA; MARZOK, 2015; DAHLGREN et al., 2016).

Considerando-se os membros dos equinos, sabe-se que a cicatrização de feridas apresenta algumas adversidades características relacionadas à localização anatômica, como a baixa oxigenação e suprimento sanguíneo tecidual, desequilíbrio dos fatores de crescimento e produção de colágeno, aliados a uma resposta inflamatória deficiente, além da alta taxa de incidência da formação de tecido de granulação exuberante. Ademais, a ocorrência de feridas crônicas é bastante comum nos membros desta espécie.

Neste íterim, o método de moxabustão é um tratamento alternativo, efetivo e indolor para a cicatrização de feridas de pele em equinos, possui baixo custo e fácil aplicação na rotina. Além disso, a técnica possivelmente promove diminuição da formação de tecido de granulação e redução do tempo de cicatrização, pela ativação e modulação de diversos fatores relacionados à inflamação, angiogênese e reparação tecidual. Da mesma forma, provavelmente, a expressão de alguns fatores de crescimento e citocinas, dentre eles o TGF- β 1 e VEGFA, difiram comparativamente entre feridas tratadas, quando avaliadas nas diversas etapas do processo de cicatrização.

Este trabalho baseia-se no antigo método da Medicina Tradicional Chinesa (MTC) da moxabustão, que complementa a terapia convencional no tratamento de diversas afecções, e visa oferecer informações suficientes para validar a utilização de uma terapia integrativa e exequível, com resultados diretamente aplicáveis à clínica de equinos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Será apresentada a seguir uma breve revisão bibliográfica sobre o tema.

2.1 Pele

A pele é o maior órgão, considerado um dos mais importantes do corpo dos equinos (REES, 2004), e possui o papel de servir como barreira fisiológica e anatômica entre o animal e o ambiente (SCOTT; MILLER, 2011). Sua espessura varia de 1 a 5mm, sendo mais espessa dorsal e proximalmente nas extremidades e menos espessa ventral e distalmente nas extremidades (REES, 2004). Uma das funções deste órgão é o auxílio na termorregulação e na percepção de temperatura, dor, prurido, toque e pressão, além de apresentar limitado papel excretor (SCOTT; MILLER, 2011).

A pele dos equinos, assim como dos humanos, pode ser dividida em duas grandes camadas de tecidos: uma camada superior chamada de epiderme e uma camada mais interna, a derme. Na epiderme podem ser encontradas células componentes das camadas granulosa, lúcida e córnea, além do estrato basal e estrato espinhoso. Nesta camada, 90 a 95% das células epidérmicas são queratinócitos e os outros componentes, como: melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (LUCAS, 2004; THEORET, 2008). A derme é mais espessa e somente esta camada é vascularizada, sendo dividida entre derme papilar (de tecido conjuntivo frouxo) e a derme reticular (de tecido conjuntivo denso não modelado) (CAMILLO et al., 2017). Na derme encontram-se estruturas anexas, como glândulas sudoríparas, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e estruturas nervosas. O fibroblasto é a principal célula encontrada na derme, mas mastócitos perivasculares e macrófagos também podem ser localizados (THEORET, 2008; ISAAC et al., 2010). Está envolvida na regulação do crescimento e proliferação celular, tendo seu material extracelular produzido pelos fibroblastos (LUCAS, 2004).

Dentre as células encontradas na pele, como os queratinócitos, células de Langerhans, linfócitos e dendrócitos dérmicos, estes, todos, possuem o papel de vigilância contra neoplasmas cutâneos e infecções persistentes (SCOTT; MILLER, 2011).

2.2 Feridas e cicatrização

As soluções de continuidade que afetam a fisiologia da pele, na superfície ou em camadas mais profundas, são chamadas de feridas (ISAAC, et al., 2010; LAUREANO; RODRIGUES, 2011). Estas podem ser categorizadas entre fechadas ou abertas, sendo que para cada tipo de ferida haverá um certo comprometimento de suporte sanguíneo, grau de contaminação e viabilidade do tecido restante (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005).

As feridas podem ser classificadas de acordo com o grau de contaminação, agente causal, comprometimento tecidual e tempo de decorrência da lesão (GUPTA; GUPTA; EDWARDS, 2018).

As características específicas das feridas, assim como seu tratamento, invariavelmente dependem de sua localização e severidade. Além disso, o aspecto mais importante no tratamento parece ser o conhecimento anatômico do local lesionado (KNOTTENBELT, 2003). Existem fatores locais e sistêmicos que afetam a cicatrização. Como fatores locais ressaltam-se a oxigenação e presença de infecção e como fatores sistêmicos, a idade e a nutrição (GUO; DIPIETRO, 2010).

O processo de cicatrização após o surgimento de uma ferida é dividido em três fases, sendo elas: inflamação, proliferação e remodelamento, embora todas as fases sejam sobrepostas no tempo (ISAAC et al., 2010). Há autores que incluem, ainda, uma fase chamada de hemostasia, à fase inflamatória (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

Durante a fase de hemostasia ocorrem alterações nas células endoteliais, ruptura de vasos sanguíneos e extravasamento de seus constituintes, estimulando compostos vasoativos a promoverem uma vasoconstrição imediata e, consequentemente, diminuir a perda de sangue para o espaço extravascular. A homeostase é restabelecida pelo coágulo, uma cobertura primária composta por fibrina, a qual promove coaptação das bordas da ferida, servindo como fator de proteção e de minimização da perda de sangue e fluidos. O coágulo também estimula as plaquetas a secretarem fatores de crescimento, citocinas e elementos da matriz extracelular (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Na fase inflamatória ocorre uma diminuição do fluxo sanguíneo por vasoconstrição, desencadeada por mediadores inflamatórios. Há o extravasamento sanguíneo pelos vasos lesionados e ativação de plaquetas, iniciando a adesão e agregação celular. A fim de evitar maior perda de sangue, o fibrinogênio sérico, clivado pela trombina, resultante das vias de coagulação, forma monômeros de fibrinas que se polimerizam pela ação do fator XIII, formando um tampão hemostático com as plaquetas. Ao mesmo tempo, a ativação da cascata do ácido araquidônico leva à produção endotelial de eicosanóides, os quais aumentam progressivamente a permeabilidade vascular às células migrantes e substâncias biologicamente ativas. Quando a cascata é iniciada, são liberados fatores de crescimento pelas plaquetas, tais como, fator de transformação beta (TGF- β), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), prostaglandinas e tromboxanos, que atraem neutrófilos para a ferida. Finalizando a fase inflamatória, há migração de monócitos para o local, os quais se diferenciarão em macrófagos (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; ISAAC et al., 2010). Os macrófagos são responsáveis pela produção de vários fatores de crescimento, tais como o TGF- β , PDGF, o FGF e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), que se destacam como as principais citocinas necessárias para estimular a formação do tecido de granulação (SINGER; CLARK, 1999).

Na fase proliferativa, ocorre principalmente a migração e proliferação de fibroblastos, além da síntese de novos componentes da matriz extracelular e angiogênese (adjacentes à lesão), ocasionando uma reepitelização. O tecido de granulação é formado, resumidamente, pela proliferação de células endoteliais, com a formação de rica vascularização (angiogênese), e infiltração densa de macrófagos. O processo de angiogênese é estimulado por diversas citocinas como heparina e VEGF (sendo um potente fator angiogênico) (ISAAC et al., 2010; JOHNSON; WILGUS, 2014), FGF, TGF- β e pela própria hipóxia tecidual (BAO et al., 2009).

Na fase de remodelamento, ocorre uma mudança no tipo de colágeno presente na derme, de forma que os fibroblastos passam a produzir maior quantidade de colágeno tipo I, enquanto que o colágeno tipo III é lentamente degradado. O padrão das fibras colágenas também sofre alterações, apresentando

fibras dispostas de maneira organizada e entrelaçadas ao longo das linhas de estresse, ao invés do padrão aleatório de fibras paralelas (ISAAC et al., 2010).

Sendo assim, a cicatriz é decorrente de reparação de processo destrutivo da pele que não apresenta estruturas foliculares, nem sulcos cutâneos. Possui aspecto variável, saliente ou rebaixada; é móvel, retrátil ou aderente, associada à atrofia, fibrose e discromia (LUCAS, 2004). Caracteriza-se pela presença de fibroblastos, que produzem o tecido fibroso, e uma matriz extracelular desorganizada, formada principalmente por colágeno (RUH et al., 2013).

A cicatrização de feridas de pele é um processo complexo, seriado e coordenado, o qual depende de uma grande variedade de citocinas e fatores de crescimento (LAUREANO; RODRIGUES, 2011; BARRIENTOS, et al., 2014). Ambos são responsáveis pela execução e regulação das sinalizações, alterando a diferenciação, o crescimento e o metabolismo de células-alvo. Alguns fatores de crescimento imprescindíveis neste processo são o VEGF (BARRIENTOS et al., 2014), TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), TGF- α (fator de crescimento de transformação alfa), TGF- β , PDGF e IL-1 (interleucina 1) (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

A quantidade de VEGF presente na ferida pode impactar significativamente a cicatrização, sendo que feridas crônicas e de difícil cicatrização apresentam menor atividade de VEGF (JOHNSON; WILGUS, 2014). O TGF- β é conhecido como o fator de crescimento mais abrangente na reparação, pois é produzido por diversas células e pode gerar uma variedade de repostas celulares. O TGF- β 1 é a isoforma mais abundante nos tecidos e é a única nas plaquetas. As funções principais deste fator de crescimento estão relacionadas à atração de células inflamatórias e mesenquimais, como fibroblastos, e modular o acúmulo de matrix extracelular, além de atuar como fator angiogênico e induzir a expressão de α -SMA em miofibroblastos do tecido de granulação e, portanto, estimular a contração da ferida (THEORET, 2008). A expressão contínua de TGF- β parece estar relacionada a uma super estimulação de fibroplasia, levando à formação de tecido de granulação exuberante e inibição da contração da ferida (THEORET et al., 2002). Em equinos, Cochrane (1997) encontrou concentrações significativamente maiores de TGF- β 1 em biópsias de tecidos com granulação exuberante, em comparação com biópsias de tecidos considerados normais.

2.3 Cicatrização de feridas nos membros dos equinos

O processo cicatricial em equinos torna-se importante a partir do momento em que se tem conhecimento da alta ocorrência de feridas nesta espécie. Estas, geralmente, tornam-se crônicas e com tecido de granulação exuberante, além de requererem um longo período para resolução (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005).

Um menor suprimento sanguíneo e de oxigênio (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005; MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009; CELESTE et al., 2011; SORENSEN et al., 2014; DART et al., 2017), uma resposta inflamatória insuficiente ao trauma inicial (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005; MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009; DART et al., 2017), um desequilíbrio dos fatores de crescimento e da produção de colágeno, uma oclusão microvascular e apoptose deficiente dos componentes celulares do tecido de granulação são os principais mecanismos responsáveis pela reparação tecidual retardada nos membros de equinos (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005; MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009).

Sorensen et al. (2014) encontraram menores valores de fluxo sanguíneo em feridas localizadas em membros, além de maiores concentrações de lactato e na razão lactato/glicose e menores concentrações de glicose, em comparação com feridas localizadas no abdômen e tórax de equinos, indicando, além da hipóxia, um distúrbio metabólico na formação do tecido de granulação exuberante.

A formação de tecido de granulação exuberante, infecção e cronicidade na cicatrização de feridas em equinos ocorrem com mais frequência em feridas extensas em membros ou outras regiões sujeitas ao movimento (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005). Feridas localizadas em articulações, locais com mobilidade excessiva, são predispostas a se tornarem crônicas e exuberantes, devido à recorrência de depósito de colágeno, ruptura de capilares e presença de epitélio frágil (BERTONE, 1989). Também nos membros, segundo Theoret e Wilmink (2013), a pele dos equinos possui fraca elasticidade cutânea, fato que favorece o atraso na cicatrização.

À medida que ocorre a angiogênese, o grau de hipóxia deve melhorar e permitir processos regenerativos, os quais requerem oxigênio para o metabolismo. Sabe-se que nas feridas de equinos a saturação de oxigênio varia dependendo da

localização da ferida e esta pode estar relacionada à deficiência de cicatrização nas feridas distais nos membros. Hipóxia prolongada em feridas distais dos membros está associada a níveis aumentados do Fator Indutor de Hipóxia 1 (HIF1), que estimula a proliferação de fibroblastos dérmicos. Portanto, a hipoperfusão pode ser o principal mecanismo de formação de tecido de granulação exuberante em feridas dos membros distais de equinos (DESCHENE et al., 2012).

Em estudo retrospectivo realizado por Assis-Brasil et al. (2015), o tecido de granulação exuberante foi a segunda maior afecção em termos de prevalência nos equinos, em 710 casos de equinos que apresentaram quadro de dermatopatia.

2.4 Tratamento de feridas em equinos

O tratamento de feridas cutâneas é um processo dinâmico e depende da evolução das fases de reparação tecidual. Neste sentido, há uma busca constante por novos recursos terapêuticos (MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009; MORGAN et al., 2009; BARRIENTOS et al., 2014; TRACEY et al., 2014; DAHLGREN, et al., 2016; HAMED, et al., 2019; HOWARD et al., 2019), incluindo a utilização de métodos da Medicina Tradicional Chinesa, que acelerem o processo cicatricial sem onerar significativamente o tratamento (GRIZENDI et al., 2015). Segundo estudo realizado por Sun et al. (2012), o tratamento com moxabustão indireta promoveu aumento da concentração de macrófagos no período inicial após a lesão e diminuição do processo inflamatório após este período, além de aumento da expressão de colágenos do tipo I e III. Estes eventos contribuem para a resolução da ferida e redução da formação de cicatriz.

Devido à presença de vários cavalos destinados ao esporte, o processo de cicatrização predisposto a complicações representa um ônus econômico para a indústria equina, tanto em nível profissional quanto amador e pode ter implicações quanto ao bem-estar animal (SORENSEN et al., 2014). Portanto, há uma pressão decorrente da expectativa do proprietário de retorno à função exercida pelo equino, aliada à consideração da sua situação financeira, fatos que reforçam a ideia de se promover a cicatrização da melhor maneira e o mais rápido possível (DART et al., 2017).

