

Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária
Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos

**USO DO IPÊ-ROXO (*Tabebuia avellanae*) NA CICATRIZAÇÃO
DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

DEOCLES TEIXEIRA DA SILVA

Salvador - Bahia
2006

DEOCLES TEIXEIRA DA SILVA

**USO DO IPÊ-ROXO (*Tabebuia avellanae*) NA CICATRIZAÇÃO
DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Dissertação apresentada à Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos, na área de Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Chalhoub Coelho Lima

**Salvador – Bahia
2006**

**USO DO IPÊ-ROXO (*Tabebuia avellanedae*) NA CICATRIZAÇÃO
DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

DEOCLES TEIXEIRA DA SILVA

Dissertação defendida e aprovada para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos

Salvador, 15 de agosto de 2006.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Marcos Chalhoub Coelho Lima
Universidade Federal da Bahia
Orientador

Prof. Dr. João Moreira da Costa Neto
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. José Humberto Campos
Escola Baiana de Medicina e Saúde Pública

Dedico (*in memoriam*):

Ao meu pai, Osvaldo Exalto da Silva, pelos ensinamentos sobre a vida, respeito à natureza e, acima de tudo, aos valores do que é ser homem.

Ao grande mestre, Prof. José Antonio Tourinho Costa, meu “guru profissional”, pelo incentivo e palavras amigas, pelo exemplo de dedicação e trajetória profissional.

Aos meus cães: Papik, Twig e Adhana, pelas brincadeiras e momentos de alegria e, principalmente, por me ensinarem a compreender melhor a essência do ser animal.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcos Chalhoub Coelho Lima, meu orientador, pela visão técnica, aconselhamentos e paciência, meu muito obrigado.

Aos Senhores Coordenadores do Mestrado: Carlos Roberto Frank, Ricardo Castelo Branco Albinati e José Eugênio Guimarães pela gestão e condução desse “bonde do conhecimento”, pelos exemplos de persistência e devoção a esta grande causa.

Aos patologistas: Prof. Dr. Eduardo Luis Trindade Moreira e Prof^a. Alessandra Estrela da Silva da EMV-UFBA; Prof. Dr. Marco Antonio Cardoso de Almeida e Prof^a. Dr^a Helenemarie Schaer Barbosa da FAMED-UFBA e Dr^a Júlia Souto Miranda do Laboratório Histiocito, pela parte referente ao processamento e exame histológico.

Ao Médico patologista Almerio Noronha, doutorando em Patologia Humana no Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz – FIOCRUZ pelo inestimável auxílio no exame histológico e microfotografias, bem como pelas sugestões apresentadas. Saiba que conquistastes um amigo.

Ao Médico Veterinário Orestes Farias da Paixão e toda a sua equipe do Biotério Central da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), por abrir as portas de vossa instituição e pelo auxílio na realização dos procedimentos experimentais.

À Prof^a Ruth Exalta, minha irmã, e Prof^o João Albany Costa, do Dept^o de Engenharia Agrícola, EA-UFBA pela lógica matemática, análises estatísticas e confecções gráficas.

Ao Prof. Dr. João Moreira da Costa Neto da EMV-UFBA pela revisão técnica da dissertação, pela amizade e incentivo constante.

Aos professores deste curso, em especial: Carlos Roberto Frank, Eduardo Luiz T. Moreira, Eliomar P. Socorro, Fernanda W. M. Lima, Joselito N. Costa, José Carlos A. Moura e Ricardo C. B. Albinati pela transmissão do conhecimento e exemplo do fazer aprender.

À amiga e colega da EMV-UFBA Maria Helena Silva, parceira de estrada, conselheira e confidente, obrigada pelo exemplo de vida, por transformar em alegria meus momentos difíceis, e acima de tudo pela luz que emana de ti.

Ao Cel. PM Pedro Boaventura e Cel. Carlos Sebastião Eleutério Filho da PMBA, pela vossa compreensão da importância de aquisição de capacitação técnico-profissional.

À Dr^a Gilka Galvão, da Sanare Farmácia Homeopática, pelo incentivo constante à busca de novos caminhos de cura, e pelo apoio técnico na área de fitoterapia e homeopatia.

Aos familiares, amigos, colegas e funcionários que, mesmo não estando aqui citados, sabem no íntimo, o quanto contribuíram e acreditaram na realização desse sonho, meu muito obrigado.

“Não acrediteis em coisa alguma pelo fato de vos mostrarem o testemunho escrito de algum sábio antigo. Não acrediteis em coisa alguma com base na autoridade de mestres e sacerdotes. Aquilo, porém, que se enquadra em vossa razão, e depois de minucioso estudo for confirmado pela vossa experiência, conduzindo ao vosso próprio bem e ao de todas as outras coisas vivas. A isto aceitai como verdade. Por isso pautai vossa conduta!”

Sakya-Muni (Buda)

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMO	xiv
<i>SUMMARY</i>	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
Biologia da cicatrização de feridas	4
Fase inflamatória	5
Fase proliferativa	13
Fase de remodelagem	30
O Ipê-roxo (<i>Tabebuia avellanedae</i>)	31
Fitoquímica e toxicidade	32
Uso terapêutico do Ipê-roxo (<i>Tabebuia avellanedae</i>)	36
3. ARTIGO CIENTÍFICO	38
Introdução	40
Animais	41
Métodos	42
Técnica operatória	42
Tratamento das feridas	42
Períodos de avaliação	44
Morfometria	44
Avaliação macroscópica	44
Exame bacteriológico	45
Estudo histológico	45
Tensiometria.....	47
Análise estatística	47
Resultados.....	49
Morfometria	49
Avaliação macroscópica.....	51
Exame bacteriológico	54
Estudo histológico	54
Tensiometria	59
Discussão.....	60
Morfometria	62
Avaliação macroscópica.....	64
Exame bacteriológico	65
Estudo histológico	66
Tensiometria	69
Conclusões.....	71
Referências Bibliográficas.....	72

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS	77
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS	88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Valores médios das áreas (cm ²) das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	49
TABELA 2 - Percentual médio de contração em relação ao tamanho original das feridas dos grupos controle (GI) e tratado(GII) no dia de pós-operatório (DPO).	49
TABELA 3 - Valores médios da tensão(g) das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	59
TABELA 4 - Valores percentuais da avaliação qualitativa macroscópica das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	92
TABELA 5 - Valores percentuais da avaliação qualitativa histológica das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	93
TABELA 6 - Resultados da avaliação qualitativa macroscópica das feridas do grupo controle (GI) no dia de pós-operatório (DPO).	94
TABELA 7 - Resultados da avaliação qualitativa macroscópica das feridas do grupo tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	95
TABELA 8 - Resultados da avaliação qualitativa histológica das feridas do grupo controle (GI) no dia de pós-operatório (DPO).	96
TABELA 9 - Resultados da avaliação qualitativa histológica das feridas do grupo tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).	97

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Molde de polietileno	43
FIGURA 2 - Área dorsal demarcada	43
FIGURA 3 - Lesão circunferencial dorsal e paquimetria	43
FIGURA 4 - Paquimetria de ferida	46
FIGURA 5 - Material coletado para bacteriologia	46
FIGURA 6 - Ferida coletada para exame histológico	46
FIGURA 7 - Retalho cutâneo para tensiometria.	48
FIGURA 8 - Dispositivo para tensiometria.	48
FIGURA 9 - Gráfico de regressão da área das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO	50
FIGURA 10 - Macrofotografia de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 3º DPO.	52
FIGURA 11 - Macrofotografia de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7º DPO.	52
FIGURA 12 - Macrofotografia de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10º DPO.	53
FIGURA 13- Macrofotografia de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 14º DPO.	53
FIGURA 14 -Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 3º DPO. HE – 100X	54
FIGURA 15 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7º DPO. HE – 100X	55
FIGURA 16 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7º DPO. TM – 40X	56
FIGURA 17 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10º DPO. HE – 100X	56
FIGURA 18 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10º DPO. TM – 100X	56
FIGURA 19 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 14º DPO. HE – 40X	57

FIGURA 20 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 21º DPO. HE – 40X	58
FIGURA 21 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 21º DPO. TM – 40X	58
FIGURA 22 - Gráfico da mediana do escore de crostas das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.	89
FIGURA 23 - Gráfico da mediana do escore de secreção das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.	89
FIGURA 24 - Gráfico da mediana do escore de inflamação das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO	89
FIGURA 25- Gráfico da mediana do escore de fibroplasia das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.	90
FIGURA 26 - Gráfico da mediana do escore de neovascularização das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO	90
FIGURA 27 - Gráfico da mediana do escore de fibras colágenas das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO	90
FIGURA 28 - Gráfico da mediana do escore de reepitelização das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO	91
FIGURA 29 - Gráfico dos valores médios de tensão (g) das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.	91

LISTA DE ABREVIATURAS

ABFH -	Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas
COBEA-	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DPO -	Dia de pós-operatório
EGF -	Fator de crescimento epidérmico
FDA -	<i>Food Drug Administration</i>
FGF -	Fator de crescimento de fibroblasto
FIOCRUZ -	Fundação Osvaldo Cruz
HE -	Hematoxilina-eosina
IGF -	Fator de crescimento semelhante a insulina
IL -	Interleucina
KGF -	Fator de crescimento de queratinócito
MCP1 -	Proteína quimiotática de monócito
MIP1 -	Proteína inflamatória de macrófago
NGF -	Fator de crescimento de nervo
OMS -	Organização Mundial da Saúde
ON -	Óxido nítrico
PDGF -	Fator de crescimento derivado de plaqueta
SEPLANTEC-	Secretaria de Planejamento, Ciência e Tecnologia
TGF -	Fator transformador de crescimento
TM -	Tricromio de Masson
TNF -	Fator de necrose tumoral
TSB -	Caldo tripticase e soja
UEFS -	Universidade Estadual de Feira de Santana
UFBA -	Universidade Federal da Bahia
UNICAMP -	Universidade Estadual de Campinas
VEGF -	Fator de crescimento do endotélio vascular

SILVA DT. **Uso do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos**. Salvador, Bahia, 2006. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos); Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2006.

RESUMO

O Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) possui atividade antibacteriana, antiinflamatória e antioxidante, e tem sido usado popularmente no tratamento de feridas. Contudo, são raros os estudos que validem esta indicação. Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do Ipê-roxo na cicatrização de ferida cutânea. Utilizaram-se 50 ratos Wistars, machos, adultos, dos quais se retirou um fragmento cutâneo circular da região dorsal, com diâmetro de 1,6 cm. Os animais foram divididos em dois grupos com 25 animais, e cada grupo subdividido em cinco subgrupos de cinco animais, correspondendo aos períodos de avaliações no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º dia de pós-operatório (DPO). No grupo I (GI), controle, foi usado topicamente duas vezes ao dia solução salina a 0.9%, e no grupo II (GII), tratado, foi usada duas vezes ao dia pomada de Ipê-roxo a 10%. Nos DPOs acima, avaliou-se a cicatrização através da medida de área da ferida, percentual de contração, presença de crosta e secreção; qualificação da inflamação, fibroplasia, neovascularização, fibras colágenas e reepitelização. Além de avaliação da resistência à tensão no 14º e 21º DPO, e exame bacteriológico no 3º e 7º DPO. Como resultado, observou-se no 7º DPO, que as feridas do GI possuía uma área média de 0,73cm², e uma taxa de contração de 72,5%; enquanto que o GII possuía uma área média de 0,47cm², e percentual de contração de 82%. Macroscopicamente, no GI as crostas foram exuberantes do 3º ao 10º DPO, ao passo que no GII as crostas foram intensas apenas no 7º DPO. A presença de secreção, no 7º DPO, foi intensa nas feridas do GI e moderada no GII. Histologicamente, o GI apresentou inflamação intensa, no 3º e 7º DPO, já o GII a inflamação foi moderada. A fibroplasia, no 7º DPO, foi moderada no GI e intensa no GII. A neovascularização no 7º DPO foi, de modo semelhante, intensa para os dois grupos estudados. A presença de fibras colágenas, do 7º ao 14º DPO, nas feridas do GI foi moderada, estando dispostas de forma aleatória; enquanto que no GII foi mais intensa e disposta de forma mais organizada. A reepitelização, no 7º e 10º DPO, foi mais acelerada nas feridas do GII que o GI. Finalmente, a resistência à tensão no 14º e 21º DPO foi, respectivamente, nas feridas do GI de 279g e 426g, já no GII foi de 353g e 498g. Diante dos resultados, concluiu-se que a pomada de Ipê-roxo a 10% possui efeitos benéficos à cicatrização de feridas cutâneas.

Palavras-chaves: Cicatrização; feridas; Ipê-roxo; plantas medicinais; *Tabebuia avallanedae*.

SILVA DT. **Use of the Taheebo (*Tabebuia avellanedae*) in the skin wounds healing in rats.** Salvador, Bahia, 2006. 98p. Dissertation (Master of Science in Tropics Animal Science); School of Veterinary Medicine, Federal University of Bahia, 2006.

SUMMARY

The Taheebo (*Tabebuia avellanedae*) is antibacterial activity, antinflammatory and antioxidant, and it has been used in the treatment of wounds. However, studies that validates this indication they are scarce . In this context, this study was accomplished with the objective of evaluating the effect of the Taheebo in the cicatrization of skin wound. It was used 50 rats Wistars, males, adults, us which he left a fragment cutaneous circular of the dorsal area. The animals were divided in two groups with 25 animals each. In the group I (it controls) saline to 0.9% solution was used and in the group II (treaty) ointment was used of Taheebo to 10%. The cicatrization was evaluated in the 3rd, 7th, 10th, 14th and 21st days of postoperative (DPO) through: of the measure of area of the wound; percentage of contraction; the crust presence and secretion; Evaluation of histological of the inflammation, fibroblasts, angiogenesis, presence of fibers collagens and reepithelialisation. Besides evaluation of the resistance to the tension in the 14th and 21st days of DPO. As result, in the 7th DPO it was observed that the wounds of the GI they possessed a medium area of $0,73\text{cm}^2$, and a tax of contraction of 72,5%; while the GII it possessed a medium area of $0,47\text{cm}^2$, and percentage of contraction of 82%. In the GI the crusts were exuberant of the 3rd to the 10th DPO, while in the GII the crusts were intense just in the 7th DPO. The secretion presence, in the 7th DPO, was intense in the wounds of the GI and moderate in the GII. The GI it presented intense inflammation, in the 3rd and 7th DPO, already the GII the inflammation was moderated. The fibroblasts, in the 7th DPO, was moderate in the GI and intense in the GII. The angiogenesis in the 7th DPO was, in a similar way, intense for the two studied groups. The presence of fibers collagens, of the 7th to the 14th DPO, in the wounds of the GI it was moderate, being willing of random form; while in the GII it was more intense and willing of more organized form. The reepithelialisation, in the 7th and 10th DPO, was more accelerated in the wounds of the GII that the GI. The resistance to the traction in the 14th and 21th DPO was, respectively, in the wounds of the GI of 279g and 426g, already in the GII it was of 353g and 498g. It was ended that the ointment of Taheebo to 10%, indeed, bring beneficial effects to the cicatrization of cutaneous wounds.

Keywords: Wound healing; medicinal plants; Taheebo; *Tabebuia avallanedae*;

I. INTRODUÇÃO GERAL

A história do tratamento de feridas se confunde com a história da própria humanidade e do uso de plantas medicinais. Uma múmia, com cerca de 5300 anos, foi encontrada na Itália e junto com ela uma bolsa contendo plantas medicinais, possivelmente, usadas para automedicar-se uma vez que o seu corpo apresentava várias feridas (CANDIDO 2001).

Os primeiros escritos sobre o tratamento de feridas reportam ao “Papiro de Edwin Smith” e o “Papiro de Ebers” (SHARP 2002). O “Papiro de Edwin Smith” data de 1700 AC, mas é uma cópia dos manuscritos originais que remontam cerca de 3000 a 2500 AC. É considerado o mais antigo documento cirúrgico que se destaca pelas orientações sobre o tratamento de feridas. Recomendava suturar as feridas com fio de linho; curativos com gordura e mel para abrandar a dor de uma lesão recente; e fixação de curativos com tiras de linho e adesivo (DEALEY 1996). O “Papiro de Ebers” (1550 AC) registra o tratamento de feridas com o uso de alho, babosa, cebola, óleo de oliva, óleo de rícino, óleo de acácia, mel, pêlos de carneiro e leite (CANDIDO 2001).

Na Grécia antiga Hipócrates (300 AC), o Pai da Medicina, fundamentou o tratamento de feridas (SHARP 2002), as quais deveriam permanecer limpas e secas. Recomendava o uso de vinagre e vinho na limpeza das feridas; aconselhava debridamentos e cauterizações; utilizava plantas medicinais, mel e leite. Hipócrates definiu pela primeira vez a cicatrização por segunda intenção, deixava as feridas abertas para permitir a drenagem das secreções (DEALEY 1996; CANDIDO 2001). Já Celsius (200 DC) definiu a inflamação e relacionou os sinais cardinais de calor, tumor, dolor e rubor; classificou os tipos de feridas; defendeu o debridamento e a limpeza. Celsius acreditava que a supuração acelerava a cicatrização das feridas (DEALEY 1996). No final do século XVI, Ambroise Paré preconizou o princípio da intervenção mínima, afirmou que a cicatrização ocorria naturalmente e questionou os benefícios da presença do pus (CANDIDO 2001).

Na Medicina Veterinária, um dos primeiros escritos foi realizado pelo romano Cato (200 AC), que recomendava o uso de óleo de oliva, extrato de tremoço e vinho para tratamento de feridas em ovelhas. Nesta época as receitas de unguentos e de outras formulações usadas no tratamento de animais eram passadas de pai para filho. Durante o século XVII e XVIII vários médicos, identificando-se com o trabalho veterinário, usaram tratamentos indicados para humanos no

cuidado das feridas em animais. As receitas geralmente continham em sua composição plantas medicinais, vinho e gordura animal. Das plantas medicinais utilizadas citam-se: alecrim, amêndoa, babosa, carvalho, centeio, confrei, couve, cravo-da-índia, figo, gengibre, hera; nabo; salvia; raiz de marmelo, flor de feijão, salvia, samambaia e urtiga (CLEWLOW 2003).

No início do século XX Joseph Lister descreveu as técnicas de assepsia e demonstrou a importância do controle da infecção na ferida (CANDIDO 2001; SHARP 2002). Teve-se o início do uso de agentes anti-sépticos e adstringentes (alumen; sulfato de zinco, sulfato de cobre; cloreto férrico; ácido bórico; lisol; iodoforme e ácido tânico); foi introduzido o uso de substâncias como peróxido de hidrogênio e iodo. Com a introdução da sulfa e penicilina grandes avanços foram alcançados no tratamento de ferida. Com esta grande quantidade de substâncias o uso de plantas medicinais foi reduzido (CLEWLOW 2003).

Entretanto, atualmente, o interesse pelas plantas medicinais ressurgiu na maioria dos países. No Brasil o Ministério da Saúde relacionou cerca de 70 plantas com potencialidades medicinais, que são estudadas quanto às suas propriedades farmacológicas (SCHEFFER et al. 1999). Destas, em torno de 18 espécies são indicadas na medicina popular para o tratamento de feridas. Na Bahia, um levantamento realizado pela Secretaria de Planejamento Ciência e Tecnologia (SEPLANTEC 1979) apontou que das plantas medicinais catalogadas para uso popular, 34 são indicadas na cicatrização de feridas.

O uso popular nos indica espécies potencialmente importantes, porém, se faz necessário a identificação e estudos das plantas que possuam comprovada ação farmacológica e (ou) substâncias biologicamente ativas, conforme os preceitos da Organização Mundial da Saúde (OMS), que recomenda o desenvolvimento de pesquisas visando a utilização de plantas com finalidades terapêuticas (SCHEFFER et al. 1999).

Por outro lado, com o desenvolvimento da biologia celular e molecular, vem ocorrendo um grande avanço no conhecimento do processo de cicatrização de feridas. Com estes novos conhecimentos foram demonstrados os efeitos negativos de várias substâncias sobre a cicatrização, estas incluem, entre outras, o peróxido de hidrogênio, iodopovidine e clorhexidina (DEALEY 1996; CANDIDO 2001). Além dos efeitos adversos dos antibióticos tópicos, que ocasionam riscos de sensibilizações e o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes (DEALEY 1996), o que aumenta o índice de infecções da ferida cirúrgica (RIBEIRO et al. 1996).

TIAGO (1997) argumenta que atualmente existe em todo o mundo uma forte tendência ao aproveitamento de recursos naturais no tratamento de feridas e, principalmente, aqueles já utilizados há muito tempo pela medicina tradicional. A fitoterapia é uma opção disponível, com as vantagens de não apresentar efeitos colaterais; facilidade no cultivo e manipulação; fácil aquisição e baixo custo. Segundo o autor, várias plantas têm sido utilizadas no tratamento de feridas, com resultados comprovados, estas incluem: arnica (*Arnica montana*); babosa (*Aloe vera*); barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*); bardana (*Arctium minus*); camomila (*Matricaria chamomilla*); calêndula (*Calendula officinalis*); centela (*Centela asiática*); confrei (*Symphytum officinale*); erva-de-bicho (*Polygonum sp*); hamamelis (*Hammamelis virginica*); malva (*Malva sylvestris*); mentrasto (*Agerantum conyzoides*); mentruz (*Coronopus didymus*); mil-folhas (*Achillea millefolium*); rubim (*Leonorus sibiricus*); salvia (*Salvia officinalis*) e tanchagem (*Plantago major*).

