

RAIMUNDO NONATO LIMA VITORINO FILHO

**USO DE POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DO EXSUDATO DE CAJUEIRO
(*Anacardium occidentale L.*) NA TERAPÊUTICA TÓPICA DE FERIDAS**

Teresina
Piauí – Brasil
2011

RAIMUNDO NONATO LIMA VITORINO FILHO

**USO DE POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DO EXSUDATO DE CAJUEIRO
(*Anacardium occidentale L.*) NA TERAPÊUTICA TÓPICA DE FERIDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Sanidade e Reprodução Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo de Souza Batista

Teresina
Piauí – Brasil
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

V845u Vitorino Filho, Raimundo Nonato Lima.
Uso de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro
(*Anacardium occidentale L.*) na terapêutica tópica de feridas
[manuscrito] / Raimundo Nonato Lima Vitorino Filho. – 2011.
65 f.

Impresso por computador (*printout*).
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa
de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2011.
“Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo de Souza Batista”.

1. Farmacologia. 2. Camundongo-Feridas-Cicatrização.
3. Camundongo-Terapêutica. 4. *Anacardium occidentale L.* I. Título.

CDD 615.1

**USO DE POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DO EXSUDATO DE CAJUEIRO
(*Anacardium occidentale L.*) NA TERAPÊUTICA TÓPICA DE FERIDAS**

Dissertação elaborada e defendida por:

RAIMUNDO NONATO LIMA VITORINO FILHO

Aprovado em: 22 / 02 / 2011.

BANCA EXAMIDORA:

Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira Cardoso Coelho
Universidade Federal Rural de Pernambuco
(Membro)

Profa. Dra. Carla Eiras
Universidade Federal do Piauí
(Membro)

Profa. Dra. Maria do Carmo de Souza Batista
Universidade Federal do Piauí
(Orientadora)

***O verbo divino decompõe a substância
Compreende céu, terra ou está oculta ao fato místico
Corpos, alma, espíritos detentores de toda a pujança
Tanto sob vossos pés quanto no cerco celeste***

***Centúria III
Quadra 2***

Dedico,

Ao meu pai, Nonato Vitorino, pelo amor, apoio incondicional e incentivo nos momentos difíceis, fornecendo-me tudo o que pôde para que eu pudesse alcançar meus objetivos, e por ser um exemplo de integridade e serenidade.

À minha noiva, Elza de Fátima, pelo amor dedicado, sempre leal, companheira, conselheira, branda e espiritual.

Agradecimento especial,

À minha orientadora, Dra. Maria do Carmo de Souza Batista, pela amizade, pela serenidade na forma de ser, ao me tratar, compreender e ao transmitir suas idéias indicando os caminhos a seguir, pelo exemplo humano que supera dificuldades mantendo a alegria e a humildade e pela demonstração de profissionalismo, dedicação, perseverança e perspicácia durante nossa convivência.

AGRADECIMENTOS

À força maior;

À Universidade Federal do Piauí, cujo investimento possibilitou minha formação acadêmica e científica;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo suporte financeiro indispensável para a realização deste trabalho;

À amiga Médica Veterinária doutoranda Bárbara Laurice Araújo Verçosa, pelos conselhos, pelo carinho, pelos ensinamentos em patologia, pelo apoio e ombro amigo quando precisei e por toda a compreensão;

À acadêmica de Medicina Veterinária Anny Selma Freire Machado Santos e ao Médico Veterinário James Carlos Farias, pela amizade e pela colaboração de importância vital para a execução desta pesquisa

Às pesquisadoras MSc. Leiz Maria Costa Veras Miura e Dra. Carla Eiras, pela parceria, ao isolarem e fornecerem o polissacarídeo purificado do cajueiro, alvo desta pesquisa;

Ao Professor Dr. Gregório Elias Nunes Viana, por ter me atendido prontamente em tudo que precisei, sendo prestativo, engenhoso, humilde e simples no tratar;

À Professora Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva, por ter me transmitido com esmero conhecimentos em histopatologia necessários à esta pesquisa;

Ao Professor Dr. Francisco Assis Lima Costa pelo fornecimento de materiais e acesso ao Setor de Patologia Animal do CCA/UFPI;

Ao Professor MSc. Antônio Francisco de Sousa, por ter me passado conhecimentos de Bioquímica Clínica e por sempre ter cedido o Laboratório de Patologia Clínica quando precisei;

À professora Dra. Maria Acelina Martins de Carvalho por atender pronta e gentilmente às minhas solicitações de uso de aparelhagem fotográfica;

Aos Professores Doutores Amilton Paulo Raposo Costa, Miguel Ferreira Cavalcante Filho, Ivete Lopes Mendonça e Maria do Socorro Pires e Cruz pelos conhecimentos repassados e conselhos fornecidos durante o período de graduação;

Aos servidores Manoel de Jesus, Brás e Luís Gomes pela boa vontade e eficiência com que sempre me atenderam.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xi
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Cicatrização.....	19
1.1.1 Fase inflamatória.....	19
1.1.2 Fase proliferativa.....	22
1.1.3 Remodelamento.....	23
1.2 Objetivos.....	24
2 INTERVINDO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS..	26
2.1 Histórico.....	26
2.2 Polissacarídeos.....	28
2.2.1 Polissacarídeo do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	29
2.3 Metodologia usada para avaliar o processo cicatricial.....	32
2.3.1 Avaliação clínica.....	32
2.3.2 Avaliação morfométrica.....	33
2.3.3 Avaliação histológica.....	34
3 CAPÍTULO I.....	36
Resumo.....	37
Abstract.....	38

Introdução.....	39
Material e Método.....	40
Resultado.....	44
Discussão.....	51
Referência.....	53
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
 INTRODUÇÃO	
Figura 1. Representação esquemática das fases da cicatrização de feridas cutâneas.....	21
Figura 2. Fases ordenadas da cicatrização de feridas, em função do tempo.....	24
Figura 3. Cerâmica grega de 500 a.C, retratando o tratamento de feridas.....	26
Figura 4. Galeno tratando ferimento de Eneas.....	26
Figura 5. Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	30
Figura 6. Exsudato obtido de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	30
Figura 7. Goma bruta do cajueiro.....	30
Figura 8. Polissacarídeo do cajueiro purificado.....	30
Figura 9. Esquema das etapas do processo de isolamento da goma do cajueiro pelo método Rinaudo-Millas modificado.....	31
Figura 10. Análise do fechamento de ferida. Fotografias padronizadas da evolução do processo de reparação tissular.....	33
CAPÍTULO I	36

Figura 1. Aspecto da ferida imediatamente após a cirurgia.....	42
Figura 2. Feridas no terceiro dia de pós-operatório. Crosta de coloração vermelha de aspecto limpo em animal do grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5 % (A) e em animal do grupo referência (B). Presença de exsudato seroso em animal do grupo controle (C).....	45
Figura 3. Aspecto das feridas no sexto dia de pós-operatório evidenciando umidade e presença de tecido de granulação em animal tratado com solução aquosa de PEEC a 0,5 %.....	46
Figura 4. Aspecto das feridas no 10 ^o dia de pós-operatório. Desprendimento progressivo da crosta em animal do grupo controle (A) e ausência da mesma em animal do grupo referência (B).....	46
Figura 5. Fechamento completo e movimento centrípeto das bordas das lesões no 12 ^o dia após a cirurgia em animais do grupo referência (A e B).....	46
Figura 6. Perfil temporal do processo de reparação tissular.....	48
Figura 7. Aspecto microscópico de ferida tratada com solução aquosa de PEEC a 1,0% no 3 ^o dia após a cirurgia exibindo crosta fibrino-necrótica (setas azuis) sobre tecido de granulação (seta verde) desenvolvendo-se em direção à grande área cruenta. A (Coloração HE, 4 x); B (Coloração Tricrômico de Masson, 4 x).....	49
Figura 8. Processo cicatricial ao 7 ^o dia em ferida tratada com solução aquosa de PEEC a 1,0%. Migração de queratinócitos (seta azul) e fibroblastos (seta verde) da borda para o centro da ferida preenchendo a área cruenta. (Coloração Tricrômico de Masson, 4 x)...	50

Figura 9. Progressiva colagenização (seta verde) e epitelização (seta azul) constatada ao 7^o dia após a cirurgia em animal tratado com solução aquosa de PEEC a 1,0%. (Coloração Tricrômico de Masson, 40 x)..... 50

Figura 10. Aspecto microscópico de ferida de animal tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5% no 10^o dia de pós-operatório evidenciando epitélio neoformado com papilas (seta verde), desprendimento de queratina (setas azuis) e matriz colágena repleta de fibroblastos (setas vermelhas). Coloração Tricrômico de Masson. A (10x); B (40 x)... 51

LISTA DE TABELAS**Página****INTRODUÇÃO**

Tabela 1 - Composição da goma de <i>Anacardium occidentale</i> L. de diferentes origens.....	30
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Médias e desvios-padrões dos percentuais de contração das feridas nos cinco grupos nos quatro tempos avaliados.....	47
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS SÍMBOLOS

%	Porcentagem
>	Maior
°C	Graus Celsius
a.C.	Antes de Cristo
cm ²	Centímetro quadrado
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EtOH	Etanol
FGF	Fator de crescimento de fibroblasto
g	Gramas
h	Horas
HE	Hematoxilina e Eosina
H ₂ O	Água
IFN- γ	Interferon-gama
IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
mg kg ⁻¹	Miligramas por kilograma
MMP	Metaloproteinases matrizes
O ₂	Oxigênio
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PDGF ₁	Fator de crescimento derivado de plaquetas 1
PEEC	Polissacarídeo extraído do exsudato do cajueiro
pH	Potencial de hidrogênio
PMN	Polimorfonucleares
R	Raio maior
r	Raio menor
TGF- α	Fator transformador de crescimento epitelial alfa
TGF- β	Fator transformador de crescimento epitelial beta
TNF	Fator de necrose tumoral
π	Pi
μm	Micrômetro

USO DE POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DO EXSUDATO DE CAJUEIRO (*Anacardium occidentale L.*) NA TERAPÊUTICA TÓPICA DE FERIDAS

Resumo:

Na última década, o heteropolissacarídeo proveniente da goma do cajueiro tem apresentado resultados terapêuticos promissores no processo de cicatrização de feridas. O objetivo deste experimento foi investigar o efeito da aplicação tópica de solução aquosa de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (PEEC), em diferentes concentrações, sobre a cicatrização por segunda intenção, de feridas cutâneas experimentalmente produzidas em camundongos. Exérese de retalhos de pele, na dimensão padronizada de 1,0 cm², foram produzidas na região dorso lateral direita de 70 camundongos, divididos em cinco grupos de 14 animais, sendo um controle, um tratado com uma formulação comercial convencionalmente utilizada na terapêutica de ferimentos (considerada referência) e outros três tratados com solução aquosa de PEEC nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5%, duas vezes ao dia. Foi realizada a aferição do percentual de redução das áreas das feridas, em quatro momentos, e avaliação histopatológica do processo cicatricial nos dias 3, 7, 10 e 13 após a cirurgia. Não foram evidenciadas diferenças significativas entre grupos quanto ao tempo de fechamento das feridas, porém foi verificado que a solução aquosa de PEEC a 1,5% foi a mais efetiva em intensificar a contração da área das feridas na fase inicial do processo cicatricial e reduzir os sinais clínicos próprios da fase inflamatória. Conclui-se que as soluções aquosas de PEEC, nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% aplicadas topicamente, não diminuem o tempo de cicatrização de feridas cutâneas em camundongos, porém, o tratamento tópico com a solução na concentração de 1,5%, duas vezes ao dia, reduz a fase flogística e intensifica a reepitelização na fase inicial do processo cicatricial.

Palavras-chave: biopolímeros; cicatrização; reparação tissular; tecido de granulação.

Use of the polysaccharide extracted from the exudate of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in topical therapy of experimental wounds in mice.

Abstract:

In the last decade, the heteropolysaccharide derived from cashew gum has shown promising therapeutic results stimulating the healing of wounds. The aim of this experiment was investigate the effect of topical application of aqueous solution from polysaccharide extracted from the exudate of cashew (PEEC) in different concentrations on the wound healing by secondary intention of skin wounds produced experimentally in mice. Excision of skin flaps in the size standard of 1 cm² were induced on the dorsal right side of 70 mice divided into five groups of 14 being a control, one treated conventionally with a commercial formulation used for the treatment of injury (considered a reference) and three treated with aqueous solution of PEEC at concentrations of 0.5%, 1.0% and 1.5%, twice days. Was measured in the percentage reduction of wound areas in four times, and histopathologic evaluation of healing on days 3, 7, 10 and 13 after surgery. There were no significant differences between groups regarding the time of closing wounds, but it was found that the aqueous solution of the PEEC 1.5% was the most effective step in the contraction of the wound area in the initial phase of the healing process and reduce own clinical signs of the inflammatory phase. It is concluded that the aqueous solutions of PEEC at concentrations of 0.5%, 1.0% and 1.5% applied topically, not decrease the healing time of wounds in mice, however, topical treatment with the solution at a concentration of 1.5%, twice daily, reduces the phase phlogistic and intensifies the reepithelialization in the early stages of healing.

Key words: biopolymers; healing; tissue repair; granulation tissue.

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é um evento fisiológico cada vez mais elucidado e diversas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de otimizar o processo cicatricial.

Apesar de existir grande número de produtos disponíveis para o tratamento de feridas, ainda se buscam substâncias tópicas com este propósito, tanto pela necessidade de ampliação do arsenal terapêutico quanto pela existência de controvérsias sobre o tratamento de feridas (FERREIRA et al., 2003). Ademais, tem sido relatada por alguns estudiosos, a escassez de informações acerca dos efeitos adversos provocados por alguns componentes dos produtos comumente utilizados (MARTINS et al., 2005).