2.5 Moxabustão

As terapias térmicas são usadas para reduzir dor e tensão, aumentar a elasticidade aliviando espasmos musculares e melhorar a cura tecidual por aumentar o fluxo sanguíneo e de nutrientes para a área. Entretanto, a moxabustão também possui efeitos farmacológicos, ao contrário da maioria dos estimulantes térmicos modernos (KAY-YU, et al., 2016).

A palavra moxabustão possui o significado de “queima da moxa” e é um dos métodos de tratamento mais importantes da MTC (KAI-YU et al., 2016). A técnica da moxabustão envolve o estímulo de áreas específicas na pele (pontos de acupuntura ou área lesada) pela combustão de uma mistura de ervas, composta predominantemente por Artemisia, direta ou indiretamente na pele (XIE; PREAST, 2011; CHIU, 2013; KAI-YU et al., 2016). No método indireto, algum material é colocado entre a pele e a moxa, como gengibre, alho, sal ou o próprio ar (CHIU, 2013). De acordo com Xu e colaboradores (2007), a moxabustão diminui a viscosidade e melhora a circulação sanguínea, aumentando a perfusão de sangue aos órgãos e tecidos. Além disso, há estímulo imunológico decorrente da moxabustão. Este, provavelmente, ocorre devido a uma reação não específica originada pelo dano local ao tecido tratado, no qual mediadores imunológicos são produzidos, incluindo aumento do número de linfócitos e neurotransmissores.

Segundo conceitos da medicina tradicional chinesa, descritos por Deng; Shen (2013), o calor gerado pela combustão da moxa aquece o Yang e elimina o frio do Yin, além de dissipar os efeitos de umidade e vento. Além disso, promove maior fluxo pelos canais, ativando o sangue e o Qi (energia).

O mecanismo geral da moxabustão é bastante complexo (KAI-YU et al., 2016), sendo que esta age a partir de efeitos relacionados ao calor, como vasodilatação, inflamação, entre outros e efeitos não relacionados ao calor, decorrentes da fumaça, herbais e biofísicos (infravermelho) (PACH; BRINKHAUS; WILLICH, 2009; CHIU, 2013; KAI-YU et al., 2016).

A moxa possui vários ingredientes, dentre eles: fenóis, cetonas, cânfora, etc; e seus principais produtos provêm das cinzas e fumaça. As cinzas podem remover radicais livres e peroxidação lipídica. Os componentes da fumaça são mais complexos, incluindo amônia, álcoois, hidrocarbonos, etc e há relatos de efeitos para

desinfecção de ar, antifúngicos, antivirais e em humanos nas infecções de feridas, prolapsos uterinos, fístula anal, entre outros (KAY-YU et al., 2016) e na doença obstrutiva pulmonar crônica (COYLE et al., 2016). Além disso, alguns componentes da fumaça da moxa podem suavizar asma, neutralizar reações alérgicas, aliviar inflamação, atenuar dor e tonificar o coração (CILI et al., 2011).

Wheeler, Coppock e Chen (2009) afirmam que não deve haver preocupação com o uso terapêutico da moxa, visto que a fumaça demonstrou-se inofensiva avaliando-se as substâncias voláteis seguras para o ser humano.

A estimulação térmica da moxabustão afeta os tecidos superficiais e profundos da pele e esta pode elevar a temperatura ao redor do local e estimular os receptores locais específicos e células do sistema imunológico (KAI-YU et al., 2016). Estudos relatam que a moxabustão emite ondas de radiação de comprimento longo (IR-C), as quais estimulam receptores de calor na pele superficialmente (PACH; BRINKHAUS; WILLICH, 2009). O princípio básico da moxabustão é que o calor produzido aumenta de forma reflexa os efeitos simpaticolíticos nos vasos, ocasionando estímulos autonômicos e viscerais, aferentes e eferentes, os quais ocorrem pelas fibras do tipo C (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997). Segundo Widmer et al. (2007), a aplicação de calor local aumenta o fluxo sanguíneo na pele. Além disso, a moxabustão indireta com aplicação de calor de baixo nível envolve o estímulo de aquecimento local, criando um aspecto superficial, temporário e avermelhado na superfície da pele (KAI-YU et al., 2016).

O termoreceptores são ativados no início da moxabustão. Durante a terapia pelo método indireto, a qual atinge temperaturas moderadas (acima de 42°C), os receptores ativados são do tipo TRPV-1 (transient receptor potential channel – vanilloid 1). Nociceptores também podem ser ativados em temperaturas acima de 44°C. Esses receptores localizados nos nervos periféricos da pele enviam sinais para o sistema nervoso central, produzindo uma série de efeitos (KAI-YU et al., 2016).

Embora a literatura na utilização da moxabustão para tratamento de lesões dérmicas seja escassa (LIMA, 2013; GARCIA; PRADO, 2017; MANNINA et al., 2018), acredita-se que a moxabustão com uso de moxa palito possa ser utilizada para promover o tratamento de feridas em equinos, como uma terapia complementar eficiente, de baixo custo e de fácil aplicação.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar como o tratamento de feridas de pele com moxabustão afeta o tempo e a qualidade de cicatrização em comparação com feridas tratadas com água e sabão.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar comparativamente o tempo de cicatrização de feridas de pele induzidas sobre articulação de equinos saudáveis, tratadas com moxabustão ou com água e com sabão;
- Avaliar comparativamente a macroscopia, histologia e expressão de TGF- β 1 (fator de crescimento transformador beta) e VEGFA (fator de crescimento vascular endotelial) de feridas de pele induzidas sobre articulação de equinos saudáveis, tratadas com moxabustão ou com água e sabão.

HIPÓTESE

O tratamento de moxabustão com uso de moxa em palito diminui o tempo e melhora o aspecto de cicatrização de feridas em membros de equinos, quando comparadas com feridas tratadas somente com água e sabão.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi devidamente encaminhado ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da FZEA/USP e obteve aprovação do mesmo, protocolado sob o CEUA nº5153150218.

4.1 Local e animais

Este projeto de pesquisa foi desenvolvido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), nas dependências do Campus Fernando Costa, da Universidade de São Paulo (USP), em Pirassununga - SP. A parte experimental com os animais foi desenvolvida no Setor de Equinos da Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) da FZEA/USP; as avaliações gênicas no Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento (LMMD) da FZEA/USP; as avaliações histológicas no Laboratório de Patologia (VPT) da FMVZ/USP e a análise estatística no Laboratório de Bioestatística (LEB) da FMVZ/USP.

Foram selecionados oito equinos, sendo quatro machos e quatro fêmeas, considerados hígidos, com faixa etária entre três a cinco anos, com peso entre 400 e 550kg, escore de condição corporal entre 4 e 5/9, sem raça definida. A hígidez foi determinada a partir de exames físico e laboratorial (hemograma) que se encontrassem dentro da normalidade fisiológica padrão da espécie e pela ausência de qualquer afecção nas regiões das articulações metacarpofalangeanas. Todos os animais foram vacinados com vacina anti-rábica¹ e vacina múltipla² e desverminados³ 30 dias antes do início do experimento e receberam serviço de casqueamento duas vezes durante o período, sendo a primeira sete dias antes do início do experimento e a segunda 45 dias após.

Os animais ficaram alojados no laboratório de pesquisa em clínica, cirurgia e reabilitação de equinos, em piquetes 5x20m (2 animais por piquete), alimentados com feno *coast cross*, 2% do peso vivo, ração própria para equinos, 1% do peso vivo, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram alojados nestes piquetes quinze dias antes do início da fase de coletas para adaptação ao local (Figura 1).

¹ Rai-Vet® Biovet Vaxxinova, SP, Brasil.

² Lexington-8® Venco Saúde Animal, PR, Brasil.

³ Ivermectina UCB® UCBVET Saúde Animal, SP, Brasil.

Figura 1 – Ilustração dos piquetes do setor de equinos da UDCH FZEA/USP

Fonte: Acervo pessoal.

4.2 Delineamento experimental

O procedimento experimental foi dividido em duas etapas, nas quais, quatro fêmeas foram utilizadas na primeira e 4 machos agrupados na segunda, com intervalo de 21 dias.

Foram induzidas duas feridas de pele lateralmente sobre as articulações metacarpofalangeanas, sendo uma em cada membro torácico de cada equino. As feridas dos animais foram distribuídas em dois grupos:

- Grupo moxabustão (MOXA): oito feridas nos membros torácicos esquerdos que foram tratadas com água e sabão neutro, seguido de terapia com moxabustão, com uso de cinco moxas palito⁴, em dias alternados, até 60 dias após a indução.
- Grupo controle (CONT): oito feridas nos membros torácicos direitos que foram tratadas com água e sabão neutro, em dias alternados, até 60 dias após a indução.

Os tratamentos foram realizados em dias alternados, do dia 2 ao dia 60. Foram realizadas avaliações macroscópicas nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 e

⁴ DONGBANG Gu Gwan Moxa®DONGBANG, Korea.

coleta de amostras para avaliações microscópicas nos dias 0, 3, 7, 15, 30 e 60. Um resumo das atividades, com as respectivas datas, está exposto na figura 2.

Figura 2 – Ilustração esquemática do procedimento experimental com as feridas divididas nos grupos MOXA e CONT. Indução das feridas no dia 0, coleta de amostras de biópsia nos dias 0, 3, 7, 15, 30 e 60 (linhas azuis) e avaliações macroscópicas a cada sete dias (linhas vermelhas)

Fonte: Própria autoria.

4.3 Indução da ferida

Todos os equinos foram submetidos a jejum alimentar prévio de 12 horas, com acesso à água *ad libitum*.

Na primeira etapa, quatro animais foram contidos em tronco para equinos e sedados com detomidina⁵, 20µg/kg. Em seguida, foi realizada tricotomia das regiões dorsolaterais de ambas as articulações metacarpofalangeanas, seguida da anestesia loco-regional dos nervos metacarpianos palmares laterais com lidocaína 2%⁶, insensibilizando a região da articulação metacarpofalangeana. Após, foi

⁵ Dormium V® Agener União Saúde Animal, SP, Brasil.

⁶ Xylestin® 2% Cristalia, SP, Brasil.

realizada antissepsia da área cirúrgica com iodo degermante, seguido de povidona-iodo e de álcool 70. Decorridos 10 minutos da anestesia, foi realizada remoção com bisturi de um fragmento de pele circular, de 2 cm de diâmetro, com auxílio de um molde feito em papel, desenhado na pele de cada animal (Figuras 3A, 3B e 3C). Ao término do procedimento, as feridas foram recobertas com gaze hidrofílica estéril e envoltas com bandagem, composta por algodão ortopédico, atadura de crepe de 12 cm e esparadrapo para fixação (Figura 4).

Na segunda etapa, os outros quatro animais foram submetidos aos mesmos procedimentos descritos acima.

A cicatrização da ferida de pele criada foi realizada por segunda intenção, utilizando os tratamentos mencionados no delineamento experimental.

No período pós-operatório, todos os animais receberam aplicações de flunixin meglumine⁷, 1,1mg/kg, IV, SID, por três dias.

Figura 3 – Molde utilizado para desenho do contorno da excisão de pele em papel A4 (A). Ilustração do molde desenhado na pele para indução da ferida cirúrgica (B). Ilustração da ferida cirúrgica realizada após remoção de fragmento de pele circular de 2 cm de diâmetro (C)

Fonte: Acervo pessoal.

⁷ Flumax® JA Saúde Animal, SP, Brasil.

Figura 4 – Ilustração de bandagem feita com gaze hidrofílica sobre a ferida, envolta com algodão ortopédico, atadura de crepe de 12 cm e esparadrapo para fixação.

Fonte: Acervo pessoal.

4.4 Tratamentos

Nas feridas do grupo controle (CONT), o tratamento foi realizado utilizando sabão em barra neutro, umedecido em água potável não filtrada, feito uma espuma e esta foi passada sobre a ferida, por quantas vezes fossem necessários para que estivesse limpa, sem colocação de pressão no movimento. Após este processo, foi derramada água potável não filtrada sobre a ferida com a utilização de um recipiente plástico, sem que este se encostasse à lesão. Ao término destes procedimentos, as feridas foram recobertas com gaze hidrofílica e envoltas com bandagem, composta por algodão ortopédico, atadura de crepe de 12 cm e esparadrapo para fixação. O tratamento foi repetido em dias alternados, até exatos 60 dias após a indução.

Nas feridas do grupo moxabustão (MOXA), foi realizado tratamento utilizando o mesmo procedimento descrito acima, acrescido da sessão de moxabustão. Após a

limpeza da ferida, a sessão de moxabustão consistiu no uso de cinco moxas palito de Artemisia, colocados em um suporte circular metálico emborrachado próprio, com cinco aberturas circulares para encaixe das moxas. Os palitos de moxa, já acoplados ao suporte, foram queimados na extremidade oposta à ferida, com auxílio de fósforo aceso, pelo tempo de combustão dos palitos, ou seja, aproximadamente sete minutos. O suporte com os palitos acesos foi posicionado paralelamente ao membro torácico esquerdo de cada cavalo, na altura da articulação metacarpofalangeana, sobre o local da lesão e encostado na pele do animal, sem que houvesse contato direto da moxa com a superfície da ferida (Figura 5). Após a sessão de moxabustão, as feridas também foram recobertas com gaze hidrofílica e envoltas com bandagem, composta por algodão ortopédico, atadura de crepe de 12 cm e esparadrapo para fixação. O tratamento foi repetido nos mesmos dias alternados, até exatos 60 dias após a indução.

Figura 5 – Tratamento de ferida do grupo MOXA utilizando cinco moxas palito acesas em suporte metálico próprio encostado à pele e colocado paralelamente sobre a lesão

Fonte: Acervo pessoal.

4.5 Avaliações cicatriciais

Foram realizadas avaliações macroscópicas, histológicas e da expressão de TGF- β 1 e VEGFA.

4.5.1 AVALIAÇÕES MACROSCÓPICAS

A análise macroscópica foi realizada a cada sete dias, até exatos 60 dias após a indução das feridas, de forma semi-quantitativa para os parâmetros: borda de epitelização, crosta, edema, hemorragia, secreção e tecido de granulação. Para as variáveis borda, crosta, edema, hemorragia e tecido de granulação, consideraram-se os escores 0 (não apresenta), 1 (até 30% da superfície), 2 (de 31 a 70% da superfície) e 3 (de 71 a 100% da superfície). Entretanto, para o parâmetro secreção consideraram-se os escores 0 (não apresenta), 1 (amarelada) e 2 (serosanguinolenta). Com auxílio de paquímetro foi mensurado o diâmetro das feridas.

