

**UniRV – UNIVERSIDADE DE RIO VERDE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DE LESÕES CUTÂNEAS
EXPERIMENTAIS EM OVINOS TRATADOS COM NIM (AZADIRACHIA
INDICA)**

LUCAS DA ROCHA PINTO

Orientador: Prof. Dr. TIAGO LUÍS EILERS TREICHEL

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária da
UniRV – Universidade de Rio Verde,
resultante de Projeto de Pesquisa como parte
das exigências para obtenção do título de
Médico Veterinário**

RIO VERDE – GOIÁS

2019

**UniRV – UNIVERSIDADE DE RIO VERDE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DE LESÕES CUTÂNEAS
EXPERIMENTAIS EM OVINOS TRATADAS COM NIM (AZADIRACHIA
INDICA)**

LUCAS DA ROCHA PINTO
Orientador: Prof. Dr. TIAGO LUÍS EILERS TREICHEL

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária da
UniRV – Universidade de Rio Verde,
resultante de Projeto de Pesquisa como parte
das exigências para obtenção do título de
Médico Veterinário**

RIO VERDE – GOIÁS

2019



Universidade de Rio Verde

Credenciada pelo Decreto nº 3.971 de 02 de Julho de 2004

Pró-Reitoria Fomento ao Saber
Campus Universitário
Rio Verde - Goiás

Ca. Postal 304 - CEP 75900-000
UFPA 01.815.210/0001-78
TE: 62.310.819-6 FAX: 62.310.807

Fone: 0800 3071
www.unirv.br

LUCAS DA ROCHA PINTO

**AVALIAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DE LESÕES CUTÂNEAS
EXPERIMENTAIS EM OVINOS TRATADOS COM NIM (AZADIRACHIA INDICA)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da UniRV -
Universidade de Rio Verde, resultante do Estágio
Curricular Supervisionado como parte das exigências
para obtenção do título de Médico Veterinário.

Aprovado em: 13/06/19

Tales Dias do Prado
PROF. Dr. TALES DIAS DO PRADO

Francielly Paludo
MED. VET. FRANCIELLY PALUDO

Luiz Eilers Treichel
PROF. Dr. TIAGO LUIS EILERS TREICHEL
(Orientador)

RIO VERDE - GOIÁS

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo o que fez e o que vem fazendo em minha em vida.

A meus pais Ivonir Antônio da Rocha Pinto e Maria da Rocha Pinto, que me deram todo o suporte para que eu chegasse até aqui, por sempre estarem ao meu lado me apoiando em todas as decisões e sempre me ensinando a ser cada vez melhor.

Aos irmãos Hoanderson Marcos da Rocha Pinto e Larissa da Rocha Pinto, pelo companheirismo e paciência que tiveram comigo em toda essa minha jornada.

Ao meu orientador Tiago Luís Eilers Treichel, que durante a faculdade foi um grande amigo, sempre me orientando e ajudando nos projetos realizados, nas viagens realizadas em busca de novos conhecimentos e que também foi meu orientador como bolsista do CNPq e por toda a confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Tales Dias do Prado e a Francielly Paludo por todos ensinamentos e ajuda e por aceitarem participar desta última fase da minha formação.

Aos meus colegas que tiveram participação nessa pesquisa, que com muita dedicação todos me ajudaram na realização do mesmo.

RESUMO

PINTO, L.R. **Avaliação macro e microscópica de lesões cutâneas experimentais em ovinos tratadas com nim (*Azadirachia Indica*)**. 2019. 17f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - UniRV – Universidade de Rio Verde, Rio Verde, 2019¹.

O processo de cicatrização de feridas trata-se de um mecanismo complexo. Com base nas dificuldades encontradas para tratamento, alternativas são buscadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade clínica e a eficácia da terapia com o Nim (*Azadirachia indica*) no tratamento de feridas cutâneas experimentais em ovinos. Para isto, foram utilizados 18 ovinos, divididos em 3 grupos. Os animais do grupo controle, não receberam nenhum tratamento. Os animais do Grupo PC foram tratados com a pomada comercialmente disponível, enquanto os animais do EA foram tratados com extrato de solução aquosa das folhas. Ao término da primeira semana e no 30º dia, os animais foram submetidos a coleta de sangue. Biópsias teciduais foram realizadas nos dias 7, 14, 21 e 28. Os valores obtidos nos hemogramas foram submetidos aos testes de ANOVA e teste de T, ao nível de 5% de probabilidade, enquanto que para as variáveis observadas nas biópsias, utilizou-se o Teste de Kruskal-Wallis a 10% de probabilidade. Tanto a PC quanto o EA diminuíram os níveis de fibrinogênio, possivelmente devido à ação anti-inflamatória. O segundo grupo diferiu estatisticamente dos demais ($p < .0001$) aos 7 e aos 14 dias de pós-operatório, apresentando maior ocorrência de úlcera na ferida e de dermatite perivascular profunda heterofílica, observados no histopatológico. Embora o uso da pomada comercial e do extrato aquoso de Nim não tenham sido efetivos em reduzir o tamanho da lesão, reduziram o processo inflamatório no momento da injúria tecidual.