Medicamentos para os mais diversos fins continuam sendo originados, em sua grande maioria, de produtos naturais (SEGUNDO et al., 2007). Para aperfeiçoar a cicatrização de lesões podem ser utilizados biomateriais, que consistem de materiais interativos capazes de estabelecer afinidade apropriada com o tecido vizinho sem indução de uma resposta adversa do hospedeiro (RATNER e BRYANT, 2004). Dentre os biomateriais destacam-se os polissacarídeos, os quais estimulam o sistema imune *in vitro* e *in vivo* e tendem a contribuir favoravelmente no processo cicatricial (DIALLO et al., 2001; KWEON et al., 2003; SENEL e McCLURE, 2004).

Popularmente conhecida como cajueiro, a planta *Anacardium occidentale* L. é originária do Brasil e dentre uma variedade de aplicações na medicina popular é também utilizada como cicatrizante de feridas (MAZZETTO et al., 2009). Pesquisas utilizando emulsões do heteropolissacarídeo proveniente da goma do *Anacardium occidentale* L., aplicadas topicamente, têm apresentado resultados terapêuticos promissores, potencializando o processo de cicatrização de feridas cutâneas em camundongos (PAIVA, 2003; SCHIRATO et al., 2006). Entretanto, os mesmos estudos científicos deixam dúvidas sobre o papel na otimização da redução das áreas das feridas e, a avaliação da literatura disponível permite constatar que são escassas as informações acerca do efeito do polissacarídeo do cajueiro em fases mais avançadas do processo cicatricial e em diferentes formulações.

Considerando-se o modo de vida dos animais e os constantes tipos de traumas a que são submetidos, considera-se que os estudos que possam contribuir para o conhecimento acerca do processo de reparação de lesões revestem-se de importância.

1.2 Cicatrização

Ferida ou ferimento, é uma lesão que resulta no rompimento da continuidade normal de qualquer uma das estruturas corporais tais como pele e membranas mucosas agredidas por agentes físicos, químicos ou biológicos. A capacidade auto-regenerativa é um fenômeno universal nos seres vivos e indispensável à sobrevivência dos mesmos. Em organismos superiores, a cura ou reparação de feridas corresponde a um processo bastante complexo e dinâmico o qual envolve fenômenos bioquímicos ainda não totalmente desvendados. Este fenômeno pode ser prolongado ou mesmo impedido por fatores locais e sistêmicos. Entre os fatores locais estão a presença de corpos estranhos, infecção, necrose e localização da ferida. Os fatores sistêmicos englobam a idade, fatores genéticos, doenças de base como o diabetes e o uso de alguns medicamentos como os corticóides (RUSHTON, 2007; BORGES, 2008).

A cicatrização pode ocorrer por primeira intenção, quando há união imediata das bordas ou por segunda intenção, quando as bordas ficam separadas e há necessidade de formação de um tecido chamado cicatricial (HOWEL e MAQUART, 1991). Diz-se que há, ainda, a cicatrização por terceira intenção quando se procede ao fechamento secundário de uma ferida, com utilização de sutura. As feridas agudas são geralmente de origem traumática ou cirúrgica, ocorrem subitamente e cicatrizam rápida e satisfatoriamente. Aquelas que não cicatrizam no tempo esperado e com possível recidiva são as feridas crônicas, causadas freqüentemente por inflamação crônica, alterações vasculares ou danos traumáticos continuados (DOUGHTY e SPARKS-DEFRIESE, 2007).

Ackermann (2007) dividiu o reparo em três fases sobrepostas no tempo: (1) inflamação, (2) formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular e (3) remodelação (Figura 1). O reparo completo de tecidos resulta de alternâncias sucessivas de reações anabólicas e catabólicas que têm os leucócitos como uns de seus mais importantes protagonistas (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

1.2.1 Fase inflamatória

A pele lesada apresenta ruptura dos vasos sanguíneos e conseqüente sangramento. Os eventos iniciais do processo de reparo estão voltados para o tamponamento destes vasos. Quase imediatamente após a injúria ocorre agregação plaquetária e liberação de mediadores químicos solúveis, entre eles o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), iniciando a cascata da

cicatrização. Vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar, ativação do sistema complemento, migração de polimorfonucleares (PMN) e de macrófagos para o leito da ferida são características da hemostasia que precede a fase inflamatória. Em seguida, surgem os sinais clássicos que dão nome à fase – calor, rubor, edema e dor (LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

As plaquetas continuam liberando mediadores químicos, proteínas adesivas (fibrinogênio, fibronectina, trombospondina, fator Von Willebrand VIII) e fatores de crescimento (PDGF, TGF- α , TGF- β , EGF e FGF) o que estimula a ativação de outras plaquetas formando o coágulo que interrompe o sangramento (LI; CHEN; KIRSNER, 2007; METCALFE e FERGUSON, 2007). O coágulo, além de limitar a perda de constituintes circulatórios, fornece uma matriz preliminar, que alicerçará a migração das células responsáveis pelo desencadeamento do processo de reparo (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Na fase inflamatória os neutrófilos convergem para a área da ferida cujos números crescentes atingem o auge nas primeiras 24 a 48 horas. Para assumir o lugar dos neutrófilos em número decrescente pelo combate aos microrganismos, surgem os macrófagos, recrutados ao leito ulceral pelos mediadores químicos liberados (LI; CHEN; KIRSNER, 2007; METCALFE e FERGUSON, 2007).

Os macrófagos são grandes células derivadas de monócitos e desempenham um papel decisivo na indução do processo de reparo. Além de auxiliarem os neutrófilos na eliminação de bactérias eles fagocitam o tecido necrótico promovendo o desbridamento da ferida. Os sinalizadores químicos produzidos por eles atraem mais macrófagos para o local e intensificam a migração e proliferação de fibroblastos e células endoteliais. Os fibroblastos são os principais componentes do tecido de granulação e as células endoteliais promovem a angiogênese. Adicionalmente, os macrófagos produzem fatores de crescimento incluindo o fator de crescimento endotelial vascular. Tantas propriedades essenciais tornam o macrófago um elo de transição entre a fase inflamatória e a proliferativa (BRADLEY et al., 1999; BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; LI; CHEN; KIRSNER, 2007; METCALFE e FERGUSON, 2007).

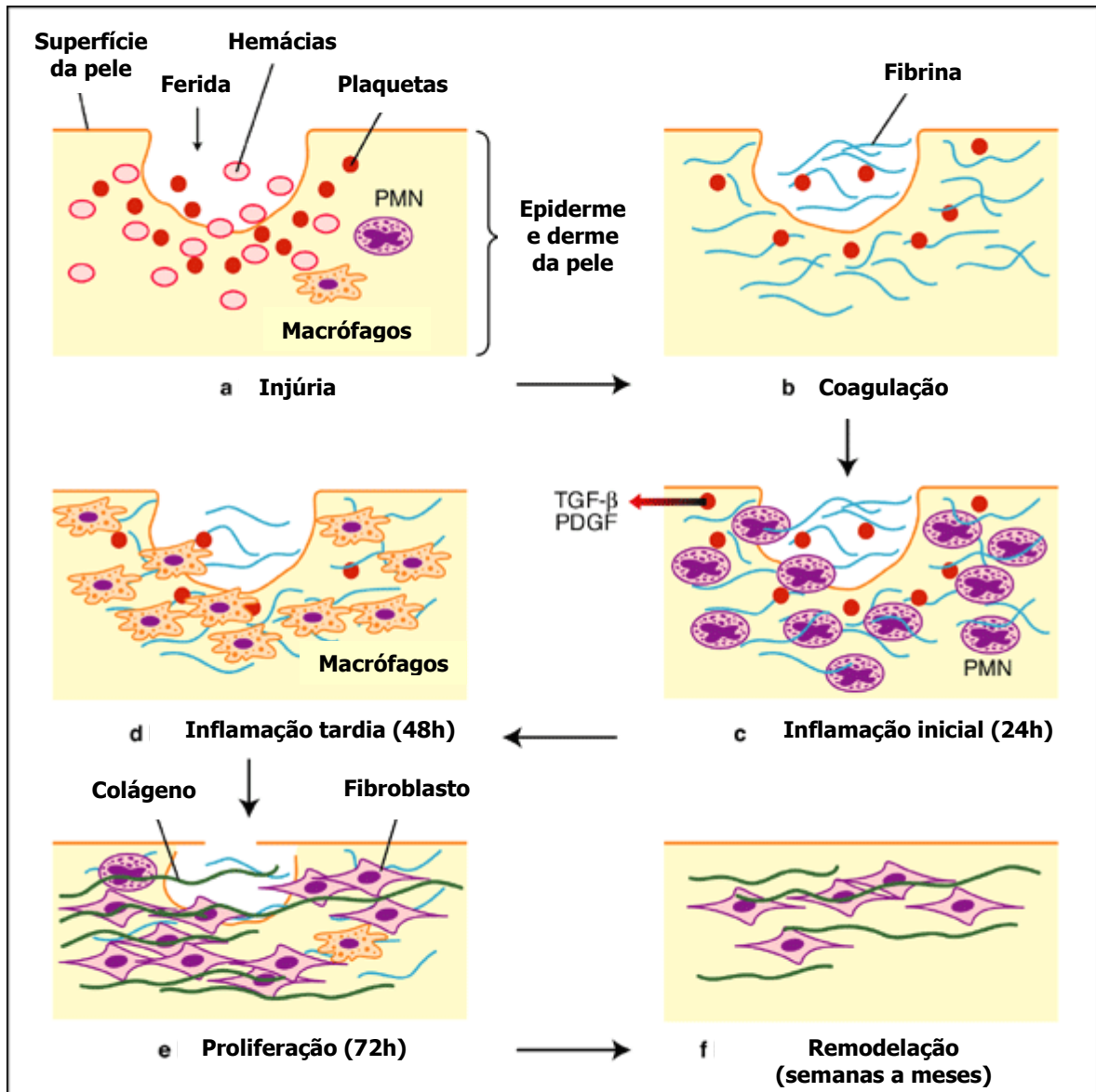


Figura 1 – Representação esquemática das fases da cicatrização de feridas cutâneas.

Nota: (a) Imediatamente após a injúria, vasos sanguíneos danificados extravasam elementos sanguíneos e aminas vasoativas para dentro da derme. A permeabilidade vascular é temporariamente aumentada para permitir que neutrófilos polimorfonucleares (PMNs), plaquetas e proteínas plasmáticas infiltram a ferida. Em seguida ocorre vasoconstrição em resposta aos fatores liberados por estas células. (b) Ocorre a coagulação do agregado plaquetário com fibrina que é depositada na ferida após a conversão do fibrinogênio. (c) As plaquetas liberam vários fatores, incluindo o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento transformante β (TGF- β), que atraem PMNs para a ferida, sinalizando o início da inflamação. (d) Após 48 horas, macrófagos substituem os PMNs tornando-se a principal célula inflamatória. Juntos, PMNs e macrófagos removem detritos da ferida, liberam fatores de crescimento e iniciam a reorganização da matriz extracelular. (e) A fase de proliferação inicia por volta de 72 horas com os fibroblastos, recrutados para a ferida por fatores de crescimento liberados pelas células inflamatórias, iniciando a síntese de colágeno. (f) Embora a taxa de síntese de colágeno desacelere após cerca de três semanas, a reticulação e reorganização do colágeno ocorrem por meses após a injúria na fase de remodelação do reparo.

Fonte: Adaptado de Beanes et al., 2003.

1.1.2 Fase proliferativa

A segunda fase caracteriza-se por reepitelização, neo-angiogênese, deposição de matriz e síntese de colágeno (DOUGHTY e SPARKS-DEFRIESE, 2007; LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

Uma vez que já existe uma matriz provisória formada por fibrina, fibronectina e colágeno tipo V, esta serve de alicerce que possibilita a migração de queratinócitos e a reepitelização do leito da ferida. Esta migração ocorre a partir de apêndices remanescentes de pele, como as bordas da ferida e os folículos pilosos. Receptores de integrinas, fatores de crescimento e metaloproteinases (MMP) matrizes também estão envolvidos na migração dos queratinócitos. Tais MMPs degradam o colágeno tipo IV e rompem a aderência dos queratinócitos às fibras colágenas possibilitando que avancem pelo leito ulceral (LI; CHEN; KIRSNER, 2007). As células que migram em direção ao leito da ferida formam uma única camada celular. Este processo é limitado a uma distância de três centímetros da borda da ferida e pode ser retardado caso haja tecido necrótico em seu trajeto. As células da primeira camada formada sofrem divisão mitótica originando camadas adicionais. Este novo tecido é bastante frágil e vulnerável à dessecação e à ruptura (ORGILL e DEMLING, 1988; BRADLEY et al., 1999).

Cerca de quatro dias após a injúria, inicia-se a reconstituição dérmica, com o acúmulo de fibroblastos, formação do tecido de granulação e de novos arcos capilares (neo-angiogênese). Neste momento, o fibroblasto passa a predominar no leito da ferida, sintetizando colágeno e uma matriz extracelular provisória rica em fibronectina, elastina e proteoglicanos. Este tecido conectivo sustenta as novas células e os frágeis arcos capilares (DOUGHTY e SPARKS-DEFRIESE, 2007; LI; CHEN; KIRSNER, 2007). Segundo os mesmos autores, os fibroblastos também sofrem diferenciação em miofibroblastos, células pouco proliferativas e com grande concentração de miofibrilas contráteis, assemelhando-se às células do músculo liso. Assim modificados, podem participar da contração da ferida.