Foi realizado estudo morfométrico das feridas a partir de registro fotográfico semanal. Para isso, foram obtidas imagens a partir de celular smartphone Iphone 6S⁸, afastado da ferida com auxílio de um suporte próprio, para se manter um padrão de distância de 30 cm do membro e 5 cm de altura do chão.

Além destes procedimentos, as feridas tiveram seus contornos desenhados com a utilização de papel filme plástico e caneta permanente, para posterior registro em folha de papel vegetal e análise (Figuras 6 e 7). Também foi contabilizada a porcentagem de contração da ferida, pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ contração da ferida} = \frac{[\text{dimensão inicial} - \text{dimensão no dia específico}]}{\text{dimensão inicial}} \times 100$$

⁸ Iphone 6S® Apple Brasil, SP, Brasil.

Figura 6 – Desenho de ferida durante a avaliação macroscópica utilizando papel filme e caneta permanente

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 7 – Desenho das feridas passado em papel vegetal

Fonte: Acervo pessoal.

4.5.2 AVALIAÇÕES HISTOLÓGICAS

Para coleta das amostras, os animais foram contidos em tronco para equinos e sedados com detomidina, 20µg/kg, após jejum alimentar prévio de 12h. Em seguida, foi realizada anestesia loco-regional dos nervos metacarpianos e palmares laterais com lidocaína 2%, insensibilizando a região lateral das articulações metacarpofalangeanas. Foi removido um fragmento de tecido, com uso de punch de metal de 8 mm, em um dos quadrantes da ferida, contendo a área de transição entre epitélio íntegro e ferida (Figuras 9A e 9B). A coleta de amostras para as avaliações microscópicas das feridas foram realizadas nos dias 0, 3, 7, 15, 30 e 60 após a indução.

Os quadrantes da ferida foram previamente determinados e padronizados para cada tempo de coleta experimental. Sendo assim, em D3, colheu-se um fragmento no quadrante superior direito; em D7, quadrante inferior esquerdo; em D15, quadrante superior esquerdo, em D30, no quadrante inferior direito; e em D60, na região central, procurando, dessa forma, evitar que o processo inflamatório gerado a cada biópsia interferisse na avaliação da evolução do processo cicatricial (Figura 8).

Figura 8 – Ilustração de biópsia com padronização dos quadrantes da ferida

Fonte: Própria autoria.

Imediatamente após a remoção, as amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%. Após 15 dias, o material foi desidratado em concentrações crescentes de etanol e processado para inclusão em parafina, sendo os blocos resultantes de parafina cortados em 3.0 μm (micrômetros) de espessura e posteriormente corados pelo método de hematoxilina e eosina.

A análise histológica foi realizada de forma semi-quantitativa para os parâmetros: edema, fibrina, neovascularização, necrose e organização do colágeno, conforme a intensidade, de acordo com escores 0 (menor intensidade) a 3 (maior intensidade) para os três primeiros e de 0 a 5 para os dois últimos (0= 100%, 1= de 99 a 70%, 2= de 69 a 30% e 3= de 30 a 1% e 5= 0%). Para os parâmetros infiltrado inflamatório e hemorragia foram feitas análises não estatísticas, devido à subjetividade e variabilidade dos resultados obtidos.

Figuras 9A e B– Procedimento de biópsia no quadrante superior esquerdo, realizada no D30 (A). Fragmento de biópsia retirado contendo transição entre epitélio íntegro e ferida (B)

Fonte: Acervo pessoal.

4.5.3 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE VEGFA E TGF-B1

4.5.3.1 Extração de RNA

Para a extração do RNA com Trizol, foi adicionado 100 μl de mix de Acrilamida (10 % de acrilamida linear + 90 % de água livre de endonucleases), mais

900 µl de Trizol, em cada amostra, homogeneizou-se no vórtex e incubou-se por 5 minutos em temperatura ambiente. Adicionou-se 180 µl de clorofórmio, misturou-se por inversão e incubou-se por mais 3 minutos em temperatura (°C) ambiente. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 15.000 g por 15 minutos a 4° C. Transferiu-se 600 µl da fase aquosa para novos tubos de 1,5 ml, adicionou-se 600 µl de álcool isopropílico, misturou-se por inversão e incubou-se por 10 minutos em temperatura ambiente. Então, as amostras foram incubadas a – 80 °C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 15000 g por 15 minutos a 4°C, removeu-se o sobrenadante e adicionou-se 1000 µl de etanol 75%, centrifugando-as a 7500 g por 5 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi aspirado e o tubo permaneceu aberto até a amostra ficar translúcida. Resuspendeu-se a amostra em 16 µl de Água (ultrapura, livre de endonucleases). Por fim, mediu-se a concentração de RNA (ng/µl) no NanoDrop2000.

4.5.3.2 Protocolo para síntese de cDNA.

A síntese do cDNA a partir do RNA total extraído e quantificado, foi realizada com a quantidade de amostra para 1000 ng de RNA. Em cada amostra foram adicionados 2,25 µl do MIX 1 (1 µl de DNase, 1 µl de Buffer, 0,25 µl de RNaseOUT). Em seguida, as amostras foram colocadas no termociclador, em um ciclo de 15 minutos a 25 °C, e, posteriormente adicionou-se 1 µl de ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) e voltou-se para o termociclador, em um ciclo de 10 minutos a 65 °C. Então, foram adicionados 10 µl do MIX 2 (2 µl de Tampão Buffer, 0,8 µl de dNTP Mix, 3,2 µl de Água, 1 µl de RNaseOUT, 1 µl MultiScribe™ Reverse Transcriptase, 2 µl de Random Primers), em cada amostra. Por fim, as amostras foram colocadas no termociclador com os seguintes ciclos: 1º - 10'/25°C -> 2º - 120'/37°C -> 3º - 5'/85°C -> 4º - ∞/4°C.

4.5.3.3 Análise da expressão gênica por PCR-RT

Os primers utilizados para avaliar a abundância relativa dos genes alvos foram desenhados com o programa Primer Express v.2 (Applied Biosystems) a partir de sequências obtidas do banco de dados do GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Os

genes GAPDH e HPRT1 foram utilizados como genes de referência (Tabela 1). Também foi usado o reagente POWER UP SYBR Green (Applied Biosystems) e os primers, descritos na tabela 1, foram utilizados na concentração de 100nM em condições padrão de termociclagem (temperatura de anelamento de 60 °C por 45 ciclos), utilizando o sistema de PCR em tempo real 7500 FAST Real Time PCR System da Applied Biosystems. A quantificação das abundâncias relativas de mRNAs (ARmRNAs) foram avaliadas utilizando-se o método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

Tabela 1 – Primers utilizados na caracterização da cicatrização das feridas

PRIMER	SEQUÊNCIA	Tamanho do produto
VEGFA	F: TGCGGATCAAACCTCACCAA	114
	R: GCCCACAGGGATTTTCTTGC	
TGF- β 1	F: GCCCCTGTGACAGCAAAGAT	54
	R: AACTGAACCCGTTGATGCCC	
GAPDH	F: GTTTGTGATGGGCGTGAACC	205
	R: ATCGCGCCACATCTTCCC	
HPRT1	F: GCTTCCTCTTCCTCAGACGG	80
	R: TCACTAATCACGACACTGGGG	

Fonte: Própria autoria.

4.7 Análise estatística

A área da ferida e tempo de fechamento da mesma foram testadas através de ANOVA duas vias e teste t pareado respectivamente.

Os dados das avaliações biomoleculares foram avaliados através de uma anova de duas vias.

Os gráficos estão de acordo com os testes realizados. Todas as variáveis apresentadas foram avaliadas através do Teste de Friedman.

A área da ferida e tempo de fechamento da mesma foram testadas através de ANOVA duas vias e teste t pareado respectivamente.

Para as variáveis borda de epitelização, edema, crosta cicatricial, tecido de granulação, hemorragia, presença de secreção e tipo de secreção foi realizada avaliação da moda de escore para os grupos em cada momento.

O programa utilizado para análise dos dados foi R Core Team (2019).

5 RESULTADOS

Serão apresentados a seguir os resultados obtidos neste experimento.

5.1 Resultados macroscópicos

Serão apresentados, a seguir, os resultados e valores médios obtidos da avaliação macroscópica das feridas de ambos os grupos. Os demais resultados individuais estão detalhados nas tabelas no apêndice (APÊNDICE I).

Foram observadas alterações no aspecto visual macroscópico das feridas após a sessão de moxabustão (Figuras 10A e 10B), apresentando-se mais úmidas, brilhantes e amareladas (provável deposição de óleo de Artemisia). Ademais, nas avaliações semanais, observou-se menor exsudação (Figura 11) e maior rapidez na formação de crosta cicatricial (Figuras 12A e 12B).

Figuras 10A e B– Ferida do grupo MOXA no dia 20, anterior à sessão de moxabustão (A). Mesma ferida após a sessão, apresentando aspecto úmido, brilhante e amarelado (B)

Fonte: Própria autoria.

Figura 11 – Gaze hidrófila retirada na troca de curativo. Gaze do lado esquerdo, com menor quantidade de secreção, pertencente à ferida do grupo MOXA e gaze do lado direito, com maior quantidade de secreção, pertencente à ferida do grupo CONT, ambas com 21 dias de cicatrização

Fonte: Própria autoria.

Figuras 12A e B – Ferida do grupo MOXA, com aspecto não exsudativo e com formação de crosta cicatricial classificada como 3 (A). Ferida do grupo CONT, do mesmo animal e avaliada no mesmo dia com tecido de granulação exuberante, aspecto úmido e sem a presença de crosta cicatricial (B)

Fonte: Própria autoria.

As figuras 13 A, B, C e D representam a evolução das feridas do grupo MOXA nos seguintes momentos: 7, 14, 21 e 28 dias após a indução. Na figura 13 A observa-se a presença de coloração amarelada, sugerindo a presença de deposição de fibrina. Na figura 13 B não verifica-se a presença de fibrina, com a ferida adquirindo a coloração enegrecida (crosta) em sua maior parte. Nas figuras 13 C e D

observa-se que a ferida adquire aspecto mais seco devido a presença de crosta e redução de sua área.

Figuras 13A, B, C e D – Ferida do grupo MOXA nos momentos, 7 (A), 14 (B), 21 (C) e 28 (D)

Fonte: Própria autoria.

As figuras 14 A, B, C e D representam a evolução das feridas do grupo MOXA nos seguintes momentos: 35, 42, 49 e 56 dias após a indução. Estas representam feridas praticamente cicatrizadas, com crosta cicatricial, a qual apresenta regressão gradual ao longo do tempo em conjunto com progressiva epiteliação.

Figuras 14A, B, C e D – Ferida do grupo MOXA nos momentos, 35 (A), 42 (B), 49 (C) e 56 (D)

Fonte: Própria autoria.

As figuras 15 A, B, C e D representam a evolução das feridas do grupo CONT nos seguintes momentos: 7, 14, 21 e 28 dias após a indução. Pode-se observar aumento da área e do tecido de granulação da figura 15 A para 15 B. Nas figuras 15 A, B e C observa-se coloração amarelada, sugerindo a presença de deposição de fibrina. Em nenhuma das figuras verifica-se presença de crosta cicatricial.

Figuras 15A, B, C e D – Ferida do grupo CONT nos momentos 7 (A), 14 (B), 21 (C) e 28 (D)

Fonte: Própria autoria.

As figuras 16 A, B, C e D representam a evolução das feridas do grupo CONT nos seguintes momentos: 35, 42, 49 e 56 dias após a indução. Na figura 16 A é possível observar coloração avermelhada intensa, sugerindo presença de hemorragia. Na figura 16 B não verifica-se a coloração anterior, mas sim coloração amarelada e menor presença de tecido de granulação. A partir da figura 16 C vê-se diminuição da área da ferida sem crosta cicatricial.

Figuras 16A, B, C e D – Ferida do grupo CONT nos momentos 35 (A), 42 (B), 49 (C) e 56 (D)

Fonte: Própria autoria.

As figuras 17 A e B representam ferida do grupo MOXA no momento 14, antes e após a sessão de moxabustão. Posteriormente à sessão nota-se um aspecto mais úmido e avermelhado, possivelmente decorrente do maior fluxo sanguíneo local.

Figuras 17 A e B – Ferida do grupo MOXA antes (A) e após (B) a sessão de moxabustão

Fonte: Própria autoria.

O tempo médio de fechamento das feridas do grupo CONT foi de 76.1 ± 5.6 dias e 75.6 ± 6 dias no grupo MOXA (Tabela 3). Separando-se por sexo, no grupo CONT, o tempo médio de fechamento foi de 80.8 ± 2.6 para fêmeas e 71.5 ± 3.1 para machos. No grupo MOXA o tempo médio foi de 80.2 ± 2.5 para fêmeas e 71 ± 4.7 para machos (Tabela 4).

Tabela 2 – Média $\pm$ desvio padrão do tempo de fechamento das feridas nos grupos CONT, representado pelo membro D e MOXA, representado pelo membro E.

Membro	Fechamento
D	76.1 (5.6)
E	75.6 (6)

Fonte: Própria autoria.

Tabela 3 – Média $\pm$ desvio padrão do tempo de fechamento das feridas nos grupos CONT, representado pelo membro D e MOXA, representado pelo membro E, separando-se fêmeas e machos.

Membro	Sexo	Fechamento
D	Fêmea	80.8 (2.6)
D	Macho	71.5 (3.1)
E	Fêmea	80.2 (2.5)
E	Macho	71 (4.7)

Fonte: Própria autoria.

Os dados das mensurações macroscópicas das feridas quanto às variáveis presença de borda epitelizada, edema, hemorragia e tecido de granulação podem ser observados nos gráficos 1 A, B, C, D, E e F. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos em relação à análise macroscópica das feridas ($p < 0,05$).

Os resultados da moda de escore para as variáveis macroscópicas estão apresentados na Tabela 2. Verifica-se que o grupo MOXA apresentou maiores escores para borda de epitelação nos tempos D21, D28, D35 e menores escores em D42 e D49, devido à presença de crosta. Além disso, o grupo MOXA apresentou maiores escores de crosta nos tempos D28, D35 e D42. O grupo CONT apresentou

maior grau de edema em D7 e maior grau de hemorragia em D35. Ademais, para a variável secreção, o grupo CONT apresentou maiores valores em D14 e D21.