Dentre as plantas popularmente usadas no tratamento de feridas cita-se o Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*), uma árvore nativa do Brasil, que é encontrada em toda a América Tropical, desde o Brasil até o México. Seu uso com finalidades medicinais remonta à época dos Incas, sendo amplamente utilizada até os dias de hoje (PANIZZA 1997; LÜBECK 2001). Estudos demonstraram várias de suas atividades, destacando-se a ação antimicrobiana e antiinflamatória (LORENZI e MATOS 2002).

Em busca do desenvolvimento de novos e alternativos tratamentos para a cicatrização de feridas, realizou-se um levantamento bibliográfico e constatou-se que o Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) tem sido indicado no tratamento de feridas e úlceras. Porém, esta indicação baseia-se apenas no conhecimento empírico popular, uma vez que os trabalhos experimentais e clínicos que demonstrem o seu efeito sobre a cicatrização de feridas cutânea são raros.

Desta forma se faz necessário avaliar o efeito do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) sobre a cicatrização de feridas cutâneas experimentalmente induzidas em ratos, especificamente: avaliar o percentual de redução do tamanho das feridas sob o efeito do tratamento; verificar os aspectos clínicos macroscópicos; observar histologicamente os elementos do processo de cicatrização como a presença de células inflamatórias, fibroplasia, neovascularização, fibras colágenas e a reepitelização das feridas; determinar o ganho de resistência à tensão das feridas; validar o seu efeito cicatrizante, visando o uso rotineiro no tratamento de feridas em medicina veterinária.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biologia da cicatrização de feridas

O processo de cicatrização de feridas é dividido classicamente em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelagem (TIAGO 1997; CANDIDO 2001; HESS 2002; JENSEN e STEINBERG 2002).

A fase inflamatória representa cerca de 10% do processo de cicatrização (JENSEN e STEINBERG 2002), e dura em média de três a cinco dias (TIAGO 1997; HEDLUND 2001; HESS 2002), caracteriza-se por ocorrer inicialmente uma vasoconstrição e hemostasia transitórias, seguidas por uma vasodilatação com extravasamento de plasma e células, que constituem o exsudato inflamatório (THOMAZ et al. 1996; TIAGO 1997; HESS 2002; JENSEN e STEINBERG 2002).

A fase proliferativa corresponde à aproximadamente 20% do processo de cicatrização, iniciando-se no terceiro ou quarto dia e estendendo-se até o 21^o dia. Caracteriza-se pelo desenvolvimento de novos vasos sangüíneos, proliferação de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, que constituem o tecido de granulação. Nesta fase ocorre também o fenômeno de contração e reepitelização da ferida (TIAGO 1997; JENSEN e STEINBERG 2002).

Por último, a fase de remodelagem ou maturação, que inclui 70% do processo de cicatrização, durante o período de 21 dias até um ano ou mais após a lesão (TIAGO 1997; HESS 2002; JANSEN e STEINBERG 2002). Caracterizada pela redução do número de fibroblastos; maturação e reorganização das fibras colágenas com aumento da força de tensão; trombose e degeneração dos vasos sangüíneos neoformados, formando uma cicatriz fibrosa esbranquiçada (THOMAZ et al. 1996; TIAGO 1997).

2.1.1. Fase inflamatória

Hemostasia

A lesão do tecido causa o rompimento dos vasos sanguíneos e linfáticos com extravasamento de componentes do sangue, iniciando uma resposta vascular e plaquetária com ativação da cascata de coagulação, visando controlar a hemorragia (THOMAZ et al. 1996; DEODHAR e RANA 1997; SINGER e CLARK 1999).

A resposta vascular inicial envolve uma vasoconstrição que dura de cinco a dez minutos, seguida por uma vasodilatação mais persistente (DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al. 1998). As plaquetas são ativadas e aderidas rapidamente na parede do vaso sanguíneo, formando agregados; elas sofrem degranulação liberando substâncias vasoativas que modificam o tônus vascular. Desencadeia-se a cascata de coagulação, iniciando a formação de um coágulo de fibrina que tampona o vaso (THOMAZ et al. 1996; WONG et al. 1996; STADELMANN et al. 1998; SINGER e CLARK 1999). A fibrina desempenha um papel importante na cicatrização de feridas, pois atua como suporte para a migração de fibroblastos e células epiteliais (STADELMANN et al. 1998). A fibrina e o fibrinogênio são posteriormente degradados através da plasmina em um fenômeno chamado de fibrinólise (LEE et al. 2003).

Mediadores químicos da inflamação

Após a vasoconstrição inicial ocorre uma vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, particularmente das pequenas vênulas, com extravasamento de fluido para a área lesionada, ocasionando os sinais clínicos da inflamação: calor, rubor, edema e dor (BOOTHE e BOOTHE JR. 1996; PROBST 1996; THOMAZ et al. 1996). Este processo é desencadeado através de mediadores químicos, provenientes de células ou plasma, tais como: histamina, serotonina, prostaglandinas, leucotrienos, radicais livres de oxigênio, citocinas, óxido nítrico, complemento e neuropeptídeos (KUMAR et al 1994; BOOTHE e BOOTHE JR. 1996; RINGLER 2000).

A histamina e a serotonina são liberadas, principalmente, por mastócitos normalmente presentes no tecido conjuntivo próximo aos vasos sanguíneos, sendo também liberada por plaquetas. Porém, a liberação de serotonina por parte de mastócitos ocorre apenas em roedores (KUMAR et al 1994; BOOTHE e BOOTHE JR. 1996). Elas ocasionam vasodilatação arteriolar, e aumento da

permeabilidade vascular das vênulas (KUMAR et al. 1994). Embora sejam detectadas no exsudato inflamatório inicial, seus efeitos são transitórios (menor que 30 minutos), devido à rápida depleção celular local. Entretanto a liberação de outros mediadores prolonga a resposta inflamatória (BOOTHE e BOOTHE JR 1996; THOMAZ et al. 1996).

Os eicosanóides, tais como: as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxane são mediadores lipídicos derivados do ácido aracdônico que desempenham importantes funções no prolongamento do processo inflamatório (LEE et al. 2003). As prostaglandinas potencializam o efeito de outros mediadores; são potentes agentes vasodilatadores; promovem quimiotaxia em leucócitos; têm efeito pirógeno, sendo o responsável pela febre induzida por interleucina-1 (KUMAR et al. 1994; BOOTHE e BOOTHE JR 1996; LEE et al. 2003); possuem um papel fundamental na diferenciação de queratinócitos; exercem quimiotaxia sobre neutrófilos e macrófagos; influenciam a angiogenese e a reepitelização (LEE et al. 2003). Na fase de fibroplasia as prostaglandinas estimulam a migração e proliferação de fibroblastos. A interação entre prostaglandinas, troboxanos e macrófagos é responsável pela proliferação endotelial. Adicionalmente, tem ações mediadoras na contração do tecido de granulação, durante a cicatrização por segunda intenção (MODOLIN 1992). De forma semelhante as prostaglandinas, os leucotrienos, encontrados no exsudato inflamatório, causam agregação e adesão leucocitária ao endotélio vascular, têm uma poderosa ação quimiotáxica e aumentam a permeabilidade vascular (KUMAR et al. 1994; BOOTHE e BOOTHE JR 1996).

Após a lesão também são liberados radicais livres de oxigênio provenientes dos leucócitos, são eles peróxido de hidrogênio e o radical-hidroxila (OH). O peróxido de hidrogênio pode ser degradado, portanto tem uma ação deletérica limitada; enquanto que o radical-hidroxila tem uma potente ação destruidora, pois não há enzimas que o metabolizem (BOOTH e BOOTH JR 1996; DROGE 2002). Os radicais livres de oxigênio apresentam efeitos positivos e negativos. Os efeitos negativos são a lesão endotelial celular, degradação do ácido hialurônico e do colágeno que formam a matriz extracelular (KUMAR et al. 1994; THOMAZ et al. 1996; DRÖGE 2002). O efeito positivo dos radicais livres de oxigênio é a sua participação na destruição bacteriana. Os macrófagos e neutrófilos em tecidos inflamados produzem-nos em grandes quantidades, potencializando o efeito fagocítico dessas células no foco da ferida. Some-se a isto, o efeito estimulante sobre a atividade funcional de linfócitos T e o aumento da produção de interleucinas. Também foi demonstrado que ratos deficientes no seu metabolismo oxidativo possuem uma resistência reduzida às infecções (DRÖGE 2002).

Um outro mediador extremamente importante é o óxido nítrico (ON). O ON é um gás solúvel de radical livre que utiliza como substrato a L-arginina, sendo produzido por plaquetas, polimorfonucleares, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos. A sua liberação é estimulada por citocinas e produtos bacterianos (TZENG e BILIAR 1997; WELLER 1997; SCHWENTKER et al. 2002; WITTE e BARBUL 2002). Normalmente, na pele íntegra, existe uma produção constante de ON em baixos níveis, este mecanismo mantém a integridade imunológica da pele (WELLER 1997; ATUESTA 2001). Porém após uma lesão, dentro de 24 horas observa-se a presença de ON, com uma expressão máxima entre dois e cinco dias, diminuindo durante os próximos dez dias. Inicialmente, o ON participa da vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, agregação plaquetária, quimiotaxia em leucócitos e ativam linfócitos T (SCHWENTKER et al 2002).

Dependendo da sua concentração nos tecidos o ON pode inibir ou estimular a proliferação celular. Quando em altas concentrações, o ON liga-se ao superóxido formando peroxinitrito, um poderoso oxidante que ocasiona citotoxicidade (TZENG e BILIAR 1997; WELLER 1997). Sugere-se que esta ação explique o efeito bactericida do ON no controle de infecções cutâneas (TZENG e BILIAR 1997). Por outro lado, a presença de colonização bacteriana e a infecção de feridas crônicas, pelo estímulo constante, induzem a produção de grandes quantidades de ON (WITTE e BARBUL 2002).

O ON estimula a reepitelização através da produção de fator de crescimento epidérmico (EGF) (WELLER 1997; ATUESTA 2001). Adicionalmente, a produção de ON pelos fibroblastos pode ser importante durante os estágios inflamatórios da cicatrização, aumentando o fluxo sanguíneo que facilitaria a nutrição e a infiltração celular e, provavelmente, também nos estágios tardios de proliferação e remodelamento, pelo mecanismo de regulação negativa da resposta inflamatória. ON participa também na angiogênese (ATUESTA 2001; SCHWENTKER 2002). Possivelmente, ON participa na síntese e organização do colágeno e influencia na força tênsil da ferida (TZENG e BILIAR 1997; WITTE e BARBUL 2002), bem como contribue para o processo de contração e fechamento de feridas abertas (WITTE e BARBUL 2002).

Um outro grupo de substâncias são as citocinas. As citocinas regulam a atividade celular, principalmente do sistema imune. Exemplos de citocinas são as interleucinas, linfocinas, interferons e fator de necrose tumoral (DÁVILA et al. 1995; LOMONTE 1995; WERNER e GROSE 2003). Elas iniciam e controlam o processo de cicatrização, tendo um comportamento

funcional de redundância e pleiotropismo (DÁVILA et al. 1995; LOMONTE 1995; GRELLNER 2002). As principais citocinas pró-inflamatórias são as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8) e o fator de necrose tumoral (TNF) (GRELLNER 2002). As citocinas são produzidas principalmente por macrófagos ativados, neutrófilos e linfócitos, mas também pelos queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais. A nível sistêmico induz a febre através da síntese de prostaglandinas; esta pirexia limita o crescimento bacteriano. No foco da ferida as interleucinas aumentam a atividade fagocitária de neutrófilos e macrófagos, estimulam a proliferação de linfócitos T e incrementam a liberação de óxido nítrico. Em adição, têm ação pró-coagulante nas células endoteliais e participa ativamente da cicatrização, estimulando a reepitelização, angiogênese e deposição de colágeno (DÁVILA et al. 1995; GRELLNER 2002; WERNER e GROSE 2003).

Igualmente importante é o sistema do complemento. Dentre os componentes do complemento, os mediadores mais importantes são o C3 e C5. Estes fragmentos atuam sobre a membrana celular criando um poro hidrofílico, ocasionando a sua destruição; este processo é importante no controle bacteriano. Simultaneamente, outras células podem ser lesadas o que ocasiona a liberação dos mediadores que desencadeiam vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Portanto, o sistema complemento tem uma ação amplificadora da resposta inflamatória. Ele apresenta um efeito quimiotático para leucócitos e possui atividade opsonizadora, e isto facilita a fagocitose (KUMAR et al. 1992; BOOTHE e BOOTHE JR. 1996; WONG et al. 1996; RINGLER 2000).

Por último, os mecanismos neurogênicos que controlam a perfusão sanguínea e a oxigenação tecidual influenciando, conseqüentemente, a velocidade de cicatrização (SCHAFFER et al. 1998). Os estímulos nervosos afetam os eventos celulares envolvidos na cicatrização, pois as terminações nervosas liberam neuropeptídeos, que também são mediadores de inflamação. Eles causam vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, ativação de mastócitos e efeito quimiotático sobre os leucócitos (BRAIN 1997; SCHAFFER et al. 1998). Apresentam efeitos estimuladores sobre a proliferação de fibroblastos (BRAIN 1997) e queratinócitos, bem como induz o brotamento de novos vasos (SCHAFFER et al. 1998). Danos ao sistema nervoso periférico inibem a cicatrização cutânea, pois afetam a angiogênese, reduzem a quantidade de colágeno produzido, diminuem a força de tração da ferida e afetam a reepitelização, levando a ferida à cronicidade (SCHAFFER et al. 1998). Enquanto que estímulos elétricos trans-cutâneos aumentam o fluxo sanguíneo para a pele, com conseqüente aceleração da cicatrização (BRAIN 1997). É interessante observar que regiões corporais escassamente inervadas tendem a cicatrizar mais lentamente (MARTIN 1997).

Resposta celular inflamatória

Simultaneamente à liberação dos mediadores químicos e ao aumento da permeabilidade vascular, ocorre o extravasamento de plasma e leucócitos no local da ferida, formando o exsudato inflamatório. As funções principais do exsudato são prover à ferida de células capazes de produzir os componentes e mediadores biológicos necessários à diluição de toxinas bacterianas e remoção de contaminantes, bem como à reconstrução tecidual (WONG et al.1996). Inicia-se uma resposta celular fagocítica leucocitária, cujo objetivo primário é a destruição de bactérias, degradação de tecidos desvitalizados e eliminação de corpos estranhos (SINGER e CLARK 1999).

A infiltração dos leucócitos ocorre como resultado da vasodilatação e aumento de permeabilidade vascular que torna o fluxo sanguíneo lento, fazendo com que os leucócitos margeiem o vaso (marginação). Os leucócitos rolam fracamente aderidos ao endotélio pelas proteínas de adesão (selectinas). Uma adesão mais firme ocorre, seqüencialmente, pela ligação de integrinas dos leucócitos com as células endoteliais. Após firme adesão, os leucócitos atravessam o endotélio vascular por meio de diapedese (MULLER 2002). Os leucócitos migram pela ferida inflamada por um processo chamado de quimiotaxia. Substâncias endógenas e exógenas podem agir como agentes quimiotáxicos. Os agentes quimiotáxicos endógenos incluem: componentes do sistema complemento (C5), leucotrienos, citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, TNF). Os agentes exógenos são os peptídeos bacterianos, entre outros (WONG et al 1996; MULLER 2002). Na migração os leucócitos deslocam-se através da aderência com moléculas de fibronectina e, por meio desta, à fibrina exsudada, que funciona como uma rede de sustentação. Esta migração é facilitada pelo aumento da quantidade de ácido hialurônico na matriz extracelular, que a torna mais fluida, com um aspecto de gel (ADZICK 1999).

Na fagocitose, os leucócitos (neutrófilos e macrófagos) reconhecem e englobam bactérias, células degeneradas, restos de tecidos desvitalizados e corpos estranhos, limpando a ferida. O reconhecimento ocorre através de opsonização da partícula. No englobamento a partícula é envolvida por pseudópodos até ser incluída no fagossomo, este se funde com o lisossomo, formando o fagolisossomo. Uma vez englobada, a partícula é digerida por enzimas lisossômicas, estas incluem: proteases (colagenase, elastase), hidrolases ácidas, defensinas, lisozima e mieloperoxidase. As partículas também sofrem ações de radicais livres de oxigênio e do óxido nítrico (KUMAR et al. 1992; RINGLER 2000).

Durante a fagocitose ocorre a liberação no ambiente da ferida de enzimas lisossômicas, que podem lesar as fibras colágenas, fibras elásticas e os glicosaminoglicanos da matriz extracelular. Somando-se a isto, existe uma ação deletérica dos radicais livres e óxido nítrico que escapam dos fagócitos (BOOTHE e BOOTHE JR 1996; THOMAZ et al. 1996; RINGLER 2000).

Os neutrófilos são o tipo celular predominante nas primeiras 6 a 24 horas da fase aguda da inflamação. Eles têm uma vida curta degenerando-se após 24 a 48 horas, formando exsudato; o que não indica necessariamente uma infecção. Sua principal função é a destruição bacteriana, protegendo a ferida de infecção (DEODHAR e RANA 1997; ADZICK 1999; LINGEN 2001), também, liberam radicais livres de oxigênio e enzimas lisossômicas (protease, colagenase, elastase) (STADELMANN et al. 1998). Foi especulado que nas três primeiras horas do ferimento, os neutrófilos possuem um papel decisivo, durante as quais a colonização bacteriana pode ser estabelecida e um potencial para infecção é criado (STADELMANN et al. 1998). Todavia, dados revelam que em animais neutropênicos com feridas não infectadas a cicatrização processa-se normalmente; porém, se existe infecção, a neutropenia retarda a cicatrização (THOMAZ et al. 1996; ADZICK 1999).

A cicatrização pode ocorrer na ausência de neutrófilos, mas se os macrófagos não estão presentes ocorre um retardo ou ausência da cicatrização (LINGEN 2001), determinado pelo marcante retardo no debridamento da ferida, atraso na fibroplasia e angiogênese, redução da síntese de colágeno, e deficiente remodelagem (THOMAZ et al. 1996; LINGEN 2001).

Os macrófagos são as células mais importantes da fase inflamatória, permanecendo ativos por tempo mais prolongado que os neutrófilos, cerca de três a cinco dias. Os macrófagos presentes na área da inflamação consistem de duas populações: uma menor residente, pertencente ao tecido local, que é ativado e prolifera-se sob estímulo adequado; e uma outra população majoritária que é recrutada diretamente da circulação sob a forma de monócitos, que chegando ao foco da ferida convertem-se em macrófagos, iniciando a fagocitose (THOMAZ et al. 1996).

O recrutamento e, principalmente, a ativação de monócitos e macrófagos depende da ativação do endotélio e a produção de mediadores quimiotáticos, por parte de plaquetas e macrófagos residentes. Duas quimiocinas participam desse processo, que são a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e a proteína inflamatória de macrófagos (MIP-1). Elas são encontradas em concentrações elevadas na fase inflamatória de cicatrização, ativando monócitos e macrófagos,

estimulando, possivelmente, fibroblastos e células endoteliais, favorecendo o crescimento epitelial, a angiogênese e a síntese de colágeno (DI PIETRO et al. 1998; LOW et al. 2001). Portanto, o bloqueio de MIP reduz drasticamente a infiltração de macrófagos, a atividade angiogênica e a síntese de colágeno, retardando a cicatrização (DI PIETRO et al. 1998).

Por outro lado, existe o fator inibidor de macrófago (MIF) que é produzido por fibroblastos, queratinócitos e pelos próprios macrófagos. Esta regulação autócrina é desencadeada por TNF e IL-1, sendo importante, na medida em que limita a ação deletérea fagocitária (proteases, colagenases, radicais livres de oxigênio) sobre as células em proliferação (BOOTCOV et al. 1997; ABE et al. 2000). Ao passo que, o MIF inibe a atividade de macrófagos, de outro lado, estimula a proliferação de queratinócitos e fibroblastos; some-se a isto, o fato de que o bloqueio de MIF retarda a cicatrização (ABE et al. 2000).

Uma vez ativados, os macrófagos desempenham varias funções, que incluem: endocitose de corpos estranhos e restos teciduais; citotoxicidade; síntese de citocinas e fatores de crescimento (LINGEN 2001); secreção de proteases e peptídeos vasoativos; estimulam a proliferação e quimiotaxia de fibroblastos e células endoteliais (DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al 1998). A atividade angiogênica dos macrófagos deve-se à produção de fatores de crescimento, estimulados pelo ambiente hipóxico da ferida. Mais adiante, na fase de remodelamento, os vasos neoformados serão degenerados por influencia de macrófagos (LINGEN 2001).