Mediante a ação do fator de crescimento derivado de plaquetas 1 (PDGF₁), 5-hidroxitriptamina, angiotensina, vassopressina, epinefrina e norepinefrina, as células do leito da ferida se alinham aos miofibroblastos e uma contração unificada ocorre na direção das linhas de tensão da pele, exigindo para isso contato célula-célula e célula-matriz (LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

A baixa tensão de O₂ e o alto conteúdo de ácido lático presentes no leito da ferida juntamente com fatores de crescimento endoteliais vasculares secretados pelos queratinócitos

estimulam a neo-angiogênese que diminui à medida que a oxigenação local aumenta (DOUGHTY e SPARKS-DEFRIESE, 2007; LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

1.1.3 Remodelamento

Por volta do décimo dia, o preenchimento do leito da ferida por tecido de granulação está completo (GUIDOGLI-NETO, 1987; VITORINO FILHO et al., 2007), e este é servido por uma rede capilar e uma rede linfática em regeneração acelerada, devido a sua reconstrução ter início posterior ao da vasculatura. À medida que mais fibras colágenas vão sendo depositadas no tecido de granulação, este vai se assemelhando a uma massa fibrótica característica de cicatriz. As primeiras fibras de colágeno tipo I surgem nesta etapa e este é o tipo de colágeno predominante no tecido conjuntivo denso, sempre formado feixes de fibras (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A fase final do processo de cicatrização envolve diminuição da atividade celular e etapas sucessivas de produção, digestão e orientação das fibras colágenas (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; HOSGOOD, 2006). Ocorre o aumento da produção de collagenase para digerir o acúmulo excessivo de colágeno, regressão da exuberante rede de capilares e aumento da resistência do tecido neoformado (BRADLEY et al., 1999; DOUGHTY e SPARKS-DEFRIESE, 2007) devido à reorganização das fibras. Este processo ocorre no decorrer de meses ou anos (Figura 2) e a cicatriz madura alcança apenas 70% da força tênsil da pele normal (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

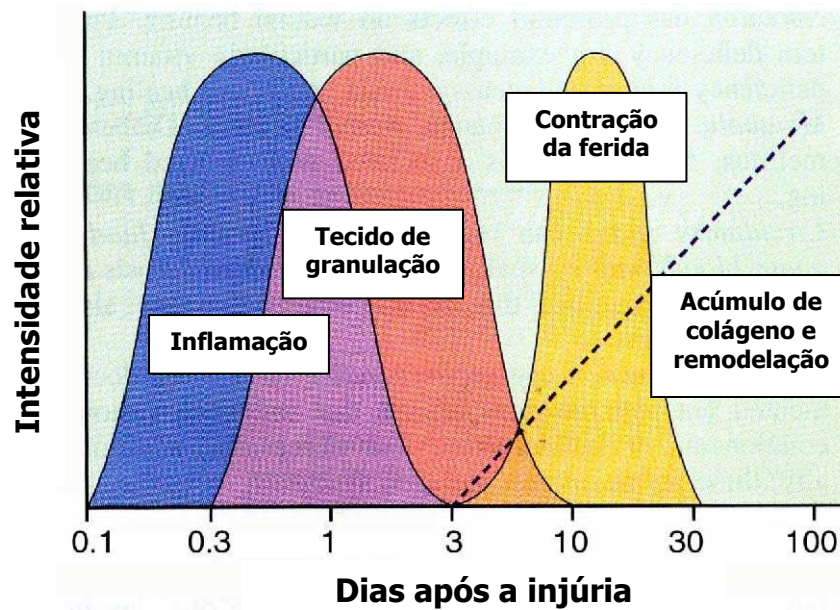


Figura 2 - Fases ordenadas da cicatrização de feridas, em função do tempo.

Nota: A cicatrização de feridas é dividida em três fases: inflamatória, proliferativa e remodelação. A proliferação é uma etapa crítica do processo e é caracterizada por uma intensa multiplicação de células endoteliais, acúmulo de fibroblastos e síntese de colágeno. O processo necessita de nutrição, oxigênio e suporte físico para o crescimento tecidual.

Fonte: Adaptado de FRANCISCHETTI et al., 2009

1.2 Objetivos

Considerando-se a importância da descoberta de substâncias tópicas que exercem efeitos benéficos sobre a cicatrização, realizou-se este estudo com os seguintes **objetivos**:

◆ Geral

- Avaliar o efeito do tratamento com soluções aquosas contendo diferentes concentrações do polissacarídeo extraído do exsudato do cajueiro (PEEC) no processo cicatricial, por segunda intenção, de feridas cutâneas experimentais em camundongos.

◆ Específicos

- Testar, com base em análise macroscópica e microscópica, o efeito de formulações à base de PEEC, comparativamente com substância considerada referência em terapêutica tópica ulcerativa (clostebol associado à neomicina);

- Investigar a progressão do processo cicatricial, em suas distintas fases, do ponto de vista morfológico, mediante a mensuração da área das feridas;
- Observar as manifestações clínicas presentes no curso do processo de reparação das feridas tratadas com soluções à base de PEEC;
- Avaliar a evolução do processo cicatricial das feridas tratadas com soluções de PEEC, do ponto de vista histológico, com base nos critérios de: inflamação, proliferação fibroblástica, colagenização e reepitelização;
- Verificar se há diferença entre os tratamentos com as soluções de PEEC, nas concentrações de 0,5%, 1,0% 1,5%, aplicadas topicamente duas vezes ao dia.

A estrutura deste trabalho foi organizada em partes: Introdução; Intervindo no Processo de cicatrização (Revisão de Literatura); um Capítulo, no formato de um artigo científico, de acordo com o periódico “Revista Brasileira de Plantas Mediciniais”; Considerações Finais; e Referências.

2 INTERVINDO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS

2.1 Histórico

Cerca de 2.000 a.C., os sumérios fizeram o primeiro relato sobre a cicatrização de feridas cutâneas propondo um protocolo para o tratamento das lesões que consistia de um tratamento espiritual e a utilização de métodos auxiliares da cicatrização, como as plantas medicinais. Os egípcios foram os primeiros a classificar as feridas em contaminada e não-contaminada. Posteriormente, os gregos deram continuidade ao estudo dos egípcios e classificaram-nas quanto à natureza, em agudas e crônicas (SEGUNDO et al., 2007). A Figura 3 exemplifica o tratamento de feridas entre os guerreiros gregos.

Hipócrates, que lançou as bases da medicina científica, recomendava que as feridas fossem mantidas limpas e preconizava sua limpeza com água morna, vinho e vinagre. Foi ele também quem criou os conceitos de cicatrização por primeira ou segunda intenção (DEALEY, 2001). Em 162 d.C., Galeno de Pérgamo (Figura 4), proeminente médico romano de origem grega ao tratar os graves ferimentos dos gladiadores romanos enfatizava a importância fundamental de se manter um ambiente úmido que cria condições favoráveis para a reparação tecidual (BARBUL, 2006).



Figura 3 - Cerâmica grega de 500 a.C.
 Nota: Na Guerra de Tróia os guerreiros se socorrem mutuamente no campo de batalha. No desenho Aquiles trata dos ferimentos de Pátroclo.
 Fonte: Adaptado de Levene, 2006.

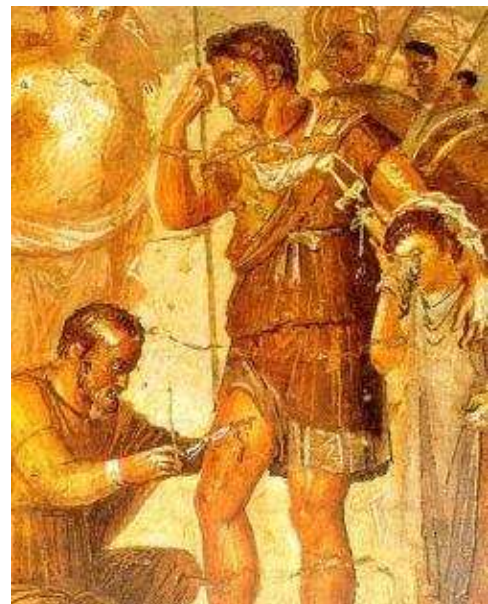


Figura 4 - Galeno tratando ferimento de Eneas.
 Nota: Diz-se que o lendário fundador de Roma também levou a medicina grega ao Lácio.
 Fonte: Adaptado de Levene, 2006.

A descoberta dos antissépticos e sua função em minimizar o risco de infecção das feridas, forneceu uma contribuição incomensurável para o tratamento das mesmas. No Século XIX, Joseph Lister passou a utilizar o ácido fenólico para a esterilização de instrumentos cirúrgicos e pulverização das salas onde as cirurgias eram realizadas, reduzindo a mortalidade de pacientes submetidos a intervenções de 50 para 15% (CUZZELL e KRASNER, 2003).

A crença de que o ambiente seco proporciona melhores condições de cicatrização perdurou até o final da Segunda Guerra Mundial na qual se utilizava largamente agentes tópicos e gazes secas que provocavam o dessecamento do leito da ferida. Somente em 1962, as afirmações de Galeno foram confirmadas por Winter quando este demonstrou que a taxa de epitelização era 50% mais rápida em um ambiente úmido e que a formação de crostas era minimizada. A partir de então se iniciou uma corrida pelo desenvolvimento de pesquisas, produção e comercialização de curativos poliméricos permeáveis à umidade (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Atualmente, os componentes do vasto arsenal de recursos disponíveis estão restritos cada um a alguns tipos de feridas, como refere Barbul (2006). Na rotina diária, os médicos veterinários atendem pacientes com os mais diversos tipos de ferimentos, devendo escolher a melhor forma de tratamento, que busca reparação tissular e cuja instituição depende da localização do ferimento, grau de lesão tecidual, tipo de secreção e de cicatrização observada (PEREIRA e ARIAS, 2002). Assim, estudos envolvendo substâncias que auxiliem e acelerem o processo de reparação tissular ganham cada vez mais espaço na comunidade científica (CUZZELL e KRASNER, 2003).

Devido ao modo de vida dos animais e as condições, nem sempre adequadas, de higiene ambiental, os preparados utilizados na terapêutica tópica são diversificados e muitas vezes associam várias substâncias ativas. Exemplos dessas são: os adstringentes, de origem vegetal ou mineral; desseborréicos; umectantes e emolientes; antipruriginosos; antissépticos e estimulantes específicos da regeneração tissular, como clostebol, asiaticosida e vitamina A; e os antimicrobianos, sobretudo os de uso preferencial em dermatologia, como neomicina, bacitracina, gramicidina, mupirocina, suldiazina argêntica e sulfacetamida sódica (ROBERTSON e MAIBACH, 2006; LARSSON e LARSSON JR, 2008).

Em geral, as preparações tópicas consistem de ingredientes ativos incorporados em um veículo que facilita a aplicação cutânea e os aspectos mais importantes a serem considerados na escolha desse veículo estão relacionados a: solubilidade do princípio ativo, a sua capacidade de hidratar o estrato córneo, estabilidade do agente terapêutico no veículo e as interações químicas e

físicas do veículo, do estrato córneo e do agente ativo (ROBERTSON e MAIBACH, 2006). Para as substâncias hidrossolúveis e estáveis em solução aquosa, a água é o veículo preferido e as soluções líquidas são as formas farmacêuticas mais benéficas para as lesões de caráter agudo e para as abundantemente exudativas (LARSSON e LARSSON JR, 2008).

2.2 Polissacarídeos

É reconhecido que a maioria dos produtos farmacêuticos foi desenvolvida a partir dos produtos naturais. Este número poderia ser muito maior, pois estima-se que não mais do que 15% das 300 mil espécies de plantas no mundo tenham sido submetidas a estudos científicos objetivando investigar o potencial uso de suas moléculas na terapia de enfermidades. Estima-se que 70% das espécies de plantas existentes no planeta ocorrem em apenas onze países dotados de florestas tropicais (NOGUEIRA; CERQUEIRA; SOARES, 2010) destacando-se o Brasil com a Floresta Amazônica, a Floresta Atlântica e o Cerrado, considerados verdadeiros celeiros de biodiversidade (CONSERVATION INTERNATIONAL, 2010) cujos produtos revelam uma gama quase que inacreditável de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (WALL e WANI, 1996).

Polissacarídeos são polímeros de alto peso molecular, resultantes da condensação de um grande número de moléculas de aldoses e cetoses. Nas últimas décadas, polissacarídeos de origem vegetal emergiram como uma importante classe de produtos naturais bioativos. Atividades antitumoral, imunoestimulante, anticomplemento, antiinflamatória, antiviral, hipoglicêmica e hipocolesterolemiantes têm sido relatadas para uma grande variedade de polissacarídeos (POSER, 2007).

O mecanismo de ação *in vivo* dos polissacarídeos, é essencialmente imunomodulatório (LULL et al., 2005). Por serem moléculas muito grandes para penetrar nas células, desempenham a sua atividade através de ligação com os receptores das células imunes. Grandes fragmentos de polissacarídeos foram detectados no soro após ingestão oral dos mesmos (PEDRINACI; ALGARRA; GARRIDO, 1999). Conforme Liu; Ooi e Fung (1999), a imunomodulação consiste na potencialização da atividade dos linfócitos T e dos macrófagos citotóxicos, em consequência de um aumento da produção de citocinas, com destaque para interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interferon- γ (IFN- γ) (BORSCHERS; KEEN; BORSHWEEN, 2004).