PALAVRAS – CHAVE

Fitoterápico, ferida, pele, ovelhas

¹ Banca Examinadora: Prof. Dr. Tiago Luis Eilers Treichel. (Orientador); Francielly Paludo – IF-Goiano; Tales Dias do Prado – UniRV

ABSTRACT

PINTO, L.R. **Macro and microscopic evaluation of experimental cutaneous lesions in sheep treated with neem (Azadirachia Indica)**. 2019. 17f. Graduation in Veterinary Medicine - UniRV - University of Rio Verde, Rio Verde, 2019².

The process of wound healing is a complex mechanism. Based on the difficulties encountered for treatment, alternatives are sought. The objective of this study was to evaluate the clinical viability and efficacy of Nim (*Azadirachia indica*) therapy. For this, 18 sheep were used, divided into 3 groups. The animals in the control group received no treatment. The animals of the PC Group were treated with the commercially available ointment, while the EA animals were treated with aqueous extract solution from the leaves. At the end of the first week and on the 30th day, the animals were submitted to blood collection. Tissue biopsies were performed on days 7, 14, 21 and 28. The values obtained in the hemograms were submitted to ANOVA and T-tests at a 5% probability level, whereas for the variables observed in the biopsies, the Kruskal-Wallis test at 10% probability. Both PC and EA decreased fibrinogen levels, possibly due to the anti-inflammatory action. The second group differed statistically from the others ($p < .0001$) at 7 and 14 postoperative days, presenting a higher occurrence of ulcer in the wound and of heterophilic deep perivascular dermatitis observed in the histopathology. Although the use of commercial ointment and aqueous extract of Nim were not effective in reducing the size of the lesion, they reduced the inflammatory process at the moment of the tissue injury.

KEY WORDS

Herbal medicine, wound, skin, sheep.

²Board of examiners: Prof. Dr. Tiago Luís Eilers Treichel (Advisor); Prof. Dr. Tales Dias do Prado - UniRV; Francielly Paludo – IF-Goiano

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1- (A) Medição da ferida cirúrgica, com o auxílio de um paquímetro digital; (B) Realização da anestesia, no local a ser incisado; (C) Início da incisão da ferida cirúrgica; (D) Realização da ferida cirúrgica; (E) Término da ferida cirúrgica; (F) Resultado final.....18
- FIGURA 2- (A) Medição horizontal da ferida cirúrgica, com o auxílio de um paquímetro digital; (B) Medição vertical da ferida cirúrgica, com auxílio de um paquímetro digital; (C) Retirada de amostra tecidual, com auxílio de um Punch de 8mm.....19
- FIGURA 3- Redução das áreas das lesões teciduais desde o dia 0 até 30 dias.....21

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Níveis de fibrinogênio das ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de nim12
- TABELA 2 – Níveis de plaquetas das ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de nim12
- TABELA 3 – Área das lesões em ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de nim13
- TABELA 4 – Análise estatística dos três grupos, para os parâmetros úlcera e DPPH, demonstrando diferença estatística significativa entre o segundo grupo e os demais, aos 7 e 14 dias de tratamento13

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3 RESULTADOS E DISCUÇÃO	12
4 CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS	17

1 INTRODUÇÃO

Feridas são traumas que rompem a continuidade da pele, deixando expostos os tecidos subjacentes (TIWARI 2012). O processo de cicatrização de feridas é um mecanismo que visa restaurar a anatomia e a funcionalidade da pele (BEGUM e NATH, 2000). Devido às dificuldades encontradas para o tratamento de lesões cutâneas, alternativas são buscadas visando praticidade, melhores resultados, menor tempo de tratamento e custo reduzido.

O Nim (*Azadirachia indica*) é uma árvore originária da Índia e sua utilização remonta há mais de 2000 anos e para os mais diferentes fins (NEVES et al., 2003). São sugeridas possíveis atividades antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, cicatrizante e antimicrobiana (ALZOHAIRY 2016).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a viabilidade e a eficácia da terapia com o Nim, em pomada comercial (PC) ou extrato aquoso (EA) das folhas, para o tratamento de feridas cutâneas induzidas experimentalmente em ovinos.