Sendo assim, visualmente, verificou-se uma tendência de maior grau de formação de crosta nas feridas do grupo MOXA a partir do momento 4 (D28) até o momento 6 (D42), assim como menor grau de secreção nas feridas do grupo MOXA, entre os momentos 1 ao 4 (D7 à D28).

Tabela 4 – Moda do escore das variáveis borda, edema, hemorragia, crosta, secreção e tipo de secreção para as feridas de ambos os grupos

DIA	GRUPO	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECREÇÃO	TIPO
	7 MOXA	0	0	0	0	3	0	0
	7 CONT	0	2	0	0	3	0	0
	14 MOXA	0	1	0	0	3	0	1
	14 CONT	0	1	0	0	3	1	1
	21 MOXA	1	1	0	0	3	0	0
	21 CONT	0	1	0	0	3	1	1
	28 MOXA	3	1	0	3	3	0	0
	28 CONT	1	1	0	0	3	0	0
	35 MOXA	3	1	0	1	3	0	0
	35 CONT	2	1	1	0	3	0	0
	42 MOXA	2	1	0	3	3	0	0
	42 CONT	3	1	0	0	3	0	0
	49 MOXA	2	0	0	3	3	0	0
	49 CONT	3	0	0	3	3	0	0
	56 MOXA	3	0	0	3	0	0	0
	56 CONT	3	0	0	3	0	0	0

Fonte: Própria autoria.

Gráficos 1 A, B, C, D, E e F – Escore de variável analisada de acordo com o grupo, sendo membro direito o grupo CONT e membro esquerdo o grupo MOXA

Fonte: Própria autoria.

Legenda: Eixo horizontal representa os momentos: D14 = 2, D28 = 4, D42 = 6 e D56 = 8. Eixo vertical representa os escores (0 a 3).

TG: tecido de granulação.

Levando-se em consideração os momentos iniciais e finais, não houve diferença entre os grupos ao longo do tempo para o tempo de cicatrização das feridas cutâneas. Também não houve diferença entre os grupos em relação à área da ferida nos tempos experimentais ($p < 0,05$).

O gráfico 2 representa a evolução da área da ferida, calculada por meio dos diâmetros medidos. As feridas apresentaram padrão similar de regressão, sem diferenças entre os grupos CONT e MOXA.

Gráfico 2 – Evolução da área da ferida com relação a cada grupo, sendo membro direito (D) grupo CONT e membro esquerdo (E) grupo MOXA

Fonte: Própria autoria.

Os gráficos 3 e 4 representam a comparação do tempo de fechamento da ferida nos grupos CONT e MOXA. Também não foi observada diferença entre os grupos. Entretanto, se colocado como covariável o sexo do animal, houve diferença no tempo de cicatrização entre machos e fêmeas, sendo maior neste segundo grupo.

Gráfico 3 – Tempo de fechamento da ferida com relação a cada grupo, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA

Fonte: Acervo pessoal.

Gráfico 4 – Tempo de fechamento da ferida de cada grupo relacionado ao sexo dos animais, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA.

Fonte: Acervo pessoal.

5.2 Resultados histológicos

Os principais achados histopatológicos e a característica da hemorragia observados na avaliação das biópsias das feridas cutâneas induzidas de forma experimental nos membros dos equinos, de ambos os grupos experimentais CONT e MOXA, estão apresentados nos gráficos 5, 6 e na tabela 5. Os dados serão apresentados em conjunto, de acordo com a evolução da cicatrização.

Por meio da avaliação desses gráficos pode-se verificar semelhança entre o comportamento de ambos os grupos, em cada momento e ao longo do tempo. Eventuais distanciamentos entre as linhas podem ser explicados por algum outlier, o qual influencia a média, mas não representa necessariamente o comportamento do grupo como um todo. Os padrões observados na estatística exploratória são corroborados na estatística inferencial, onde não se verificou nenhuma correlação com o tratamento, sendo o tempo o único fator avaliado que possuiu significância.

Houve aumento da hiperqueratose e diminuição da formação de úlcera ao longo do tempo, em ambos os grupos. Também houve aumento significativo da hiperplasia da epiderme e reepitelização da borda do momento 1 (D7) ao momento 3 (D21), entretanto, próximo ao momento 4 (D28) ocorreu uma queda na presença das variáveis, o que condiz com o período da quarta biópsia, realizada no D30, voltando a surgirem após a mesma. A presença de fibrina e de necrose de colágeno se apresentaram de modo semelhante, com um aumento inicial do momento 1 (D7) ao 2 (D14), reduzindo gradativamente até o momento 5 (D56). Em contrapartida, a presença de colágeno organizado foi aumentando do momento 3 (D21) ao momento 5 (D56). A formação de novos vasos apresentou-se com aumento entre o momento 1 (D7) e o momento 3 (D21) seguida de redução desse momento em diante.

Entretanto, foram encontradas maiores quantidades de hemorragia no grupo CONT nos momentos D3, D7 e D15, em comparação com o grupo MOXA.

O tecido de granulação maduro foi observado a partir de D14, caracterizado por moderada celularidade e presença de vasos sanguíneos maduros. Não foi observado infiltrado inflamatório nesta fase. A partir de D21 até D28 o tecido de granulação maduro manteve-se sem inflamação e as fibras colágenas passaram a apresentar uma melhor organização, em ambos os grupos.

As características histológicas observadas estão exemplificadas nas figuras 18 A, B, C e D; 19 A, B, C, D e 20 A e B.

Ademais, durante análise histológica foram encontradas colônias bacterianas na ferida do animal Juma pertencente ao grupo MOXA, nos momentos 3 e 4.

Serão apresentados a seguir alguns resultados da avaliação histológica das feridas de ambos os grupos (Gráficos 5 A, B, C e D e Gráficos 6 A, B, C e D). Os demais resultados individuais estão detalhados nas tabelas no apêndice (APÊNDICE II).

Figuras 18 A, B, C e D – fotomicrografias de pele de equino. A: momento 1, grupo CONT. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: área ulcerada contendo infiltrado inflamatório, restos celulares, necrose do colágeno. B: momento 1, grupo MOXA. Ausência da epiderme. Seta preta: epitélio de folículo piloso. Seta vermelha: necrose da derme, contendo infiltrado inflamatório acentuado. C: momento 2, grupo CONT. Seta preta: reepitelização. Seta vermelha: necrose do colágeno e infiltrado inflamatório. D: momento 2, grupo MOXA, Seta preta: reepitelização. Seta vermelha: necrose do colágeno e infiltrado inflamatório. Seta verde: crosta, composta por células inflamatórias, edema, fibrina e restos celulares. HE, aumento de 200X

Fonte: Acervo pessoal.

Figuras 19 A, B, C e D – fotomicrografias de pele de equino. A: momento 3, grupo CONT. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo discreto infiltrado inflamatório moderado, hemorragia e extenso edema. B: momento 3, grupo MOXA. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: área ulcerada contendo infiltrado inflamatório, restos celulares, neovascularização. C: momento 4, grupo CONT. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo acentuado infiltrado inflamatório, hemorragia, desarranjo dos fibroblastos e edema. D: momento 4, grupo MOXA. Seta preta: epiderme em reepitelização. Seta vermelha: úlcera contendo acentuado infiltrado inflamatório, hemorragia, desarranjo dos fibroblastos e edema. Seta verde: crosta. HE, aumento de 200X

Fonte: Acervo pessoal.

Figuras 20 A e B – fotomicrografias de pele de equino. A: momento 5, grupo CONT. Seta preta: hiperplasia da epiderme. Seta vermelha: fibroblastos desorganizados da derme, com discreto infiltrado inflamatório. B: momento 5, grupo MOXA. Seta preta: epiderme. Seta vermelha: fibroblastos desorganizados da derme, com discreto infiltrado inflamatório, necrose do colágeno e neovascularização. HE, aumento de 200X.

Fonte: Acervo pessoal.

Gráficos 5 A, B, C e D – Evolução das feridas ao longo tempo com relação a hiperplasia de epiderme, hiperqueratose, reepitelização de borda e presença de úlcera, sendo a linha rosa o grupo CONT e a linha azul o grupo MOXA

Fonte: Acervo pessoal.

Gráficos 6 A, B, C, D e E – Evolução das feridas ao longo tempo com relação a presença de edema, fibrina, necrose e organização de colágeno e presença de novos vasos, sendo a linha rosa o grupo CONT e a linha azul o grupo MOXA

Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 5 – Características avaliadas na análise histológica em cada momento, quanto ao infiltrado inflamatório e hemorragia predominante, segundo cada grupo experimental

DIA DA COLHEITA	GRUPO	CARACTERÍSTICA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO PREDOMINANTE	CARACTERÍSTICA DA HEMORRAGIA PREDOMINANTE
D3	CONT	Grande quantidade de neutrófilos distribuídos de modo difuso	Moderada quantidade multifocal
	MOXA	Grande quantidade de células polimorfonucleares distribuídas de modo difuso	Pequena quantidade multifocal
D7	CONT	Grande quantidade de neutrófilos e células polimorfonucleares distribuídos de modo difuso	Moderada quantidade multifocal
	MOXA	Grande quantidade de neutrófilos distribuídos de modo difuso	Pequena quantidade multifocal
D15	CONT	Grande quantidade de neutrófilos distribuídos de modo difuso	Pequena quantidade multifocal
	MOXA	Moderada quantidade de neutrófilos e células polimorfonucleares distribuídos de modo difuso	Nenhuma ou pequena quantidade multifocal
D30	CONT	Grande quantidade de neutrófilos distribuídas de modo difuso	Nenhuma quantidade
	MOXA	Moderada quantidade de neutrófilos distribuídos	Nenhuma ou pequena

		de modo difuso, com presença de alguns macrófagos	quantidade multifocal
D60	CONT	Pequena quantidade de neutrófilos distribuídos de modo multifocal	Nenhuma quantidade
	MOXA	Pequena quantidade de neutrófilos e macrófagos distribuídos de modo multifocal	Nenhuma quantidade

Fonte: Própria autoria.

5.3 Resultados biomoleculares

Serão apresentados a seguir os resultados agrupados da avaliação biomolecular das feridas de ambos os grupos. Os resultados de cada membro, em cada momento, estão detalhados nas tabelas no apêndice (APÊNDICE III). Não houve diferença na expressão de TGF- β 1 e VEGFA entre os grupos experimentais ao longo do tempo.

No Gráfico 7 estão apresentados os resultados oriundos do exame de PCR. Com relação a variável TGF- β 1 não se verificou diferença entre os grupos e os tempos, $p = 0.6$ e $p = 0.8$, respectivamente. Verificou-se diferença entre os tempos na variável VEGFA, $p < 0.001$, entretanto não houve diferença entre os grupos, $p = 0.17$. A variável VEGFA apresentou valores mais altos no momento 2 (D3) no grupo MOXA. Quando da avaliação inferencial, o momento 1 (D0) foi retirado da comparação por se tratar de um controle.

Gráfico 7 – Concentração da expressão dos fatores de crescimento TGF- β 1 e VEGFA em cada momento, comparando-se os dois grupos, sendo membro direito grupo CONT e membro esquerdo grupo MOXA. Unidade: ng/ μ L

Fonte: Acervo pessoal.

6 DISCUSSÃO

O objetivo do tratamento de feridas em equinos é otimizar a cicatrização, em um esforço para retorná-lo à sua função anterior o mais rápido possível, respeitando as diversas restrições presentes (SCHUMACHER; THEORET, 2017). Embora muitos autores tenham realizado estudos com cicatrização de feridas em regiões não articuláveis, como lombar, torácica, metacarpo/metatarso (HUSSNI et al, 2010; RIBEIRO et al, 2009; CELESTE et al, 2011; DESCHENE et al, 2011; DESCHENE et al, 2012; TRACEY et al, 2014; MOUSTAFA; MARZOK, 2015; DAHLGREN et al, 2016; JORGENSEN et al, 2017; MOYER, 2018; SEMIEKA et al, 2019), é sabido que um dos fatores que afetam a cicatrização em equinos é a presença das lesões em articulações, as quais possuem mobilidade excessiva.

Feridas em regiões articuladas em equinos são propensas à inflamação crônica, devido à interrupção dos aglomerados capilares e depósitos de colágeno e formação de novo epitélio frágil. Além destes, a elevada tensão e a fina camada tecidual podem ser fatores responsáveis por esta dificuldade (BERTONE, 1989; HENDRICKSON; VIRGIN, 2005). Para este estudo foi escolhido o boleto como a região para indução de uma ferida de pele, ou seja, sobre a articulação metacarpo-falangeana, a fim de desafiar o processo cicatricial, evidenciando os efeitos da moxabustão com relação ao aspecto cicatricial e tempo de cicatrização das feridas.

O formato circular realizado com molde e o diâmetro escolhido para indução cirúrgica da ferida nos membros dos cavalos deste experimento permitiram a replicação quase que idêntica das lesões e a avaliação por um período prolongado, o que facilita a verificação da interferência das sessões de moxabustão no processo cicatricial. Além disso, Madison & Gronwall (1992) demonstraram que o formato da ferida não influencia na taxa de reparação das lesões em equinos.

Sabe-se que a cicatrização de feridas pode ser dividida em fases sincrônicas e intercaladas: inflamação aguda, proliferação celular, síntese de matrix extracelular e remodelamento com a formação de cicatriz (THEORET, 2005). A inflamação é uma fase do processo de cicatrização de feridas e é importante principalmente para a remoção de microrganismos contaminantes. Os anti inflamatórios não esteroidais possuem efeitos na redução da inflamação e edema, provavelmente sem afetar o sistema nervoso central. Acredita-se que o maior impacto negativo da sua utilização durante a cicatrização de feridas, em equinos, ocorra na administração prolongada

desta classe de medicamentos (HANSON, 2018). Neste estudo, a utilização do flunixin meglumine como anti inflamatório não esteroideal teve intuito de controle da dor e edema imediato pós-cirúrgico, da mesma forma que é feito na clínica equina, embora haja controvérsias sobre esta prática, considerando-se os efeitos sobre o processo inflamatório cicatricial (CASTON, 2012). Além disso, como cada animal funcionou como controle dele mesmo (MONTEIRO; LEPAGE; THEORET, 2009; TRACEY et al, 2014; FOWLER et al, 2019), acredita-se que não houve interferência do uso do medicamento nos resultados obtidos.