As gomas são compostos extraídos de vegetais terrestres, marinhos e microrganismos, possuindo alto peso molecular e natureza polissacarídica, parcial ou totalmente dispersíveis em água e insolúveis em solventes apolares. Essas substâncias ocorrem em certos órgãos da planta, como caule e raízes e são resultantes de lesões sofridas pelo vegetal devido a traumatismos e ação de microrganismos. Em outros casos a formação de goma parece estar relacionada a um processo de adaptação do vegetal a certas condições climáticas, constituindo a chamada “gomose fisiológica”. Quimicamente as gomas são caracterizadas por apresentarem sempre ácidos urônicos, além de açúcares comuns (POSER, 2007), motivo pelo qual são classificadas como heteropolissacarídeos.

2.2.1 Polissacarídeo do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

A planta *Anacardium occidentale* L. pertencente à família *Anacardiaceae* e é conhecida popularmente como cajueiro (Figura 5). O exsudato do cajueiro (Figuras 6 e 7) pode ser obtido naturalmente ou por incisões no tronco e ramos da árvore apresentando-se como goma ou resina de coloração amarelada e solúvel em água (PAULA e RODRIGUES, 1995; MENESTRINA et al., 1998). O exsudato também pode ser obtido introduzindo-se no tronco da árvore agentes químicos tais como o óxido de etileno, derivados do ácido benzóico e ácido-2-cloroetilfosfórico. Sabe-se que os polissacarídeos naturais, como o exsudato do cajueiro, possuem freqüentemente misturados a sua composição sais inorgânicos e outros materiais de baixo peso molecular e, também, com substâncias como proteínas, ligninas e ácidos nucléicos (KENNEDY e WHITE, 1983). A goma purificada do cajueiro (Figura 8 e Tabela 1) é constituída de unidades de galactose, arabinose, glicose, ácido urônico, manose e xilose, sendo que a porcentagem dos monossacarídeos varia de acordo com a região geográfica (SARUBBO et al., 2007).



Figura 5 - Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)
Fonte: The Total Vascular Flora of Singapore
On line, 2010.



Figura 6 - Exsudato obtido de *Anacardium occidentale* L.
Fonte: REDETEC, 2010.

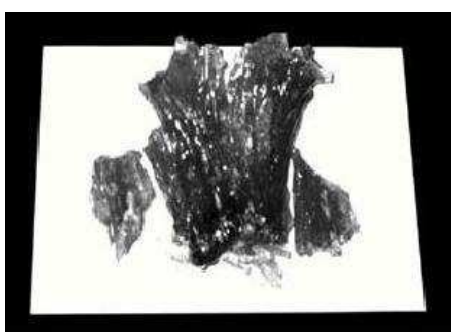


Figura 7 - Goma bruta do cajueiro
Fonte: Sarubbo, et al., 2000.



Figura 8 - Polissacarídeo do cajueiro
purificado.
Fonte: Sarubbo, 2000.

Tabela 1 - Composição da goma de *Anacardium occidentale* L. de diferentes origens

Composição (%)	Índia	Nova Guiné	Brasil
Galactose	61	63	73
Arabinose	14	15	05
Glicose	08	09	11
Ramnose	07	07	04
Manose	02	01	01
Xilose	02	-	-
Ácido glucurônico	06	05	06

Fonte: RODRIGUES et al., 1993.

A goma bruta (isenta de cascas e folhas) pode ser tratada segundo a metodologia descrita por Rinaudo e Millas (1991) modificado. A goma triturada e dissolvida em solução aquosa, é

filtrada e precipitada na forma de sal de soído em etanol para separar o polissacarídeo dos mono e oligopolissacarídeos, que permanecem em solução. O precipitado obtido é submetido à secagem em estufa a 35°C (SARUBBO et al., 2007). O método proposto por Rinaudo-Millas pode ser visualizado na Figura 9.

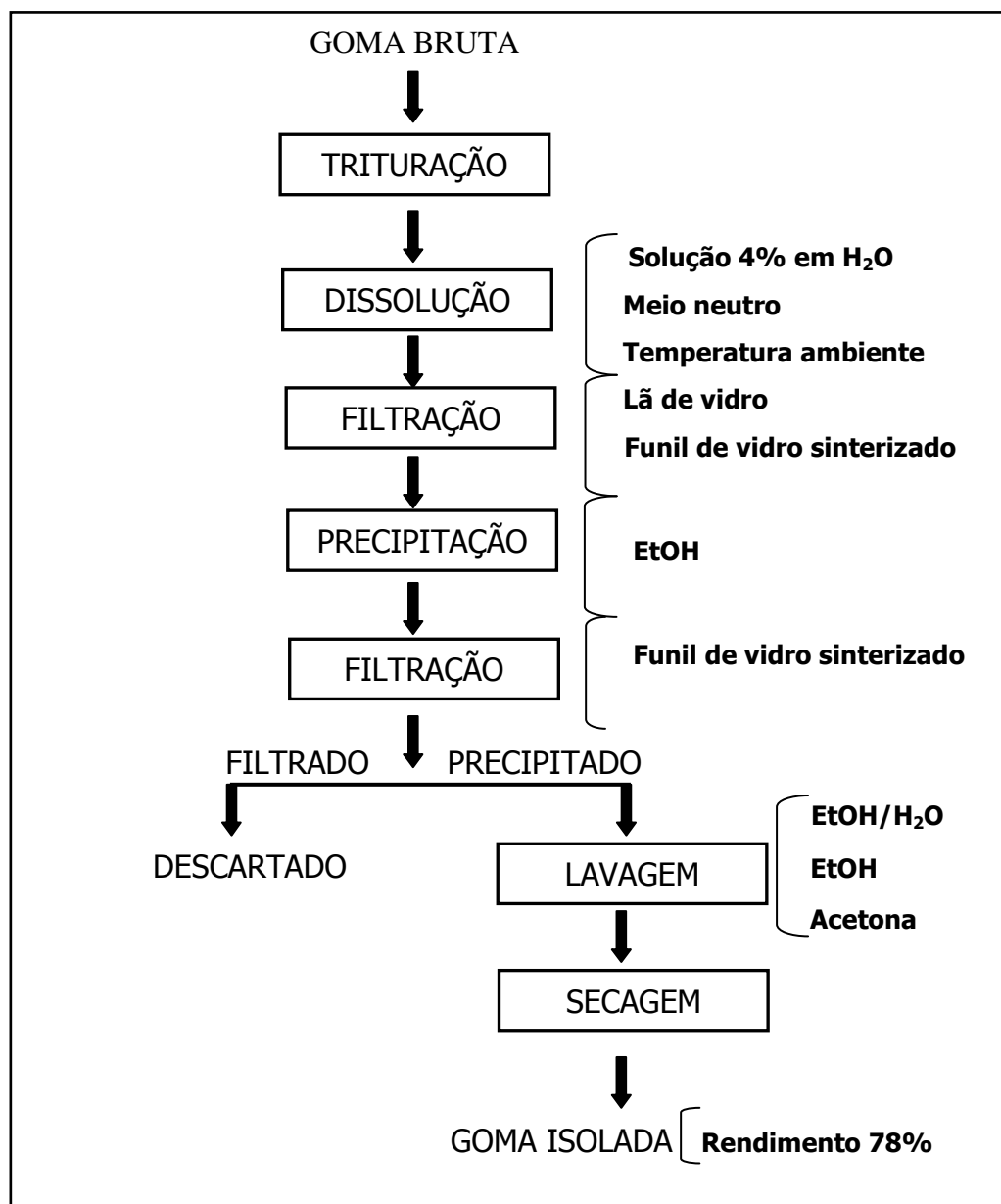


Figura 9 - Esquema das etapas do processo de isolamento da goma do cajueiro pelo método Rinaudo-Millas modificado.

Fonte: RODRIGUES et al., 1993.

2.3 Metodologia usada para avaliar o processo cicatricial

Dentre os métodos utilizados para avaliar de maneira sistemática a cicatrização de feridas, os mais utilizados são a avaliações clínica, morfométrica e histológica (TYRONE; MARCUS; BONOMO, 2000; LOPES et al., 2005; GUL et al., 2007).

2.3.1 Avaliação clínica

A avaliação clínica das feridas é o principal método utilizado para avaliar a reparação tissular fundamentando-se no exame macroscópico da lesão. Considerando-se que é possível inferir em que fase da evolução do processo cicatricial a lesão se encontra, é possível fazer uma correlação entre o que foi observado e o tempo da instalação da injúria, e entre os achados e as análises microscópicas (HOSGOOD, 2006; LIMA, 2010).

Durante a fase inflamatória da cicatrização, observa-se macroscopicamente em feridas abertas, a presença de um coágulo sanguíneo e exsudato serossanguinolento ou purulento (LIMA, 2010; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Macroscopicamente, a fase proliferativa é marcada pela visualização do tecido de granulação, que pode assumir aspecto variável, desde avermelhado e exuberante a róseo, esbranquiçado, granular nodular, de acordo com a quantidade de colágeno e vasos sanguíneos neoformados. Observa-se também a contração da ferida entre o quinto e o nono dias após o trauma, com notável redução do seu diâmetro (Figura 10). É necessário ressaltar que a taxa de contração depende da localização anatômica da ferida e a flexibilidade do tecido adjacente. Segundo De Nardi et al. (2004); Gul et al. (2007); Lima, (2010); Martins et al. (2006) ainda nessa fase tem início a reepitelização, evidenciada pela presença de tecido róseo íntegro localizado nas bordas da lesão (Figura 10)

medida mais acurada do diâmetro da lesão (GARROS et al., 2006; MARTINS et al., 2006; GUL et al., 2007; MENEZES; COELHO; LEÃO, 2008; LIMA, 2010).

2.1.3 Avaliação histológica

Segundo Lima et al. (2010) a análise histológica da ferida é empregada especialmente em associação à avaliação clínica do processo cicatricial, e essa inter-relação confere maior credibilidade aos resultados. A coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) é utilizada rotineiramente para a análise microscópica das diferentes fases do processo de reparação tecidual (MARGULIS et al., 2007). Alguns componentes específicos nas diferentes etapas de reparo tissular necessitam de outros métodos de coloração, como o Tricrômico de Masson e Picrossírius (BIONDO-SIMÕES et al., 2005; EULÁLIO et al., 2007; SEZER et al., 2007). A coloração Tricrômico de Masson é um método de coloração consagrado, utilizado em inúmeras pesquisas científicas e possibilita a visualização de fibras colágenas e musculares, corando as primeiras de azul claro (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Microscopicamente, a presença de exsudato na incisão é normal nas primeiras 48 a 72 horas. Após esse período, a exsudação é sinal de prejuízo à cicatrização (BATES-JENSEN, 1998). Quando persiste o exsudato, ocorre desagregação da crosta favorecendo o desenvolvimento de microrganismos entre ela e o tecido de granulação (OLIVEIRA, 1992). Cerca de seis horas após o trauma, a margem da ferida contém fagócitos, e por volta de 24 horas o coágulo já está invadido por estas células, com predomínio dos neutrófilos. Com 48 horas o número de neutrófilos diminui sensivelmente, passando o exsudato a ser constituído predominantemente por macrófagos (VITORINO FILHO et al., 2007).

Na fase proliferativa, o tecido de granulação invade progressivamente o espaço incisional. No quinto dia, este espaço é preenchido por tecido de granulação. O colágeno inicialmente é escasso e se cora fracamente. A quantidade de colágeno aumenta com o tempo e por volta de duas semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular (VITORINO FILHO et al., 2007). O colágeno tipo III é o primeiro a surgir na ferida e caracteriza-se como colágeno jovem ou imaturo e confere aspecto desorganizado às fibras (RICH e WHITTAKER, 2005). Treze dias após a lesão é nítida a retração da ferida cuja função é atribuída aos miofibroblastos (VITORINO FILHO et al., 2007).

Na fase de remodelamento, o colágeno tipo I, maduro, substitui o tipo III em cicatrizes antigas e se caracteriza pela maior organização das fibras colágenas (RICH e WHITTAKER,

2005). Quando a ferida se fecha, o número de células dos vasos sanguíneos e de miofibroblastos diminui. Isto se deve ao fenômeno denominado apoptose ou morte celular programada, pelo qual o tecido de granulação evolui para a cicatriz (DESMOLIERE et al., 1995).

3 - CAPÍTULO I*

*Elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais

Avaliação do uso do polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas experimentais em camundongos*

VITORINO FILHO, R.N.L.^{1*}; BATISTA, M.C.S.¹

¹ *Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), CEP: 64049-450, Teresina-Brasil*

**limavitorinofilho@yahoo.com.br*

RESUMO:

Na última década, o heteropolissacarídeo proveniente da goma do cajueiro tem apresentado resultados terapêuticos promissores no processo de cicatrização de feridas. O objetivo deste experimento foi investigar o efeito da aplicação tópica de solução aquosa de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (PEEC), em diferentes concentrações, sobre a cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas experimentalmente produzidas em camundongos. Exéreses de retalhos de pele na dimensão padronizada de 1,0 cm² foram produzidos na região dorso lateral direita de 70 camundongos, divididos em cinco grupos de 14 animais, sendo um grupo controle, outro tratado com uma formulação comercial convencionalmente utilizada na terapêutica de ferimentos (considerada referência) e os outros três tratados topicamente com solução aquosa de PEEC nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% duas vezes ao dia. Foi realizada a aferição do percentual de redução das áreas das feridas, em quatro momentos, e avaliação histopatológica do processo cicatricial nos dias 3, 7, 10 e 13 após a cirurgia. Não foram evidenciadas diferenças significativas entre grupos quanto ao tempo de fechamento das feridas, porém foi verificado que a solução aquosa de PEEC a 1,5% intensificou a contração da área das feridas na fase inicial do processo cicatricial e reduziu os sinais clínicos próprios da fase inflamatória. Conclui-se que as soluções aquosas de PEEC, nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% aplicadas topicamente, não diminuem o tempo de cicatrização de feridas cutâneas em camundongos, porém, o tratamento tópico com a solução na concentração de 1,5%, duas vezes ao dia, reduz a fase flogística e intensifica a reepitelização na fase inicial do processo cicatricial.