1.1 Inflamação

Quando ocorre uma injúria, o primeiro estágio no processo cicatricial, a inflamação, é iniciado. Nesta primeira fase que são recrutadas as células inflamatórias para o local da lesão, tais como os neutrófilos e os monócitos e macrófagos. Os macrófagos são algumas das principais células do sistema imune, desempenhando várias funções na inflamação, imunidade e cicatrização das feridas (FU e LI 2012).

O papel principal dos neutrófilos é a remoção de bactérias e restos extracelulares. Os neutrófilos liberam radicais superóxidos que causam a morte local das bactérias, também causam a degradação da matriz extracelular desnaturada e das células danificadas. Mesmos com tais mecanismos, os neutrófilos não são indispensáveis para o reparo das feridas cutâneas (SLATTER 2007).

Os monócitos ativados que são essenciais para o reparo de feridas, infiltram-se nas feridas e se tornam as principais células do processo de reparação tecidual, assumindo o papel de macrófagos da ferida. Se algum material estranho ou alguma bactéria estiver presente na ferida, os monócitos têm a capacidade de se proliferar. Os macrófagos presentes nas feridas atuam também como liberadores de citocinas que recrutam outras células e causam a modulação do processo de reparo da ferida, sendo importantes para o desbridamento do local da ferida, estimulando assim a formação do tecido de granulação (MENDONÇA et al, 2009).

O pico de atividade das células polimorfonucleares ocorre em 24-48 horas após o trauma, seguindo-se de um maior aporte de macrófagos durante os dois a três dias seguintes. Os macrófagos, também possuem a função de ativar os elementos celulares das fases subsequentes da cicatrização, tais como fibroblastos e células endoteliais (TAZIMA et al., 2008).

1.2 Fibrogênese

A fase da fibrogênese é de extrema importância para a formação do tecido de granulação. A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, que além de ser produtora de colágeno, produz também elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, estas responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico (MANDELBAUM et al., 2003).

As citocinas liberadas pelos macrófagos são essenciais tanto para a migração, quanto para a atividade das células fibroblásticas. É sabido que os fibroblastos presentes nas feridas, são responsáveis pela síntese da verdadeira matriz extracelular que é colagenosa, que substitui a matriz celular provisória de forma gradual. Os fibroblastos têm como principal papel fazer a mudança do colágeno na ferida (SLATTER, 2007).

A síntese de colágeno depende da oxigenação das células, da hidroxilação da prolina e lisina, mediada por enzimas produzidas pelo próprio fibroblasto. O colágeno é uma proteína de alto peso molecular, composta basicamente de glicina, prolina, hidroxiprolina, lisina e hidroxilisina. O colágeno é responsável pela sustentação e pela força de tensão da cicatriz, sendo continuamente produzidos pelos fibroblastos. Inicialmente, a síntese de colágeno novo é a principal responsável pela força da cicatriz, sendo substituída a longo de semanas, pela formação de ligações cruzadas entre os

feixes de colágeno. A síntese de colágeno declina por volta de quatro semanas e, então, se inicia a fase de maturação do colágeno que continua por meses, ou mesmo anos (TAZIMA et al, 2008).

1.3 Angiogênese

A angiogênese é o processo pelo qual ocorre o crescimento de novos vasos sanguíneos capilares, a partir de vasos sanguíneos pré-existentes. É um evento complexo que depende de inúmeros fatores, tais como: fatores mitogênicos e quimiotáticos, produzidos pelos macrófagos; fatores de crescimento dos fibroblastos; fator de crescimento endotelial vascular; fator de transformador de crescimento beta, angiogenina, angiotropina, angiopoietina 1, trombospondina; aumento do ácido lático, em resultado da baixa do oxigênio e a interação da matriz extracelular com citocinas que estimulam a migração e a proliferação de células endoteliais. (SLATTER, 2007).

Os novos vasos formam-se a partir de células endoteliais, que migram no sentido da periferia para o centro da ferida, sobre a malha de fibrina. Mediadores químicos oriundos dos macrófagos ativados, estimulam a migração e a proliferação das células endoteliais. A angiogênese é responsável pela nutrição do tecido, como também pelo aumento do aporte de células, como macrófagos e fibroblastos para o tecido lesionado. (TAZIMA et al., 2008).

Os vasos recém-formados têm participação na formação do tecido de granulação provisória e também suprem a necessidade de nutrientes e de oxigênio. Durante o processo de cicatrização a formação de novos vasos é necessária para a formação do novo tecido de granulação, em que ocorre na matriz extracelular do leito da ferida com a estimulação mitogênica das células endoteliais (MENDONÇA et al., 2009).