Na fase de remodelamento também ocorre síntese e degradação concomitante de colágeno (ISAAC et al, 2010), e esta foi evidenciada, em ambos os grupos, pela maior graduação de necrose do colágeno nas avaliações iniciais e maior graduação de organização do colágeno (provavelmente composto por colágeno tipo I) nos momentos finais de avaliação.

A contração da ferida pode ser dividida clinicamente em três fases: uma fase de atraso com duração de 5 a 10 dias em que o tamanho da ferida aumenta por causa do inchaço, bem como das forças de tensão centrífuga nos arredores da pele; uma fase de contração rápida; e, finalmente, uma fase de contração lenta à medida que a ferida se torna totalmente epitelizada (THEORET, 2005). Neste estudo, observou-se um pequeno aumento da média de área da ferida no grupo CONT em relação ao grupo MOXA, 14 dias após a indução, embora o comportamento das médias tenha sido semelhante, não havendo diferença comparando-se os dois grupos. Martins et al (2013) também observaram aumento do diâmetro de feridas cutâneas até o 14º dia após indução de feridas e verificaram que o retorno ao tamanho inicial aconteceu por volta de 28 dias, assim como foi observado neste estudo, em ambos os grupos experimentais.

A utilização da moxa palito com suporte baseou-se no fato de que este é um tipo de moxa prensada, que gera um calor moderado a intenso em uma área definida, visto que o suporte cria um certo isolamento na região aquecida. Além disso, há um acúmulo de fumaça na parte inferior do suporte, o que possivelmente concentra os seus efeitos, ademais de manter o aquecimento local de maneira mais controlada. A aplicação deste tipo de moxa também deixa uma deposição de resina amarelada, com possível efeito terapêutico (FILHO, 2015). Neste estudo, foram observadas alterações no aspecto visual macroscópico das feridas após a sessão

de moxabustão, apresentando-se mais úmidas, brilhantes e amareladas (provável deposição de cera de *Artemisia*). Ademais, nas avaliações semanais, observou-se menor exsudação e maior rapidez na formação de crosta. Estudos sobre cicatrização de feridas em ratos também encontraram benefícios na utilização de moxabustão indireta em úlceras de pele refratárias (SUN et al., 2011; SUN et al., 2012).

Manter um ambiente úmido na ferida é considerado ideal em muitos casos, visto que favorecem a angiogênese e epitelização, o aumento da síntese de colágeno e a rapidez na epitelização, diminuindo o tempo de cicatrização e a dor local (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005), e estes são alguns fatores que podem ser atribuídos ao que foi visualizado após as sessões de moxabustão.

Neste experimento, a moxabustão apresentou-se como um tratamento complementar de baixo custo, fácil aplicação e promissor para feridas em equinos. Garcia e Prado (2017) também relataram facilidade na utilização da moxabustão em feridas de serpente, além de sugerirem que a técnica pode favorecer a aceleração na cicatrização de feridas nessa espécie, não possuindo efeitos colaterais e prevenindo infecções secundárias.

Já foi comprovado cientificamente que os hormônios esteroides endógenos influenciam a resposta à lesão cutânea. Neste sentido, sabe-se que os estrogênios aceleram o processo de reparação tecidual, ao passo que os andrógenos retardam. Gilliver e colaboradores (2006) relataram que a castração de roedores abreviaram o processo de cicatrização de feridas cutâneas. Tal fato pode ocorrer pois a testosterona endógena inibe a resposta de cura, devido ao aumento do nível da resposta inflamatória hormônio-dependente (GILLIVER et al, 2006; GILLIVER et al, 2008). Entretanto, estes estudos não compararam o tempo médio de cicatrização entre fêmeas e machos castrados. No presente estudo, o tempo médio de fechamento de feridas nas fêmeas, considerando ambos os grupos, foi maior do que nos machos. Todos os animais do sexo masculino eram castrados e Aune et al. (2020) reportaram que cavalos castrados são considerados mais confiáveis, calmos e previsíveis do que éguas, o que permite-se hipotetizar que neste caso o temperamento dos animais (machos mais tranquilos) possa ter influenciado no processo, movimentando menos a ferida realizada sobre a articulação, favorecendo a cicatrização.

As crostas são compostas por sangue coagulado, fibrina, colágeno ressecado e debris celulares, formadas pela dessecação da superfície da ferida. As feridas mais exsudativas tendem a formar crostas mais espessas e mais facilmente removíveis, as quais conferem menor proteção à lesão. Portanto, segundo Hussni et al (2010), é mais adequado que haja menor exsudação no leito da ferida, permanecendo seca e com formação de crosta protetora aderida. Neste estudo as feridas do grupo MOXA apresentaram: menor presença de hemorragia e mais rápida formação de crosta cicatricial protetora (a partir de 21 dias após a indução); menor formação de secreção exsudativa e aspecto tecidual mais brilhante e vitalizado (após cada sessão). Mannina e colaboradores (2018) obtiveram resultados semelhantes na aplicação de moxabustão com uso de moxa palito em ferida profunda de difícil cicatrização em mandrião chileno (*Catharacta chilensis*), com cicatrização avançada após 3 sessões de moxabustão indireta associadas à membrana celular porosa. Esses resultados, apesar de terem sido obtidos em um só animal, corroboram os encontrados no presente estudo, permitindo inferir também que o tamanho pequeno da amostra possa ter influenciado para que não tenha sido obtida diferença estatística em todas as avaliações.

Campos e colaboradores (2007) apontam que um dos principais fatores que podem afetar negativamente a cicatrização é o edema. Neste experimento foi encontrado maior grau de edema no grupo CONT, 7 dias após a indução das feridas, correspondendo à transição da fase inflamatória para proliferativa no processo cicatricial, provavelmente prejudicando a resolução da inflamação inicial.

O grupo MOXA evidentemente mostrou controle do tecido de granulação, sendo esta uma característica favorável da utilização de moxabustão em feridas cutâneas de equinos, pois é sabido que uma vez desenvolvido e projetando-se sobre as margens, esse tipo de tecido afeta a epitelização e contração da ferida, além de predispor à ocorrência de infecção e novos traumas (ZAHA et al, 2019).

De acordo com a avaliação histológica, 3 dias após a indução das feridas cutâneas, houve predominância de grande quantidade de células polimorfonucleares no infiltrado inflamatório das feridas do grupo MOXA, o que sugere representar acontecimentos comuns da fase inflamatória aguda de reparação tecidual (GANTWERKER et al, 2011). A inflamação aguda e sua resolução são geralmente consideradas essenciais no processo normal da cicatrização de feridas (THEORET,

2005). Em 15 e 30 dias após a indução, foram encontradas moderadas quantidades de neutrófilos e células polimorfonucleares como características do infiltrado inflamatório predominante no grupo MOXA, ao contrário da grande quantidade de neutrófilos observadas nas mesmas datas no grupo CONT. Tal fato poderia representar uma maior deficiência na resolução da inflamação aguda para o grupo CONT.

No presente estudo, após a limpeza com água e sabão neutro, com ou sem a sessão de moxabustão, todas as feridas foram protegidas por bandagem compressiva, com intuito de controlar a contaminação e a formação de tecido de granulação exuberante. Entretanto, Jorgensen e colaboradores (2017) encontraram maior prevalência de biofilme e detectaram formação de tecido de granulação exuberante e retardo na cicatrização em feridas de membros de equinos protegidas por bandagem, quando comparadas com feridas que não foram cobertas por bandagem. Os mesmos autores justificam que isto pode acontecer devido à hipóxia e inflamação de baixo grau, ocorrida no tecido de granulação exuberante. Neste experimento foi visualizada menor formação de tecido de granulação exuberante no grupo MOXA, corroborando o maior grau de inflamação encontrado na avaliação histológica e possível melhor resolução do processo cicatricial neste grupo.

Também foram encontradas menores quantidades de hemorragia no grupo MOXA 3, 7 e 15 dias após a indução das feridas cutâneas, em comparação com o grupo CONT. A resolução da hemorragia faz parte da fase de hemostasia das feridas e, portanto, maior grau também pode significar dificuldade de resolução inflamatória (THEORET, 2005; GANTWERKER; HOM, 2011; THEORET, 2017).

A cicatrização de feridas epiteliais envolve a migração coordenada e a proliferação de células epiteliais. As células epiteliais adjacentes à ferida migram para cobrir as superfícies abertas e dão fim ao processo de reparo por baixo da crosta, o que também é conhecido como restituição epitelial (LEONI et al, 2015). O grupo MOXA apresentou maiores valores de borda de epitelização nos tempos D21, D28, D35 e menores escores em D42 e D49. Além disso, o grupo MOXA apresentou maiores escores de crosta cicatricial nos tempos D28, D35 e D42 e menores escores nos tempos D14 e D21. Estes resultados sugerem melhor evolução na cicatrização das feridas do grupo MOXA, uma vez que a restituição epitelial aconteceu mais

rapidamente, associada à posterior proteção oferecida pela maior presença de crosta.

Embora não tenha sido feita cultura microbiológica das feridas, durante análise histológica foram encontradas colônias bacterianas na ferida do animal Juma pertencente ao grupo MOXA, 15 e 30 dias após o estímulo inicial. Segundo Edwards & Harding (2004), a maioria das feridas é colonizada por um nível normal de bactérias que não prejudica o hospedeiro ou impede a cura. Entretanto, Jorgensen et al (2019) apresentaram um modelo de estudo para agregação bacteriana em feridas de equinos, no qual foram encontradas diferenças na cicatrização de feridas localizadas nos membros, comparando-se o grupo que teve inoculação de bactérias com o grupo não inoculado. O grupo inoculado teve maior tempo de cicatrização em comparação com o grupo não inoculado. Ainda que no presente estudo colônias bacterianas tenham sido encontradas em somente um dos animais, pode-se inferir que tal fato possa ter prejudicado o tempo de cicatrização e, portanto, afetado a média dos valores encontrados para o grupo MOXA.

Durante os estágios iniciais do reparo tecidual espera-se que haja hipóxia local, e esta fornece um estímulo para o crescimento de novos vasos sanguíneos, bem como aumenta a proliferação de fibroblastos equinos dérmicos, síntese de TGF- β 1 e colágeno (DESCHENE et al, 2011). A concentração de TGF- β 1 apresentou-se como 0 no dia 0, e teve momentos de elevação ao longo das coletas, apresentando novamente valores próximos do 0 com 60 dias de cicatrização, o que é esperado em feridas consideradas crônicas, de acordo com Theoret et al (2012). Além disso, também corroborando Cochrane 1997, a pele íntegra não expressa TGF- β 1.

Na fase de inflamação aguda há deposição de fibrina sobre o coágulo sanguíneo formado, o que precede a formação do tecido de granulação. Além disso, as plaquetas ativadas liberam fatores de crescimento como o TGF- β , estimulando a migração de leucócitos (THEORET, 2005). Neste estudo foram encontrados, em ambos os grupos, maiores graduações de fibrina e concentrações maiores de TGF- β 1 7 dias após a indução. Embora Wang e colaboradores (2018) relatem que a fase inflamatória geralmente tenha duração de 72 horas, a realização da biópsia no dia 3 pode ter influenciado o processo de cicatrização normal das feridas, retardando a fase inflamatória.

Theoret e colaboradores (2001) detectaram que a expressão de TGF- β 1 apresentou-se elevada 14 dias após a indução de feridas em equinos. Neste estudo em questão, embora não tenha havido diferença na expressão de TGF- β 1 entre os grupos de tratamento, ocorreu aumento da concentração desse fator 15 dias pós indução, em ambos os grupos.

A fase de proliferação é marcada pela alta produção de matriz extracelular e início da angiogênese. Além disso, nas feridas com cicatrização por segunda intenção, a úlcera formada começa a ser preenchida por tecido de granulação (THEORET, 2005; GANTWERKER et al, 2011). No presente estudo, foi encontrada, em ambos os grupos, elevação da graduação da variável “formação de novos vasos” nos momentos 7 e 15 dias após a indução das feridas, o que corrobora a fase de proliferação. Embora a maior concentração de VEGFA tenha sido encontrada 3 dias após a indução, sendo coerente com o fato de que este se eleva pela ação de macrófagos e células endoteliais presentes principalmente nas fases inflamatória e proliferativa, não houve diferença entre os grupos experimentais. Em contrapartida, Lima (2013) encontrou maiores taxas de angiogênese no processo de fechamento de úlceras de pressão induzidas em camundongos e tratadas com sessões de moxabustão com uso de moxa palito, do dia 7 ao dia 21 (momento em que ocorreu a eutanásia dos animais).

Durante a avaliação biomolecular, a variável TGF- β 1 apresentou um comportamento semelhante nos grupos MOXA e CONT, mantendo a concentração quase que constante ao longo do tempo, enquanto que a variável VEGFA mostrou valores mais altos 3 dias após a indução no grupo MOXA. Monteiro e colaboradores (2009) também não encontraram diferenças significativas nas concentrações de TGF- β 1 ao compararem feridas de equinos tratadas ou não com plasma rico em plaquetas.

Na análise deste estudo, a concentração de VEGFA apresentou valores mais altos 3 dias após a indução, em ambos os grupos, o que corrobora os achados de Sun e colaboradores (2011), os quais encontraram uma regulação positiva nos valores de VEGF em feridas crônicas de pele em ratos especialmente nos dias 3 e 7 após avaliação, com aplicações diárias de moxabustão indireta.

Hamed e colaboradores (2019), através de estudo com feridas induzidas nos membros de asininos (48 lesões no total), encontraram menor tempo de cicatrização

e expressão significativamente aumentada de TGF- β 1 e VEGFA nas lesões tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga, em comparação com feridas não tratadas. Alguns aspectos da metodologia utilizada pelos autores podem justificar as diferenças encontradas em comparação com o estudo nessa dissertação, como o maior número de feridas avaliadas e avaliações realizadas somente até a quinta semana pós indução. Além disso, a fibrina rica em plaquetas é caracterizada por uma alta produção de fatores de crescimento, o que não acontece necessariamente com a utilização da moxabustão.