Palavras-chave: biopolímeros, cicatrização, reparação tissular, tecido de granulação

*Parte da Dissertação do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPI

ABSTRACT: Evaluation of the use of the polysaccharide extracted from the exudate of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in topical therapy of experimental wounds in mice.

In the last decade, the heteropolysaccharide derived from cashew gum has shown promising therapeutic results stimulating the healing of wounds. The aim of this experiment was investigate the effect of topical application of aqueous solution from polysaccharide extracted from the exudate of cashew (PEEC) in different concentrations on the wound healing by secondary intention of skin wounds produced experimentally in mice. Excisions of skin flaps in the size standard of 1 cm² were induced on the dorsal right side of 70 mice divided into five groups of 14 animals, one control group, another treated conventionally with a commercial formulation used for the treatment of injury (considered a reference) and the other three treated with aqueous solution of the PEEC tree at concentrations of 0.5, 1 and 1.5% twice daily. Reduction of wound areas was measured in the percentage in four stages and histopathological evaluation of the wound healing on days 3, 7, 10 and 13 after surgery. There were no significant differences between groups regarding the time of closing wounds, but it was found that the aqueous solution of the PEEC 1.5% was the most effective step in the contraction of the wound area in the initial phase of the healing process and reduce own clinical signs of the inflammatory phase. There were no significant differences in groups regarding the time of closure of wounds. It is concluded that the aqueous solution of the PEEC tree at concentrations of 0.5%, 1% and 1.5% applied topically, do not differ, does not accelerate the healing of skin wounds in mice, however, topical treatment with the solutions at 1.5% reduces the phlogistic phase and intensifies the re-epithelialization in the early stages of healing.

Key words: biopolymers, healing, skin, granulation tissue

INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é um evento fisiológico cada vez mais elucidado e diversas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de acelerar e otimizar o processo cicatricial.

Apesar de existir um grande número de produtos disponíveis para o tratamento de feridas, ainda se buscam substâncias tópicas com este propósito, tanto pela necessidade de ampliação do arsenal terapêutico quanto pela existência de controvérsias sobre o tratamento de feridas (Ferreira et al., 2003). Ademais, tem sido relatada por alguns estudiosos, a escassez de informações acerca dos efeitos adversos provocados por alguns componentes dos produtos comumente utilizados (Martins et al., 2005).

Medicamentos para os mais diversos fins continuam sendo originados, em sua grande maioria, de produtos naturais (Segundo et al., 2007). Para aperfeiçoar a cicatrização de lesões podem ser utilizados biomateriais, que consistem de materiais interativos capazes de estabelecer afinidade apropriada com o tecido vizinho sem indução de uma resposta adversa do hospedeiro (Ratner & Bryant, 2004). Dentre os biomateriais destacam-se os polissacarídeos, os quais estimulam o sistema imune *in vitro* e *in vivo* e tendem a contribuir favoravelmente no processo cicatricial (Diallo et al., 2001; Kweon et al., 2003; Senel & McClure, 2004).

Alguns polissacarídeos possuem atividade cicatrizante, como o oriundo de *Angelica sinensis*, que induz reparação de úlceras gástricas experimentais em ratos Sprague-Dawley e estimula a proliferação de células epiteliais gástricas (YE et al, 2003).

Popularmente conhecida como cajueiro, a planta *Anacardium occidentale* L. é originária do Brasil e dentre uma variedade de aplicações na medicina popular é também utilizada como cicatrizante de feridas (Mazzetto et al., 2009). O exsudato do cajueiro consiste em um heteropolissacarídeo ramificado (arabinogalactana ácida). Ele pode ser obtido naturalmente ou por incisões no tronco e ramos da árvore apresentando-se como

goma ou resina de coloração amarelada e solúvel em água (Paula e Rodrigues, 1995; Menestrina et al., 1998).

A goma do cajueiro é constituída de unidades de galactose, arabinose, glicose, ácido urônico, manose e xilose, sendo que a porcentagem dos monossacarídeos varia de acordo com a região geográfica (Sarubbo et al., 2007). Pesquisas utilizando emulsões do heteropolissacarídeo proveniente da goma do *Anacardium occidentale* L., aplicadas topicamente, têm apresentado resultados terapêuticos promissores potencializando o processo de cicatrização de feridas cutâneas em camundongos (Paiva, 2003; Schirato et al., 2006). Entretanto, os mesmos estudos científicos deixam dúvidas sobre o papel na otimização da redução das áreas das feridas e, a avaliação da literatura disponível permite constatar que são escassas as informações acerca do efeito do polissacarídeo do cajueiro em fases mais avançadas do processo cicatricial e em diferentes formulações.

Portanto, mediante análise clínica e histopatológica, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tratamento com soluções aquosas contendo diferentes concentrações de PEEC no processo cicatricial por segunda intenção de feridas cutâneas experimentais em camundongos.

MATERIAL E MÉTODO

Animais

Foram utilizados 70 camundongos (*Mus musculus domesticus* L.) Swiss com cinco a seis semanas de idade, divididos em cinco grupos de 14 animais, formados equitativamente por machos e fêmeas, mantidos em condições uniformes de manejo, recebendo ração balanceada e água à vontade com ciclos de luz claro/escuro de 12 horas e temperatura controlada. Estes animais foram fornecidos pelo Biotério do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí.

O protocolo experimental desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí sob o nº 005/2010 .

Preparo das formulações

A goma de *Anacardium occidentale* L. foi coletada na Floresta de Cajueiro do Município de Ilha Grande de Santa Isabel no Estado do Piauí e posteriormente tratada no Laboratório de Biotecnologia do Campus Ministro Reis Velloso da Universidade Federal do Piauí para isolamento do polissacarídeo.

A sua composição bioquímica apresenta pequenas diferenças em relação à oriunda de outros Países e também da extraída em outras regiões do Brasil. Possui: galactose (72 - 73%), glicose (11-14%), ácido glucorônico (4,7 - 6,3%), arabinose (4,6 - 5%), ramnose (3,2 - 4%), além de menos de 2% de resíduos de outros açúcares como manose e xilose (Paula e Rodrigues, 1995; Gyedu-Akoto et al., 2007).

A exsicata foi depositada no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí sob o número TPB-27161. Em função da hidrossolubilidade, as soluções foram formuladas utilizando-se água destilada estéril como veículo e polissacarídeo oriundo do exsudato do cajueiro, tendo sido preparadas soluções aquosas nas concentrações de 0,5%; 1,0% e 1,5%, pesando-se os respectivos valores da goma de PEEC em gramas (0,5 g; 1,0 g; e 1,5 g), acondicionando-os em recipientes graduados e acrescentando-se água destilada estéril (em quantidade suficiente para formular 100 ml). As misturas foram agitadas levemente até a completa solubilização.

Procedimento cirúrgico

As lesões experimentais foram feitas pelo método cirúrgico, mediante prévia anestesia dissociativa, pela associação de cloridrato de xilazina na posologia de 8,0 mg kg⁻¹, com cloridrato de ketamina na posologia de 140 mg kg⁻¹, via intraperitoneal. Após a

anestesia, foram realizadas a tricotomia e a antissepsia com álcool iodado a 2%, bem como, a demarcação da área da pele a ser removida pela aderência de esparadrapo na dimensão de 1 cm². Foi realizada uma incisão quadrangular sobre a área demarcada seguida da exérese do retalho de pele (Figura 1), conforme técnica descrita por Potier et al., (1992) e Nascimento & Batista (1998). Em todos os camundongos o procedimento cirúrgico foi realizado pelo mesmo operador.



FIGURA 1. Aspecto da ferida imediatamente após a cirurgia.

Tratamento

Após o ato operatório, as áreas cruentas foram imediatamente tratadas. Com o auxílio de quatro conta-gotas, o grupo controle (tratado com água destilada) e os grupos tratados com soluções aquosas de PEEC a 0,5%; 1,0% e 1,5%, receberam aplicação tópica de 1 ml do respectivo tratamento. Baseando-se em experimentos prévios, foi adotado o esquema de administração de duas vezes ao dia. Nos animais do grupo tratado com a referência, foi aplicada fina camada de pomada composta de clostebol associado a sulfato de neomicina (Trofodermin, Pfizer).

A avaliação clínica do processo cicatricial foi feita pela observação diária das feridas, verificando-se a coloração das mesmas, além da consistência e coloração do exsudato, quando presente. Conforme relatam Mandelbaum, Di Santis e Mandelbaum (2003), um dos sistemas de avaliação e classificação de lesões abertas mais utilizados nos Estados

Unidos é o sistema Red/Yellow/Black – RYB, o qual foi adotado neste experimento. Este sistema classifica o leito da ferida e os tecidos adjacentes por meio da observação das cores vermelha, amarela ou preta e suas variações, indicando o estágio do processo cicatricial através do balanço entre tecidos novos e tecidos necrosados. A ferida de cor vermelha com aspecto limpo indica presença de tecido de granulação saudável, a coloração vermelha tendendo a cinza indica redução ou retardo do tecido de granulação, já o aspecto vermelho escuro com aparência friável é indicativo de processo infeccioso. A presença de extensa quantidade de material fibrótico resultante de degradação celular é confirmada pela cor amarela forte. A cor preta indica necrose tecidual podendo estar acompanhada de pus e material fibroso que favorecem a proliferação de microrganismos. Na presença de feridas com coloração mista a situação mais crítica deve ser utilizada como referência para classificação (Nogueira, 2008).

O aspecto, a consistência e a cor do exsudato produzido pela lesão variam de acordo com a intensidade e a duração do processo inflamatório e o tipo de tecido atingido. Nas lesões não contaminadas o exsudato possui aspecto seroso (plasmático, aquoso e transparente); o sanguinolento é indicativo de lesão vascular e o purulento com coloração variando entre amarelo, verde e marrom, dependendo do agente infeccioso, é o resultado de leucócitos e microrganismos vivos e mortos (Silva; Figueiredo; Meireles, 2007).

A área das feridas foi mensurada com o auxílio de paquímetro nos dias 0 (imediatamente após a cirurgia) 3, 6, 10 e 13 de pós-operatório e para calculá-la utilizou-se a equação descrita por Prata et al. (1988): $A = \pi.R.r$, onde “A” significa a área, “R” o raio maior e “r” o raio menor da ferida. A contração da ferida foi avaliada por meio da seguinte fórmula: $(\text{área inicial} - \text{área do dia da medida}) \div \text{pela área inicial} \times 100 = \text{percentual de contração do dia}$ (Agren; Mertz e Franzén, 1997). Todas as medidas foram aferidas pelo mesmo operador e o percentual de contração da ferida foi expresso como grau de reparação tissular.

Para avaliar microscopicamente a evolução do processo cicatricial, dois animais de cada grupo, escolhidos ao acaso, foram submetidos à eutanásia por sobredosagem de éter sulfúrico após prévia anestesia dissociativa via intraperitoneal, de forma a deprimir o sistema nervoso central e produzir inconsciência nos animais. Destes foram retiradas cirurgicamente as áreas da lesão e circunjacentes, nos 3, 7, 10 e 13^o dias após a cirurgia. Os fragmentos retirados foram fixados em formol tamponado a 10% (pH 7) por período mínimo de 24 horas, desidratados em álcool, diafanizados em xilol, incluídos em parafina, cortados em 5 µm. Foram preparadas duas lâminas para cada animal, as quais foram coradas pelas técnicas de Hematoxilina & Eosina e do Tricrômico de Masson. O campo histológico de cada lâmina foi avaliado através dos critérios inflamação aguda, inflamação crônica inespecífica, proliferação fibroblástica, colagenização e reepitelização da ferida. A quantificação de cada variável observada seguiu o esquema: ausente = 0, discreta = 1, moderada = 2 e acentuada = 3.

Análise estatística

Inicialmente, foi confirmada a normalidade da distribuição dos dados paramétricos por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov. Os percentuais de contração das feridas obtidos foram expressos como média ± desvio padrão, submetidos à análise de variância (Anova) e ao teste de Duncan com nível de significância $p < 0,05$. A análise estatística dos diversos parâmetros histológicos avaliados foi realizada pelo método não paramétrico de Kruskal-Wallis com significância de 5%. Ambas as análises foram efetuadas por meio do programa STAT Plus Software (Matousková et al., 1992).

RESULTADO

Na avaliação clínica diária das feridas observou-se edema, hiperemia e formação de crosta em todos os grupos, especialmente no terceiro dia após a cirurgia, entretanto, os

sinais de exsudação foram menos freqüentes nos grupos tratados com as soluções aquosas de PEEC a 1,0 e 1,5% e no grupo referência (19,43%, 21,00% e 8,8%, respectivamente) quando comparados ao grupo controle (27,92%) e o exsudato observado, quando presente, apresentava aspecto seroso característico de ferida não contaminada (Figura 2).