A síntese dos fatores de crescimento pelos macrófagos é influenciada pelo micro-ambiente da ferida. Com o ferimento, ocorre o comprometimento da irrigação sanguínea local, devido à lesão vascular e a formação da crosta. Os macrófagos e neutrófilos que estão em atividade consomem grandes quantidades de oxigênio. Esses dois fatores, aliados, causam uma redução da tensão de oxigênio e tornam o ambiente hipóxico. A glicólise celular aumenta a concentração de ácido láctico ocasionando uma redução local de pH. Dessa forma, o micro-ambiente da ferida é hipóxico, acidótico, hipoglicêmico, hiperlático, hipercálcico e hiperpotassêmico, o que predispõe uma liquefação dos tecidos (WONG et al. 1996; RINGLER 2000).

Mais tardiamente, os linfócitos infiltram-se na ferida. Mesmo que o papel dos linfócitos não seja bem definido, eles, provavelmente, auxiliam a cicatrização, ao secretarem citocinas que são mitógenas e quimiotáxicas para fibroblastos; e ao removerem neutrófilos degenerados (STADELMANN et al. 1998). Os linfócitos B não têm participação na cicatrização, entretanto os

linfócitos T infiltram-se na ferida em torno do quinto dia. Sua participação no processo de reparo é mediada, em parte, pela liberação de linfocinas (IL-1, IL-6 e TNF); outras linfocinas (IL-2, IL-3 e IL-4) não são encontradas na ferida. As linfocinas são capazes de modularem a proliferação e migração de fibroblastos, bem como a síntese de colágeno. A depleção de linfócitos T ocasiona uma redução marcante na força de tensão de feridas e na quantidade de colágeno. Acrescente-se o fato, de que substâncias que suprimem a função de linfócitos T, como corticosteróides, ácido retinoico e ciclosporina, prejudicam notadamente a cicatrização. Em contraste, a administração de substâncias, conhecidas por aumentarem a função tímica e de linfócitos T, como hormônio de crescimento, vitamina A e arginina causam um aumento da força de tensão e maior deposição de colágeno (SCHAFFER e BARBUL 1998).

De acordo com NOLI e MIOLO (2001), a resposta celular inflamatória também envolve os mastócitos. Os mastócitos encontram-se aderidos à parede exterior dos vasos, e sofrem degranulação, liberando mediadores de inflamação (histamina, protease, TNF e metabólitos do ácido araquidônico) que ativam, principalmente, as células endoteliais e induzem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Em troca, as células endoteliais influenciam a atividade funcional dos mastócitos, por secretarem IL-3 e trombina, as quais aumentam a migração e proliferação local dessas células. O fator transformador de crescimento (TGF) e a MCP, também tem efeitos estimulantes sobre os mastócitos. Além do controle da atividade vasomotora, os mastócitos participam da dissolução do coágulo temporário. Também, induzem a liberação do fator de crescimento de nervo (NGF) e de neuropeptídeos, que causam uma redução no limiar nociceptivo, responsável pela hiperalgesia que geralmente ocorre na área da ferida. Como resultado da liberação dos mediadores, os mastócitos participam da proliferação e migração das células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos e terminações nervosas, o que evidentemente conduz à cicatrização (NOLI e MIOLO 2001).

Certamente, na resposta celular inflamatória, os macrófagos são indispensáveis para que ocorra o processo de cicatrização, tendo um papel fundamental na transição da fase inflamatória para a fase proliferativa, na medida em que produzem os fatores de crescimento, que estimulam a proliferação de fibroblastos e a formação de fibras colágenas. Os macrófagos auxiliam o desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, que trazem oxigênio e nutrientes para a ferida. Adicionalmente, nas feridas que cicatrizam por segunda intenção, os macrófagos fazem parte do tecido de granulação (DEALEY 1996).

2.1.2. Fase proliferativa

O papel dos fatores de crescimento

Os fatores de crescimento são polipeptídeos liberados por vários tipos celulares no local da ferida, tendo a capacidade de estimular ou inibir a proliferação, migração e a atividade celular. Podem agir de forma autócrina [sintetizado pela célula para atuar sobre si mesma], parácrina [sintetizado por um tipo celular, agindo em outro tipo celular na mesma área] (WONG et al. 1996; ADZICK 1999), endócrina [sintetizado distante e transportado para atuarem no local] (WONG et al. 1996). Eles têm a capacidade potencial de cicatrizar feridas, estimulando a angiogênese e proliferação celular, participando da produção e degradação da matriz extracelular, e atraindo células inflamatórias e fibroblastos para o local da ferida (STADELMANN et al. 1998). Mudanças no padrão de expressão dos fatores de crescimento ocasionam um retardo na cicatrização, e provavelmente, alterações na concentração de um fator afetam a produção de outro fator (WERNER e GROSE 2003). Dos fatores de crescimento conhecidos, destacam-se: o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator transformador de crescimento (TGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de queratinócitos (KGF), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e o fator de crescimento de nervo (NGF) (WERNER e GROSE 2003).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), é produzido pelos fibroblastos, e estimulam a síntese de proteoglicanos e colágeno (COHEN et al. 1996). A utilização isolada de IGF em feridas ocasionou efeitos mínimos na cicatrização, porém quando associado a PDGF observou-se uma aceleração na cicatrização (HELDIN e WESTERMARK 1999).

O fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF) é secretado por plaquetas, macrófagos ativadas, células endoteliais e fibroblastos (WONG et al. 1996; HELDIN e WESTERMARK 1999). O PDGF é envolvido com a fase inflamatória, onde estimula a ativação e quimiotaxia de macrófagos. Enquanto na fase proliferativa ele estimula a proliferação e migração de fibroblastos, a síntese de colágeno, e ativa as células endoteliais, iniciando a angiogênese (WONG et al. 1996; WERNER e GROSE 2003); bem como estimula a formação dos componentes da matriz extracelular, tais como fibronectina, proteoglicanos e ácido hialurônico; além de estimular o fenômeno de contração e remodelamento da ferida (HELDIN e WESTERMARK 1999).

Vários estudos têm demonstrado o efeito do PDGF usado topicamente em diferentes espécies de animais (rato, coelho, cobaio, suíno, cão e macaco) observando-se um incremento na formação de tecido de granulação, com uma taxa aumentada de fibroplasia, angiogênese e reepitelização (HELDIN e WESTERMARK 1999). O PDGF é o único fator de crescimento disponível comercialmente e aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA). Ele é composto de becaplermina, um derivado de plaqueta de hemácia bovina, e é indicado em casos específicos, como úlcera neuropática crônica diabética (CANDIDO 2001). O uso de PDGF em humanos tem mostrado resultados encorajadores (HELDIN e WESTERMARK 1999).

O fator transformador de crescimento (TGF) é produzido por células endoteliais, plaquetas, macrófagos, fibroblastos e queratinócitos (WERNER e GROSE 2003). A liberação plaquetária de TGF no local da ferida, inicialmente baixa, estimula a quimiotaxia de neutrófilos, monócitos e linfócitos T, com a liberação de citocinas (IL-1, IL-6, TNF) e PDGF. Porém, quando a concentração de TGF aumenta, suprime a ativação de linfócitos T e inibe a migração de neutrófilos; nos macrófagos a produção de radicais livres de oxigênio e óxido nítrico é bloqueada. Portanto, o efeito regulador do TGF depende de sua concentração e fase do processo de cicatrização (BORDER e NOBLE 1994; LANDEROS et al. 2003; PANDO 2003). Ele pode funcionar como agonista ou antagonista da proliferação celular e inflamação (BORDER e NOBLE 1994).

O TGF estimula a migração e proliferação de fibroblastos e a formação de novos vasos, bem como incrementa a produção de componentes da matriz extracelular. O TGF inibe a secreção de enzimas de degradação, como as proteases (colagenase, elastase). Esta diminuição da síntese de proteases causa uma deposição de proteínas na matriz, a qual é importante para o processo de cicatrização (BORDER e NOBLE 1994; BOOM et al. 2002; LANDEROS et al. 2003). Além disso, o TGF aumenta a contração de feridas, pois estimula a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, ativa a actina de músculo liso, colágeno e fibronectina (TATESHITA et al. 2001; BOOM et al. 2002).

O efeito de TGF em reepitelização parece paradoxal. Sua expressão por queratinócitos após a lesão, junto com o efeito inibitório sobre a proliferação de queratinócitos, sugere que o TGF inibe a reepitelização. Por outro lado, o TGF também induz a migração do queratinócito por sobre a matriz; em adição, a administração de TGF, possivelmente, estimula a reepitelização (WERNER e GROSE 2003). Apesar do TGF possuir, possivelmente, uma regulação negativa sobre a

expressão de queratinócitos, um estudo relata, que ratos tratados com corticosteróide [uma droga que comprovadamente afeta a cicatrização, inibindo a fibroplasia, reepitelização e a expressão de TGF], ao receberem TGF, apresentaram reepitelização normal (FRANK et al. 1996).

O fator de crescimento de fibroblasto (FGF) é encontrado em células endoteliais, macrófagos, e fibroblastos. Exerce efeito quimiotático para células endoteliais e macrófagos, estimulam a proliferação de fibroblastos e apresenta um papel de destaque na angiogênese (BIKFALVI et al 1997; WERNER e GROSE 2003). Estudos têm observado o efeito positivo do FGF sobre a cicatrização. Um estudo demonstrou que ratos transgênicos deficientes em FGF apresentam atraso na cicatrização, com reepitelização deficiente, síntese e deposição de colágeno reduzido e crostas mais grossas na ferida (WERNER e GROSE 2003).

A reepitelização é diretamente estimulada por dois outros fatores de crescimento: o fator de crescimento epidérmico (EGF) e o fator de crescimento de queratinócitos (KGF). O EGF é produzido através de células epiteliais na ferida. Encontrado-se na saliva, lágrima, urina, líquido amniótico, leite e secreções gastro-intestinais. O EGF liga-se com os fibroblastos e queratinócitos, estimulando-os à proliferação e migração, estando dessa forma, principalmente envolvido com o crescimento epitelial e crescimento de pelos (ACOSTA e LIZAMA 1998). O KGF é secretado pelos fibroblastos e participa da proliferação de células epiteliais, estimulando a multiplicação de queratinócitos. Têm efeito citoprotetivo contra a ação de radicais livres de oxigênio, quimioterapia e radioterapia (BRAUN et al. 2002).

O fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) é um regulador da angiogênese, indicando que também poderia ser envolvido na cicatrização de feridas. É secretado por macrófagos e queratinócitos após lesão cutânea, além de serem encontrados receptores em neovasos do tecido de granulação. Durante a cicatrização além da neovascularização, ocorre a linfangiogênese, e o VEGF participa desse processo. Os vasos linfáticos surgem simultaneamente com os vasos sanguíneos, porém regridem mais cedo. O uso de VEGF em feridas isquêmicas mostrou-se benéfica à cicatrização (WERNER e GROSE 2003).

Finalmente, o fator de crescimento de nervo (NGF) é um estimulante da regeneração de neurônios, que é um evento importante na cicatrização, uma vez que feridas cutâneas causam lesão anatômica e funcional de neurônios sensoriais periféricos distribuídos na pele. O NGF é produzido por muitos tipos de células inclusive fibroblastos, queratinócitos, mastócitos, e

linfócitos T, tendo sido demonstrados os seus efeitos benéficos na cicatrização. Animais tratados com NGF apresentaram um aumento na taxa de contração de feridas, aumento do conteúdo de colágeno, maior proliferação e migração de fibroblastos e queratinócitos; ocorreu uma aceleração da formação de tecido de granulação, reepitelização e remodelação. E mais, a aplicação tópica de NGF em ratos promoveu a cura de úlceras de pressão (NITHYA et al. 2003).

Tecido de granulação

Com a ativação de macrófagos e a síntese de fatores de crescimento, a área lesionada começa a ser preenchida pelo tecido de granulação por volta do terceiro ao quinto dia (DEODHAR e RANA 1997). Macroscopicamente, a superfície do tecido de granulação parece conter muitos grânulos de coloração avermelhada, que são as extremidades dos novos capilares que brotam perpendicularmente à superfície, e sangram facilmente quando manipulados (RINGLER 2000). Em condições normais de cicatrização, o tecido de granulação apresenta-se firme e sem crescimento exuberante, cobrindo toda a ferida. O seu surgimento reveste de importância na cicatrização por segunda intenção, por ser resistente às infecções e facilitar a contração e reepitelização da ferida (OLIVEIRA 1987).

Microscopicamente, o tecido de granulação caracteriza-se pela proliferação de vasos neoformados e fibroblastos. Os macrófagos estão frequentemente presentes. Se persistirem estímulos quimiotáxicos, como infecção, os neutrófilos e linfócitos também podem ser observados (THOMAZ et al. 1996). O aspecto granular deve-se à presença dos neovasos. Os macrófagos são uma fonte continuada de fatores de crescimento necessários para estimular a fibroplasia e angiogênese. Os fibroblastos são os responsáveis pela síntese, deposição e remodelamento da matriz extracelular, enquanto que os vasos sanguíneos levam oxigênio e nutrientes às células (SINGER e CLARK 1999). Adicionalmente, as moléculas estruturais da matriz extracelular, recentemente formada, contribuem para a estrutura do tecido de granulação, servindo como uma rede ou canal para a migração celular. Estas moléculas incluem: fibrina, fibronectina e ácido hialurônico (STADELMANN et al. 1998; SINGER e CLARK 1999). Portanto, o tecido de granulação é uma matriz frouxa que aparece, de maneira mais evidente, em feridas que cicatrizam por segunda intenção, sendo constituído por colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, com densa infiltração de macrófagos, fibroblastos e novos capilares (DEODHAR e RANA 1997; ADZICK 1999; RINGLER 2000).

Matriz extracelular

A matriz extracelular é uma estrutura complexa onde interagem vários tipos celulares e seus componentes, que são: colágeno, glicosaminoglicanos, fibronectina, laminina, elastina e tenascina (COHEN et al. 1996). Estes componentes fornecem um arcabouço para a adesão e migração das células que constituem o tecido de granulação (ADZICK 1999). Dos glicosaminoglicanos, o mais importante é o ácido hialurônico, que é sintetizado por fibroblastos e outras células, e apresenta um potente efeito higroscópico. O ácido hialurônico estimula a proliferação tecidual, através da ativação de migração celular, bem como da manutenção do espaço extracelular, facilitando o transporte de íons e nutrientes, além de manter o local da ferida hidratada (MANUSKIATTI e MAIBACH 1996; CHEN e ABATANGELO 1999). Some-se a isto, a ação protetora sobre o tecido de granulação, evitando os efeitos danosos dos radicais livres e das proteases, o que mantém a estabilidade da matriz extracelular (CHEN e ABATANGELO 1999). O uso tópico de ácido hialurônico estimula a cicatrização em ratos (CHEN e ABATANGELO 1999), além de permitir a cura de úlceras cutâneas, por aumentar a fibroplasia e deposição de colágeno no local da ferida. Entretanto, a administração de corticosteróide reduz a quantidade de ácido hialurônico sintetizado, com conseqüente retardo na cicatrização (MANUSKIATTI e MAIBACH 1996).

A fibronectina participa na migração celular, deposição de colágeno, reepitelização e contração da ferida, sendo produzida por fibroblastos, células epiteliais e macrófagos. A fibronectina liga-se a várias moléculas envolvidas na cicatrização, como: colágeno, actina, fibrina, ácido hialurônico, a própria fibronectina, e integrinas na superfície de fibroblastos. Por outro lado, a tenascina e a laminina inibem a adesão e migração celular, respectivamente (ADZICK 1999).

Durante a formação do tecido de granulação, a matriz extracelular sofre reorganização no local da ferida. Inicialmente, forma-se uma matriz extracelular provisória composta de fibrina, proveniente da agregação plaquetária e da coagulação sanguínea, apresentando uma consistência gelatinosa por conter água e eletrólitos. Com a inflamação, os macrófagos infiltrados na ferida degradam e fagocitam a fibrina. Em decorrência da migração e proliferação de fibroblastos, inicia-se a síntese e deposição de fibronectina e ácido hialurônico. À medida que o tecido de granulação vai surgindo, diminui a quantidade de ácido hialurônico e aumenta a deposição de glicosaminoglicanos sulfatados (sulfado de heparan, sulfato de dermatan e sulfato de condroitina), também chamados de proteoglicanos. Os componentes da matriz provisória são degradados por metaloproteinases liberadas por fibroblastos e macrófagos (RINGLER 2000; BEARE et al.2003).

A degradação da matriz extracelular é importante, na medida em que as enzimas proteolíticas a dissolvem, permitindo que as células migrem; além de que as enzimas proteolíticas removem restos celulares e corpos estranhos. Isto permite a formação de novos vasos, a migração e proliferação de fibroblastos e queratinócitos. As metaloproteinases da matriz são: colagenases, gelatinases, estromelisinases e matrilisinas (SAARIALHO-KERE et al. 1993; VU e WERB 2000; OVINGTON 2002; VISSE e NAGASE 2003). As metaloproteinases são enzimas proteolíticas que dependem do zinco no local da ferida para que sejam ativadas. Várias células as produzem, inclusive macrófagos, fibroblastos, neutrófilos, queratinócitos e células endoteliais (VU e WERB 2000; OVINGTON 2002). Todavia, para que a cicatrização seja efetiva, é importante que exista um equilíbrio entre as atividades degradantes das metaloproteinases e as atividades relacionadas com a síntese e deposição dos componentes da matriz para a formação do tecido de granulação, este processo é desempenhado pelos inibidores teciduais das metaloproteinases e zimogenio (OVINGTON 2000; VISSE e NAGASE 2003). Simultaneamente, os fibroblastos passam a sintetizar e depositar colágeno no local da ferida (SINGER e CLARK 1999).

Fibroplasia

Os fibroblastos surgem na ferida entre o segundo e terceiro dia de cicatrização, sendo predominante na primeira semana do processo (STADELMANN et al.1998). Eles são o principal componente do tecido de granulação, sendo células fibrilares alongadas contendo núcleos hipercromáticos roliços e ovóides, que freqüentemente formam feixes (RINGLER 2000).

Os fibroblastos, provavelmente, são originados de fibrócitos do tecido conjuntivo regional e da adventícia perivascular (CHESNEY et al. 1998; STADELMANN et al. 1998). Os fibrócitos do sangue periférico secretam citocinas (MIP, MCP, IL, TNF) e ativam linfócitos T (CHESNEY et al. 1998; ABE et al. 2001). Os fatores de crescimento, principalmente PDGF e TGF secretados por plaquetas e macrófagos, em consonância com as moléculas da matriz extracelular, estimulam os fibroblastos regionais ao redor da ferida a proliferar-se, migrando posteriormente no espaço da ferida através de moléculas de adesão (integrinas). As integrinas permitem a ligação entre os fibroblastos e a fibronectina e (ou) fibrina, e isto parece ser determinante para a formação do tecido de granulação (SINGER e CLARK 1999). O TGF além de regular a deposição de colágeno e formação da matriz extracelular, também estimula a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, dependendo da deformidade da matriz extracelular, mediado por fibronectina (CHIPEV e SIMON 2002).

Os fibroblastos sintetizam uma variedade de substâncias essenciais para o reparo, tais como: glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatan e sulfato de heparina), colágeno, elastina e fibronectina (DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al. 1998). Os glicosaminoglicanos formam um gel amorfo, chamado de substância fundamental, e são importantes na deposição e agregação de fibras colágenas (STADELMANN et al. 1998). A fibronectina não só funciona como um quimioatraente, mas também forma uma rede de fibrina, dando suporte para a migração dos fibroblastos (DEODHAR e RANA 1997).

A migração celular por um coágulo de fibrina ou matriz extracelular requer um sistema proteolítico ativo, que possa abrir um caminho para a célula. As metaloproteinases (colagenases, gelatinases, estromelinas) derivadas de fibroblastos e macrófagos, participam dessa proteólise, além da ação do sistema fibrinolítico de plasmina (SINGER e CLARK 1999).

Durante a fase fibroblástica a produção de colágeno aumenta gradativamente, até aproximadamente três semanas (STADELMANN et al. 1998), quando então, após a deposição de matriz extracelular, os fibroblastos param de sintetizar colágeno, e o tecido de granulação é substituído por uma cicatriz relativamente acelular (SINGER e CLARK 1999). A diminuição da celularidade na cicatrização previne o acúmulo de colágeno excessivo e a contratura da ferida. Esta redução na celularidade ocorre em fibroblastos pelo processo de apoptose, sendo regulado por TGF. Portanto o TGF tanto estimula a proliferação celular inicial, como a inibe em fases posteriores da cicatrização (CHIPEV e SIMON 2002). Se ocorrer um descontrole desse processo, prevalecem a fibrose excessiva e formação de quelóides (SINGER e CLARK 1999).

SVENSJO et al. (2002) observaram que fibroblastos são importantes para a cicatrização de feridas. Eles transplantaram suspensões de culturas de fibroblastos para feridas de suínos; evidenciaram a sobrevivência dos fibroblastos transplantados e a sua integração no tecido de granulação. Os fibroblastos transplantados foram capazes de aumentar a síntese dos fatores de crescimento, pois as células nativas responderam à liberação desses fatores. Além disso, constataram uma aceleração na reepitelização das feridas. Segundo os autores, isto reveste de importância na medida em que, possivelmente, pode-se utilizar culturas de células no tratamento de feridas de difícil cicatrização.