Conforme se vê, não foram encontradas diferenças quanto ao tempo de reparação das feridas entre os grupos CONT e MOXA, embora os aspectos macroscópicos tenham sido favoráveis ao grupo MOXA a partir de 28 dias após a indução. As feridas do grupo MOXA se apresentavam com diâmetro reduzido e crosta cicatricial, achados que na prática clínica poderiam significar uma lesão cicatrizada. Neste presente estudo, a cicatrização foi considerada a partir do momento em que houvesse junção completa das bordas epiteliais, fato que é obtido com o surgimento de cicatriz. Acredita-se que se o critério utilizado fosse formação de crosta cicatricial, a qual apresenta-se também como fator protetor na prática clínica, o grupo MOXA apresentaria menor tempo de cicatrização e evolução mais favorável em comparação ao grupo CONT. De acordo com as observações deste experimento, pode-se inferir que as sessões de moxabustão auxiliam na qualidade da cicatrização de feridas de pele em membros de equinos.

A indução de feridas realizada de modo experimental permite melhor controle de diversos fatores que possam afetar a cicatrização, como localização, tamanho, formato, largura, comprimento, profundidade e idade da ferida; sexo, idade, temperamento e condição corporal dos animais, muitos dos quais interferem diretamente na validação estatística (HENDRICKSON; VIRGIN, 2005; KNOTTENBELT, 2003). Entretanto, deve-se tomar cuidado ao extrapolar os resultados de feridas agudas criadas experimentalmente para feridas naturais, traumáticas, crônicas e displásicas, comumente encontradas na clínica (TEXTOR et al, 2017), justamente por não ser influenciada pelos diversos fatores acima mencionados.

O processo de cicatrização é um evento sistêmico, e portanto, é constituído por uma série de fatores que precisam interagir entre si para que haja uma evolução

de forma eficiente (OLIVEIRA; DIAS, 2012). Dart e colaboradores (2017) listaram diversos elementos que afetam a reparação das feridas em equinos, como anestesia local, remoção de pelos, preparação do local, aplicação tópica, uso de medicamentos anti-inflamatórios sistêmicos e bandagens. Neste estudo, por mais que tenha sido realizado um esforço no sentido de excluir ao máximo as influências sobre as variáveis analisadas, alguns fatores não puderam ser afastados, como o efeito negativo das biópsias na evolução da cura das feridas.

7 CONCLUSÃO

Após realização deste estudo, foi possível concluir:

- A cicatrização de feridas cutâneas em membros de equinos não foi estatisticamente influenciada pelo tratamento com água e sabão neutro ou pelo tratamento com água e sabão neutro associado a sessão de moxabustão com moxa palito, embora observações macroscópicas e histológicas sugeriram alteração visual positiva para as feridas tratadas com moxabustão;
- O tratamento com moxabustão não interferiu no tempo de completa cicatrização de feridas de pele em equinos;
- O tratamento com moxabustão não interferiu na expressão de TGF- e VEGFA em relação ao grupo tratado com água e sabão;
- O tratamento com moxabustão visualmente sugeriu menor quantidade de edema e secreção e mais rápida e maior formação de crosta no leito das feridas.
- A moxabustão em forma de moxa palito apresenta-se como um tratamento complementar para feridas de equinos, visto que é de fácil aplicação, controla o processo cicatricial, possui preço acessível e apresenta boa aceitabilidade.

EQUIPE DE TRABALHO

Renata Gebara Sampaio Dória. Médica Veterinária. Professora da Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Departamento de Medicina Veterinária, Curso de Medicina Veterinária. Orientadora.

Bianca Moutinho Grizendi. Médica Veterinária. Mestranda do Programa de Biociência Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP. Orientada.

Daniel Mendes Netto. Médico Veterinário, MSc, Especialista em Acupuntura Veterinária (ABRAVET/ CFMV). Diretor Técnico-Científico e Professor da Sociedade de Acupuntura Veterinária (SAVE). Colaborador.

Raquel Vasconcelos Guimarães de Castro. Médica Veterinária. Doutora pelo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Jaboticabal, SP. Colaboradora.

Fabiana Fernandes Bressan. Médica Veterinária. Professora associada do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP. Colaboradora.

Claudia Momo. Médica Veterinária. Professora associada do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. Colaboradora.

Daniel Magalhães Lima. Médico Veterinário. Doutorando no departamento de Epidemiologia e Bioestatística da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. Colaborador.

REFERÊNCIAS

- ASSIS-BRASIL, N. D. et al. Equine dermatopathies in southern Brazil: a study of 710 cases. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 3, p. 519-524, 2015.
- AUNE, A. et al. Reported behavioural differences between geldings and mares challenge sex-driven stereotypes in ridden equine behaviour. **Animals**, Basel, v. 10, n. 414, p. 1-12, 2020.
- BAO, P. et al. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 153, n. 2, p. 347–358, 2009.
- BARRIENTOS, S. et al. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Malden, v. 22, n. 5, p. 569–578, 2014.
- BERTONE, A. L. Principles of wound healing. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 449-463, 1989.
- CAMILLO, C. S. et al. **Caderno de histologia texto e atlas**. Natal: Editora da UFRN, 2017. 118 p.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.
- CASTON, S. S. Wound care in horses. **The Veterinary Clinics of North America. Equine practice**, Philadelphia, v. 28, p. 83-100, 2012.
- CELESTE, C. J. et al. Regional differences in wound oxygenation during normal healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder. **Wound Repair and Regeneration**, Malden, v. 19, p. 89–97, 2011.
- CHIU, J. How does moxibustion possibly work? **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 2013, e-198584, p. 1-8, 2013.
- CILI, Z. et al. Research advance on Moxa Smoke. **Journal Acupuncture of Tuina Science**, [Shanghai], v. 9, n. 2, p. 67-72, 2011.
- COCHRANE, C. A. Models *in vivo* of wound healing in the horse and the role of growth factors. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 8, p. 259-272, 1997.
- COYLE, M. E. et al. Moxibustion plus pharmacotherapy for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Australian Journal of Acupuncture and Chinese Medicine**, Australia, v. 10, n. 1, p. 12-20, 2016.
- DAHLGREN, L. A. et al. Evaluation of a hyaluronic acid-based biomaterial to enhance wound healing in the equine distal limb. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 44, p. 90-99, 2016.

DART, A. J. et al. Management practices that influence wound infection and healing. In: THEORET, C.; SCHUMACHER, J. (Ed.) **Equine wound management**. 3rd ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2017. p. 47-74.

DENG, H.; SHEN, X. The mechanism of moxibustion: ancient theory and modern research. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 2013, e-379291, p. 1-7, 2013.

DESCHENE, K. et al. Constitutive expression of hypoxia-inducible factor-1 α in keratinocytes during the repair of skin wounds in horses. **Wound Repair and Regeneration**, St. Louis, v. 19, p. 250–259, 2011.

DESCHENE, K. et al. Hypoxia regulates the expression of extracellular matrix associated proteins in equine dermal fibroblasts via HIF1. **Journal of Dermatological Science**, Amsterdam, v. 65, p. 12-18, 2012.

DRAEHMPAEHL, D.; ZOHMANN, A. **Acupuntura no cão e no gato**: princípios básicos e prática científica. São Paulo: Roca, 1997. 245 p.

EDWARDS, R.; HARDING, K. G. Bacteria and wound healing. **Current Opinion in Infectious Diseases**, London, v. 17, p. 91–6, 2004.

FILHO, R.S. **Moxabustão Chinesa**. São Paulo: Editora Brasileira de Medicina Chinesa, 2015. 178 p.

FOWLER, A. W. et al. Effects of acellular equine amniotic allografts on the healing of experimentally induced full-thickness distal limb wounds in horses. **Veterinary Surgery**, Malden, v. 48, p. 1416–1428, 2019.

GARCIA, V. C.; PRADO, C. V. Use of moxibustion as an auxiliary treatment in wound healing of the snake *Eunectes murinus* (anaconda): case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 69, n. 6, p. 1560-1564, 2017.

GANTWERKER, E. A. et al. Skin: histology and physiology of wound healing. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 19, p. 441-453, 2011.

GILLIVER, S. C. et al. Androgens modulate the inflammatory response during acute wound healing. **Journal of Cell Science**, London, v. 119, p. 722–732, 2006.

GILLIVER, S. C. et al. Sex dimorphism in wound healing: the roles of sex steroids and macrophage migration inhibitory factor. **Endocrinology**, Los Angeles, v. 149, p. 5747–5757, 2008.

GRIZENDI, B. M. et al. Moxabustão no tratamento de feridas em equinos. **Revista Brasileira Medicina Equina**, São Paulo, v. 11, n. 62, p. 4-7, 2015.

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

- GUPTA, B. S.; GUPTA, EDWARDS, J. V. Textile materials and structures for topical management of wounds. In: RAJENDRAN, S. (Ed.). **Advanced Textiles for Wound Care**. 2nd ed. Cambridge: Elsevier, 2018. p. 55-104.
- HAMED, M. A. et al. Effectiveness of (Equus asinus). **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 73, p. 131-138, 2019.
- HANSON, R. R. Medical therapy in equine wound management. **The Veterinary Clinics of North America. Equine practice**, Philadelphia, v. 34, p. 591-603, 2018.
- HENDRICKSON, D.; VIRGIN, J. Factors that affect equine wound repair. **The Veterinary Clinics of North America. Equine practice**, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 33-44, 2005.
- HOWARD, D. J. A. et al. Preliminary study on second-intention healing of full-thickness wounds on equine distal forelimbs treated with maltodextrin. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 74, p. 90-94, 2019.
- HUSSNI, C. A. et al. Efeitos da fenilbutazona na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em equinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 262-267, 2010.
- ISAAC, C. et al. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, São Paulo, v. 89, n. 3/4, p. 125-131, 2010.
- JOHNSON, K. E.; WILGUS, T. A. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. **Advances in Wound Care**, New Rochelle, v. 3, n. 10, p. 647-661, 2014.
- JORGENSEN, E. et al. The occurrence of biofilm in an equine experimental wound model of healing by secondary intention. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 204, p. 90-95, 2017.
- JORGENSEN, E. et al. An Equine Wound Model to Study Effects of Bacterial Aggregates on Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 8, n. 10, p. 487-498, 2019.
- KAI-YU, H. et al. To understand moxibustion from the biological effect of local thermal stimulation. **World Journal of Acupuncture-Moxibustion (WJAM)**, China, v. 26, n. 3, p. 31-48, 2016.
- KNOTTENBELT, D. C. **Handbook of equine wound management**. Liverpool, UK: WB Saunders, 2003.
- LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. **Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia**, Portugal, v. 69, n. 3, p. 355-367, 2011.
- LEONI, G. et al. Wound repair: role of immune-epithelial interactions. **Mucosal Immunology**, New York, v. 8, n. 5, 2015.

LIMA, R. O. **Cicatrização da úlcera por pressão experimental com fumaça de moxa palito de *Artemisia Vulgaris* em camundongos**. 2013. 149 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

LUCAS, R. Semiologia da pele. In: FEITOSA, F. L. F. (Ed.) **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004. p. 641-676.

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

MANNINA, N. B. et al. Use of a porous cellulose membrane (*Membrace®*) and moxibustion for severe excoriative injury in a chilean skua (*Catharacta chilensis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 55, n. 2, p. 1-5, 2018.

MARTINS, E. A. N. et al. Emprego de membrana de quitosana em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 1824-1830, 2013.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 257-262, 2009.

MIRAGLIOTTA, V. et al. Osteopontin expression in healing wounds of horses and in human keloids. **Equine Veterinary Journal**, United Kingdom, v. 48, n. 1, p. 72-77, 2014.

MONTEIRO, S. O.; LEPAGE, O. M.; THEORET, C. L. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses. **American Journal of Veterinary Research**, United States, v. 70, n. 2, p. 277-282, 2009.

MORAES, J. M. et al. Ultrassom terapêutico como tratamento na cicatrização de feridas em equinos. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 16, Ed. 265, e-1760, 2014.

MORGAN, D. D. et al. Effects of extracorporeal shock wave therapy on wounds of the distal portion of the limbs in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, United States, v. 234, n. 9, p. 1154-1161, 2009.

MOUSTAFA, A; MARZOK, M. A preliminary study on the effectiveness of glycerin magnesia dressing on second intention healing of wounds on the distal aspect of the forelimb of horses. **Global Veterinaria**, Pakistan, v. 14, n. 5, p. 699-706, 2015.

MOYER, C. T. Evaluation of Lyophilized Human Amnion for Equine Wound Management. Dissertação de mestrado: Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. Leesburg, Virginia, EUA. 48f. 2018.

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

PACH, D.; BRINKHAUS, B.; WILLICH, S. N. Moxa sticks: thermal properties and possible implications for clinical trials. **Complementary Therapies in Medicine**, Amsterdam, v. 17, n. 4, p. 243-246, 2009.

PAGANELA, J. C. et al. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 104, p. 13-18, 2009.

PESSOA, A. F. A. et al. Doenças de pele em equídeos no semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 8, p. 743-748, 2014.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REES, C. A. Disorders of the skin. In: REED, S.; BAYLY, W.; SELLON, D. (Ed.) **Equine internal medicine**. 2nd ed. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2004. p. 667-720.

RUH, A. C. et al. Inflamação: entre a regeneração e a cicatrização. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**. Ponta Grossa, v. 19, n. 1, p. 11-19, 2013.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H. Structure and function of the skin. In: SCOTT, D.; MILLER, JR., W. **Equine dermatology**. 2nd ed. Maryland Heights: Elsevier Saunders, 2011. p. 1-58.

SEMIEKA, M. A. et al. Comparative Study of the Therapeutic Effect of Panthenol Gel and Mebo Ointment on Metacarpal Wound Healing in Donkeys. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 74, p. 21-27, 2019.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Mechanisms of disease:cutaneous wound healing. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 341, n. 10, p. 738-746, 1999.

SORENSEN, M. A. et al. Regional disturbances in blood flow and metabolism in equine limb wound healing with formation of exuberant granulation tissue. **Wound Repair Regeneration**, Malden, v. 22, n. 5, p. 647–653, 2014.

SUN, L. H. et al. Effect of mild moxibustion on macrophage number and collagen expression of raw surface tissue in chronic refractory skin ulcer rats. **Acupuncture Research**, Beijing, v. 37, n. 4, p. 259-265, 2012.

SUN, Y.H. et al. Effect of mild-warm moxibustion on microcirculation in the raw surface tissue of chronic refractory wound in skin ulcer rats. **Acupuncture Research**, Beijing, v. 36, p. 321-326, 2011.