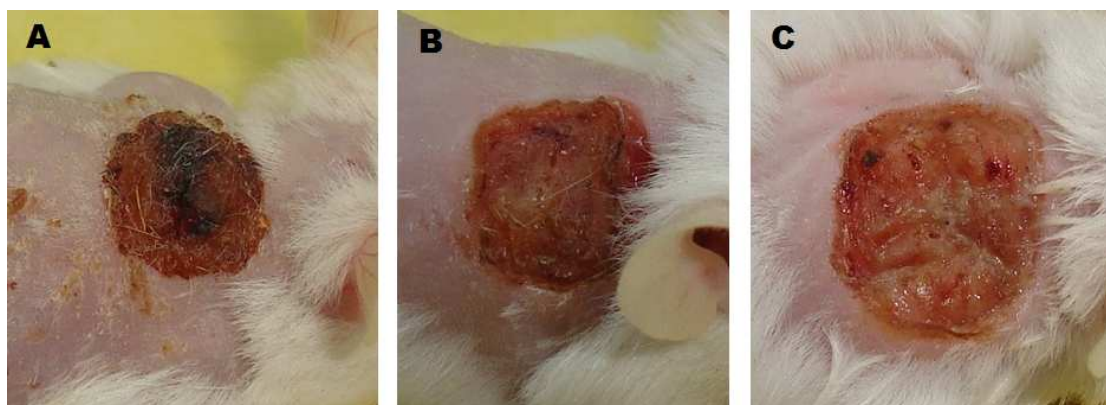


FIGURA 2. Feridas no terceiro dia de pós-operatório. Crosta de coloração vermelha de aspecto limpo em animal do grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5 % (A) e em animal do grupo referência (B).

Presença de exsudato seroso em animal do grupo controle (C).

A avaliação morfométrica das feridas evidenciou que no terceiro dia houve uma expansão da área cruenta no grupo referência, enquanto no grupo controle e nos tratados com soluções aquosas de PEEC houve decréscimo da área. A partir do terceiro dia pós-cirúrgico as feridas dos animais de todos os grupos evoluíram clinicamente dentro do esperado para este tipo de injúria (Figuras 3, 4 e 5).



FIGURA 3. Aspecto das feridas no 6^o dia de pós-operatório evidenciando umidade e presença de tecido de granulação em animal tratado com solução aquosa de PEEC a 0,5 %.

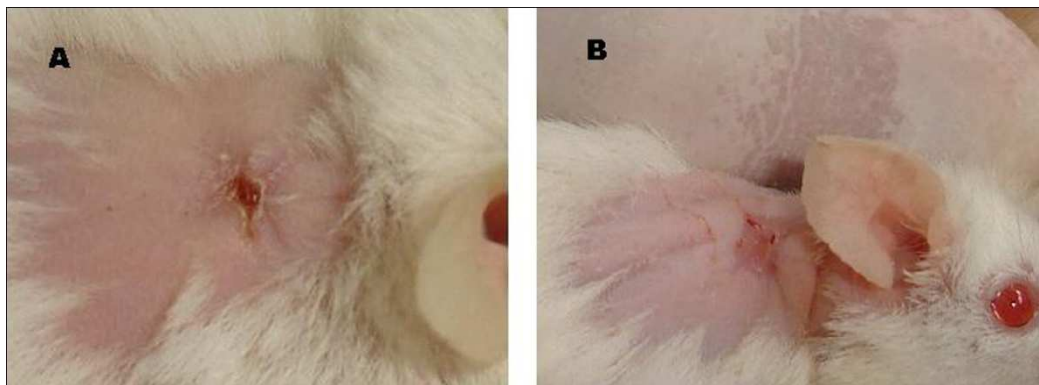


FIGURA 4. Aspecto das feridas no 10^o dia de pós-operatório. Desprendimento progressivo da crosta em animal do grupo controle (A) e ausência da mesma em animal do grupo referência (B).

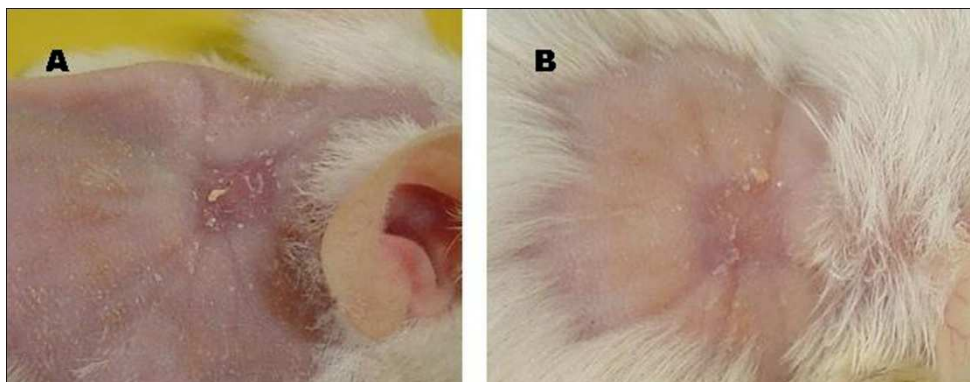


FIGURA 5. Fechamento completo das lesões no 12^o dia após a cirurgia em animais do grupo referência (A e B).

O grau de reparação tissular, avaliado por meio do percentual de contração das feridas ao longo do tempo, demonstrou que no intervalo entre os dias 0 e 3, houve a expansão da área cruenta no grupo referência (Tabela 1 e Figura 6) e que significativamente ($p < 0,05$) o mesmo foi inferior ao grupo controle e aos demais tratamentos, sendo que estes não diferiram entre si ($p > 0,05$).

TABELA 1. Médias e desvios-padrões dos percentuais de contração das feridas nos cinco grupos nos quatro tempos avaliados

	3 ^o dia	6 ^o dia	10 ^o dia	13 ^o dia
Referência	- 16,84 ± 15,39 ^{A*}	40,37 ± 14,80 ^A	89,27 ± 8,70 ^A	98,82 ± 3,32 ^A
Controle	18,67 ± 32,66 ^B	56,35 ± 20,23 ^B	97,67 ± 3,29 ^A	99,61 ± 1,09 ^A
Solução aquosa de PEEC a 0,5%	19,24 ± 24,48 ^B	55,52 ± 20,43 ^B	89,56 ± 14,82 ^A	95,75 ± 8,31 ^A
Solução aquosa de PEEC a 1,0%	24,00 ± 16,85 ^B	63,13 ± 14,07 ^B	95,70 ± 4,04 ^A	99,61 ± 1,09 ^A
Solução aquosa de PEEC a 1,5%	30,88 ± 14,85 ^B	72,03 ± 13,26 ^C	95,24 ± 6,18 ^A	99,08 ± 1,83 ^A

Médias e desvios-padrões seguidos de letras diferentes na vertical possuem diferenças estatísticas entre si ($p < 0,05$). *Nota: o valor negativo indica expansão da ferida.

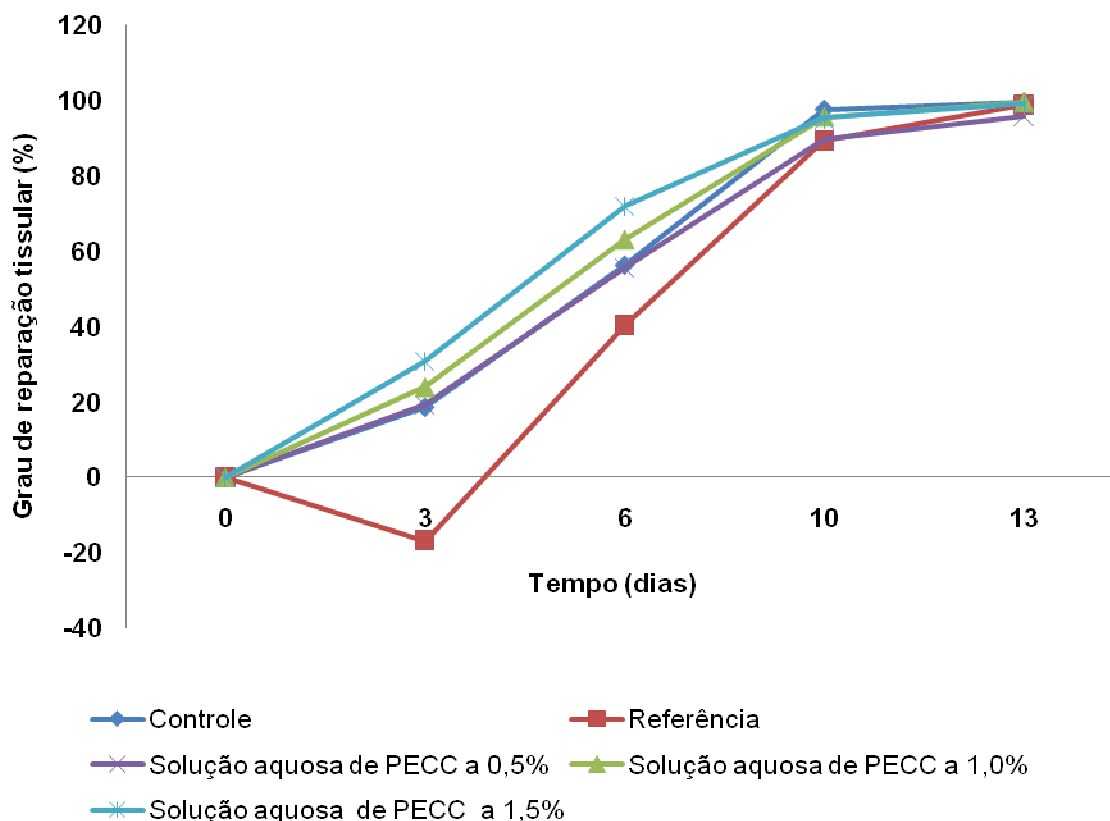


FIGURA 6. Perfil temporal do processo de reparação tissular.
Nota: o valor negativo indica expansão da ferida.

No intervalo entre os dias 3 e 6, houve intensificação da reparação tissular em todos os grupos e, no sexto dia, o grupo referência permaneceu inferior aos demais tratamentos ($p < 0,05$), dos quais se destacou o grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5%, que diferiu significativamente ($p > 0,05$) dos demais (Tabela 1). Associando-se estes achados com os aspectos clínicos, verificou-se que o tratamento com a solução de PEEC a 1,5% alcançou o melhor desempenho (Figura 6), por ter apresentado o maior percentual de contração da área das feridas nessa fase inicial do processo de cicatrização.

A partir do sexto dia não mais foi observada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os grupos até o 13º dia após a cirurgia, quando a quase totalidade das feridas dos animais de todos os grupos encontravam-se completamente fechadas (Tabela 1 e Figura 6).

Embora os grupos tenham sido semelhantes em relação aos aspectos histopatológicos, no terceiro e sétimo dias as feridas dos animais do grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5% apresentaram uma reepitelização mais avançada quando comparados aos dos outros grupos, sobretudo o grupo referência (Figuras 7 e 8). No terceiro dia, também foi observada área cruenta e material fibrino-necrótico sobre tecido de granulação nas feridas dos animais de todos os grupos. Na Figura 7 pode-se observar o aspecto microscópico de uma ferida tratada com solução aquosa de PEEC a 1,0% três dias após a cirurgia.

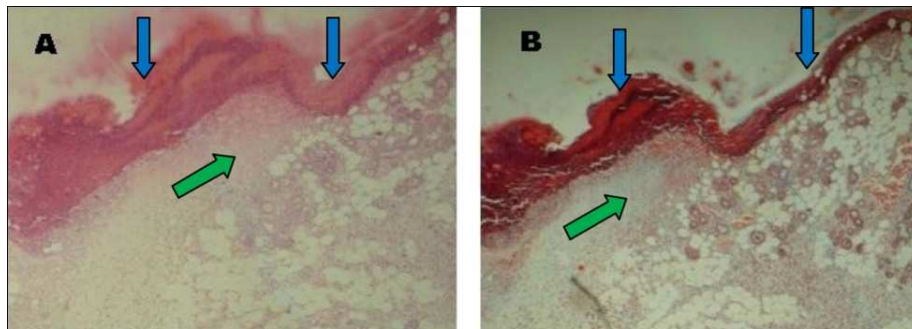


FIGURA 7. Aspecto microscópico de ferida tratada com solução aquosa de PEEC a 1,0% no 3º dia após a cirurgia. Crosta fibrino-necrótica (setas azuis) sobre tecido de granulação (seta verde) desenvolvendo-se em direção à grande área cruenta. A (Coloração HE, 4 x); B (Coloração Tricrômico de Masson, 4 x).

Ao sétimo dia era evidente a crescente reepitelização abaixo da crosta fibrino-necrótica e migração de fibroblastos para o leito da ferida preenchendo a área cruenta, como, por exemplo, na ferida de um animal do grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,0% (Figuras 8 e 9).