1.4 Contração da ferida

A ferida sofre o processo de contração, permeado por um movimento centrípeto de toda a pele circundante, reduzindo a quantidade e tamanho da cicatriz. Porém, se ocorre de forma exagerada e desordenada causa defeitos cicatriciais importantes por causa da diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos (TAZIMA et al., 2008).

Os miofibroblastos, são caracterizados por possuírem microfilamentos de actina dispostos ao longo da face citoplasmática e por ligamento de cada célula com a matriz. A medida que o reparo da ferida vai progredindo, o número de miofibroblastos vai diminuindo, até que praticamente não tenha mais a deposição destes, e então a contração da ferida cessa. A contração uma vez iniciada só terá fim quando as margens da ferida se encontram e então, por meio da retroalimentação negativa as células se encostam umas nas outras, e por inibição estimulada pelo contato, elas interrompem o processo. O processo de contração também pode ter fim quando a pele que circunda a ferida se iguale ou ultrapasse a força da contração, deixando assim tecido de granulação exposto, fazendo com que a epitelização continue, até cobrir a ferida (SLATTER 2007).

1.5 Epitelização da ferida

O processo de reepitelização consiste no recobrimento da ferida por um epitélio novo e tanto na migração, quanto na proliferação dos queratinócitos, a partir da periferia da lesão (MENDONÇA et al., 2009).

Nas primeiras 24 a 36 horas após a lesão, fatores de crescimento epidérmicos estimulam a proliferação de células epiteliais. As células epiteliais migram, a partir das bordas da ferida, induzindo a contração e a epitelização da ferida e, assim, reduzindo a sua superfície. Os queratinócitos, localizados na camada basal da epiderme, migram para recobrir a ferida. A epitelização envolve uma sequência de alterações nos queratinócitos da ferida: separação, migração, proliferação, diferenciação e estratificação (TAZIMA et al., 2008).

À medida que vai ocorrendo a epitelização, também vai ocorrendo o acúmulo de um novo tipo de material na lâmina da ferida, sob as células em migração, a partir da margem para o interior da ferida. As células epidérmicas ficam firmemente aderidas na membrana basal ou na lâmina da ferida e na derme subjacente, e então com o tempo a camada epidérmica se estratifica. Em feridas muito grandes este processo pode levar semanas, e até mesmo pode nunca se completar deixando assim restos de tecido de granulação exposto no centro da ferida, e a epiderme na direção do centro da ferida, ficar fina (SLATTER, 2007).

1.6 Reorganização da matriz extracelular

Essa fase ocorre primeiramente a diminuição da velocidade de deposição de colágeno, depois há uma redução no conteúdo de colágeno, pois parte dele está sendo degradadas de forma controlada por enzimas proteolíticas secretadas pelos macrófagos, células epiteliais, células endoteliais e pelos fibroblastos dentro da matriz extracelular. A vascularização da ferida também diminui, assim como a celularidade do tecido de granulação, na medida em que as células são substituídas por mais colágeno, os feixes de fibrina ficam mais espessos e passam a ter mais ligações cruzadas. Todo esse processo pode levar meses a anos para ocorrer, e embora por mais que a cicatriz possa ter uma grande quantidade de colágeno (que pressupõe assim o aumento da sua força mecânica), esse é um processo extremamente lento (SLATTER, 2007).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 18 ovinos Santa Inês, de ambos os sexos, adultos, com massa corporal de aproximadamente 30 quilogramas. A medicação anestésica consistiu da associação de 0,02 mg/kg de sulfato de atropina SC e após 15 min, administrou-se 0,1 mg/kg de xilazina e 8 mg/kg de cetamina, IM profunda. Com o animal tricotomizado na parede torácica direita, anestesiado e posicionado em decúbito lateral esquerdo, realizou-se a antisepsia.

Com uma gentil manipulação dos tecidos, a incisão na pele realizada com a lâmina de bisturi, por causar menos traumatismo tecidual que a tesoura, bisturi elétrico ou laser. De maneira atraumática com pinças com dentes finos, as bordas cutâneas foram manipuladas e os vasos sanguíneos identificados para realização de hemostasia. A gordura foi divulsionada e excisada completamente. (FIGURA 1)

Utilizando-se um molde plástico quadrado (7×7 cm), demarcou-se na pele a área a ser excisada, na região sobre a última costela. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos em que o grupo controle não recebeu nenhum tipo de tratamento no local da lesão experimental, o segundo grupo foi tratado com a pomada comercial de Nim (PC) e o terceiro foi tratado com o extrato aquoso de Nim (EA) ambos diariamente. As folhas e talos do Nim foram colhidos e colocados à sombra para secagem ao ar para desidratarem e se tornarem quebradiças. As folhas foram separadas dos talos e foram moídas, para obtenção do pó.