TEXTOR, J. A. et al. Allogeneic stem cells alter gene expression and improve healing of distal limb wounds in horses. **Stem Cells Translational Medicine**, Durham, v. 7, p. 98-108, 2018.

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

THEORET, C. L. et al. Preliminary observations on expression of transforming growth factors $\beta 1$ and $\beta 3$ in equine full-thickness skin wounds healing normally or with exuberant granulation tissue. **Veterinary Surgery**, Malden, v. 31, n. 3, p. 266-273, 2002.

THEORET, C. I. et al. 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.; WILMINK, J. M. Aberrant wound healing in the horse: Naturally occurring conditions reminiscent of those observed in man. **Wound Repair Regeneration**, Malden, v. 21, p. 365-371, 2013.

THEORET, C. L. The pathophysiology of wound repair. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v. 21, p. 1-13, 2005.

TRACEY, A. K. et al. The effects of topical oxygen therapy on equine distal limb dermal wound healing. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 55, n. 12, p. 1146-1152, 2014.

WHEELER, J.; COPPOCK, B.; CHEN, C. Does the burning of moxa (*Artemisia vulgaris*) in traditional Chinese Medicine constitute a health hazard? **Acupuncture in Medicine**, Warrington, v. 27, n. 1, p. 16-20, 2009.

WIDMER, R. J. et al. Application of local heat induces capillary recruitment in the Pallid bat wing. **American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 292, n. 6, p. 2312-2317, 2007.

XIE, H.; PREAST, V. *Acupuntura veterinária xie*. São Paulo: MedVet, 2011.

XU, A.; CHENWEI, L.; XU, Q. The performance evolution of traditional moxibustion, eutronic moxibustion and laser acupuncture on apoplexy and their comparison research. In: WORLD CONGRESS ON MEDICAL AND BIOMEDICAL ENGINEERING, 2006, Seoul, Korea. **Proceedings...** Seoul: IFMBE, 2007. p. 3591-3593.

ZAHA, C. et al. Treatment of the exuberant granulation tissue in horse using elastic ligature: case report. **Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine**, Bucharest, v. 65, n.1, 2019.

APÊNDICE

APÊNDICE I

Na tabela 6 estão apresentadas as medianas e, entre parênteses, os intervalos inter-quartis de cada grupo em cada momento para as variáveis avaliadas ao exame macroscópico.

Tabela 6 – Medianas e, entre parênteses, os intervalos inter-quartis de cada grupo em cada momento, para as variáveis borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação, secreção, tipo de secreção e área.

Momento	Membro	Borda	Edema	Hemorragia	Crosta	TG	Secreção	Tipo	Área
1	D	0 (0.2)	1.5 (2)	0.5 (1)	0 (0)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	3.6 (0.5)
1	E	0 (0.2)	1 (2)	0 (0.2)	1 (2)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	3.4 (0.3)
2	D	0.5 (1)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0)	1 (0.2)	1 (0)	4.2 (0.5)
2	E	0 (0.2)	1 (0)	0 (1)	0 (0.5)	3 (0)	0.5 (1)	0.5 (1)	3.6 (0.8)
3	D	0.5 (1)	1 (0.2)	1 (2.2)	0 (0.2)	3 (0)	1 (0.2)	1 (0.5)	3.4 (1)
3	E	1 (0)	1 (0.2)	0.5 (1.2)	1.5 (3)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	2.8 (0.9)
4	D	1 (1)	1 (0)	0 (0.2)	0 (0)	3 (0)	0.5 (1)	0.5 (1.2)	2.1 (0.6)
4	E	2.5 (1)	1 (0.2)	0 (0)	3 (1.2)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	1.8 (0.9)
5	D	2 (1)	1 (0)	1.5 (2.2)	1 (1)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	1.9 (0.7)
5	E	3 (1)	1 (0)	0 (0)	2.5 (1.2)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	1.6 (1)
6	D	3 (1)	1 (0.2)	0 (0)	0 (1)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	1.1 (0.6)
6	E	2 (1)	1 (1)	0 (0)	3 (1.2)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	1.2 (0.9)
7	D	3 (0.2)	0 (1)	0 (0)	2.5 (3)	3 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0.5 (0.2)
7	E	2.5 (1)	0 (1)	0 (0)	3 (0)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	0.5 (0.5)
8	D	3 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.3 (0.1)
8	E	3 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0.8)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0.7 (0.4)

Nas tabelas 7 a 30 estão apresentados os resultados da avaliação macroscópica para cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) de todos os animais, nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

Tabela 7 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 1 (D7).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	7	E	Rosa escuro	1	2	0	3	3	0	0	2,39	2,2
JUMA	7	D	Amarela	0	2	1	0	3	0	0	2,2	2,2
JUDITE	7	E	Rosa claro	0	1	0	2	2	0	0	2	2,2
JUDITE	7	D	Rosa claro	0	2	0	0	3	0	0	2,15	2,3
JOIA	7	E	Amarela	1	2	0	2	3	1	1	2,25	2,1
JOIA	7	D	Amarela	1	2	1	0	3	0	0	2,45	2,4
JASMIN	7	E	Amarela	0	2	1	0	3	0	0	2	2,2
JASMIN	7	D	Rosa	0	2	1	0	3	0	0	2,2	2,1

Tabela 8 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 2 (D14).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	D1	D2
JUMA	14	E	Rosa amarela	0	1	0	2	3	0	0	2,4	2,3
JUMA	14	D	Rosa escuro	0	1	0	0	3	1	1	2,3	2,25
JUDITE	14	E	Amarela	1	1	0	0	3	0	0	2	2,25
JUDITE	14	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	1	2,45	2,2
JOIA	14	E	Rosa escuro	0	1	1	2	3	0	0	2,1	2,15
JOIA	14	D	Amarela	1	1	0	0	3	2	1	2,7	2,75
JASMIN	14	E	Rosa claro	0	1	1	0	3	0	0	2,6	2,5
JASMIN	14	D	Amarela	0	1	0	0	3	1	1	2,6	2,4

Tabela 9 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 3 (D21).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	21	E	Rosa	1	1	1	3	3	0	0	2	2
JUMA	21	D	Vermelha	0	1	3	0	3	1	3	2,1	2,05
JUDITE	21	E	Rosa	1	1	0	3	3	0	0	1,9	2
JUDITE	21	D	Rosa	1	1	0	1	3	2	2	2,3	2,5
JOIA	21	E	Rosa	1	1	0	2	3	0	0	1,6	2
JOIA	21	D	Rosa	1	1	1	1	3	0	0	2,2	2,4
JASMIN	21	E	Vermelha	0	0	2	3	3	0	0	2,4	2
JASMIN	21	D	Vermelha	0	0	3	0	3	0	0	2,25	2,2

Tabela 10 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 4 (D28).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	28	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	1,8	1,75
JUMA	28	D	Vermelha	3	1	0	2	3	0	0	1,65	1,6
JUDITE	28	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	1,8	2,1
JUDITE	28	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	2	2,1	2,2
JOIA	28	E	Rosa	3	1	0	3	3	0	0	1,45	1,8
JOIA	28	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	2	1,95	2,15
JASMIN	28	E	Rosa escuro	2	0	0	3	3	0	0	1,4	1,35
JASMIN	28	D	Vermelha	2	0	1	0	3	0	0	1,4	1,5

Tabela 11 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 5 (D35).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	35	E	Rosa escuro	3	1	1	3	3	0	0	1,7	1,9
JUMA	35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	1,5	1,6
JUDITE	35	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	1,65	1,9
JUDITE	35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	2,5	1,9
JOIA	35	E	Vermelha	3	1	0	3	3	0	0	1,6	1,7
JOIA	35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	1,6	1,75
JASMIN	35	E	Amarela	3	1	0	2	1	0	0	1,4	1,1
JASMIN	35	D	Vermelha	2	1	1	1	2	0	0	1,2	1,6

Tabela 12 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 6 (D42).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	42	E	Rosa escuro	1	1	0	3	3	0	0	1,7	1,8
JUMA	42	D	Vermelha	3	1	0	0	3	0	0	1,2	0,9
JUDITE	42	E	Rosa escuro	2	1	0	3	3	0	0	1,35	1,65
JUDITE	42	D	Rosa	2	1	0	0	3	0	0	1,6	1,1
JOIA	42	E	Rosa claro	2	1	0	3	3	0	0	0,9	1,2
JOIA	42	D	Amarela	1	1	0	0	3	0	0	1,4	1,2
JASMIN	42	E	Rosa claro	2	1	0	2	3	0	0	1,15	0,7
JASMIN	42	D	Rosa	3	1	0	2	3	0	0	0,65	0,5

Tabela 13 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 7 (D49).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
JUMA	49	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1,55	1,8
JUMA	49	D	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,95	0,75
JUDITE	49	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1,2	1,55
JUDITE	49	D	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1	0,7
JOIA	49	E	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,8	0,8
JOIA	49	D	Rosa	3	1	0	3	3	0	0	1,1	1
JASMIN	49	E	Rosa	3	1	1	3	3	0	0	0,7	0,6
JASMIN	49	D	Rosa claro	3	0	0	3	0	0	0	0,4	0,3

Tabela 14 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para as fêmeas, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 8 (D56).

[illegible]

Tabela 15 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 1 (D7).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	7	E	Amarela	0	1	1	0	3	0	0	1,9	2,2
GOLIAS	7	D	Vermelha	0	1	2	0	3	0	0	2	2,15
GEORGE	7	E	Amarela	0	0	0	0	3	0	0	2	2,1
GEORGE	7	D	Amarela	0	0	0	0	3	0	0	2,1	2,15
CAMPARI	7	E	Rosa claro	0	0	0	1	3	0	0	1,9	2,1
CAMPARI	7	D	Rosa	1	0	0	0	3	0	0	2	1,7
WHISKY	7	E	Amarela	0	0	0	1	3	0	0	1,9	1,9
WHISKY	7	D	Rosa	0	0	0	0	3	0	0	2	2

Tabela 16 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 2 (D14).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	14	E	Rosa claro	0	1	0	0	3	2	1	2,4	2,25
GOLIAS	14	D	Rosa claro	0	1	0	0	3	1	1	2,3	2,3
GEORGE	14	E	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	2,15	2,2
GEORGE	14	D	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	2,25	2,45
CAMPARI	14	E	Rosa	2	1	1	0	3	1	1	1,9	2,1
CAMPARI	14	D	Rosa	2	1	0	0	3	1	1	2,1	2
WHISKY	14	E	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	1,85	1,75
WHISKY	14	D	Rosa claro	1	1	0	0	3	2	1	2,2	2,25

Tabela 17 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 3 (D21).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	21	E	Rosa	1	1	2	0	3	0	0	2,4	2,2
GOLIAS	21	D	Rosa	1	1	1	0	3	1	1	2	1,9
GEORGE	21	E	Rosa	1	1	1	0	3	0	0	1,9	1,75
GEORGE	21	D	Rosa claro	0	1	0	0	3	1	1	2,2	2
CAMPARI	21	E	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	1,65	1,6
CAMPARI	21	D	Rosa	2	1	0	0	3	1	1	1,75	1,5
WHISKY	21	E	Rosa	1	0	0	0	3	1	1	1,65	1,7
WHISKY	21	D	Rosa escuro	0	0	2	0	3	1	1	1,9	1,8

Tabela 18 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 4 (D28).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	28	E	Rosa amarela	2	1	0	1	3	1	1	1,7	1,7
GOLIAS	28	D	Rosa claro	1	1	0	0	3	1	1	1,85	1,5
GEORGE	28	E	Rosa escuro	0	1	0	3	3	0	0	1,55	1,3
GEORGE	28	D	Rosa claro	0	1	1	0	3	0	0	1,75	1,6
CAMPARI	28	E	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	1,05	0,85
CAMPARI	28	D	Rosa	2	1	0	0	3	0	0	1,2	0,8
WHISKY	28	E	Rosa claro	2	1	0	2	3	0	0	1,3	1,4
WHISKY	28	D	Rosa	1	1	0	0	3	2	1	1,6	1,6

Tabela 19 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 5 (D35).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	35	E	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	1,55	1,5
GOLIAS	35	D	Vermelha	1	1	2	0	3	0	0	1,75	1,55
GEORGE	35	E	Rosa	2	1	0	2	3	0	0	1,35	1,2
GEORGE	35	D	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	1,4	1,2
CAMPARI	35	E	Amarela	3	1	0	3	3	0	0	0,95	0,8
CAMPARI	35	D	Rosa	1	1	0	0	3	0	0	1	1
WHISKY	35	E	Rosa	1	1	0	1	3	0	0	1,5	1,2
WHISKY	35	D	Vermelha	1	1	1	0	3	0	0	1,6	1,55

Tabela 20 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 6 (D42).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	42	E	Rosa	2	1	1	1	3	0	0	1,5	1,4
GOLIAS	42	D	Rosa	3	1	0	1	3	0	0	1,45	1,3
GEORGE	42	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1,45	1,2
GEORGE	42	D	Vermelha	2	0	0	1	3	0	0	1,15	1
CAMPARI	42	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1	1,2
CAMPARI	42	D	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	0,85	0,9
WHISKY	42	E	Rosa	3	0	0	1	3	0	0	1,35	0,7
WHISKY	42	D	Rosa	3	1	0	0	3	0	0	1,35	1,3

Tabela 21 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 7 (D49).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	49	E	Rosa	2	0	0	1	3	0	0	1,15	0,9
GOLIAS	49	D	Vermelha	2	1	3	0	3	0	0	0,8	0,7
GEORGE	49	E	Rosa escuro	2	1	0	3	3	0	0	1	0,65
GEORGE	49	D	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	0,6	0,7
CAMPARI	49	E	Rosa	2	0	0	3	3	0	0	0,85	0,85
CAMPARI	49	D	Rosa	2	0	0	0	3	0	0	0,7	0,75
WHISKY	49	E	Rosa	2	1	0	3	3	0	0	1,1	0,5
WHISKY	49	D	Rosa	3	1	0	2	3	0	0	0,6	1

Tabela 22 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção, diâmetro horizontal (d1) e diâmetro vertical (d2) para os machos, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), no momento 8 (D56).