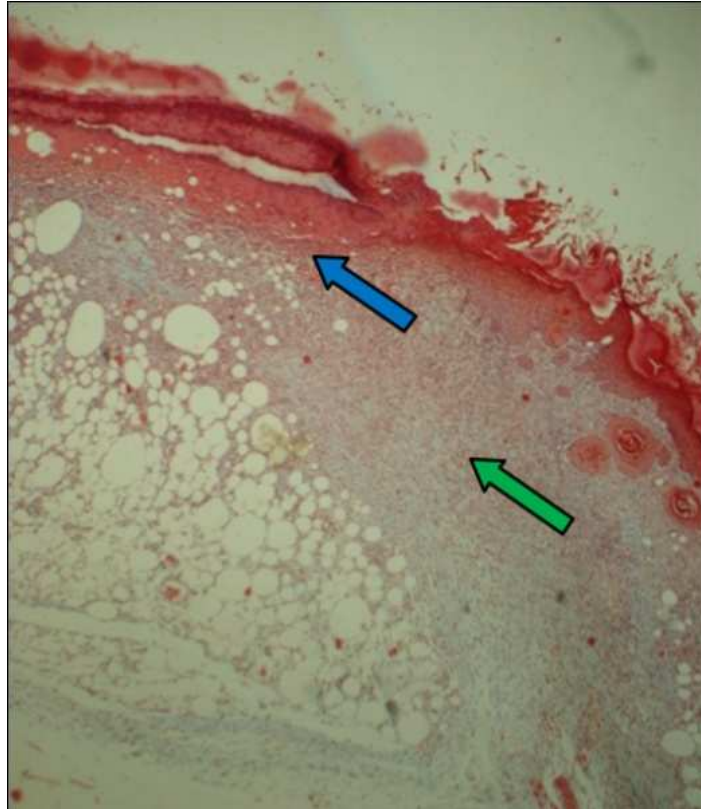


FIGURA 8. Processo cicatricial ao 7^o dia em ferida tratada com solução aquosa de PEEC a 1,0%.

Migração de queratinócitos (seta azul) e fibroblastos (seta verde) da borda para o centro da ferida preenchendo a área cruenta. (Coloração Tricrômico de Masson, 4 x).

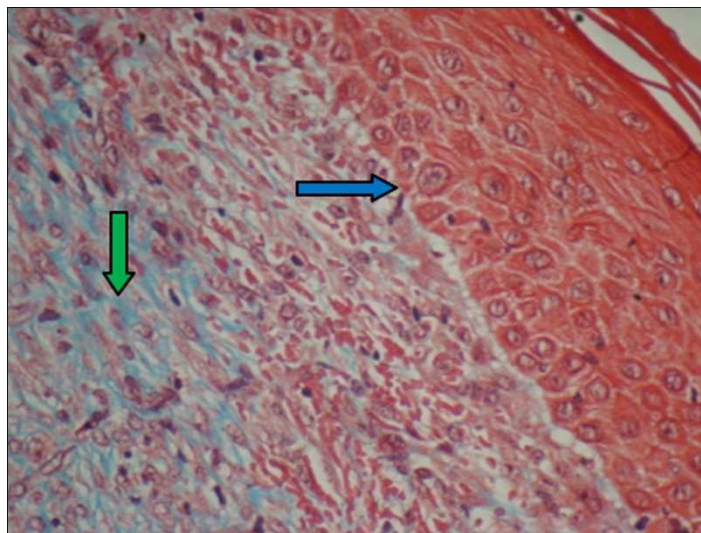


FIGURA 9. Progressiva colagenização (seta verde) e epiteliação (seta azul) constatada ao 7^o dia após a cirurgia em animal tratado com solução aquosa de PEEC a 1,0%. (Coloração Tricrômico de Masson, 40 x).

No décimo dia, constatou-se que a área cruenta das feridas apresentava-se acentuadamente reepitelizada e preenchida por fibras colágenas, como evidenciado, por exemplo, na ferida de uma animal tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5% (Figura 10).

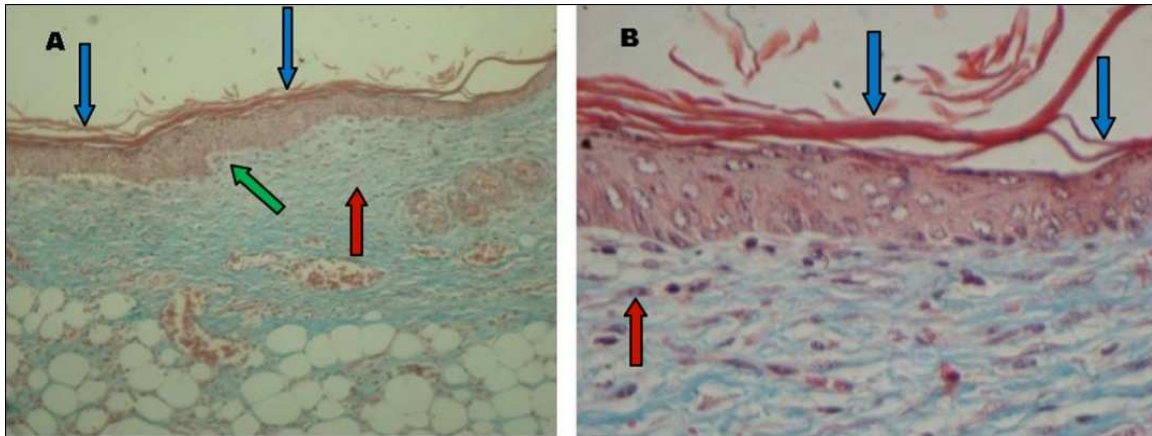


FIGURA 10. Aspecto microscópico das feridas de animal tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5% no 10^o dia de pós-operatório evidenciando epitélio neoformado com papilas (seta verde), desprendimento de queratina (setas azuis) e matriz colágena repleta de fibroblastos (setas vermelhas). Coloração Tricrômico de Masson. A (10x); B (40 x).

DISCUSSÃO

O clostebol é um anabolizante amplamente utilizado na prática clínica e quando utilizado topicamente estimula, pela atividade anabolizante protéica, o processo de cura das lesões ulcerativas e distróficas, cutâneas e mucosas. Na associação de acetato de clostebol com sulfato de neomicina, o efeito trófico-cicatrizante do esteróide se une à atividade do antibiótico, necessário para o controle do componente infeccioso que, freqüentemente, representa um fator que agrava e atrasa a cura das lesões (Pfizer, 2010).

Neste experimento verificou-se que a formulação empregada classicamente como referência (clostebol associado à neomicina) desencadeia um aumento da área das feridas na fase inicial da cicatrização. Em um experimento com ratos, Magalhães et al. (2008), também observaram expansão da área das lesões tratadas topicamente com

acetato de clostebol e sulfato de neomicina na fase inicial do processo cicatricial. Segundo Mandelbaum, Di Santis e Mandelbaum (2003), o uso de antibióticos tópicos, para prevenção ou tratamento de infecção em feridas, tem sido contra-indicado, pois, quando empregados em concentrações adequadas, apresentam ação citotóxica sobre os queratinócitos e, se utilizados em concentrações muito baixas, podem provocar aparecimento de resistência e ainda a dermatite de contato. Segundo Geronemus; Mertz e Eaglstein (1979), a grande maioria dos agentes antimicrobianos, quando usados topicamente em lesão, impedem a proliferação de queratinócitos. A Figura 6 corrobora tais afirmações, considerando-se que houve expansão da área das feridas no grupo referência até o terceiro dia após a cirurgia, fase na qual a proliferação de queratinócitos é mais intensa e a presença da neomicina foi deletéria. Do terceiro dia em diante, o vertiginoso incremento de reparação tissular verificado nas feridas dos animais do grupo referência sugere que a presença da neomicina nesta etapa da cicatrização já não mais foi consideravelmente negativa, permitindo o clostebol desempenhar a sua atividade anabolizante.

Embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos quanto ao tempo de fechamento das lesões, ocorreu, no grupo tratado com solução aquosa de PEEC a 1,5%, o maior grau de reparação tissular, no intervalo entre os dias 3 e 6 após a cirurgia. Este resultado aliado ao fato de que do sexto dia em diante não mais foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sugere que a ação da solução aquosa de PEEC a 1,5% ocorre na fase inflamatória do processo cicatricial. Este achado mostra concordância com os dados obtidos nas avaliações clínica e microscópica, as quais evidenciaram, respectivamente, menos exsudação e reepitelização em estágio mais avançado.

Além disso, estes resultados estão de acordo com os encontrados por Paiva (2003) e Schirato et al. (2006), que trabalhando com emulsão contendo polissacarídeo do

cajueiro, observaram que ela não abrevia o tempo necessário para o fechamento das lesões, mas reduz a intensidade dos sinais flogísticos e favorece a resolução do período inflamatório das mesmas.

Shu; Wen e Lin (2003) observaram que a atividade biológica dos polissacarídeos está relacionada com sua solubilidade, tamanho e configuração. Polissacarídeos com peso molecular >1000 kilodaltons incrementaram a produção de TNF- α por macrófagos de camundongos em seis vezes, quando comparados com moléculas >30 kilodaltons, confirmando assim a regra geral, de que moléculas grandes estimulam mais o sistema imunológico.

Conclui-se que a solução aquosa do heteropolissacarídeo proveniente da goma do *Anacardium occidentale* L., na concentração de 1,5% aplicada topicamente, duas vezes ao dia, desencadeia resultados benéficos na terapêutica tópica de feridas por otimizar o período inflamatório e a reepitelização tissular do processo cicatricial, proporcionando mais conforto para os pacientes. Conclui-se ainda, que o clostebol associado à neomicina, utilizados topicamente, duas vezes ao dia, intensificam a fase inflamatória do processo cicatricial.

REFERÊNCIA

AGREN, M.S.; MERTZ, P.M.; FRANZÉN, L. A comparative study of three occlusive dressing in the treatment of full-thickness wounds in pigs. **Journal of the American Academy Dermatology**, v.36, n.1, p.53-8, 1997.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; WESTPHAL, V.L.; PAULA, J.B.; BORSATO, K.S.; NORONHA, L. Síntese de colágeno após a implatação de telas de polipropileno em parede abdominal de ratos jovens e velhos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, n.4, p.300-304, 2005.

DIALLO, D. et al. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, p.159-71, 2001.

FERREIRA, E. et al. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.37, n.1, p.44-51, 2003.

GERONEMUS, R.G.; MERTZ, P.M.; EAGLSTEIN, W.H. The effects of topical antimicrobial agents in wound healing. **Archives of Dermatology**, v.8, n.11, p.1311-4, 1979.

GYEDU-AKOTO, E.; ODURO, I.; AMOAH, F.M.; OLDHAM, J.H.; ELLIS, W.O.; OPOKU-AMEYAW, K. Rheological properties of aqueous cashew tree gum solutions. **Scientific Research and Essays**, v.2, n.10, p.458-61, 2007.

HAN, S.B.; LEE, C.W.; JEON, Y.J.. The inhibitory effect of polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. **Immunopharmacology**, v.41, n.2, p.157-64, 1999.

KWEON, D.K. et al. Preparation of water-soluble chitosan/heparin complex and its application as wound healing accelerator. **Biomaterials**, v.24, n.9, p.1595-601, 2003.

MAGALHÃES, M.S.F. et al. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.23, p.262-9, 2008.

MARTINS, E.F. et al. Influência da lanolina na cicatrização. **Saúde em Revista**, v.7, n.16, p.19-25, 2005.

MATOUSKOVÁ, J.; CHALUPA, J.; CÍGLER, M.; HRUSKA, K. **STAT Plus – Manual, version 1.01 (in Czech)**. Brno: Veterinary Research Institute, 1992. 168p.

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, p.732-41, 2009.

MENESTRINA, J.M. et al. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exudates of *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, v.47, n.5, p.715-21, 1998.

NASCIMENTO, M.J.L.; BATISTA, M.C.S. Avaliação macro e microscópica do processo cicatricial de feridas experimentais de camundongos tratadas topicamente com açúcar. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPI, 6., 1998, Teresina. **Anais...Teresina: UFPI,1998.**

NOGUEIRA, V.C. **Análise da cicatrização de feridas por segunda intenção com o uso do ultra-som terapêutico associado ao curativo filme semipermeável.** 2008. 94p. Dissertação (Mestrado- Área de Concentração em Engenharia Biomédica) – Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos.

PAIVA, M.G. **Utilização do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em cicatrização experimental.** 2003. 56p. Dissertação (Mestrado- Área de Concentração em Bioquímica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PAULA, R.C.M.; RODRIGUES, J.F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudates polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymers**, v.26, p.177-81, 1995.

PFIZER. Trofodermin (acetato de clostebol/sulfato de neomicina). Disponível em: <http://www.pfizer.com.br/arquivoPdf/Trofodermin.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2010.

PRATA, M. et al. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas, estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.3, n.2, p.43-8, 1988.

PORTO, A.L.F. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, p.148-54, 2006.

POTIER, G.M.A.; FALCÃO, S.C.; CRUZ, A.F. A utilização da seiva da bananeira na cicatrização de feridas por segunda intenção. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12., 1992, Curitiba. **Anais...Curitiba: 1992.**

RATNER, B.D.; BRYANT, S.J. Biomaterials: where we have been and where we are going. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v.6, p.41-75, 2004.

SARUBBO, L.A. et al. A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como sistema inovador de extração líquido-líquido. **Exacta**, v.5, p.145-54, 2007.

SCHIRATO, G.V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

SEGUNDO, A.S. et al. Influência do *Aloe vera* e própolis na contração de feridas em dorso de ratos. **Periodontia**, v.17, n.1, p.5-10, 2007.

SENEL, S.; McCLURE, S.J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Review**, v.56, p.1467-80, 2004.

SHU, C.H.; WEN, B.J.; LIN, K.J. Monitoring the polysaccharide quality of *Agaricus blazei* in submerged culture by examining molecular weight distribution and TNF- α release capability of macrophages cell line RAW 264.7. **Biotechnology Letters**, v.25, p.2061-64, 2003.

SILVA, R.C.L.; FIGUEIREDO, N.M.A.; MEIRELES, I.B. **Feridas: Fundamentos e atualizações em enfermagem**. São Caetano do Sul: Yendis, 2007.

YE, Y.N. et al. Effect of polyssacharide from *Angelica sinensis* on gastric ulcer healing. **Life Sciences**, v.72, p.925-32, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da existência de um vasto arsenal terapêutico direcionado ao tratamento de lesões de pele, persiste a busca por substâncias que sejam úteis no processo de reparação tissular.