Para o preparo do EA, foram colocados 150 gramas do pó por litro de água quente. Ao misturar o pó na água, foi feita a agitação para homogeneizar a mistura e, em seguida, deixado em repouso por 24 horas. Após esse período, o EA foi coado, utilizando-se algodão e evitando-se resíduos de partículas. As feridas foram medidas a

cada cinco dias, aproximadamente, com o auxílio de um paquímetro, para mensuração de sua área, tomando-se para isso as dimensões de altura e largura das lesões.

Foram realizadas três coletas de sangue, sendo uma no dia do procedimento cirúrgico (dia 0) e nos dias 7º e 30º após o procedimento para análise de fibrinogênio e plaquetas. Os resultados das lesões foram submetidos à estatística descritiva e os de sangue à ANOVA com as médias sendo comparadas por meio do teste t de Student, a 5% de probabilidade.

Fragmentos de pele para biópsias foram retirados aos 7, 14, 21 e 28 dias. Para esta coleta, os animais foram anestesiados conforme o mesmo protocolo descrito anteriormente. Foi realizada uma incisão de pele na borda da ferida com o auxílio de um punch para biópsia de pele de 6 mm, removendo-se a interface entre o tecido sadio e o leito da ferida, não havendo necessidade de sutura. (FIGURA 2)

Após a remoção do fragmento de pele, o mesmo foi fixado em formol tamponado e emblocado em parafina para a realização dos cortes de microscopia com auxílio de um micrótomo. As lâminas de microscopia, contendo os cortes histológicos das amostras, foram coradas com hematoxilina-eosina para avaliação histopatológica.

As amostras de pele de cada um dos animais, obtidas nos quatro períodos avaliativos, foram analisadas quanto a presença de úlcera na ferida, formação de crosta, tecido de granulação (TFD), tecido fibrovascular imaturo dérmico (TFID), tecido fibrovascular maduro dérmico ou fibrose (TFMD), dermatite perivascular profunda heterofílica (DPPH), dermatite perivascular superficial linfoplasmocitária (DPSL), dermatite intersticial granulomatosa (DIG), mineralização e acantose. As ocorrências destas alterações foram pontuadas de 0 a 3, sendo que o escore 0 representava a ausência de quaisquer uma destas condições e os valores 1, 2 e 3 correspondiam a presença com leve, moderada ou acentuada intensidade, respectivamente.