Angiogênese

No tecido de granulação, a formação de neovasos ocorre simultaneamente com a fibroplasia, sendo essencial para a cicatrização, uma vez que o crescimento de novos vasos tem que acompanhar o avanço dos fibroblastos na ferida para prove-los das necessidades metabólicas. Se existir falhas na angiogênese, a migração de fibroblastos e cicatrização da ferida é prejudicada (STADELMANN et al. 1998; ADZICK 1999). A angiogênese envolve a interação entre células endoteliais, fatores angiogênicos e os componentes da matriz extracelular (SINGER e CLARK 1999). O mecanismo da angiogênese é desencadeado pela hipoxia, o que causa a liberação de FGF pelos macrófagos, estimulando o crescimento de células endoteliais (BIKFALVI et al. 1997; SINGER e CLARK 1999).

No início da angiogênese, as células endoteliais de vasos sanguíneos pré-existentes, degradam a membrana basal subjacente, para invadir o estroma da matriz extracelular. Esta degradação ocorre pela ação de enzimas proteolíticas (plasmina e metaloproteinases) (WONG et al. 1996; SINGER e CLARK 1999; LIEKENS et al. 2001; BHUSHAN et al. 2002; JAIN 2003). A plasmina degrada vários componentes da matriz extracelular (fibrina, fibronectina, laminina), além de ativar as metaloproteinases (colagenase, gelatinase) (SINGER e CLARK 1999; LIEKENS et al. 2001). Além dessas enzimas, existe a participação da triptase que é produzida por mastócitos encontrados próximo aos vasos, tendo efeito pró-angiogênico (TONNESEN et al. 2000). A atividade de metaloproteinases e plasmina são controladas, respectivamente, pelos estímulos de fatores angiogênicos e citocinas; e inibidas por inibidores de tecido específicos de metaloproteinases (TIMPs), antiplasmina e inibidores de plasminogênio. A secreção desses inibidores é importante na medida em que controlam a atividade proteolítica local, preservando a estrutura do tecido normal (LIEKENS et al. 2001).

Após a degradação proteolítica, as células endoteliais começam a migrar e proliferar pela matriz degradada, sob o estímulo de fatores angiogênicos. Os fatores angiogênicos incluem o VEGF, FGF, TGF e angiopoetinas (SINGER e CLARK 1999; TONNESEN et al. 2000; LIEKENS et al. 2001). O VEGF estimula a degradação da matriz extracelular; a proliferação, migração e formação de brotos de células endoteliais, e induz nestas células a expressão das enzimas proteolíticas, além de aumentar a permeabilidade vascular (LIEKENS et al. 2001; BHUSHAN et al. 2002; WERNER e GROSE 2003). A síntese de VEGF é induzida por fatores de crescimento e citocinas, sendo regulada pela tensão de oxigênio tissular. A hipoxia estimula a síntese de VEGF,

em contraste, a normoxia a inibe (TONNESEN et al. 2000; LIEKENS et al. 2001; WERNER e GROSE 2003).

A angiopoetina tem ação agonista e antagonista, a depender da presença ou ausência de VEGF, respectivamente (JAIN 2003). A angiopoetina mantém as interações dos vasos neoformados com a matriz extracelular, induzindo estabilização e remodelamento. Se o ambiente da ferida é hipóxico há um efeito pró-angiogênico, porém em normoxia como não há estímulos, ocorre a regressão dos vasos na ausência de VEGF (LIEKENS et al. 2001; JAIN 2003). Outros componentes estabilizadores são as células perivasculares, chamadas de pericitos (BHUSHAN et al. 2002).

O FGF induz a formação de novos vasos e modula a expressão de integrinas, bem como estimula a síntese de VEGF, sendo secretado pelos fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (MARTIN 1997; TONNESEN et al. 2000). O TGF tem atividade pró-angiogênica, recruta e estimula macrófagos que então produzem outros fatores de crescimento e citocinas (TONNESEN et al. 2000). Adicionalmente, o TGF promove a maturação vascular estimulando a produção de matriz extracelular (JAIN 2003).

Os processos de invasão, migração e proliferação de células endoteliais não só dependem de enzimas proteolíticas e fatores de crescimento, mas também de moléculas de adesão celular. As moléculas de adesão permitem a interação entre as células endoteliais e a matriz extracelular, e incluem as integrinas (MARTIN 1997; TONNESEN et al. 2000; LIEKENS et al. 2001; BHUSHAN et al. 2002).

Por outro lado, existem mecanismos reguladores de angiogênese. Dentre estes, destaca-se a trombospodina, que é uma proteína da matriz produzida por várias células, inclusive por células endoteliais dérmicas. A trombospodina armazena-se na membrana basal de vasos inativos da pele normal, porém estão ausentes na cicatrização, durante a fase de brotamento vascular. Quando o ambiente torna-se normoxico há ativação da trombospodina, que tem um efeito antiangiogênico (BHUSHAN et al. 2002). Além da trombospodina, são secretados angiostatina e endostatina. Estes fatores mostram inibição de neovascularização, reduzindo a migração e proliferação de células endoteliais, ocasionando apoptose (JAIN 2003).

Colágeno

Durante a fibroplasia, em torno do 5º e 7º dia, quantidades crescentes de colágeno é sintetizado pelos fibroblastos. O colágeno é o responsável pela estrutura principal do tecido conjuntivo, correspondendo a aproximadamente 30% de toda a proteína corporal, e mais de 50% de proteína da pele. Além da importância como proteína estrutural, que proporciona ao tecido, resistência mecânica e flexibilidade, o colágeno participa da coagulação sanguínea e da cicatrização de feridas (FRIESS 1998). O colágeno proporciona um apoio distinto e específico na maioria dos tipos de células que controlam a migração, multiplicação e apoptose; executando estas funções através do seu reconhecimento por integrinas específicas e transferência de sinais mecânicos (LAPIÈRE 2003).

A síntese de colágeno no tecido de granulação é estimulada pela presença de fatores de crescimento, associados a um ambiente hipóxico e a alta concentração de lactato na ferida (STADELMANN et al. 1998). A síntese inicia-se no interior do fibroblasto, onde a molécula de colágeno é o resultado da associação de moléculas protéicas alongadas, que são três cadeias de aminoácidos, que se ligam umas às outras formando uma configuração de tripla hélice, chamada de pró-colágeno. O pró-colágeno é secretado pelo fibroblasto para a matriz extracelular. Fora do fibroblasto, a tripla hélice é clivada, e as três cadeias entrelaçam-se para formar a unidade básica do colágeno, chamada de tropocolágeno. Os filamentos de colágeno são compostos de unidades de tropocolágenos organizados em uma forma altamente regular. Estes filamentos de tropocolágenos são polimerizados para formar fibrilas de colágeno. As fibrilas se agregam e formam as fibras de colágeno (FRIESS 1998; STADELMANN et al.1998).

Bioquimicamente, o colágeno é composto de glicina, prolina e lisina. Cada um dos eventos de formação da fibra de colágeno é desencadeado por reações enzimáticas, com a participação de co-fatores que controlam o processo. A síntese de pró-colágeno começa com a ativação de prolina e lisina através de hidroxilação, formando hidroxiprolina e hidroxilisina, respectivamente; esta reação requer a presença de oxigênio, combinada com a atividade de co-fatores, que são: ácido ascórbico, íons ferro e lactato. Uma vez que o pró-colágeno seja secretado pelos fibroblastos no meio extracelular, ocorre o entrelaçamento e polimerização das cadeias sob a influência da lisina-oxidase e o cobre, que é o co-fator. As fibras de colágeno formadas interagem com outros componentes da matriz extracelular, como os glicosaminoglicanos, proporcionando a

estrutura necessária para a formação de novos vasos sanguíneo e tecido de granulação, além de fornecer resistência ao reparo (WONG et al. 1996; FRIESS 1998; ADZICK 1999).

A hidroxiprolina e a hidroxilisina são quem fornecem estabilidade à tripla hélice. A hidroxiprolina inclui aproximadamente 10% na composição de aminoácido do colágeno. Através da dosagem de hidroxiprolina o colágeno pode ser quantificado. A formação da hidroxilisina permite a ligação de galactose e glicose, que é importante para a constituição estrutural da tripla hélice. As ligações co-valentes entrecruzadas e a polimerização proporcionam estabilidade e aumentam a resistência do colágeno à tração. O grau de aumentos de ligações entrecruzadas é influenciado pela idade e tensões (FRIESS 1998). A tração estimula o efeito anabólico dos fibroblastos aumentando a deposição de colágeno, enquanto que o relaxamento aumenta a expressão de metaloproteinases na ferida (LAPIÈRE 2003).

Entre o 7º e 14º dia, a síntese de colágeno alcança sua taxa máxima; e fibras de colágeno imaturas tornam-se histologicamente aparentes na ferida (STADELMANN et al. 1998). As fibrilas de colágeno apenas são visíveis à microscopia eletrônica, enquanto que as fibras são visíveis através de microscopia óptica (FRIESS 1998).

São conhecidos treze tipos de colágenos, dentre estes, o colágeno tipo I e o colágeno tipo III que formam fibrilas e são os responsáveis pela maioria da resistência à tração no corpo. O colágeno tipo I é encontrado principalmente na pele, tendão e ossos, e representam mais de 90% do colágeno corporal, caracteriza-se pelo alto conteúdo de hidroxilisina e baixo em hidroxiprolina. O colágeno tipo III é encontrado na pele, artérias, intestino e útero, apresentando alto conteúdo de hidroxiprolina, e baixo em hidroxilisina. Os colágenos do tipo I e tipo III são os mais abundantes na derme, apresentando uma relação aproximada de 4:1 (80% do tipo I e 20% do tipo III). O tecido de granulação é composto principalmente por colágenos do tipo I e colágeno do tipo III (STADELMANN et al 1998; O'TTOLE 2001). Entretanto, a proporção do colágeno tipo III é mais alta no tecido em processo de cicatrização que na pele normal. A quantidade de colágeno do tipo III existente nas feridas em cicatrização aumenta por três a quatro dias antes dos níveis de colágeno do tipo I aumentarem (ADZICK 1999; O'TTOLE 2001). O equilíbrio na proporção entre o colágeno do tipo I e o colágeno tipo III durante o processo de cicatrização é regulado pelo TGF (SHERRAT e DALLON 2002). O excesso de colágeno tipo I relaciona-se com uma redução da remodelação na cicatrização de feridas (LAPIÈRE 2003).

Embora a composição do colágeno seja uma diferença importante entre o tecido em cicatrização e a derme normal, a diferença na orientação das fibras é mais significativa. Na derme normal as fibras de colágeno são organizadas ao acaso, sob a forma semelhante a uma cesta, enquanto que no tecido em cicatrização, há uma direção predominante de alinhamento em sentido perpendicular. É esta diferença no alinhamento da fibra que faz uma cicatriz parecer diferente da pele circunvizinha, e também dá a cicatriz propriedades mecânicas mais pobres, com menor resistência à tensão (SHERRAT e DALLON 2002).

O acúmulo de colágeno na área da ferida depende da correlação entre a síntese de colágeno e a sua degradação pelas enzimas locais. Na fase inicial de cicatrização da ferida, a degradação de colágeno é mínima, porém aumenta à medida que a ferida amadurece (ADZICK 1999). A degradação é realizada por collagenases secretadas por macrófagos, neutrófilos, fibroblastos e queratinócitos (FRIESS 1998; ADZICK 1999). O colágeno que não é adicionalmente entrecruzado é degradado dentro de duas a sete semanas. A degradação de colágeno por estas células pode acontecer depois da fagocitose de fibras clivadas parcialmente, ou por proteases extracelular que agem em pH neutro ou ácido. A ativação de macrófagos causa uma diminuição de pH no micro-ambiente da ferida, juntamente com a excreção de catepsina de macrófagos e neutrófilos, o que proporciona um ambiente ácido para a desestruturação do colágeno (FRIESS 1998). Em pH neutro só as collagenases específicas clivam a trípla hélice. As fibrilas são degradadas como agregados de moléculas de colágeno a partir do exterior. As collagenases ligam-se fortemente a trípla hélice, as quais são clivadas. Após o qual, ocorre a degradação adicional das moléculas de colágeno que é facilitada por enzimas como gelatinases e proteinases não específicas, que clivam fragmentos primários em peptídeos pequenos e aminoácidos. As elastases e catepsinas auxiliam na proteólise de fibras de colágeno que possuem um grau mais alto de ligações entrecruzadas (FRIESS 1998; O'TOOLE 2001).

O processo de degradação é importante na medida em que controla a deposição de colágeno, que em excesso prejudicaria a cicatrização, além de realizar o debridamento da área lesionada, estimulando a reepitelização e remodelação da ferida. Estas ações que proporcionam um aumento da resistência à tensão (DEODHAR e RANA 1997; O'TTOLE 2001; LAPIÈRE 2003).

Contração de feridas

A contração de feridas é o processo pelo qual as extremidades de uma ferida são aproximadas como resultado do movimento centrípeto da pele intacta adjacente para o centro da lesão. Este fenômeno é importante na cicatrização por segunda intenção, onde ocorre uma redução do tamanho da área da ferida (POPE 1996; THOMAZ et al. 1996; COELHO et al. 1999b; MOTT et al. 2003).

A contração inicia-se durante a fase proliferativa ou de formação do tecido de granulação e continua na fase de remodelação da ferida. A atividade contrátil no tecido de granulação evolui de acordo com três fases: uma primeira fase, pré-exponencial, onde as feridas aumentam de tamanho (cerca de 15%) imediatamente após a excisão, devido à tensão externa gerada pelo tecido intacto. Na sequência, a contratilidade do tecido de granulação aumenta lentamente, há um aumento da expressão de actina e de fibronectina. A segunda fase, exponencial, ocorre entre seis e quinze dias depois da excisão e caracteriza-se pela contração logarítmica com redução acentuada da área da ferida; ela é mais duradoura e corresponde ao nível máximo de expressão de actina de músculo liso. E uma última fase, pós-exponencial, durante a qual a contração adicional da ferida é mínima, e o resto do tecido de granulação cicatriza por reepitelização (HINZ et al. 2001; MOTT et al. 2003).

O mecanismo de contração é influenciado, principalmente, pela tensão da ferida, frouxidão do tecido, movimento da área lesada, localização corporal, idade e a presença de musculatura subcutânea em animais, chamada panículo carnoso (POPE 1996; COELHO et al. 1999b; MOTT et al. 2003). A taxa de contração de feridas independe do tamanho do defeito inicial, e é proporcional à área restante a ser coberta. A proporção de não contração relativa é a mesma em feridas pequenas ou grandes. Assim, defeitos pequenos (menos de 1 cm²) e defeitos grandes (mais de 3.5 cm²) são contraídos a extensões semelhantes (71 a 72%), embora existam diferenças entre os tamanhos iniciais das feridas. Quanto à forma, as feridas que podem contrair em comprimento ou largura tomando uma forma mais linear, apresentam maiores taxas de contração. Desse modo, as feridas que são fusiformes ou lineares possuem maior habilidade para contrair-se, enquanto que feridas de forma arredondada ou oval exibem menores taxas de contração (MOTT et al. 2003).

A experiência clínica sugere que as feridas apresentam taxas de contração diferentes a depender da região corporal lesionada e da espécie animal. Os animais podem fechar entre 64 e 75%, excepcionalmente 100%, de uma área da superfície de uma ferida através da contração, devido à presença do panículo carnoso, uma camada de músculo subcutâneo bem definido (SHERRAT e DALLON 2002; MOTT et al. 2003). Em algumas regiões corporais as fibras do músculo estão inseridas na pele, e suas contrações enrugam a pele e produzem pregas temporárias (SISSON 1981), isto possivelmente auxilia a contração. Em um modelo animal de cicatrização por segunda intenção, foi demonstrado que a extensão da contração é um fenômeno específico local, com uma maior contração em feridas localizadas na parte lateral do corpo. Assim, a localização de uma ferida que cicatriza por segunda intenção, pode determinar o papel que a contração exerce em seu fechamento e a quantidade de tecido de granulação depositado (MOTT et al. 2003).

A contração de feridas no tecido de granulação ocorre devido à proliferação e ativação de miofibroblastos. Os miofibroblastos são fibroblastos diferenciados que apresentam a função contrátil de músculo liso, caracterizado pela presença de microfilamentos de actina, além de miosina, vimentina e desmina (POPE 1996; THOMAZ et al. 1996; MARTIN 1997; POWELL et al. 1999; HINZ et al. 2001; FEUGATE et al. 2002). A diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, sua proliferação e ativação, são estimulados pelas presenças de TGF, PDGF, FGF, TNF e IL (POWELL et al. 1999). Provavelmente, o TGF é a citocina mais importante; quando o TGF é colocado em cultura celular de miofibroblastos, estes expressam actina de músculo liso, sendo ativados. O efeito do TGF depende da presença de fibronectina (MARTIN 1997; ARORA et al. 1999; POWELL 1999; TATESHITA et al. 2001; FEUGATE et al. 2002). Outro ponto importante é o efeito estimulante da tensão mecânica sobre a diferenciação e proliferação de miofibroblastos, que aumenta a contratilidade do tecido de granulação. O aumento da tensão, provavelmente, estimula a secreção de fatores de crescimento e a atividade de TGF (STADELMANN et al. 1998; ARORA et al. 1999; HINZ et al. 2001). Entretanto, bloqueando-se o TGF sem alterar a carga mecânica, ocorre uma redução na expressão de actina e conseqüente diminuição da contratilidade (HINZ et al. 2001). Portanto, os miofibroblastos participam no mecanismo de contração de feridas, que auxilia a redução do tamanho da área da ferida. Esta contração ocorre através de microfilamentos de actina-miosina na presença de cálcio, com mudanças no citoesqueleto e expressão de integrinas que ligam os miofibroblastos à matriz extracelular (POWELL et al 1999).

Além da função contrátil, os miofibroblastos apresentam um papel importante na inflamação, sintetizando mediadores de inflamação, tais como prostaglandinas e óxido nítrico; expressam moléculas de adesão, o que proporciona uma ligação dos miofibroblastos com os linfócitos, neutrófilos e mastócitos. Através das integrinas e expressão de fibronectina os miofibroblastos aderem-se à matriz extracelular, participando da formação do tecido de granulação; influenciam na síntese de colágeno, glicosaminoglicanos, fibronectina e tenascina (POWELL et al. 1999). Some-se a isto, a sua participação na angiogênese, mantendo a estabilidade dos vasos sanguíneos neoformados no tecido de granulação (FEUGATE et al. 2002). Entretanto, no que pese a sua participação na reepitelização de feridas, os miofibroblastos não estimulam a proliferação de queratinócitos, apresentando um papel limitado na reepitelização (MOULIN et al. 2000).

A contração da ferida chega ao fim, quando ocorre uma das três seguintes situações. Primeiramente, inibição por contato com cicatrização completa por contração, apresentando a ferida às margens em aposição. Segundo, se a tensão da pele intacta circundante à ferida é superior à força de contração; e terceiro, quando a deposição e maturação de colágeno, principalmente de forma excessiva, e a redução da quantidade de miofibroblastos inibem a contração da ferida, mesmo que as bordas da ferida não estejam em aposição, e mesmo que a pele cicunvizinha esteja frouxa. Nos dois últimos casos, o restante do defeito cicatriza por reepitelização sobre o tecido de granulação (POPE 1996).

Se por um lado, a contração é benéfica durante a cicatrização por segunda intenção; por outro lado esta contração, se excessiva, pode ocasionar contratura que causa deformidade estética com perda da função, a depender da sua localização corporal (STADELMANN et al. 1998; TATESHITA et al. 2001; FEUGATE et al. 2002).

Reepitelização

Se a lesão é superficial, o evento inicial da reepitelização é a migração de células da epiderme não danificadas das margens da ferida, e do epitélio de folículos pilosos e outras estruturas anexas. Este processo ocorre nas primeiras 24 horas após a lesão, e é um evento dirigido, não requerendo um aumento inicial em proliferação celular. Depois que a migração começa, ocorre um aumento da proliferação celular epitelial às margens da ferida, fornecendo células adicionais para a cobertura da lesão. Esta proliferação atinge o pico em dois a três dias, e reflete um aumento mitótico e hiperplasia do epitélio nas margens da ferida (DEODHAR e RANA 1997).

Os queratinócitos participam do processo de reepitelização produzindo fibronectina, colagenase, ativador de plasminogênio, proteases neutras e colágeno. A fibronectina promove a adesão de queratinócitos e os auxiliam na orientação durante a migração por sobre o tecido de granulação. A colagenase e outras proteases são importantes para o debridamento do tecido desvitalizado e abertura de espaços para a reepitelização (SAARIALHO et al. 1993).

Os queratinócitos estendem-se em camadas aderidas à lâmina basal, e tem ligações intracelulares com a rede citoesquelética de queratina. Esta ligação tem que ser desfeita para permitir a migração dos queratinócitos. Durante a migração ocorre a expressão de integrinas e ligação com fibronectina e tenascina da matriz extracelular. A locomoção dos queratinócitos envolve a contração de filamentos de actina-miosina em um movimento rastejante (SAARIALHO-KERE et al. 1993; MARTIN 1997; SINGER e CLARK 1999; O'TOOLE 2001). Embora o citoesqueleto de actina-miosina seja crítico para motilidade do queratinócito, poderia ser presumido que a rede citoesquelética de queratina também participaria deste mecanismo, provendo suporte e força durante a migração. Foi evidenciado, que ratos transgênicos deficientes em queratina apresentam reepitelização prejudicada (WAWERSIK et al. 2001).