ANIMAL	DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	d1	d2
GOLIAS	56	E	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,55	0,5
GOLIAS	56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,55	0,9
GEORGE	56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,95	0,8
GEORGE	56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,55	0,75
CAMPARI	56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,85	0,9
CAMPARI	56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,45	0,4
WHISKY	56	E	Rosa	3	0	0	3	3	0	0	1,15	0,9
WHISKY	56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,75	0,65

Tabela 23 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para a égua Juma, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm ²)
7	E	Rosa escuro	1	2	0	3	3	0	0	4,12
14	E	Amarela	0	1	0	2	3	0	0	4,33
21	E	Rosa	1	1	1	3	3	0	0	3,14
28	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	2,47
35	E	Rosa escuro	3	1	1	3	3	0	0	2,53
42	E	Rosa escuro	1	1	0	3	3	0	0	2,4
49	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	2,19
56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	2	0	0	1,41
7	D	Amarela	0	2	1	0	3	0	0	3,45
14	D	Rosa escuro	0	1	0	0	3	1	1	4,06
21	D	Vermelha	0	1	3	0	3	1	3	3,37
28	D	Vermelha	3	1	0	2	3	0	0	2,07
35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	1,88
42	D	Vermelha	3	1	0	0	3	0	0	0,84
49	D	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	2,23
56	D	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,35

Tabela 24 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para a égua Judite, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm²)
7	E	Rosa claro	0	1	0	2	2	0	0	3,45
14	E	Amarela	1	1	0	0	3	0	0	3,53
21	E	Rosa	1	1	0	3	3	0	0	2,98
28	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	2,96
35	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	2,46
42	E	Rosa escuro	2	1	0	3	3	0	0	1,74
49	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1,46
56	E	Rosa	3	0	0	0	0	0	0	0,9
7	D	Rosa claro	0	2	0	0	3	0	0	3,88
14	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	1	4,23
21	D	Rosa	1	1	0	1	3	2	2	4,51
28	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	2	3,62
35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	3,72
42	D	Rosa	2	1	0	0	3	0	0	1,38
49	D	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,54
56	D	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,76

Tabela 25 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para a égua Joia, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm ²)
7	E	Amarela	1	2	0	2	3	1	1	3,7
14	E	Amarela	1	1	0	0	3	1	1	3,71
21	E	Rosa	1	1	0	3	3	0	0	2,51
28	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	2,04
35	E	Rosa escuro	3	1	0	3	3	0	0	2,13
42	E	Rosa escuro	2	1	0	3	3	0	0	0,84
49	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,5
56	E	Rosa	3	0	0	0	0	0	0	0,37
7	D	Rosa claro	0	2	0	0	3	0	0	4,61
14	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	1	5,82
21	D	Rosa	1	1	0	1	3	2	2	4,14
28	D	Amarela	1	1	0	0	3	1	2	3,29
35	D	Vermelha	2	1	3	1	3	0	0	2,19
42	D	Rosa	2	1	0	0	3	0	0	1,31
49	D	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,86
56	D	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,27

Tabela 26 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para a égua Jasmin, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm²)
7	E	Amarela	0	2	1	0	3	0	0	3,45
14	E	Amarela	0	1	1	0	3	0	0	5,1
21	E	Vermelha	0	0	2	3	3	0	0	3,76
28	E	Rosa escuro	2	0	0	3	3	0	0	1,48
35	E	Amarela	3	1	0	2	1	0	0	1,2
42	E	Rosa claro	2	1	0	2	3	0	0	0,63
49	E	Rosa	3	1	1	3	3	0	0	0,65
56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,96
7	D	Rosa	0	2	1	0	3	0	0	3,62
14	D	Amarela	0	1	0	0	3	1	1	4,89
21	D	Vermelha	0	0	3	0	3	0	0	3,88
28	D	Vermelha	2	0	1	0	3	0	0	1,64
35	D	Vermelha	2	1	1	1	2	0	0	1,5
42	D	Rosa	3	1	0	2	3	0	0	0,25
49	D	Rosa claro	3	0	0	3	0	0	0	0,09
56	D	Rosa	3	0	0	0	0	0	0	0,28

Tabela 27 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para o cavalo Golias, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm ²)
7	E	Amarela	0	1	1	0	3	0	0	3,28
14	E	Rosa claro	0	1	0	0	3	2	1	4,23
21	E	Rosa	1	1	2	0	3	0	0	4,14
28	E	Amarela	2	1	0	1	3	1	1	2,26
35	E	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	1,82
42	E	Rosa	2	1	1	1	3	0	0	1,64
49	E	Rosa	2	0	0	1	3	0	0	0,81
56	E	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,21
7	D	Vermelha	0	1	2	0	3	0	0	3,37
14	D	Rosa claro	0	1	0	0	3	1	1	4,15
21	D	Rosa	1	1	1	0	3	1	1	2,98
28	D	Rosa claro	1	1	0	0	3	1	1	2,17
35	D	Vermelha	1	1	2	0	3	0	0	2,12
42	D	Rosa	3	1	0	1	3	0	0	1,47
49	D	Vermelha	2	1	3	0	3	0	0	0,43
56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,38

Tabela 28 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para o cavalo George, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm²)
7	E	Amarela	0	0	0	0	3	0	0	3,29
14	E	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	3,71
21	E	Rosa	1	1	2	0	3	0	0	2,61
28	E	Rosa escuro	0	1	0	3	3	0	0	1,58
35	E	Rosa	2	1	0	2	3	0	0	1,27
42	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	1,36
49	E	Rosa escuro	2	1	0	3	3	0	0	0,51
56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	0	0	0	0,59
7	D	Rosa claro	0	0	0	0	3	0	0	3,54
14	D	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	4,32
21	D	Rosa	1	1	1	0	3	1	1	3,45
28	D	Rosa claro	0	1	1	0	3	0	0	2,19
35	D	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	1,31
42	D	Vermelha	2	0	0	1	3	0	0	0,9
49	D	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	0,32
56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,32

Tabela 29 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para o cavalo Campari, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm²)
7	E	Rosa claro	0	0	0	1	3	0	0	2,98
14	E	Rosa	2	1	1	0	3	1	1	3,13
21	E	Rosa	2	1	0	1	3	0	0	2,07
28	E	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	0,7
35	E	Amarela	3	1	0	3	3	0	0	0,59
42	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,94
49	E	Rosa	2	0	0	3	3	0	0	0,56
56	E	Rosa escuro	3	0	0	3	3	0	0	0,6
7	D	Rosa	1	0	0	0	3	0	0	2,66
14	D	Rosa	2	1	0	0	3	1	1	3,29
21	D	Rosa	2	1	0	0	3	1	1	2,06
28	D	Rosa	2	1	0	0	3	0	0	0,75
35	D	Rosa	1	1	0	0	3	0	0	0,78
42	D	Rosa	3	0	0	0	3	0	0	0,6
49	D	Rosa	2	0	0	0	3	0	0	0,41
56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,14

Tabela 30 – Resultados de cor, borda, edema, hemorragia, crosta, tecido de granulação (TG), secreção, tipo de secreção e área da ferida, para o cavalo Whisky, nos membros E (grupo MOXA) e D (grupo CONT), nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56.

DIA	MEMBRO	COR	BORDA	EDEMA	HEMORRAGIA	CROSTA	TG	SECRECAO	TIPO	AREA (cm ²)
7	E	Amarela	0	0	0	1	3	0	0	2,83
14	E	Rosa	0	1	0	0	3	1	1	2,54
21	E	Rosa	1	0	0	0	3	1	1	2,2
28	E	Rosa claro	2	1	0	2	3	0	0	1,42
35	E	Rosa	1	1	0	1	3	0	0	1,41
42	E	Rosa	3	0	0	1	3	0	0	0,74
49	E	Rosa	2	1	0	3	3	0	0	0,43
56	E	Rosa	3	0	0	3	3	0	0	0,81
7	D	Rosa	0	0	0	0	3	0	0	3,14
14	D	Rosa claro	1	1	0	0	3	2	1	3,88
21	D	Rosa escuro	0	0	2	0	3	1	1	2,68
28	D	Rosa	1	1	0	0	3	2	1	2
35	D	Vermelha	1	1	1	0	3	0	0	1,94
42	D	Rosa	3	1	0	0	3	0	0	1,37
49	D	Rosa	3	1	0	2	3	0	0	0,47
56	D	Rosa	3	0	0	3	0	0	0	0,38

APÊNDICE II

Tabela 31 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo MOXA de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 1 (D3).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 1	Misto 3 difuso	2 multifocal
George 1	Misto 3 difuso	2 multifocal
Golias 1	Neutrófilos 3 difuso	1 multifocal
Whisky 1	Neutrófilos 1 multifocal	0
Jasmin 1	Misto 3 difuso	1 multifocal
Joia 1	Misto 2 multifocal	0
Judite 1	Neutrófilos 2 crosta e derme	0
Juma 1	Misto 3 difuso	3 multifocal

*

Tabela 32 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo CONT de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 1 (D3).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 1	Misto 3 difuso	3 multifocal
George 1	Neutrófilos 3 difuso	2 multifocal
Golias 1	Neutrófilos 3 multifocal	1 multifocal
Whisky 1	Neutrófilos 3 difuso	1 multifocal
Jasmin 1	Neutrófilos 3 difuso	2 multifocal
Joia 1	Neutrófilos 2 multifocal	3 multifocal
Judite 1	Neutrófilos multifocal discreto	Discreta multifocal
Juma 1	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal a difusa

Tabela 33 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo MOXA de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 2 (D7).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 2	Misto 3 difuso	1 multifocal
George 2	Neutrófilos 2 difuso	3 multifocal
Golias 2	Misto 2 multifocal	0
Whisky 2	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal
Jasmin 2	Neutrófilos 3 difuso	1 difusa

Joia 2	Neutrófilos 2 multifocal	1
Judite 2	Neutrófilos 3 difuso	0
Juma 2	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal

Tabela 34 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo CONT de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 2 (D7).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 2	Misto 2 difuso	2 multifocal
George 2	Misto 3 multifocal	1 multifocal
Golias 2	Neutrófilos 1 difuso	2 multifocal
Whisky 2	Neutrófilos 3 difuso, ocasionais eosinófilos	1 multifocal
Jasmin 2	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal
Joia 2	Neutrófilos 3 multifocal	2 multifocal
Judite 2	Infiltrado PNM acentuado difuso	0
Juma 2	Misto 3 difuso	3 multifocal

*PNM=polimorfonuclear

Tabela 35 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo MOXA de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 3 (D15).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 3	Misto 2 multifocal	0
George 3	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal
Golias 3	Neutrófilos 3 difuso, ocasionais eosinófilos	1 multifocal
Whisky 3	Misto 2 difuso	0
Jasmin 3	Misto 3 difuso	1 multifocal
Joia 3	Misto 2 multifocal	1 multifocal
Judite 3	Neutrófilos 1 multifocal	0
Juma 3	Neutrófilos 2 difuso	0

Tabela 36 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo CONT de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 3 (D15).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 3	Neutrófilos 3 difuso	1 multifocal
George 3	Neutrófilos 3 difuso	0
Golias 3	Neutrófilos 3 difuso	2 multifocal
Whisky 3	Neutrófilos 1 multifocal	2 multifocal
Jasmin 3	Misto 3 difuso	0
Joia 3	Misto 3 difuso	1 multifocal
Judite 3	Neutrófilos 3 difuso	0
Juma 3	Neutrófilos 3 difuso	1 multifocal

Tabela 37 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo MOXA de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 4 D(30).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 4	Neutrófilos 3 difuso	0
George 4	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal
Golias 4	Macrófagos 1 multifocal	0
Whisky 4	Neutrófilos 2 difuso	0
Jasmin 4	Misto 3 difuso	1 multifocal
Joia 4	Macrófagos 2 multifocal	2 multifocal
Judite 4	Neutrófilos 2 multifocal	0
Juma 4	Misto 2 difuso	1 multifocal

Tabela 38 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo CONT de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 4 (D30).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 4	Neutrófilos 3 difuso	0
George 4	Neutrófilos 2 difuso	0
Golias 4	0	0
Whisky 4	Misto 3 difuso	0
Jasmin 4	Neutrófilos 1 multifocal	0
Joia 4	Neutrófilos 3 difuso	3 multifocal
Judite 4	Neutrófilos 3 focal	0
Juma 4	Neutrófilos e macrófagos 1 difuso	1 focal

Tabela 39 – Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo MOXA de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 5 D(60).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 5	Misto 1 multifocal	0
George 5	0	0
Golias 5	Macrófagos 1 multifocal	0
Whisky 5	Misto 2 multifocal	1 multifocal
Jasmin 5	Raros neutrófilos	0
Joia 5	-	-
Judite 5	Neutrófilos 2 multifocal	1 multifocal
Juma 5	Macrófagos 1 multifocal	0

Tabela 40 - Resultados da avaliação histológica das feridas do grupo CONT de todos os animais, considerando o infiltrado inflamatório e hemorragia, no momento 5 (D60).

Animal/Momento	Infiltrado inflamatório	Hemorragia
Campari 5	Neutrófilos 1 multifocal	0
George 5	Misto 2 multifocal	0
Golias 5	Macrófagos 1 multifocal	0
Whisky 5	Misto 1 multifocal	1 focal
Jasmin 5	Raros neutrófilos	0
Joia 5	Neutrófilos 2 multifocal	0
Judite 5	Neutrófilos 1 multifocal	0
Juma 5	Macrófagos 1 multifocal	3 focal

APÊNDICE III

Tabela 41 – Média $\pm$ desvio padrão das concentrações de TGF- β 1 e VEGFA em cada momento, nos grupos CONT (representado pelo membro D) e MOXA (representado pelo membro E).

Momento	Membro	TGF - β 1	VEGFA
1	D	0.014 (0.01)	0.068 (0.01)
2	D	0.074 (0.04)	0.101 (0.09)
2	E	0.057 (0.025)	0.106 (0.12)
3	D	0.049 (0.035)	0.089 (0.025)
3	E	0.043 (0.012)	0.11 (0.062)
4	D	0.016 (0.016)	0.012 (0.013)
4	E	0.018 (0.008)	0.008 (0.009)
5	D	0.027 (0.113)	0.012 (0.005)
5	E	0.014 (0.013)	0.007 (0.007)
6	D	0.008 (0.005)	0.01 (0.006)
6	E	0.012 (0.006)	0.011 (0.012)