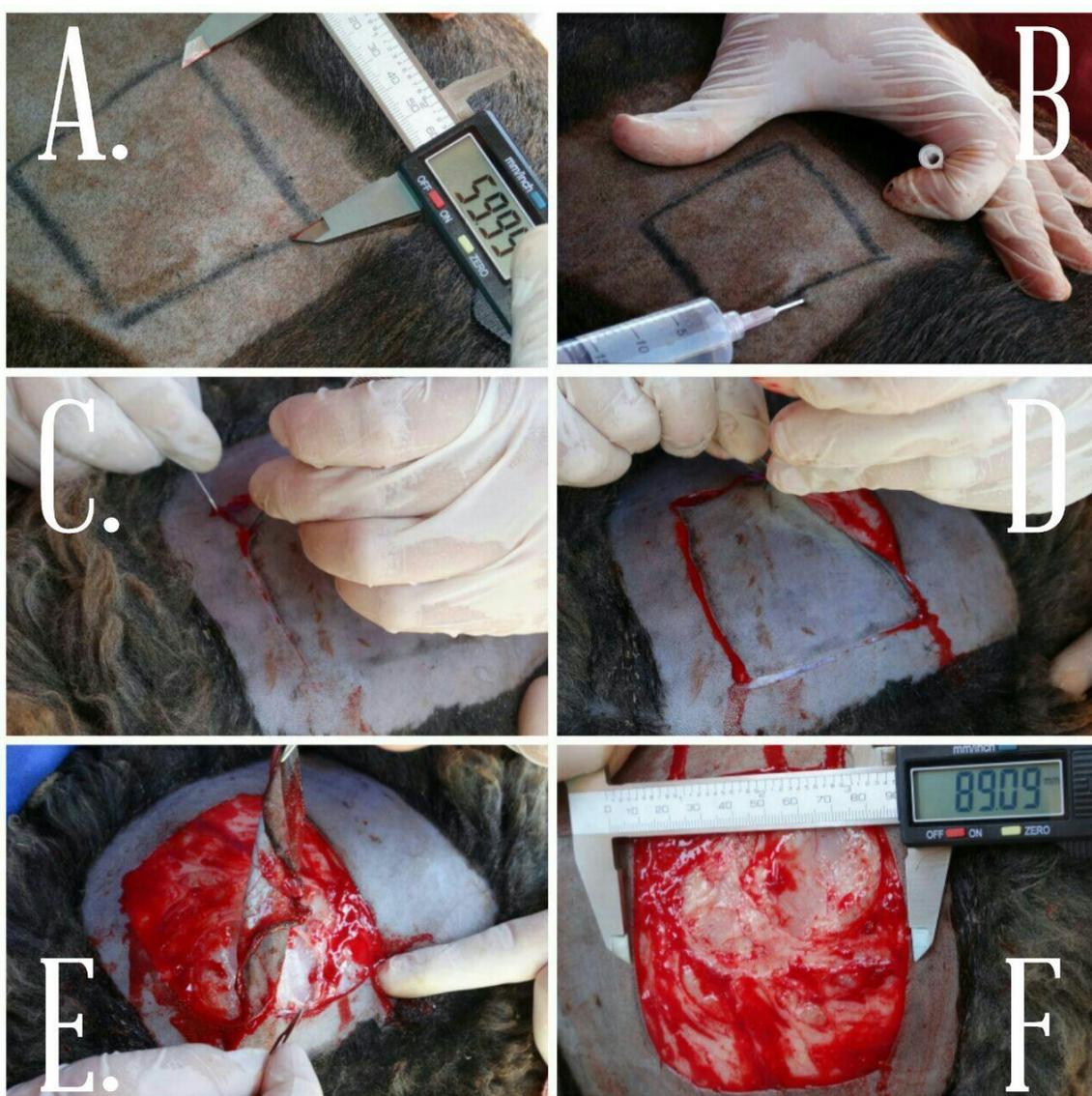


FIGURA 1 – (A) Medição da ferida cirúrgica, com o auxílio de um paquímetro digital; (B) Realização da anestesia, no local a ser incizado; (C) Início da incisão da ferida cirúrgica; (D) Realização da ferida cirúrgica; (E) Término da ferida cirúrgica; (F) Resultado final.