As células epiteliais que migram dissecam a ferida, abrindo um espaço para a reepitelização. Para abrir um caminho pelo coágulo de fibrina ao longo da interface entre o coágulo de fibrina e a matriz extracelular, o queratinócito tem que dissolver a barreira de fibrina à sua frente. A principal enzima fibrinolítica é a plasmina, que é derivada de plasminogênio dentro do próprio coágulo, sendo ativada por ativadores de plasminogênio. Várias metaloproteinases são secretadas pelos queratinócitos na ferida. As metaloproteinases degradam colágeno, o que permite a migração dos queratinócitos (SAARIALHO-KERE et al. 1994; MARTIN 1997; VU e WERB 2002; O'TOOLE 2001).

Após 24 a 48 horas da lesão, células epiteliais à margem da ferida começam a proliferar atrás das células que estão migrando. Provavelmente, os estímulos para a migração e proliferação de células epiteliais durante a reepitelização podem ser desencadeados pela ausência de células vizinhas à margem da ferida, bem como pela liberação local de fatores de crescimento e expressão aumentada de seus receptores (SINGER e CLARK 1999; O'TOOLE 2001).

O processo de reepitelização é regulado pelos fatores de crescimento EGF, TGF e KGF. O EGF atua na epiderme estimulando a proliferação e migração de queratinócitos (MARTIN 1997).

O TGF e algumas citocinas pró-inflamatórias parece estimularem a expressão de integrinas que facilitariam a migração dos queratinócitos no tecido de granulação. Por outro lado o TGF inibe a proliferação de queratinócitos (AMENDT et al. 2002). O KGF apresenta um papel fundamental na reepitelização, sendo produzido pelos fibroblastos da derme, e secretado em altas concentrações nas primeiras 24 horas após a lesão, tendo uma maior concentração nas margens da ferida (SHERRAT e DALLON 2002). O uso tópico de KGF em feridas, têm efeitos mitogênicos e migratórios sobre os queratinócitos, além de estimular a liberação de ativadores de plasminogênio e metaloproteinases pelos queratinócitos que migram, aumentando a capacidade da epiderme em dissecar o coágulo. Tal fato pode acelerar a taxa de reepitalização e a cicatrização de feridas. Adicionalmente, ratos que são tratados com corticosteróides e ratos diabéticos, apresentam reepitelização deficiente e possuem baixas concentrações de KGF (MARTIN 1997).

Resíduos de folículos pilosos podem contribuir para a reepitalização, pois as células do folículo piloso agem como células epidérmicas da ferida. Em feridas cutâneas profundas onde o folículo piloso seja totalmente retirado, o epitélio não regenera pêlos; o mesmo também é verdade para as glândulas sudoríparas perdidas no local da lesão. As feridas não regeneram os pêlos, não por que não possa responder a sinais que induzem o crescimento do pêlo, mas porque não recebe o sinal. Quando células de papilas dérmicas foram semeadas em ferida, ocorreu um estímulo para o crescimento de pêlos (MARTIN 1997).

A reepitalização termina quando a superfície da ferida está coberta por uma única camada de queratinocitos. Uma epiderme extratificada nova encontra-se sob a lâmina basal reestabelecendo as margens dentro da ferida. Células da camada suprabasal deixam de expressar integrinas e queratinas e sofrem diferenciação. Os sinais que fazem parar a repitalização incluem a inibição por contato. Com o início da síntese da lâmina basal as metaloproteinases são inibidas, e novas adesões de hemidesmossomas para lâmina basal rejeuntam. Os últimos componentes dos anexos da epiderme que alcança maturidade são as fibrilas que unem a lâmina basal ao tecido conjuntivo subjacente (MARTIN 1997).

A queratinização das camadas externas restabelece a função de barreira normal, impedindo a perda de líquido para o meio externo e a absorção de substâncias tóxicas para o meio interno. O epitélio formado é mais fino e frágil que os epitélios normais, estando fracamente aderido ao tecido cicatricial subjacente (POPE 1996).

2.1.5. Fase de remodelagem

A remodelagem ou maturação é a última e mais longa etapa do processo de cicatrização, que pode durar meses até um ano ou mais. Durante este período, o tecido de granulação regride e o colágeno depositado se remodela, o que proporciona, gradativamente, um aumento da resistência à tração (THOMAZ et al. 1996; DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al. 1998).

Depois da reepitelização, durante a transição entre o tecido de granulação e a formação da cicatriz, há no tecido de granulação, um aumento dos componentes da matriz extracelular, principalmente colágeno. Ocorre uma diminuição da celularidade, mediada por apoptose, que resulta na redução do número de fibroblastos, vasos sanguíneos neoformados (THOMAZ et al. 1996; WONG et al. 1996; COSTA et al. 1999), e de miofibroblastos (COSTA et al. 1999), bem como uma remodelação da matriz extracelular, aumentando conseqüentemente as propriedades mecânicas da cicatriz (THOMAZ et al. 1996; COSTA et al. 1999).

Os fibroblastos encontram resistência na matriz durante a remodelagem, a sua morfologia geral muda de dendrítica para estrelar/bipolar, e as interações entre células e matriz amadurecem de pontos de adesão para adesões focais. Os locais bem organizados de interação entre células e matriz são suficientes para o deslocamento de fibrilas de colágeno. Imediatamente depois da polimerização, as fibras de colágeno são bastante flexíveis e as células remodelam a matriz extracelular (TOMARIZ e GRINNELL 2002).

A remodelação da matriz envolve a síntese continuada de colágeno e sua degradação pelas metaloproteinases, a uma baixa taxa (COSTA et al. 1999; SINGER e CLARK 1999). Com a deposição e remodelação do colágeno, a fibronectina desaparece gradualmente; o ácido hialurônico é substituído por glicosaminoglicanos sulfatados (sulfato de condroitina), sendo posteriormente degradados até atingirem as concentrações encontradas na pele normal (DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al. 1998). Além disso, a água é reabsorvida gradualmente da cicatriz, levando as fibras de colágenos e outros componentes da matriz a ficarem mais intimamente unidos; isto facilita o entrecruzamento das fibras de colágeno que provê o aumento de resistência à tração da cicatriz. Os feixes de colágeno aumentam e são reorientados progressivamente de um padrão desorganizado para uma posição mais paralela à superfície da pele (DEODHAR e RANA 1997). Inicialmente, quando na fase de fibroplasia e deposição de colágeno, o colágeno predominante é do tipo III. Neste momento de remodelação,

ocorre uma redução do colágeno do tipo III, e o colágeno tipo I passa a predominar (WONG et al. 1996; DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al. 1998), retornando gradativamente à relação da pele normal de 4:1 (STADELMANN et al. 1998). Portanto, com a remodelação, mudam as propriedades mecânicas da matriz que em troca pode influenciar a atividade de tração das células (TOMARIZ e GRINNELL 2002).

Neste contexto, as feridas só ganham aproximadamente 20% da força de tração nas primeiras três semanas de cicatrização, durante a qual as fibrilas de colágeno depositadas são remodeladas por contração da ferida. Após esse período o ganho de resistência à tração progride lentamente, refletindo uma redução na deposição de colágeno. Porém, o mais importante, o colágeno em remodelação aumenta o número de ligações entrecruzadas intermoleculares, o que aumenta a sua resistência (SINGER e CLARK 1999). As feridas nunca atingem a mesma força de tração como a da pele normal intacta. A força máxima atingida pelo tecido cicatricial é de 70 a 80 % da força da pele normal (STADELMANN et al 1998; SINGER e CLARK 1999).

O resultado final da remodelação é uma cicatriz fibrosa esbranquiçada composta de fibroblastos de aspecto inativo e fusiforme, colágeno denso, fragmentos de tecido elástico, matriz extracelular e poucos vasos (THOMAZ et al. 1996).

Se ocorrer cicatrização excessiva, o tecido de granulação não regride e são ativadas células, particularmente, miofibroblastos com uma contínua produção de matriz extracelular e formação de cicatrizes hipertróficas, além da presença de contraturas (COSTA et al. 1999).

2.2. O Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*)

Sob o nome genérico de Ipê são conhecidas várias árvores de espécies distintas da família Bignoniaceae encontradas na América Tropical, apresentando sua maior distribuição no Brasil. Dentre algumas das espécies catalogadas destacam-se: o Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) Lord, que possuem flores roxas, róseas ou lilás, tendo como sinonímia científica: *Tabebuia ipê* (Martius), *Tecoma curialis* (Freire), *Tecoma violaceae* (Hub), *Tecoma ipê* (Martius), e as espécies afins *Tabebuia impetiginosa* (Martius) e *Tabebuia serratifolia* (Vahl) que possuem características, componentes químicos, propriedades e usos similares (ALMEIDA 1993; PANIZZA 1997; LÜBECK 2001; LORENZI e MATOS 2002). Outros nomes científicos são

citados: *Tabebuia heptaphylla*, *Bignonia heptaphylla*, *Gelsemium avellanadae*, *Tabebuia nicaraguensis*, *Tecoma adenophylla*, *Tabebuia dugandii* (LÜBECK 2001). Popularmente, o Ipê-roxo é também conhecido como: ipê-cavatã, ipê-comum, ipê-preto, ipê-rosa, ipê-roxo-da-mata, lapacho, pau-d'arco-rosa, pau-d'arco-roxo, entre outros (LÜBECK 2001; LORENZI e MATOS 2002).

Na medicina tradicional, o Ipê-roxo tem uma longa e bem documentada história de uso pela população indígena da América do Sul, desde a época dos Incas, usado pela tribo Callaway para curar muitas doenças (PANIZZA 1997). Várias outras tribos o empregam com finalidades medicinais há centenas de anos. Na Amazônia, as populações indígenas utilizam-no para: anemia; malária; colite; doenças respiratórias; distúrbios gastrointestinais; resfriados; infecções fúngicas; febres; artrite e reumatismo; picadas de cobra; problemas circulatórios; sífilis e câncer (LÜBECK 2001). No Nordeste brasileiro é indicada como adstringente e antiinflamatório em reumatismo, órgãos inflamados, herpes, inflamações da boca, garganta e da vagina (MATOS 1997). Na Bahia, segundo levantamento da Subsecretaria de Ciência e Tecnologia SEPLANTEC (1979), as folhas e entrecasca de Ipê-roxo são empregadas pela população interiorana como adstringente; anti-herpético; contra o câncer da faringe, esôfago, estômago e intestinos.

2.2.1. Fitoquímica e toxicidade

Os resultados de análises fitoquímicas do Ipê-roxo registram como componentes da madeira: naftoquinonas, principalmente o lapachol, a lapachona e alguns de seus derivados (alfa-lapachol, beta-lapachol, dihidro-lapachol), além do lapachenol; furanonaftoquinona, antraquinona, flavonoide (quercetina) e o ácido hidroxibenzóico (STEINERT et al. 1996; ALMEIDA 1997; PANIZZA 1997; LORENZI e MATOS 2002). Apresentam também: taninos; resinas; minerais; saponinas e cumarinas (PANIZZA 1997).

As naftoquinonas geralmente apresentam coloração violeta-avermelhada. Possuem alta reatividade química oxidante; essas reações de oxiredução são importantes em processos metabólicos das células. Assim, as atividades das naftoquinonas baseiam-se na sua capacidade de interagirem com o sistema redox. Elas participam no processo de defesa da planta contra insetos e patógenos; além, de atividade alelopática com a excreção de moléculas capazes de inibir a germinação de outras espécies nas proximidades. O processo de secagem aumenta o poder oxidativo dos componentes da planta (FALKENBERG 2000).

O lapachol e seus derivados são naftoquinonas, que foi estudado originalmente por Patemb em 1882. Posteriormente, foi usado como agente antimalárico em 1940; e estudado por Gonçalves de Lima e colaboradores em 1956, em sua possível atividade antineoplásica (ALMEIDA et al. 1990). Além da possível atividade antineoplásica, ao lapachol e derivados são atribuídos outros efeitos, como: antimicrobiano, antimalárico, antiinflamatório, molusquicida, tripanossomicida, anticonceptivo (ALMEIDA et al. 1990; ANESINI e LOPEZ 1993; GUERRA et al. 1999; PINTO et al. 2000; SANTOS et al. 2000; FELICIO et al. 2002; LIMA et al. 2002), bem como influencia nas atividades de granulócitos e linfócitos humanos (STEINERT et al. 1995). Certa atividade antineoplásica tem sido observada “*in vitro*”, e deve-se a seu efeito citotóxico oxidativo (UEDA et al. 1994; SILVA et al. 2002). O Ipê-roxo chegou a ser testado clinicamente pelo *National Cancer Institute* nos Estados Unidos. Porém, o uso de altas doses para atingirem concentrações terapêuticas ocasionou efeitos tóxicos. Portanto, o seu uso no tratamento do câncer não é comprovado cientificamente (FALKENBERG 2000).

O lapachol apresenta atividade antiinflamatória, inclusive superior a fenilbutazona (ALMEIDA et al. 1990). Esta atividade foi confirmada em outro estudo, onde MIRANDA et al. (2001) demonstraram que o extrato aquoso do ipê-roxo apresenta ação antinociceptiva e antiedematogênica. Observaram que o efeito foi dose-dependente; onde o extrato administrado na dose de 200 mg/Kg inibiu o edema da pata de rato induzida por carragenina, de modo semelhante a indometacina. Porém, quando usado na dose de 400mg/Kg não reduziu o edema. Os efeitos antiedematogênico e antinociceptivo devem-se, provavelmente, a sua ação inibidora sobre os mediadores da inflamação, como bradicinina e prostaglandinas. De acordo com estes autores, nas doses utilizadas a planta demonstrou baixo perfil de toxicidade. Estes resultados validam o uso popular do ipê-roxo como analgésico e antiinflamatório.

Quanto à atividade antimicrobiana, os estudos revelam o efeito de extratos de Ipê-roxo na inibição do crescimento de muitas bactérias gram-positivas e algumas bactérias gram-negativas. As bactérias gram-positivas incluem: *Staphylococcus aureus*, cepas penicilina-resistentes (ANESINI e PEREZ 1993), *S. aureus* cepas meticilina-resistentes (NAGATA et al. 1998; RIFFEL et al. 2002), *S. aureus* meticilina-resistentes isolados de processos supurativos decorrentes de infecções hospitalares (MACHADO et al. 2003); *Staphylococcus intermedius*; *Staphylococcus epidermidis* (RIFFEL et al. 2002); *Streptococcus sp.*; *Enterococcus sp.*; *Clostridium sp.* (NAGATA et al. 1998). Na cultura de *S. aureus* penicilina-resistente, o Ipê-roxo apresentou a maior atividade antibacteriana, comparado a outros extratos de 54 plantas

caracterizadas como antimicrobianas (ANESINI e PEREZ 1993). Do mesmo modo, as bactérias gram-negativas que foram inibidas pelo extrato de Ipê-roxo incluem os gêneros *Haemophilus*, *Moraxella*, *Campylobacter* e *Helicobacter* (NAGATA et al. 1998). Entretanto muitas bactérias gram-negativas não são inibidas pelos extratos de Ipê-roxo, estas incluem: *Escherichia coli* (ANESINI e PEREZ 1993; NAGATA et al. 1998); *Citrobacter*; *Enterobacter*; *Serratia*; *Klebsiella*; *Proteus*; *Morganella*; *Acinetobacter*; *Pseudomonas* e *Neisseria* (NAGATA et al. 1998).

A atividade do extrato de Ipê-roxo é bacteriostática e seu mecanismo de ação deve-se, provavelmente, ao efeito citotóxico oxidativo do lapachol que desencadeia a produção de radicais livres de oxigênio, inclusive peróxido de hidrogênio e superóxido, sob influencia da enzima P450 redutase (KUMAGAI et al. 1997; RIFFEL et al. 2002; GOULART et al. 2003). Estes radicais promovem peroxidação de lipídios, degradam proteínas e desintegram o DNA celular. Estas ações explicam, além da sua atividade antimicrobiana, as atividades molusquicida, tripanossomicida, antimalárica, embriotóxica e, provavelmente, antineoplásica (KUMAGAI et al. 1997; GOULART et al. 2003).

Estes resultados validam o uso popular do Ipê-roxo no tratamento de infecções (ANESINI e PEREZ 1993), e indicam que o Ipê-roxo apresenta potencial efetivo para o desenvolvimento de novas estratégias no tratamento de infecções por bactérias gram-positivas, inclusive *S. aureus* metilicina-resistentes (ANESINI e PEREZ 1993; MACHADO et al. 2003). E mais, dessa planta pode ser extraído facilmente em meio aquoso, e padronizado, componentes antimicrobianos de baixo custo, conforme recomendações da Organização Mundial de Saúde, sobre o aperfeiçoamento do uso de recursos naturais na promoção da saúde nos países em desenvolvimento (ANESINI e PEREZ 1993).

Além da atividade antibacteriana esta planta demonstra propriedades antivirais e antifúngicas. Várias espécies de fungos como *Cândida sp*, *Cryptococcus sp*, *Aspergillus sp* e *Saccharomyces sp* são inibidos “*in vitro*” por compostos derivados do Ipê-roxo, que apresentam atividade semelhante aos antifúngicos tradicionais fluconazole, amfotericina B e flucitosina. Possuem ação contra *Tricophyton sp* que, geralmente, causam micoses superficiais e subcutâneas em grande frequência (NAGATA et al. 1998). Quando comparado a outras 13 plantas medicinais, utilizadas em medicina tradicional para o tratamento de doenças da pele, o extrato de Ipê-roxo demonstrou “*in vitro*” possuir maior atividade antifúngica, de amplo espectro, contra: *Cryptococcus*

neoformans; *Aspergillus fumigatus*; *Microsporum gypseum*; *Trichophyton mentagrophytes*; *Cândida albicans*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Penicilium purpurogenum* (PORTILLO et al. 2001). Quanto a ação antiviral, em um ensaio clínico de infecção em primatas, demonstrou uma atividade contra o herpes vírus simples 2 (SILVA et al. 2002); e em um outro estudo “*in vitro*” observou-se a inibição de crescimento do vírus Epstein-Barr (SACAU et al. 2002).

Se por um lado, o lapachol extraído do ipê-roxo apresenta efeito oxidativo e citotóxico, por outro lado, o extrato de ipê-roxo tem mostrado atividade antioxidante, inibindo os efeitos deletéricos dos radicais livres (superóxido), e comparados com o alfa-tocoferol apresentam efeitos mais potentes; esta atividade deve-se à presença de componentes voláteis, inclusive metoxibenzoaldeídos (vanilina) e eugenol (PARK et al. 2003).

Um outro, não menos importante, constituinte do Ipê-roxo é o flavonoide (quercetina). Ele possui uma série de propriedades farmacológicas benéficas para os sistemas biológicos. Destacam-se, dentre outras propriedades, as seguintes: capacidade antioxidativa; atividade antiinflamatória; ação antiedematosa; ação antialérgica; atividade antitumoral; antiulcerogênica; atividade antiplaquetária; bem como atividades antimicrobianas e antivirais (BRUNETON 1991; LOPES et al. 2000).

A maior atividade dos flavonóides é como antioxidante (BRUNETON 1991; HENDLER 1994; LOPES et al. 2000), capturando radicais livres de oxigênio originados durante o processo inflamatório e hipoxia. Os radicais livres de oxigênio ocasionam peroxidação dos fosfolipídeos das membranas celulares, lesando-as (BRUNETON 1991). A quercitina auxilia a atividade antioxidante da vitamina C, e esta em troca protege a quercitina da oxidação. Provavelmente, isto explica em parte a atividade antiviral da quercitina, contra alguns vírus causadores de gripe, como vírus respiratório sincicial, parainfluenza vírus e rinovírus; e contra outros vírus, como herpes vírus simples 1 (HENDLER 1994).

A quercetina e outros flavonóides são potentes antiinflamatórios. Inibem, possivelmente, a cascata do ácido araquidônico, reduzindo conseqüentemente a produção de prostaglandinas e leucotrienos, bem como inibem a liberação de mediadores inflamatórios lisossômicos e a peroxidação lipídica (BRUNETON 1991; HENDLER 1994). No colágeno estimula a hidroxilação da prolina, favorecendo o entrecruzamento de suas fibras que aumenta a estabilidade e reforça a sua resistência. Em adição, inibe a degradação do colágeno e possui também uma ação

anti-elastase. Some-se a isto, uma ação anti-hialuronidase, que permite manter a substância fundamental na área perivascular em estado de polímero (BRUNETON 1991).

Outro papel interessante da quercitina verificado “*in vitro*” é a inibição da liberação de histamina e outros mediadores envolvidos na resposta inflamatória, por parte de mastócitos e basófilos, demonstrando uma atividade antialérgica (HENDLER 1994). Além de inibir a agregação plaquetária e reduzir a fragilidade capilar a quercitina aumenta a oxigenação dos tecidos (BRUNETON 1991; HENDLER 1994). Dessa forma, os flavonóides têm sido indicados nas manifestações de fragilidade capilar; enfermidades venosas; transtornos tróficos venosos (úlceras); em proctologia; metrorragias e retinopatias ligadas à circulação (BRUNETON 1991).