Na era atual, tem sido intensificada a pesquisa com substâncias bioidênticas, as quais tendem a produzir efeitos menos agressores ao organismo do que os compostos sintéticos com estrutura diversa dos constituintes biológicos.

No nordeste brasileiro, sobretudo no Estado do Piauí, o cajueiro é uma das árvores frutíferas mais abundantes e os preparados populares com frações de sua casca são comuns, sobretudo entre as classes populares menos favorecidas economicamente.

Trabalhou-se com o polissacarídeo purificado do exsudato do cajueiro (PEEC), nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5%, avaliando o seu papel na reparação de lesões experimentais de pele, e os resultados aqui apresentados ampliam o potencial de indicações terapêuticas do PEEC como um biomaterial que interfere favoravelmente no processo cicatricial, considerando-se que a solução aquosa de PEEC a 1,5% otimiza a fase inflamatória do processo cicatricial reduzindo o desconforto do paciente.

Sugere-se a continuidade dos ensaios clínicos além de pesquisas adicionais no sentido de desvendar os mecanismos específicos desencadeados pelo PEEC no processo de cicatrização.

Espera-se que em breve produtos manipulados a partir do PEEC possam estar disponíveis no mercado, considerando-se que é um composto natural e, possivelmente, causador de menores reações indesejáveis ao organismo, e que a sua matéria-prima é amplamente disponível em várias regiões do País, sendo acessível à grande parte da população.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M.R. Acute inflammation. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis veterinary disease**. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007. p.101-191.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.41, n.1, p.27-51, 2005.

BARBUL, A. History of wound healing. In: BRUNICARDI, F.C.; SEYMOUR, I.; SCHWARTS, D.L.; DUN, D.K.; ANDERSEN, R.E. **Schwartz Surgery**. Ontario: Companion Handbook, 2006. p.25-78.

BATES-JENSEN, B.M. Indices to include in wound healing assessment. **Advanced Wound Care**, v.8, n.4, p.25-33, 1995.

BATES-JENSEN, B.M. Management of exsudate and infection. In: SUSSMAN, C.; BATES-JENSEN, B.M. **Wound care: a collaborative practice manual for physical therapists and nurses**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1998. p.159-177.

BEANES, S.R.; DANG, C.; SOO, C.; TING, K. The phases of cutaneous wound healing. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v.5, n.21, 2003.

BORGES, E.L. Evolução da cicatrização. In: BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; MAGALHÃES, M.B.B.; GOMES, F.S.L.; LIMA, V.L.A.N. **Feridas: como tratar**. 2 ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2008. p.31-43.

BORSCHERS, A.T.; KEEN, L.C.; GERSHWIN, M.E. Mushrooms, tumors and immunity: an update. **Experimental Biology and Medicine**, v.229, p.393-406, 2004.

BRADLEY, M.; CULLUM, N.; NELSON, E.A.; PETTICREW, M.; SHELDON, T.; TORGERSON, D. Systematic reviews of wound care management: (2) dressings and topical agents using in the healing of chronic wounds. **Health Technol Assess**, v.3, n.17, p.1-35, 1999.

CONSERVATION INTERNATIONAL. Biodiversity Hotspots. Disponível em: <http://www.biodiversityhotspots.org/xp/hotspots/Pages/default.aspx>. Acesso em: 10 nov. 2010.

CUZZELL, J.; KRASNER, D. Curativos. In: GOGIA, P. **Feridas – tratamento e cicatrização**. Rio de Janeiro: Revinter Ltda, 2003. p.103-114.

DEALEY, C. Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 68-89.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; BAUDI, D.L.K.; CASTRO, J.H.T. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos essenciais, vitamina A e E, lecitina de soja e iodopolivinilpirrolidona em cães. **Arquives of Veterinary Science**, v.9, n.1, p.1-16, 2004.

DESMOLIERE, A.; REDARD, M.; DARBY, I.; GABBIANI, G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. **American Journal of Pathology**, v.146, n.1, p.56-66, 1995.

DIALLO, D. et al. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, p.159-71, 2001.

DOUGHTY, D.B.; SPARKS-DEFRIESE, B. Wound healing physiology. In: BRYANT, R.A.; NIX, D.P. **Acute and chronic wounds: current management concepts**. 3 ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. p.56-81.

EULÁLIO, J.N.; DANTAS, A.N.M.; GÓES-NETO, A.; BARBOSA JÚNIOR, A.A.; FREIRE, A.N.M. A influência da calcitonina sintética do salmão na cicatrização cutânea de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, n.4, p.237-244, 2007.

FERREIRA, E. et al. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.37, n.1, p.44-51, 2003.

FRANCISCHETTI, I.M.B.; SA-NUNES, A.; MANS, B.J.; SANTOS, I.M.; RIBEIRO, J.M.C. The role of saliva in tick feeding. **Frontiers in Bioscience**, v.14, 2009.

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

GOMES, F.S.L. **Efeito da fração proteolítica de *Carica candamarsensis* na cicatrização cutânea: avaliação pré-clínica e clínica fase I**. Belo Horizonte, 2009. 270p. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Universidade Federal de Minas Gerais.

GUIDOGLI-NETO, J. The effect of roentgen radiation on the capillary sprontsonal superficial loops of granulation tissue I: quantitative study of the vascular volume. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v.1, p.6-8, 1987.

GUL, N.Y.; TOPAL, A.; CANGULT, I.T.; YANIK, K. The effects of topical tripeptide copper complex and helium-neon laser in wound healing in rabbits. **Veterinary Dermatology**, v.19, n.1, p.7-14, 2007.

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.36, n.4, p.667-685, 2006.

HOWEL, J.P.; MAQUART, F.X. La cicatrisation. **La Reserch**, v.22, n. 236, p.1174-1181, 1991.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427p.

KENNEDY, J.F.; WHITE, C.A. **Chemistry, Biochemistry and Biology**. London: Ellis Horwood, 1983. cap. 4

KWEON, D.K. et al. Preparation of water-soluble chitosan/heparin complex and its application as wound healing accelerator. **Biomaterials**, v.24, n.9, p.1595-601, 2003.

LARSSON, C.E.; LARSSON JÚNIOR, C.E. Terapêutica tópica e sistêmica: pele, ouvidos e olhos. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 142-199.

LEVENE, A.D. Breve historia de la curación de las heridas. **Fórum de Flebología y Linfologia**, v.8, n.1, 2006.

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

LIMA, C.R.O. **Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com barbatimão e quitosana**. Goiânia, 2010. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás.

LIU, F.; OOI, V.E; FUNG, M.C. Analysis of immunomodulating cytokine mRNAs in the mouse induced by mushroom polysaccharides. **Life Sciences**, v.64, n.12, p.1005-11, 1999.

LOPES, G.C.; SANCHES, A.C.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; HERNANDES, L.; MELLO, J.C.P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphillum* Mart. And *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wound in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.99, n.2, p.256-272, 2005.

LULL, C.; WISCHERS, H.J.; SVELKOU, H.F.J. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. **Mediators of Inflammation**, v.2, p.63-80, 2005.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.4, p.393-408, 2003.

MARGULIS, A.; CHAOUAT, M.; BEM-BASSAT, H.; ELDAD, A.; ICEKSON, M.; BREITERMAN, S.; NEUMAN, R.; Comparison of topical iodine and silver sulfadiazine as therapies against sulfur mustard burns in a pig model. **Wound Repair and Regeneration**, Denmark, v.15, p.916-921, 2007.

MARTINS, E.F. et al. Influência da lanolina na cicatrização. **Saúde em Revista**, v.7, n.16, p.19-25, 2005.

MARTINS, N.L.P.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M.; HEIBEL, M.; BALDEZ, R.N.; VASCONCELOS, P.R.L.; MOREIRA, H.; MAZZA, M.; NASSIF, P.A.N.; WALLBACH, T.Z. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phaletara* (Babaçu). Estudo comparativo em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, n.3, p.66-75, 2006.

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, p.732-41, 2009.

MENESTRINA, J.M.; IACOMINI, M.; JONES, C.; GORIN, P.A.J. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exudates of *Anacardium occidentale* L. *Phytochemistry*, v.47, p.715-721, 1998.

MENEZES, F.F.; COELHO, M.C.O.C.; LEÃO, A.M.A.C.; Avaliação clínica e aspectos histopatológicos de feridas cutâneas de cães tratadas com curativo temporário de pele. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.2, n.4, p1-3, 2008.

METCALFE, A.D.; FERGUSON, M.J.W. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. **Journal of the Royal Society Interface**, v.4, n.14, p.413-437, 2007.

NIX, D.P. Patient assessment and evaluation of healing. In: BRYANT, R.A.; NIX, D.P. **Acute and chronic wounds: current management concepts**. 3 ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. 674p. p.130-148.

NOGUEIRA, R.C.; CERQUEIRA, H.F.; SOARES, M.B.P. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. *Expert Opinion Ther. Patents*, v.20, n.2, p.1-13, 2010.

OLIVEIRA, H.P. Traumatismos nos animais domésticos. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária**, v.1, n.7, p.1-57, 1992.

ORGILL, D.; DEMLING, R.H. Current concepts and approaches to wound healing. **Critical Care Medicine**, v.16, n.9, p.899, 908, 1988.

PAIVA, M.G. **Utilização do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em cicatrização experimental**. 2003. 56p. Dissertação (Mestrado- Área de Concentração em Bioquímica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PAULA, R.C.M.; RODRIGUES, J.F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate Polymers*, v.26, p.177-181, 1995.

PEDRINACI, S.; ALGARRA, I.; GARRIDO, F. Protein-bound polysaccharide (PSK) induces cytotoxic activity in the NKL human natural killer cell line. **International Journal of Clinical and Laboratory Research**, v.29, n.4, p.135-40, 1999.

PEREIRA, A.M.; ARIAS, M.V.B. Manejo de feridas em cães e gatos – revisão. **Clínica Veterinária**, v.7, n.38, p.33-42, 2002.

POSER, G.L.V. Polissacarídeos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p.497-504.

RATNER, B.D.; BRYANT, S.J. Biomaterials: where we have been and where we are going. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v.6, p.41-75, 2004.

REDETEC. *Anacardium occidentale* L. Disponível em: www.redetec.org.br. Acesso em: 05 nov. 2010.

RICH, L.; WHITTAKER, P. Collagen and picosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. **Brazilian Journal of Morphological Science**, v.22, n.2, 97-104, 2005.

RINAUDO, M.; MILLAS, M. Polieletrólitos. In: GROOTE, R.A.M.C.; CURVELO, A.A.S. (ed.) São Carlos: Editora da USP, 1991.

RODRIGUES, J.F.; PAULA, R.C.M.; COSTA, S.M.O. Método de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Polímeros: ciência e tecnologia**, v.3, n.1, p.31-36, 1993.

ROBERTSON, D.B.; MAIBACH, H.I. Farmacologia Dermatológica. In: KATZUNG, B.G.(ed) **Farmacologia Básica e Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 851-866.

RUSHTON, I. Understanding the role of proteases and pH in wound healing. **Nursing Standart**, v.21, n.32, p.68-74, 2007.

SARUBBO, L.A.; OLIVEIRA, L.A.; PORTO, A.L.F.; DUARTE, H.S.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A.; LIMA-FILHO, J.L.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; TAMBOURGI, E.B. New aqueous two-phase system based on cashew-nut tree gum and polyethylene glycol. **Journal of Chromatography B**, v.743, p.79-84, 2000.

SARUBBO, L.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; PORTO, A.L.F.; TAMBOURGI, E.B.; OLIVEIRA, L.A. A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como sistema inovador de extração líquido-líquido. **Exacta**, v.5, p.145-54, 2007.

SCHERER, S.S.; PIETRAMAGGIORI, G.; MATHEWS, J.C.; CHAN, R.; FIORINA, P.; ORGILL, D.P. Wound Healing Kinetics of the Genetically Diabetic Mouse. **Wounds**, v.8, n.1, p.1, 2008.

SCHIRATO, G.V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

SEZER, A.D.; HATIPOGLU, F.; CEVHER, E.; OGURTAN, Z.; BAS, A.L.; AKBUGA, J. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: preparation and in vitro/in vivo evaluation. **AAPS PHARMSCITHEC**, v.8, n.2, 2007.

SEGUNDO, A.S. et al. Influência do *Aloe vera* e própolis na contração de feridas em dorso de ratos. **Periodontia**, v.17, n.1, p.5-10, 2007.

SENEL, S.; McCLURE, S.J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Review**, v.56, p.1467-80, 2004.

THE TOTAL VASCULAR FLORA OF SINGAPORE ON LINE. Disponível em: <http://floraofsingapore.wordpress.com/2010/04/13/anacardium-occidentale/> Acesso em: 05 nov. 2010.

TYRONE, J.W.; MARCUS, J.R.; BONOMO, S.R. Transforming growth factor β_3 promotes fascial wound healing in a new animal model. **Archives of Surgery**, v.135, n.10, p.1154-1159, 2000.

VITORINO FILHO, R.N.L.; BATISTA, M.C.S.; VERÇOSA, B.L.A.; SILVA, S.M.M.S.; MACHADO, A.S.F.; BONFIM, J.M.; BRANDÃO, A.A.C.; SOUSA, J.B.B. Avaliação do uso de pomada à base de sementes de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam) na terapêutica tópica de feridas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.28, n.3, p.279-286, 2007.

WALL, M.E.; WANI, M.C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p.239-254, 1996.

WINTER, G.D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. **Nature**, v.193, p.293, 1962.