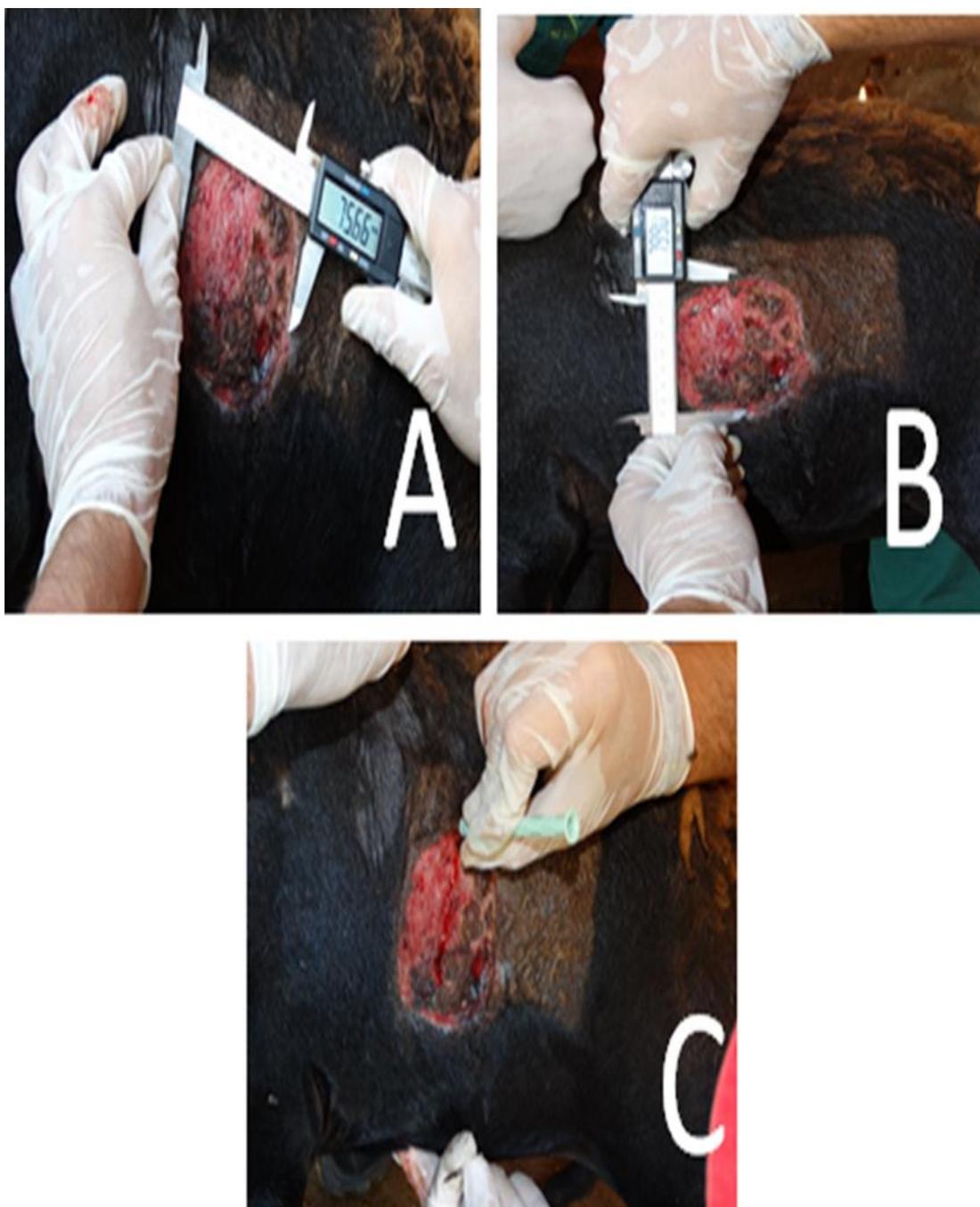


FIGURA 2 – (A) Medição horizontal da ferida cirúrgica, com o auxílio de um paquímetro digital; (B) Medição vertical da ferida cirúrgica, com auxílio de um paquímetro digital; (C) Retirada de amostra tecidual, com auxílio de um *Punch* de 8mm.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

No dia 0, os teores de fibrinogênio dos animais tratados foram menores (em até 50%, $P < 0,001$) do que dos animais não-tratados, não havendo diferença nos valores nos dias 7° e 30° (Tabela 1). Não houve diferença ($P > 0,05$) nos níveis de plaquetas devido aos tratamentos (Tabela 2). No 25° dia, as lesões eram menores nos tratamentos com PC e EA e no 30° dia, o uso do EA resultou em menor área de lesão comparado aos outros tratamentos (Tabela 3) também ilustrado na Figura 1.

TABELA 1. Níveis de fibrinogênio das ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de Nim

Fibrinogênio (g/dL)	Controle	Pomada comercial	Extrato aquoso	Erro padrão	Valor de p
DIA 0	0,40a	0,20b	0,27b	0,02	0,001
DIA 7	0,60	0,53	0,53	0,07	0,736
DIA 30	0,40	0,40	0,47	0,06	0,705

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste *t* de Student a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Níveis de plaquetas das ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de Nim

Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	Controle	Pomada comercial	Extrato aquoso	Erro padrão	Valor de p
DIA 0	548,33	610,00	588,33	41,20	0,573
DIA 7	725,00	706,67	665,00	32,66	0,432
DIA 30	690,00	718,33	611,67	30,41	0,065

TABELA 3. Área das lesões em ovelhas que não receberam tratamento para as lesões (controle) e das que foram tratadas com pomada comercial ou extrato aquoso das folhas de Nim

Dia	Área das lesões (cm ²)			Erro padrão	Valor de p
	Controle	Pomada comercial	Extrato aquoso		
0	68,87 (6/6)	69,92 (6/6)	66,17 (6/6)	2,61	0,589
5	44,55 (6/6) ^b	58,25 (6/6) ^a	47,18 (6/6) ^b	2,34	0,002
10	33,50 (6/6)	33,99 (6/6)	39,32 (6/6)	2,53	0,231
16	14,74 (6/6)	13,55 (6/6)	14,27 (6/6)	1,82	0,898
21	7,82 (6/6)	6,55 (6/6)	7,18 (6/6)	1,00	0,673
25	5,13 (6/6)	1,81 (2/6)	2,55 (5/6)	0,96	0,066
30	1,96 (4/6)	1,66 (2/6)	0,93 (3/6)	0,82	0,664

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste *t* de Student a 5% de probabilidade.

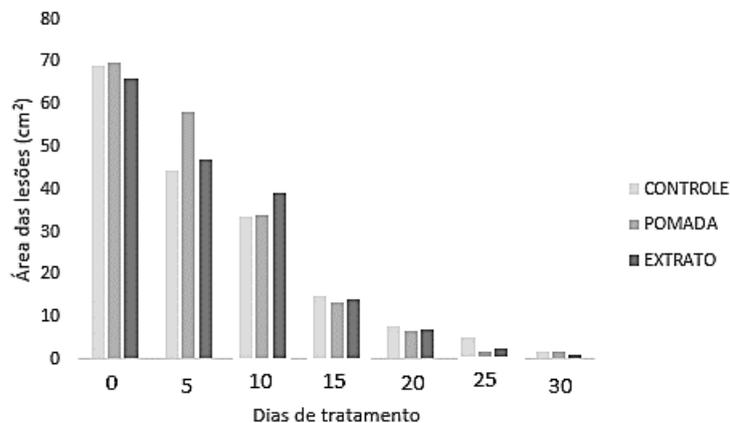


FIGURA 3 – Redução das áreas das lesões teciduais desde o dia 0 até 30 dias.