Quanto à toxicidade do extrato de Ipê-roxo, segundo ALMEIDA (1993), a concentração do lopachol caracteriza-se entre 2 a 7%. A DL50 por via oral do lopachol é entre 1,2 e 2,4 g/kg de peso corporal. A utilização do decocto ou da tintura de Ipê-roxo nas doses recomendadas não tem demonstrado efeitos tóxicos. Porém, o lopachol que é extraído e isolado do Ipê-roxo demonstrou efeitos abortivos e teratogênicos em ratas prenhes na dose de 100 mg/Kg, portanto não sendo recomendado seu uso em gestantes. Além de ser considerado tóxico em altas doses, ocasionando anorexia, perda de peso e diarreia.

2.2.2. Uso terapêutico do Ipê-roxo

Estudos sobre o efeito do Ipê-roxo e seus constituintes em câncer têm sido realizados, porém apresentam resultados contraditórios. Algumas das substâncias isoladas desta planta mostraram “*in vitro*” potente atividade citotóxica para tumores humanos. Entretanto, em ensaios clínicos, o extrato aquoso do Ipê-roxo apresentou moderada atividade antineoplástica, sendo tóxico em doses elevadas, ocasionando perda de peso, anorexia e diarreia. Portanto, não se pode garantir que o uso de suas preparações caseiras tenha sucesso no tratamento do câncer (LORENZI e MATOS 2002).

O Ipê-roxo possui propriedade adstringente, antibacteriana, antimicótica, antiviral, antiparasitária, antioxidante, antialérgica, antiinflamatória, analgésica e cicatrizante (PANIZZA 1997; MATOS 1998; LORENZI e MATOS 2002), além de poder ser empregado como protetor solar. Também, tem ação imunoestimulante sendo indicado como coadjuvante no tratamento de doenças autoimunes e infecções virais (CARVALHO e ALMANÇA 2003).

O extrato da entrecasca e cerne ou o decocto são indicados, por via oral, como: imunostimulante, nas varizes, hemorróidas, úlceras varicosas, eczemas, depurativo após sífilis, em casos de artrite e reumatismo (PANIZZA 1997), nas gastrites, úlceras gástricas e duodenais, tendinites e bursites (MATOS 1998), no lupus, na doença de Parkinson, psoríase e alergias (LORENZI e MATOS 2002).

Devido a sua ação adstringente e anti-séptica, o decocto da casca é usado popularmente em aplicações locais nos casos de inflamações da pele, tais como: eczemas, impetigos, feridas e úlceras rebeldes; ou sob a forma de gargarejos contra as inflamações da mucosa bucal, aftas, úlceras de garganta e angina de origem sifilítica (ALMEIDA 1993; PANIZZA 1997; LORENZI e MATOS 2002), além de herpes labial (MATOS 1997; PANIZZA 1997) Os ensaios clínicos confirmaram sua ação benéfica no tratamento local de inflamações da pele e mucosas (gengivas, vagina, colo do útero e ânus), especialmente no tratamento local da cervicite e cervico-vaginite (MATOS 1998; LORENZI e MATOS 2002).

O extrato hidro-alcoolico presta-se tanto para uso por via oral como tópico. No preparo doméstico artesanal, utiliza-se 100g de entrecasca e cerne em 200ml de álcool de cereais e 800ml de água. Esta mistura é aquecida até ebulição, por cinco a dez minutos; e após o esfriamento filtra-se em papel. O volume final do filtrado deve ser ajustado para 1000ml com o mesmo líquido extrator (MATOS 1998). Em uso tópico, esse extrato é diluído em água (1:1 ou 1:2) sendo indicado no tratamento de feridas, além de afecções da mucosa oral, ânus e vagina (PANIZZA 1997; MATOS 1998; LORENZI e MATOS 2002).

3. ARTIGO CIENTÍFICO

Uso do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

*Use of the Taheebo (*Tabebuia avellanedae*) in the skin wounds healing in rats.*

SILVA, D.T.; CHALHUB, M.

Departamento de Patologia e Clínicas

Escola de Medicina Veterinária - Universidade Federal da Bahia

deocles@ufba.br

RESUMO: O Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) tem sido indicado empiricamente no tratamento de feridas cutâneas. Contudo, raros são os estudos que comprovem esta indicação. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Com esta finalidade, foram utilizados 50 ratos divididos em dois grupos, com 25 animais cada, que foram submetidos à retirada de um fragmento circular de pele da região dorsal. Aplicou-se topicamente duas vezes ao dia no grupo I (G I), controle, solução salina a 0,9%, e no o grupo II (G II), tratado, pomada de Ipê-roxo a 10%. A avaliação do tratamento foi feita no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º dia de pós-operatório (DPO), no qual realizaram-se as medidas da área das feridas, observaram-se os aspectos macroscópicos e estudos histológicos; além de exame bacteriológico no 3º e 7º DPO e medida da força de resistência à tensão no 14º e 21º DPO. Constatou-se uma redução mais acentuada da área da ferida no G II, principalmente no 7º DPO, quando comparado ao G I. Foi verificado, no 14º e 21º DPO, que as forças de resistência à tensão do tecido cicatricial do G II foram menores que o G I. Macroscopicamente, as feridas do G II apresentaram um melhor aspecto, com uma menor formação de crostas e menor quantidade de secreção, enquanto o G I as feridas possuíam crostas mais exuberantes e maior produção de secreção. Histologicamente, as feridas do G II comparadas ao G I, demonstraram uma reação inflamatória menos intensa; uma maior fibroplasia, evidenciando o tecido de granulação; bem como fibras de colágeno mais organizadas, e a reepitelização foi mais acelerada. Conclui-se que a pomada de Ipê-roxo a 10% apresentou efeitos positivos na cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

PALAVRAS CHAVES: cicatrização; feridas; Ipê-roxo; plantas medicinais; *Tabebuia avellanedae*.

SUMMARY: The Taheebo (*Tabebuia avellanedae*) it has been indicated empirically in the treatment of skin wounds. However, studies that prove this indication they are scarce. Therefore, the present work has as objective evaluates the effect of the Taheeboo (*Tabebuia avellanedae*) about the healing of skin wounds in rats. With this purpose, 50 rats were used divided in two groups, with 25 animals each, they were submitted to the retreat of a circular fragment of skin of the dorsal area. Topical was applied twice a day in the group I (G I), it controls, saline solution to 0,9%, and in the group II (G II), treaty, ointment of Taheeboo to 10%. The evaluation of the treatment was made in the 3th, 7th, 10th, 14th and 21th day of postoperative (DPO), in which took place the measure of the area of the wounds, the macroscopic aspects, histological study were observed. Bacteriological examination was made in the 3th and 7th DPO, as well as evaluations in the 14th and 21th DPO, with measure of the resistance force the tension. In the results of the evaluations, an accentuated reduction of the size of the lesion was verified in the G II, mainly in the 7th DPO, when compared to the GI. It was verified, in the 14th and 21th DPO, that the resistance forces to the tension of the tissue healed of the G II it was smaller than the G I. Macroscopically, the wounds of the G II they presented a better aspect, with a smaller formation of crusts and smaller amount of secretion; while in the G I the wounds possessed more exuberant crusts and larger secretion production. Histologically, the wounds of the GII compared to the G I they demonstrated a less intense inflammatory reaction; besides they possess a tissue of more evident granulation, with fibroblasts more accentuated; the fibers of collagen were more organized, and the reepithelialization was more accelerated. Is concluded that the ointment of Taheebo to 10% presented positive effects in the healing of skin wounds in rats.

KEYWORDS: wound healing, medicinal plants, Taheebo, *Tabebuia avellanedae*.

3.1. Introdução

O interesse no tratamento de feridas remonta à Antigüidade, havendo relatos no mais antigo documento cirúrgico conhecido, o “Papiro de Edwin Smith”. Nessa época, com a finalidade de acelerar a cicatrização de feridas, eram utilizadas: plantas medicinais, óleos vegetais, gordura animal, mel e vinho (CANDIDO 2001; CLEWLOW 2003).

A cicatrização de feridas é um complexo de reações bioquímicas que envolvem a liberação de mediadores químicos, citocinas e fatores de crescimento. Estas moléculas ativam a participação de vários tipos celulares que incluem: leucócitos, fibroblastos, células endoteliais vasculares, miofibroblastos e células epiteliais. Os diversos tipos celulares migram e proliferam-se na área lesionada formando o tecido de granulação, com subsequente contração e reepitelização da ferida. Além disso, ocorre a deposição e remodelagem de fibras de colágeno, que proporcionam uma resistência à tensão da área cicatrizada (THOMAZ et al. 1996; WONG et al. 1996; DEODHAR e RANA 1997; STADELMANN et al 1998; SINGER e CLARK 1999).

Atualmente, o processo de cicatrização tem sido objeto de estudos com a finalidade de esclarecer aspectos da neoformação tecidual e, também, para avaliar os efeitos de medicamentos de uso sistêmico ou tópico sobre as feridas (CARVALHO et al. 1991).

A despeito do avanço científico, ressurgiu o interesse por pesquisas na utilização de plantas medicinais para a cicatrização de feridas, visto ser um tratamento simples e de baixo custo. Dentre as plantas estudadas destacam-se: *Stryphnodendron barbatiman* (PANIZZA et al. 1988); *Aloe vera* (LOPEZ et al. 1989); *Calendula officinale* (CARVALHO et al. 1991); *Symphytum officinale* (CARVALHO et al. 1991; OLIVEIRA et al. 2000; RAHAL et al. 2001); *Centela asiatica* (RAO et al. 1996) *Copaifera langsdorffi* (EURIDES et al. 1998); *Jacaranda peteroides* (SILVA et al. 1998); *Carica papaya* (STARLEY et al. 1999); *Persea cordata* (VIEIRA et al. 2001); *Echinacea sp* (SPERONI et al. 2002); além de uma pomada contendo uma combinação de várias plantas consideradas popularmente como cicatrizantes (BÜRGER et al. 2003).

Neste contexto inclui-se o Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) uma árvore nativa do Brasil que é utilizada popularmente no tratamento de feridas e úlceras (LORENZI e MATOS 2002). Estudos demonstraram uma atividade antimicrobiana do extrato desta planta contra várias bactérias gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus* penicilino-resistentes (ANESINI e PEREZ 1993; NAGATA et al. 1998). Além de comprovarem sua atividade antifúngica (NAGATA et al. 1998), antiinflamatória e analgésica (ALMEIDA 1990).

Entretanto, apesar de sua indicação popular para o tratamento de feridas, a literatura pesquisada revelou uma escassez de estudos que demonstrem a atividade cicatrizante desta planta. Portanto, se faz necessário a realização de estudo que comprove ou não a atividade cicatrizante do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*), validando o seu uso popular.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pomada de Ipê-roxo a 10% sobre a cicatrização de feridas cutâneas, visando a sua indicação como mais uma alternativa para o tratamento de feridas.

3.2. Animais

O experimento foi realizado no Setor de Cirurgia Experimental do Biotério Central da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), sendo os procedimentos efetuados de acordo com os “Princípios Éticos na Experimentação Animal”, conforme as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Foram utilizados 50 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem UNICAMP-UEFS, adultos, machos, com pesos variando entre 270g e 320g, procedentes do Biotério Central da UEFS. Os animais foram acondicionados, individualmente, em caixas de polietileno padronizadas, medindo aproximadamente 0.15 m², e com identificação numérica do animal e grupo a que pertencia; estas caixas foram trocadas diariamente. Os animais foram alimentados com ração peletizada autoclavada (Nuvilab CR1[®], Nuvital Nutrientes Produtos Veterinários, Curitiba-PR) e água autoclavada oferecida “*ad libitum*”. O ambiente foi mantido sob controle automático, a uma temperatura constante de 22°C, e período de 12 horas de luminosidade e 12 horas de escuridão.

3.3. Métodos

3.3.1. Técnica operatória

Os animais foram anestesiados com uma associação de acepromazina a 1% (Acepram 1%[®], Univet Indústria Veterinária, São Paulo-SP) na dose de 2,5 mg/kg e cloridrato de cetamina a 5% (Ketamin-S[®], 50 mg/ml, Cristália, Itapira-SP) na dose de 50 mg/kg, administrados por via intramuscular, usando-se seringa de 1mL, adaptado da indicação de MASSONE (1988) e CRUZ e LASAOSA (1994). Após o qual, foram imobilizados sobre uma prancha em posição de decúbito ventral, realizando-se tricotomia da região dorsal; após a qual foi feita anti-sepsia com álcool-iodado a 1%. Na área tricotomizada, utilizando-se de um molde de polietileno rígido com 1,6 cm de diâmetro, demarcou-se com caneta dermográfica (Stabilo[®], point88, Pelican, Germany) a área do fragmento de pele a ser dissecada, apresentando o tamanho de 2cm². (Figura 1 e 2)

Em seguida realizou-se a exérese da pele, com cabo de bisturi n° 3 e lâmina n° 15, através de incisão, que contornava a área circular demarcada, e dissecação incluindo o panículo carnoso com tesoura de íris reta de 11cm e pinça de Adson, retirando-se o fragmento cutâneo circular e expondo-se a fascia muscular dorsal. A hemostasia foi realizada, quando necessária, através de tamponamento compressivo com gaze por dois minutos. Dessa forma produziu-se uma única ferida circular na região dorsal que apresentou 2cm². As feridas não foram suturadas. (Figura 3)

3.3.2. Tratamento das feridas

Após 24 horas, os 50 animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos. O grupo I, chamado de controle, constituído por 25 animais, nos quais as feridas foram instiladas topicamente com cinco gotas de solução salina a 0.9% duas vezes ao dia. E o grupo II, chamado de tratado, formado pelos outros 25 animais, nos quais foram usados na ferida pomada de Ipê-roxo a 10%, aplicada topicamente duas vezes ao dia, com o auxílio de espátula descartável, o suficiente para cobrir totalmente as feridas. As feridas de ambos os grupos permaneceram sem curativos oclusivos durante todo o experimento. A pomada de Ipê-roxo a 10% foi preparada pela mistura de 60g de pomada base (A Fórmula Farmácia de Manipulação, Feira de Santana-BA) e 6mL de extrato de Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) (Maiz Essências, Salvador-BA), e conservada à temperatura ambiente de 22°C.



Figura 1 - Molde de polietileno.



Figura 2 – Área dorsal demarcada.



Figura 3 - Lesão circunferencial dorsal e paquimetria.

3.3.3. Períodos de avaliação

As feridas foram avaliadas no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º dia de pós-operatório (DPO), quantos aos tamanhos de suas áreas, os aspectos macroscópicos e exame histológico, e no 14º e 21º DPO quanto à força de resistência à tensão; além de cultura bacteriológica no 3º e 7º DPO. Com tal propósito, cinco animais do grupo I (controle) e cinco animais do grupo II (tratado) foram eutanasiados, seqüencialmente, no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º DPO, com o subtotal de 10 animais para cada período e um total de 50 animais ao final do experimento. A eutanásia foi realizada com o uso de tiopental a 5% (Thionembutal 1g[®], Abbott, São Paulo-SP) administrado por via intraperitoneal na dose de 100 mg/Kg, até a parada dos sinais vitais. Os animais avaliados em cada um dos períodos pós-operatórios acima foram selecionados aleatoriamente por uma pessoa que desconhecia os grupos I e II, não sendo informados ao avaliador a que grupo os animais pertenciam. Portanto, as avaliações dos animais no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º DPO foram caracterizadas como duplo-cego.

3.3.4. Morfometria

A medida das áreas das feridas foi realizada por meio de paquimetria nos períodos acima definidos, conforme método preconizado por PRATA et al. (1988). Com o paquímetro (Tucson[®] USA, caliper 6", China) media-se o maior e o menor diâmetro da ferida, uma vez que as mesmas apresentavam morfologia irregular (Figura 4). Para cada ferida fazia-se a mensuração por cinco vezes consecutivas, calculando-se a média das medidas individuais. A partir desses elementos calculava-se a área da ferida, utilizando-se a equação matemática $A = \pi \times R \times r$, de onde A representa a área da ferida, R o raio maior, r é o raio menor e π uma constante, que equivale a 3,14. Após a determinação da área foi calculado o percentual de contração (%C) das feridas no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º DPO, através da fórmula descrita por COELHO et al. (1999b): $\%C = (A_i - A_f) \div (A_i \times 100)$, de onde A_i é a área no período inicial (pós-operatório imediato) e A_f é a área final no DPO correspondente.

3.3.5. Avaliação macroscópica

A avaliação macroscópica constou da verificação das feridas com lupa de 1,5 x de aumento, observando-se crostas, quantidade e tipo de secreção, presença ou ausência de hiperemia, edema

e dor, além da presença da membrana basal no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º DPO. Estes parâmetros foram tabulados em cruces, assim definidos: (-) ausente, (+) mínimo, (++) moderado, (+++) intenso, posteriormente representados por escore 0, 1, 2, 3, respectivamente.

3.3.6. Exame bacteriológico

No 3º e 7º DPO foram colhidas amostras com os uso de zaragatoa descartável esterilizadas em óxido de etileno. A zaragatoa foi passada na superfície da ferida e sob a crosta, elevando-a cuidadosamente. Após o qual, a zaragota foi colocada em tubo de ensaio contendo 1mL de caldo tripticase e soja (TSB), com identificação do animal e grupo, e remetida imediatamente para o laboratório objetivando realizar a identificação e cultura bacteriológica. (Figura 5)

3.3.7. Estudo histológico

Para a realização do estudo histológico, foi retirado um fragmento de pele envolvendo a ferida, através de incisão e dissecação delicada de forma que a ferida foi retirada intacta, juntamente com pele normal (Figura 6). As amostras de tecido foram colocadas em coletores universais identificados de acordo com o dia da eutanásia, grupo de estudo e número do animal, sendo então imersas em formalina a 10% para fixação. Posteriormente foram incluídas em parafina, submetidas a secções histológicas e coradas pela hematoxilina-eosina (HE) para observação histológica geral, e pelo tricromio de Masson (TM) para o estudo das fibras colágenas, de acordo com as indicações de CARVALHO et al. (1991) e SANTOS et al. (2002). As secções histológicas coradas foram analisadas, por um patologista da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia e por um patologista adido à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), de forma casual sem conhecer os grupos experimentais e o período de pós-operatório avaliado. Nos cortes histológicos avaliou-se a intensidade da reação inflamatória, a presença de tecido de granulação caracterizado pela fibroblasia e neovascularização, o aspecto das fibras colágenas e grau de reepitelização. Estes parâmetros foram tabulados em cruces, definidos como: (-) ausente, (+) mínimo, (++) moderado, (+++) intenso seguindo as instruções de RAHAL et al. (2001) e SANTOS et al. (2002), e depois representados por escore 0, 1, 2, 3, respectivamente. Foi realizada microfotografias usando-se câmera digital acoplada (Evolution LC[®], Media Cybernetics, USA) em microscópio eletrônico (Olympus[®] BX51, Japan) e programa de digitalização de imagens (Image-Pro Plus[®] 5.1, Media Cybernetics, USA).



Figura 4 - Paquimetria de ferida.



Figura 5 - Material coletado para bacteriologia.



Figura 6 - Ferida coletada para exame histológico.

3.3.8. Tensiometria

A tensiometria do tecido cicatricial foi efetuada em cinco animais de cada grupo no 14º e 21º DPO, totalizando 20 animais. A técnica de mensuração da resistência à tensão foi baseada no método descrito por VASCONSELLOS et al (2001), tendo como princípio o peso de água necessário para o rompimento do tecido cicatricial. Para isso, foi demarcado com caneta dermatográfica um retângulo com 4cm de comprimento e 1cm de largura, longitudinalmente, na região dorsal dos animais, estando a cicatriz na parte média do retângulo. Realizou-se a exérese do fragmento de pele, seguindo-se a linha demarcada, e dissecação delicada com tesoura de íris, retirando-se o fragmento íntegro contendo a área cicatrizada. (Figura 7)

O fragmento foi fixado em suas extremidades por duas pinças de Collin. Uma das pinças encontrava-se fixada a um suporte metálico, enquanto a outra foi presa por um fio a um recipiente de polietileno, graduado até 1200mL (Figura 8). Um filete de água escorria para o recipiente, a uma velocidade constante de 700mL por minuto; deixando-se escorrer o filete até a ruptura do fragmento de tecido cicatricial. O controle do filete de água foi realizado através de marcação de dois pontos na torneira com fita adesiva; abrindo-se a torneira até o ponto de união das duas marcas. Rapidamente após a ruptura, o filete de água era interrompido com o fechamento em um segundo. O conjunto formado pelo recipiente contendo água e pinça de Collin foram pesados em balança de precisão (Q510-3100[®], Quimis, Diadema, SP). Para cada coleta, se realizou cinco pesagens, consecutivas e individuais, calculando-se a média das pesagens em gramas. Entre cada pesagem a balança era acionada em tara. Este modelo nos fornece a tensão cicatricial em grama.

3.3.9. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o uso do sistema de análise estatística (SAEG[®], versão 5.0, Fundação Arthur Bernardes, Universidade Federal de Viçosa-MG). Seguindo-se as orientações de SAMPAIO (1998), aplicou-se o teste t de Student, com a finalidade de comparar as médias dos valores obtidos das áreas da ferida no 3º, 7º, 10º, 14º e 21º DPO do grupo I e grupo II, e os valores da tensão necessária para o rompimento do tecido cicatricial no 14º e 21º DPO. Para a análise da avaliação qualitativa dos aspectos macroscópicos e do exame histológico foi empregado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. O nível de significância estabelecido foi de 5% ($p \leq 0,05$).



Figura 7 - Retalho cutâneo para tensiometria.



Figura 8 - Dispositivo para tensiometria.

3.4. Resultados

3.4.1. Morfometria

No pós-operatório imediato as feridas apresentaram um aumento de seu tamanho, passando de 2 cm² de área demarcada para em média 2,67 cm². As áreas das feridas e o percentual de contração dos animais dos grupos controle e tratado nos períodos de avaliação podem ser verificadas na tabela 1 e 2. A regressão do tamanho das feridas dos grupos controle e tratado, ao longo dos períodos, podem ser observadas na figura 9.

Tabela 1. Valores médios das áreas (cm²) das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

DPO	3 ^o		7 ^o		10 ^o		14 ^o		21 ^o	
Grupos	GI	GII	GI	GII	GI	GII	GI	GII	GI	GII
	2,020	1,749	0,879	0,690	0,024	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000
	1,554	1,423	0,589	0,471	0,440	0,035	0,000	0,000	0,000	0,000
	1,684	1,218	0,722	0,330	0,079	0,353	0,000	0,000	0,000	0,000
	1,939	1,714	1,122	0,459	0,088	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000
	1,472	1,735	0,353	0,432	0,178	0,063	0,047	0,000	0,000	0,000
Média	1,734	1,568	0,733	0,476	0,161	0,103	0,013	0,000	0,000	0,000
D.P.	0,238	0,237	0,290	0,132	0,161	0,102	0,000	0,000	0,000	0,000
E. P.	0,106	0,106	0,130	0,059	0,074	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000
(p ≤ 0,05)	p = 0,151		p = 0,055		p = 0,279		p = 0,000		p = 0,000	

D. P. = Desvio padrão

E. P. = Erro padrão

Tabela 2. Percentual médio de contração em relação ao tamanho original das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

	DPO	0	3 ^o	7 ^o	10 ^o	14 ^o	21 ^o
G I	Área Média (cm ²)	2,67	1,73	0,73	0,16	0,01	0,00
	% Contração	0,00	35,00	72,55	93,95	99,50	100
G II	Área Média (cm ²)	2,67	1,57	0,48	0,10	0,00	0,00
	% Contração	0,00	41,28	82,16	96,00	100	100

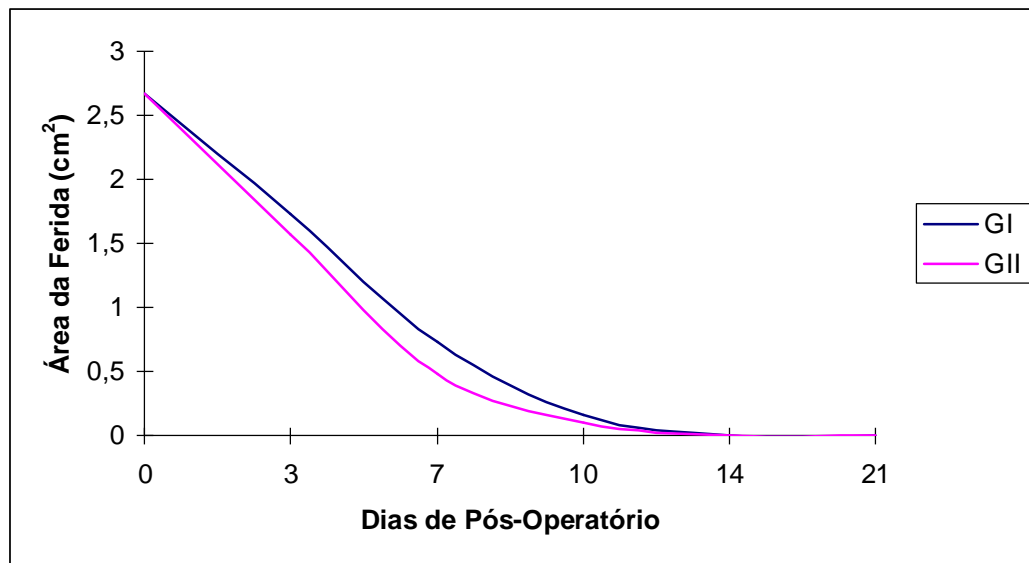


Figura 9 -Gráfico de regressão da área das feridas dos grupos controle(GI) e tratado(GII) no DPO.

No 3º DPO foi verificada uma redução média de 35% da área da ferida inicial para o grupo controle. Enquanto o grupo tratado apresentou uma redução do tamanho da ferida original, em média 41,3%. A área média do grupo controle foi de 1,73 cm² e do grupo tratado foi de 1,57 cm².

No 7º DPO foi constatada entre os grupos uma diferença significativa na redução da área da ferida, estando o grupo tratado com o tamanho da ferida menor que o grupo controle (0,48 cm² e 0,73 cm², respectivamente). O percentual de contração da área da ferida no grupo controle foi de 72,55%, já o grupo tratado foi de 82,16%.

No 10º e 14º DPO as feridas não apresentaram diferenças significantes em seus tamanhos para ambos os grupos, com um percentual de contração entre 94 e 100%. Contudo, no 10º DPO, foi verificado no grupo tratado que 20% das feridas já se encontravam completamente fechadas, e no 14º DPO 100% dos animais deste grupo estavam com as suas feridas completamente cicatrizadas. Enquanto que no grupo controle, no 14º DPO, apenas 75% dos animais apresentava-se com as feridas cicatrizadas.

No 21º DPO todos os animais de ambos os grupos estavam com suas feridas totalmente cicatrizadas.

3.4.2. Avaliação macroscópica

3º DPO: Os animais do grupo controle exibiram feridas com uma maior formação de crostas desidratadas, sendo 80% de forma intensa; as crostas excediam a altura das feridas e possuíam coloração escurecida. Enquanto no grupo tratado, as feridas apresentavam, de forma geral, um melhor aspecto com ausência de crostas em 60% delas, e possuíam uma coloração rósea/acastanhada, sem sinais de infecção. Também foram observados edema e dor. O edema surgiu em 40% dos animais do grupo controle, e 20% no grupo tratado. Em ambos os grupos os animais apresentaram dor, demonstrada por agitação e emissão de sons de grunhido à manipulação. (Figura 10)

7º DPO: De modo geral, as feridas do grupo tratado possuíam melhor aspecto. Todavia, a presença de crostas foi semelhante para os dois grupos, onde 80% das feridas do grupo controle e 60% do grupo tratado possuíam crostas intensas. Edema e dor foram observados em alguns animais do grupo controle, enquanto eram inexistentes em animais do grupo tratado. Discreto halo hiperêmico estava presente em alguns animais de ambos os grupos, porém sem significância. (Figura 11)

10º DPO: 60% de animais do grupo controle ainda exibia crostas intensas. Enquanto no grupo tratado as crostas apresentavam-se discretas. A secreção foi reduzida tanto no grupo controle quanto no grupo tratado, sendo insignificante. Edema, hiperemia e dor foram inexistentes. Constatou-se o início de formação de uma delgada membrana basal em 80% dos animais nos dois grupos, sendo discretamente mais avançada no grupo tratado. No grupo tratado foi verificada uma ferida com cicatrização completa, o que representa 20% dos animais deste grupo. (Figura 12).

14º DPO: As crostas não foram mais percebidas. A cicatrização completa da ferida cutânea foi identificada em 100% dos animais do grupo tratado. Enquanto que no grupo controle, 80% das feridas encontrava-se cicatrizadas e 20% em processo final da cicatrização. Porém estas diferenças não foram significantes. (Figura 13)

21º DPO: Todas as feridas dos dois grupos encontravam-se completamente cicatrizadas. Na maioria dos animais do grupo controle a cicatriz mostrou-se branco-acinzentada e com descamação superficial. Já nos animais do grupo tratado, as cicatrizes apresentavam uma coloração branco-rósea, sem descamação.

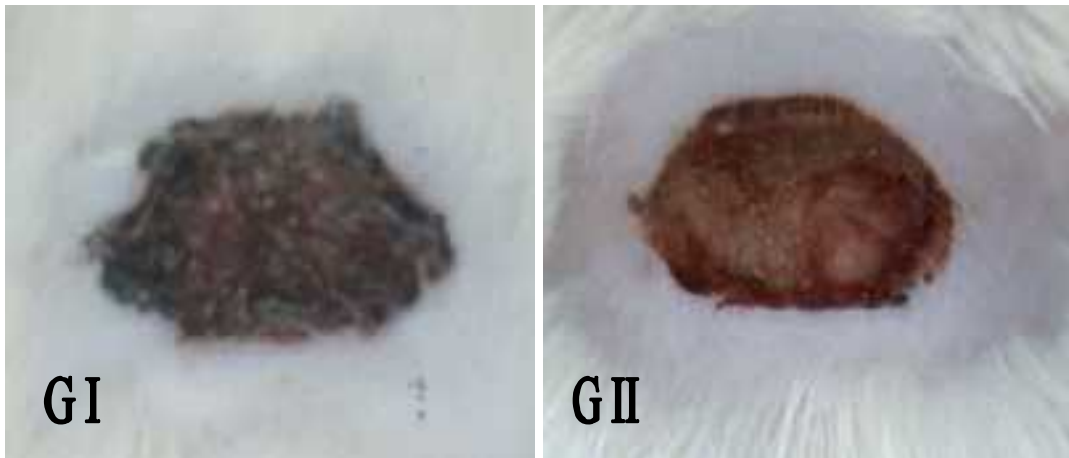


Figura 10 - Macrofotografias de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 3° DPO.
GI: crosta espessa e escura. GII: ferida limpa com melhor aspecto.



Figura 11 - Macrofotografias de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7° DPO.
GI: crosta com secreção amarelada GII: menor formação crostosa.



Figura 12 - Macrofotografias de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10° DPO.

GI: crosta escurecida, granulação e hemorragia. GII: granulação e contração.



Figura 13 - Macrofotografias de feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 14° DPO.

GI: ferida cicatrizada esbranquiçada. GII: ferida cicatrizada, coloração rósea.

3.4.3. Exame bacteriológico

No 3º DPO as feridas possuíam mínima formação de secreção, e as culturas bacterianas negativas para os dois grupos estudados. Porém, no 7º DPO, as feridas de ambos os grupos exibiram secreção de coloração amarelada. A secreção foi intensa em 60% das feridas do grupo controle e exalavam odor fétido. Enquanto no grupo tratado, a presença de secreção foi moderada em 60% das feridas e apresentavam ausência de fetidez. Das amostras colhidas para a realização de cultura bacteriana, em 20% do grupo controle foi identificada presença de *Staphylococcus aureus*. Nos outros animais de ambos os grupos os exames bacteriológicos foram negativos.

3.4.4. Estudo histológico

3º DPO: A inflamação foi maior no grupo controle, com intensa reação inflamatória aguda, caracterizada pelo predomínio de neutrófilos. Alguns linfócitos foram observados nas feridas deste grupo. Também foi constatada a presença intensa de crosta, formada por tecido necrótico superficial rico em fibrina e com grande quantidade de neutrófilos degenerados. Já no grupo tratado a reação inflamatória e a presença de crostas foram moderadas (Figura 14). O aparecimento do tecido de granulação, no 3º DPO, foi análogo para o grupo controle e o grupo tratado, com a presença moderada de fibroblastos e de neovascularização. Foram encontrados pequenos focos hemorrágicos. As fibras colágenas estavam ausentes nos dois grupos estudados. Nas feridas de ambos os grupos a proliferação de tecido epitelial foi ausente.

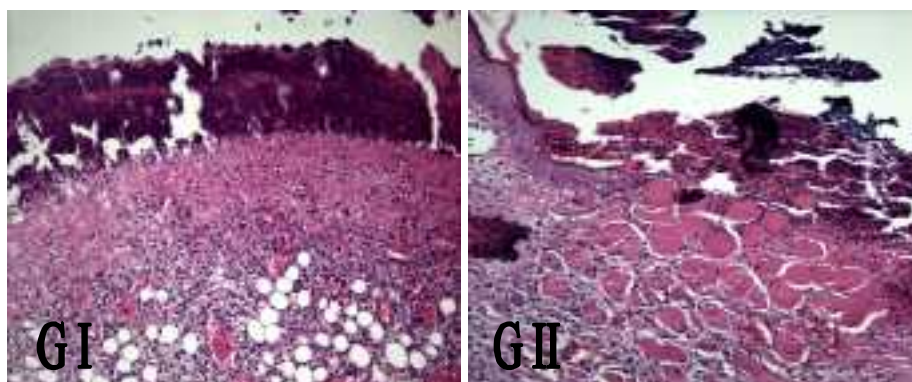


Figura14 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 3ºDPO. Em GI nota-se intenso infiltrado inflamatório neutrofílico e espessa crosta fibrino-leucocitária. Em GII inflamação moderada e crosta superficial dispersa. HE -100X.

7ºDPO: A reação inflamatória continuou intensa nos animais do grupo controle, ao passo que nos animais do grupo tratado a inflamação foi moderada. O infiltrado inflamatório caracterizou-se pelo predomínio de linfócitos e a presença de neutrófilos. A formação de tecido de granulação foi marcada por intensa proliferação de fibroblastos e a presença de grande quantidade de capilares neoformados nas feridas dos animais tratados. Já no grupo controle a fibroplasia foi mais moderada (Figura 15). Teve-se o início da síntese de colágeno. Constatou-se que a presença de fibras colágenas foi mais evidente no grupo tratado do que no grupo controle, neste grupo controle a deposição de colágeno foi mínima. O tecido conjuntivo no grupo controle mostrou-se pouco denso, frouxo e depositado aleatoriamente. Já as feridas tratadas com a pomada, apresentaram uma melhor organização das fibras colágenas (Figura 16). Observou-se início de reepitelização, onde a proliferação epitelial, apesar de ainda encontrar-se incipiente, foi mais evidente nas feridas do grupo tratado, quando comparada com o grupo controle.

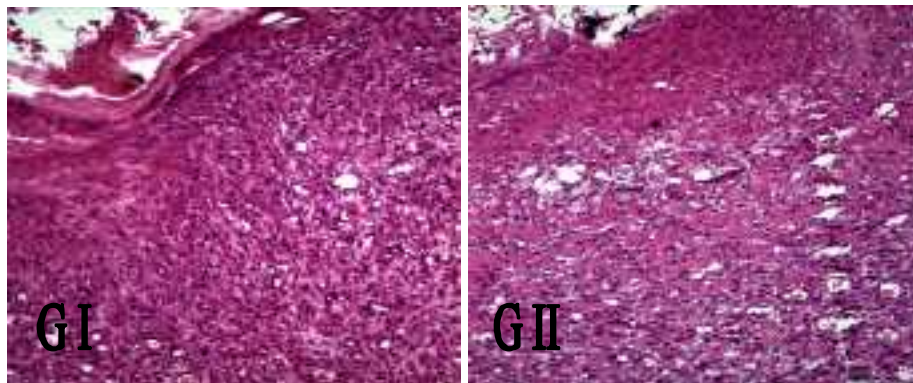


Figura 15 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7º DPO. Em GI visualisa-se intensa inflamação linfocítica, fibroplasia moderada e neovascularização. Em GII inflamação moderada, intensa fibroplasia e neovascularização. HE - 100X.

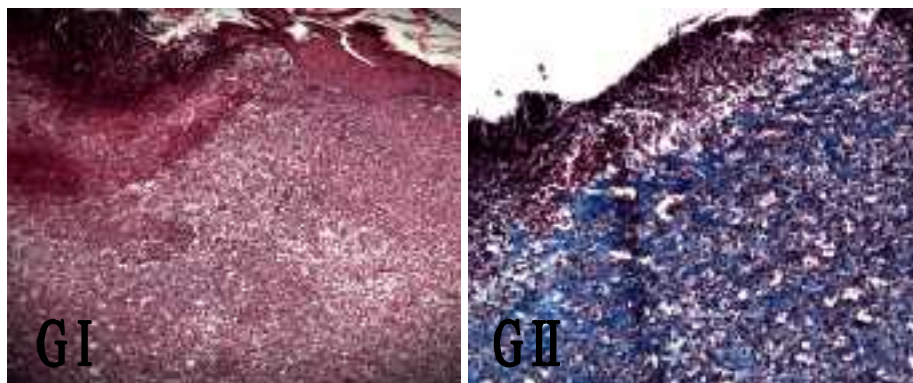


Figura 16 -Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 7º DPO. Em GI observa-se poucas fibras colágenas, hemorragia. Em GII fibras colágenas mais evidente, intensa neovascularização. TM - 40X.

10° DPO: A inflamação foi mínima tanto no grupo controle quanto no grupo tratado, com o predomínio de linfócitos. Semelhantemente, nos dois grupos, a presença de tecido de granulação na ferida foi mínima, sendo observada uma redução de fibroblastos e capilares neoformados (Figura 17). Os neovasos estavam presente em 33% e 50% nos grupos controle e tratado, respectivamente. As fibras colágenas estavam intensamente presentes nas feridas tratadas, estando dispostas de forma mais organizada e densas que nas feridas do grupo controle. Neste grupo as fibras colágenas foram menos evidentes e apresentavam-se depositadas de forma aleatória (Figura 18). A fibrose foi mais intensa neste período que no 7° DPO em todos os dois grupos. Foi identificada uma intensa proliferação de células epiteliais para o grupo tratado. Porém a reepitelização neste grupo foi incompleta; apenas 20% das feridas deste grupo possuíam uma total reepitelização, sem fragmentação da membrana basal. No grupo controle a reepitelização foi moderada, estando 100% das feridas ainda não cicatrizadas.

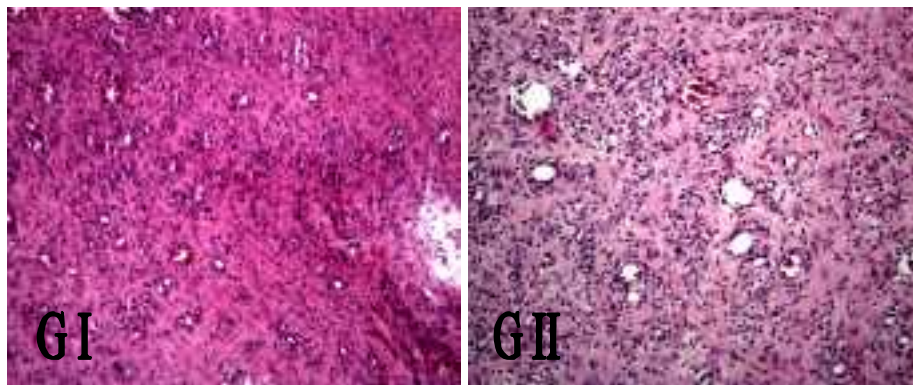


Figura 17 -Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10° DPO. Em GI nota-se fibrose, redução de fibroblastos e neovasos. Em GII fibrose e tecido conjuntivo mais organizado, escassos fibroblastos e neovasos degenerados. HE -100X.

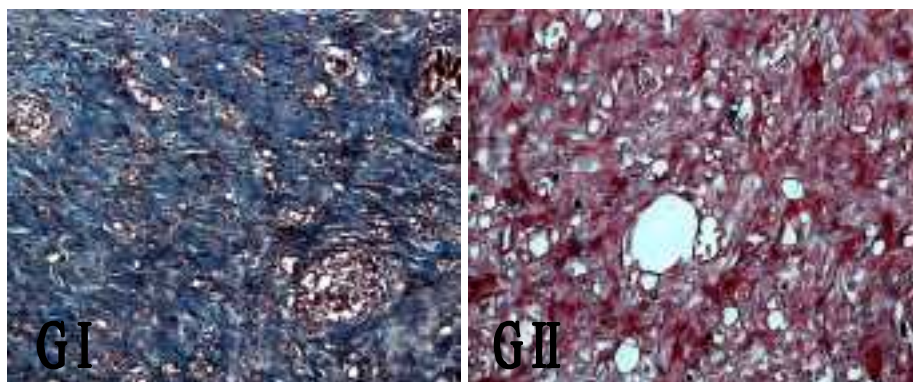


Figura 18 - Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 10° DPO. Em GI colágeno desorganizado e neovasos colabados. Em GII fibrose e neovasos degenerados. TM -100X.