As plaquetas iniciam o processo de cicatrização pela liberação de fatores de crescimento que agem no local. Dentre estes fatores, encontra-se o fibrinogênio (GOLEBIEWSKA e POOLE 2015). O fibrinogênio é um indicador de inflamação e assim, qualquer tipo de inflamação ou dano tecidual causa a elevação dos níveis plasmáticos de fibrinogênio (COLVILLE 2006). O uso de qualquer substância que resulte com ação anti-inflamatória irá contribuir para reduzir o tempo de cicatrização (MAAN et al., 2017).

Não houve diferença estatística significativa para a maior parte das variáveis analisadas pela histopatologia, com exceção da presença de úlcera na ferida e da DPPH, quando o segundo grupo, tratado com a pomada comercialmente disponível, diferiu estatisticamente dos demais ($p < .0001$) aos 7 e aos 14 dias de pós-operatório, em conformidade com o período em que se observou nas avaliações visuais, a menor redução das áreas das lesões dos animais deste grupo, com medidas distanciando-se dos demais grupos (Tabela 4).

TABELA 4. Análise estatística dos três grupos, para os parâmetros úlcera e DPPH, demonstrando diferença estatística significativa entre o segundo grupo e os demais, aos 7 e 14 dias de tratamento

Dias após a Aplicação	Úlcera			Valor de p
	Controle	Pomada comercial	Extrato aquoso	
7	8.166667a	13.583333b	6.75a	0.0512
14	6.833333a	13.583333b	8.083333a	0.0415

Dias após a Aplicação	DPPH			Valor de p
	Controle	Pomada comercial	Extrato aquoso	
7	8a	13.5b	7a	0.0605
14	6.5a	13.25b	8.75ab	0.0669

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 10% de probabilidade

4. CONCLUSÃO

O tratamento com Nim em sua apresentação de pomada comercialmente disponível apresentou uma maior ocorrência de úlcera na ferida e dermatite perivascular profunda heterofílica (DPPH) nos dois primeiros momentos avaliativos, coincidindo com o período em que apresentou menor taxa de redução da ferida, conforme avaliação macroscópica. Além disso, embora o Nim no formato de extrato aquoso tenha sido ligeiramente mais eficiente na velocidade de redução das áreas das feridas, não apresentou diferença estatística significativa, portanto, o uso da pomada comercial e do extrato aquoso de Nim não foram efetivos em reduzir o tamanho da lesão.

REFERÊNCIAS

ALZOHAIRY, M.A. Therapeutics role of *Azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.**, 2016. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791507/> > Acesso em: 21/01/2018;

BEGUM D.; NATH S.C. Ethno botanical review of medicinal plants used for skin diseases and related problems. In: North-East India. J. Herbs, **Spices and Medicinal Plants**, v. 7, n. 1, p. 55-93, 2000.

COLVILLE, J. Bioquímica sanguínea. In: HENRIX, C.M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed. São Paulo: Editora Roca, 2006. cap.3. p.79-108

FU, X.; LI, H. Mesenchymal stem cells and skin wound repair and regeneration: **possibilities and questions**. **Cell Tissue Research**, v. 335, p. 317-321, 2009.

GOLEBIEWSKA E.M.; POOLE A.W. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. **Blood Reviews**, 29, n. 3, p. 153-162, 2015.

MAAN P.; YADAV K.S.; YADAV N.P. Wound healing activity of *Azadirachta indica* A. juss stem bark in mice. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, suppl. 2, S316-S320, 2017.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, É. P. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, n.3, p.257-262, 2009.

NEVES B.P.; OLIVEIRA I.P.; NOGUEIRA J.C.M. Cultivo e utilização do nim indiano. **Embrapa: Circular Técnica**, Nº 62, p.1-12, 2003.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**, vol 1. 2^a ed. Barueri, SP: Manole, 2007.

TAZIMA, M. DE F.; ANDRADE VICENTE, Y.; MORIYA, T. Biologia da Ferida e Cicatrização. **Medicina**, v. 41, n. 3, p. 259-264, 2008.

TIWARI V.K. Burn wound: how it differs from other wounds? **Indian Journal of Plastic Surgery**, v. 45, n. 2, p. 364-373, 2012.