14 ° DPO: A inflamação desaparecera nos animais pertencentes ao grupo tratado. Porém no grupo controle persistiu de forma mínima em 67% das feridas, com o predomínio de linfócitos, o que caracterizou uma discreta reação inflamatória. Contudo esse processo não interferiu com a evolução da cicatrização das feridas neste grupo. Em ambos os grupos, não mais foram evidenciados fibroplasia e capilares neoformados, denotando a ausência de tecido de granulação. Observou-se uma intensa deposição de fibras colágenas nas feridas do grupo tratado, enquanto que no grupo controle a deposição de colágeno foi moderada. Apesar de ambos os grupos possuírem uma intensa proliferação epitelial, foi observado que em 100% dos animais do grupo tratado as feridas estavam totalmente cicatrizadas. Ao passo que no grupo controle a cicatrização foi completa em 80% dos animais. Adicionalmente, foi constatada uma maior queratinização nas feridas do grupo tratado, o que evidencia uma evolução mais acelerada da cicatrização e recuperação funcional neste grupo. (Figura 19)

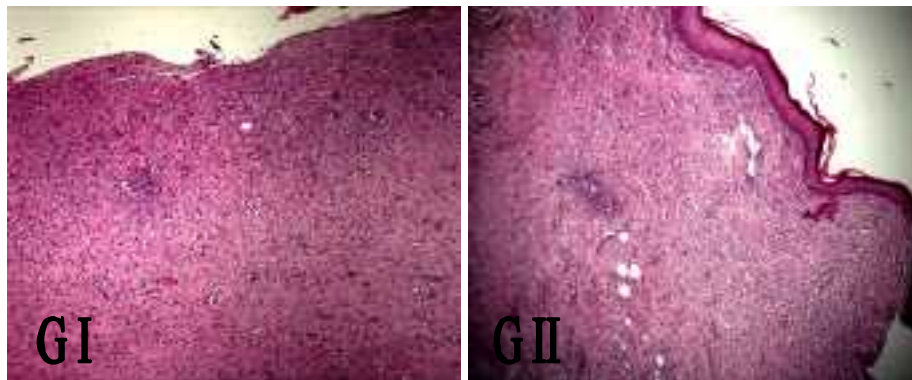


Figura 19-Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 14° DPO. Em GI observa-se fibrose, ausência de tecido de granulação, e reepitelização incipiente. No GII ausência de tecido de granulação, tecido conjuntivo mais organizado, reepitelização completa e queratinização superficial. HE - 40X.

21° DPO: Foi caracterizado pela ausência de inflamação em todos os animais. Na maioria das feridas foram verificadas a formação de fibrose, com presença de fibrócitos e neovasos degenerados. O tecido conjuntivo mostrou-se denso e mais organizado, sem diferenças significantes quanto à presença das fibras de colágeno para os dois grupos estudados. Nos dois grupos, a reepitelização foi evidenciada em todos os animais, observando-se uma membrana basal bem definida. Foi observado queratinização superficial. (Figura 20 e 21)

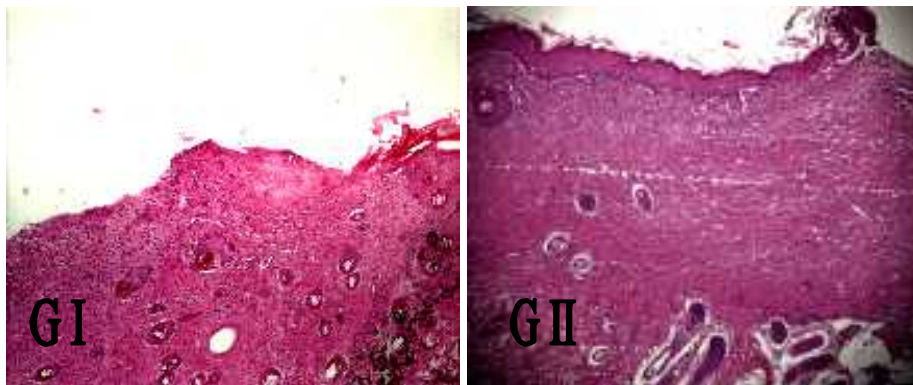


Figura 20 -Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no 21° DPO. Em GI verifica-se fibrose, reepitelização e queratinização incipiente. Em GII tecido mais organizado, reepitelização e queratinização; camadas da derme bem definidas. HE – 40X.

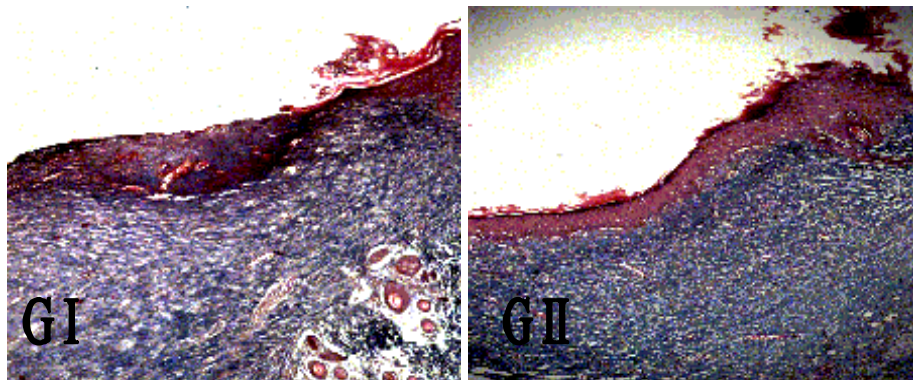


Figura 21 -Fotomicrografias de cortes histológicos das feridas dos grupos controle(GI) e tratado (GII) no 21° DPO.Em GI observa-se fibras colágenas disposta aleatoriamente, reepitelização e queratinização incipiente. Em GII fibras colágenas mais organizadas dispostas paralelamente, reepitelização completa e queratinização, camadas da derme bem definidas. TM - 40X.

3.4.5. Tensiometria

Na tensiometria do 14° e 21° DPO o tecido cicatricial dos animais do grupo tratado apresentou maiores valores de resistência à tensão em relação ao grupo controle, necessitando de um maior peso para o seu rompimento. (Tabela 3)

Tabela 3. Valores médios da tensão (g) das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

DPO	14°		21°	
Grupo	GI	GII	GI	GII
	184	378	462	699
	372	367	488	409
	388	270	332	471
	287	437	364	552
	164	312	485	358
Média	279,0	352,8	426,2	497,8
DP	103,5	64,1	72,9	133,7
EP	46,3	28,7	32,6	59,8
(p ≤ 0,05)	p = 0,106		p = 0,162	

D. P. = Desvio padrão
E.P.= Erro padrão

No 14° DPO, em 40% dos animais do grupo controle observou-se valores de resistência à tensão muito abaixo da média, devido à incompleta cicatrização dessas feridas. Similarmente, nos dois grupos, o ganho de resistência à tensão foi significativo entre o 14° e o 21° de DPO, e que correspondeu a um ganho entre 10 e 16 % da tensão normal.

3.5. Discussão

O rato foi o animal escolhido neste estudo não só pela facilidade de aquisição e manejo, mas também por ter sido o animal utilizado na maioria dos modelos experimentais que objetivaram avaliar a cicatrização de feridas (PRATA et al. 1988; EURIDES et al. 1998; OLIVEIRA et al. 2000; RAHAL et al. 2001; SANTOS et al. 2002; BÜRGER et al. 2003). O número de 50 animais encontra-se próximo aos citados na literatura (PRATA et al. 1988; EURIDES et al. 1998; SANTOS et al. 2002) e compatíveis com o estudo estatístico proposto.

Na anestesia de ratos, MASSONE (1988) e OLIVEIRA et al. (2000) recomendam o uso de cetamina na dose de 50 mg/Kg, associado à xilazina na dose de 20 mg/Kg por via intramuscular. Enquanto que CRUZ e LASAOSA (1994) indicam a associação de cetamina na dose de 150 mg/Kg e acepromazina na dose de 2,5 mg/Kg administrados por via intraperitoneal. Neste estudo, optou-se pelo uso da combinação de acepromazina e cetamina, reduzindo-se a dose da cetamina para 50 mg/Kg e administrados por via intramuscular, ao invés da via intraperitoneal; visto que o procedimento operatório foi rápido (cerca de cinco minutos) e superficial, não necessitando de longo e profundo efeito anestésico. Esta técnica anestésica é de fácil administração por via intramuscular; há pouca depressão cárdio-respiratória e uma rápida recuperação anestésica. Os animais apresentaram ataxia progressiva com andar cambaleante, ficando em decúbito após 10 a 12 minutos; com a recuperação anestésica após 20 a 30 minutos. Apesar de CRUZ e LASAOTA (1994) afirmarem que as misturas de cetamina administradas por via intramuscular podem produzir necrose muscular, e recomendarem a via intraperitoneal; esta alteração patológica não foi observada no presente experimento até o 21º DPO. Adicionalmente, de acordo com SCHOSSLER e SCHOSSLER (1993), a via intraperitoneal apresenta irregularidades de resposta anestésica com difícil controle da quantidade absorvida, bem como a possibilidade de traumatismos viscerais. Daí a escolha da via intramuscular no presente trabalho.

A indução da ferida constou de um único fragmento cutâneo circular dorsal, segundo a técnica descrita por PRATA et al. (1988). A região dorsal foi escolhida por ser de difícil manipulação pelos animais. Uma única área lesionada apresenta como desvantagem o uso de um maior número de animais. Ao contrário, lesionando-se em duas áreas distintas reduz-se a quantidade de animais, e o animal é controle dele mesmo. Contudo, a opção de induzir feridas que utilizam duas lesões na região torácica lateral direita e esquerda, como foi realizado por SILVA et al. (1998), OLIVEIRA et al. (2000) e VIEIRA (2001), não parece adequado ao experimento, uma vez que, a

região torácica lateral tem grande capacidade de contração (MOTT et al. 2003) o que aceleraria o fechamento da ferida, interferindo com os resultados. Some-se a isto, o fato de que nestes locais os animais manipulam as feridas por lambedura, como foi observado por OLIVEIRA et al. (2000), ou com as extremidades dos membros posteriores, interferindo conseqüentemente com a cicatrização, seja pela retirada da substância que se quer testar, seja pela ação mecânica de limpeza, ou pela presença na saliva de enzimas. Além de que, a farmacocinética dos componentes químicos do Ipê-roxo ainda não está totalmente esclarecida, e que poderia ocorrer à absorção de seus componentes topicamente, interferindo com os resultados. Apesar de ser possível evitar-se a manipulação de feridas com o uso de colar Elizabethano, estes não foram usados, visto que os colares são de difícil manutenção em ratos, além de provocarem estresse adicional. Outras opções de feridas descritas por OLIVEIRA et al. (2000), RAHAL et al (2001) e BÜRGER et al. (2003) possuindo formas quadradas e retangulares, não foi seguida neste estudo porque a maioria das configurações de feridas agudas e traumáticas não possui estas características geométricas; e as feridas crônicas como úlceras, têm forma circular.

Utilizou-se a pomada a 10%, preparada a partir do extrato de Ipê-roxo, conforme a orientação da Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas -ABFH- (1995) que em suas normas técnicas para preparação de medicamentos, recomendam para formas farmacêuticas de uso externo a preparação a 10%, seja para creme, gel e pomada. A opção pela pomada e não pela forma líquida do extrato deve-se à sua aderência no local lesionado, permanecendo por mais tempo a sua ação. Quanto à opção pela pomada e não pelo creme ou gel, deve-se à facilidade de aquisição e manipulação do veículo da pomada, o que permite a sua preparação artesanalmente. Isto facilita o seu emprego na área rural.

Para manter pomadas em contato com a ferida, RIBEIRO et al (1996) preconizam a oclusão da ferida com o uso de curativo de gaze fixada com uma fita adesiva porosa, evitando-se a saída da pomada da região operada, permitindo a presença do agente que se quer testar em contato com a lesão. Contudo a presença do curativo é de difícil manutenção nos animais.

Neste experimento, não foram realizados curativos permanecendo as feridas sem proteção; uma vez que o uso de curativos na superfície cutânea de ratos é de difícil adaptação e manutenção, além de provocar traumas pelo seu contato com a ferida, estimulando uma reação inflamatória adicional principalmente no grupo que não se coloca a pomada. A propósito, RAHAL et al (2001) realizaram um estudo experimental em ratos, tratados com pomada e solução salina

usando curativos, e verificaram que durante a troca dos curativos os animais necessitavam de serem anestesiados e as feridas irrigadas para minimizar o trauma na remoção das gazes, pois as mesmas apresentavam-se aderidas à ferida, o que provocou o retardo na cicatrização.

3.5.1. Morfometria

Na morfometria de área da ferida são indicadas várias técnicas, estas incluem: decalque da ferida em películas transparentes calculando-se a sua área (SANTOS et al. 2002), podendo-se utilizar para este cálculo de sistemas de morfometria computadorizada (FALCÃO et al. 2001; BÜRQUER et al. 2003) e planimetria apolar de uso geográfico (FALCÃO et al. 2001). Entretanto realizou-se para a medida da área da ferida a técnica de paquimetria, de acordo com os estudos de PRATA et al. (1988); RIBEIRO et al. (1996); EURIDES et al. (1998); SILVA et al. (1998); COELHO et al. (1999a; 1999b); OLIVEIRA et al. (2000); VIEIRA et al. (2001). Segundo SILVA et al. (1998) a medida da área da ferida informa mais sobre o processo de retração cicatricial do que sobre a cicatrização propriamente dita. Ele cita que a tensiometria, recentemente, tem sido indicada para a avaliação mais completa do processo cicatricial.

Neste estudo usou-se a paquimetria, que se mostrou adequada por consistir em parâmetro quantitativo numérico, independente do observador, além da facilidade de aquisição e manuseio do instrumento; ao contrário de outras técnicas que demandam custos operacionais. Associou-se à paquimetria, a observação dos aspectos macroscópicos, exames histológicos e tensiometria, bem como a identificação bacteriológica, quando indicada; o que aumentou a fidedignidade das avaliações.

O aumento inicial da área da ferida ocorreu devido à retração centrífuga da pele circundante. Tal como afirmam COELHO et al. (1999b) e FALCÃO et al. (2001), que logo após a retirada de um fragmento cutâneo ocorre um aumento da área lesionada devido à retração das margens da ferida, conseqüente à ação centrífuga das fibras elásticas da pele.

A maior percentagem de contração das feridas ocorreu no 7º DPO. O percentual de contração da área da ferida do grupo controle neste período (72,55%) encontra-se em concordância com a afirmativa de MOTT et al (2003) de que, normalmente, a taxa de contração é em torno de 71 a 72%. Já no grupo tratado, a taxa de contração da ferida foi superior a estes valores e, portanto, positiva para o processo de cicatrização. Na presente avaliação, este período pode ser classificado

como o período exponencial, e correspondeu ao período em que foram observadas uma maior fibroplasia e presença de tecido de granulação nas feridas tratadas com a pomada. Este resultado encontra-se de acordo com a afirmativa de OLIVEIRA (1987), que destaca a importância da presença do tecido de granulação na cicatrização por segunda intenção como facilitador da contração. Bem como, de acordo à descrição de MOTT et al. (2003), segundo o qual o período exponencial ocorre entre seis e quinze dias após a lesão, e corresponde ao nível máximo de atividade dos miofibroblastos que fazem parte do tecido de granulação.

Na redução da área da ferida, na cicatrização por segunda intenção, o mecanismo de contração desempenha um papel fundamental. A contração da ferida é o deslocamento centrípeto das margens da ferida para o centro da lesão. Este processo ocorre pela atividade contrátil dos miofibroblastos presentes no tecido de granulação (THOMAZ et al. 1996; COELHO 1996b; FALCÃO et al. 2001; HINZ et al. 2001; MOTT et al. 2003). Após a redução da área inicial, ocorre a recomposição da membrana basal otimizando a reepitelização (FALCÃO et al. 2001 HINZ et al. 2001; MOTT et al. 2003).

Conforme argumenta WARWERSIK et al. (2001) um fator que deve ser levado em consideração ao se estudar a cicatrização em rato, é que a pele desta espécie é significativamente mais eficiente que a pele humana em sua habilidade para fechar, em grande parte por causa de uma maior eficiência do mecanismo de contração, devido à presença do panículo carnoso. Porém, JANG et al. (1999) alega que o modelo de ferida excisional em ratos foi criticado incorretamente por causa da pele frouxa nesta espécie. Embora em animais de pele frouxa o fechamento de feridas ocorra em parte por contração, a comparação controlada da cinética do fechamento de feridas demonstrou que não há diferença no grau de contração entre animais de pele frouxa e animais de pele aderida. Concluiu que o modelo de ferida excisional em rato é uma representação fidedigna do processo de cicatrização por segunda intenção observada em outras espécies.

No presente experimento, o modelo em rato mostrou-se satisfatório, pois foi possível observar a contração na redução inicial da área da ferida, influenciada positivamente pela pomada de Ipê-roxo, e a presença de tecido de granulação. Este efeito, possivelmente, deve-se à ação adstringente do Ipê-roxo, o que proporciona a contração centrípeta do tecido. A atividade adstringente do Ipê-roxo pode ser explicada pela ação oxidante das naftoquinonas e taninos presentes em sua composição fitoquímica. Este fenômeno de contração por substâncias adstringentes e seus efeitos positivos sobre a cicatrização, estão de acordo com PANIZZA et al

(1988) que descrevem o favorecimento da cicatrização de tecidos lesionados com o uso de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*) rico em taninos, os quais precipitam proteínas e formam um revestimento protetor que favorece a regeneração.

3.5.2. Avaliação macroscópica

O exame macroscópico da ferida, observando-se a presença ou ausência de crosta, secreção, hiperemia das bordas da lesão, edema, dor e redução da área, utilizados na avaliação permitiram monitorar a evolução da cicatrização e a eficiência do tratamento usado, estando de acordo às informações de PRATA et al. (1988); RIBEIRO et al (1996); EURIDES et al. (1998); COELHO et al. (1999a) e OLIVEIRA et al. (2000).

A menor formação de crostas no grupo tratado, provavelmente, ocorreu pela ação antiinflamatória da pomada de Ipê-roxo. Outros pesquisadores também observaram uma menor formação de crostas quando aplicaram topicamente uma formulação em gel de confrei (*Symphytum officinale*) (OLIVEIRA et al. 2000) ou uma pomada formada de um composto vegetal contendo 15 plantas medicinais (BÜRGER et al. 2003). A coloração rósea/acastanhada do grupo tratado, possivelmente, foi devido à impregnação da ferida por naftoquinonas contidos no extrato do Ipê-roxo que compõem a pomada.

No 3º DPO, os sinais de dor foram mais evidente no grupo controle, possivelmente, pela presença de crostas engrossadas na maioria dos animais. A crosta tem como finalidade proteger a ferida do meio externo, porém como é formado de coágulo desidratado e endurecido, possivelmente teria um maior efeito de pressão sobre a área lesionada, ocasionando dor. Nos animais tratados, como houve uma menor formação de crosta, a sensação dolorosa foi reduzida, além do possível efeito analgésico do Ipê-roxo. ALMEIDA et al. (1990) e MIRANDA et al. (2001) demonstraram os efeitos analgésicos, antiinflamatórios e antiedematogênicos do Ipê-roxo e deve-se, possivelmente, à ação do lapachol e flavonóides que inibem possivelmente a liberação de mediadores químicos de inflamação.

No 7º DPO, as crostas foram facilmente removidas, conforme recomendação de STADELMANN et al. (1988) EURIDES et al. (1998) e OLIVEIRA et al. (2000). A crosta, que é formada pela desidratação do coágulo de fibrina, é essencial para a hemostasia, para o fechamento temporário da ferida e o controle da contaminação bacteriana. (STADELMANN et al. 1988). Por outro lado, para que ocorra efetivamente a migração das células endoteliais, fibroblastos e queratinócitos

através do coágulo de fibrina, é necessária a ativação de enzimas proteolíticas que abre um caminho para estas células. Apesar de proteger a ferida do meio externo, a crosta interfere com a cicatrização na medida em que serve de obstáculo à migração celular (SAARIALHO-KERE et al. 1993; VU e WERB 2000; OVINGTON 2002; VISSE e NAGASE 2003), ela prejudica a deposição de colágeno e a reepitelização da ferida (STADELMANN et al. 1988). Além de que, a crosta impede que os produtos aplicados topicamente entrem em contato íntimo com a área lesionada. Portanto a sua presença impede que a pomada atue diretamente sobre as feridas, dessa forma a sua retirada foi benéfica à cicatrização.

3.5.3. Exame bacteriológico

Os achados do presente estudo estão em concordância com BÜRGER et al (2003), que usando uma pomada composta por 15 plantas medicinais para tratamento de feridas em ratos, observaram semelhança quanto à intensidade de contaminação bacteriana entre os grupos controle e tratado. O isolamento de *Staphylococcus aureus* encontra-se em conformidade à citação de RIBEIRO et al. (1996) e os achados de COELHO et al. (1999 a), onde esta espécie é a principal responsável por infecções pós-operatórias de feridas cirúrgicas. Além de que o *Staphylococcus aureus* é a bactéria de escolha para modelos de estudos de cicatrização em feridas infectadas (LÓPEZ et al. 1987; LÓPEZ et al. 1989; CARVALHO et al. 1991; RIBEIRO et al. 1996).

Apesar de uma menor quantidade de secreção ter sido encontrada nas feridas tratadas com a pomada de Ipê-roxo, e as amostras de cultura bacteriana terem sido negativas, não se pode afirmar, com precisão, que a pomada apresentou um efeito antimicrobiano, visto que no grupo controle, 80% das amostras apresentou resultados de culturas negativos. Além de que a presença de secreção na ferida não caracteriza necessariamente a presença de uma infecção. RINGLER et al. (2000) esclarecem que o exsudato inflamatório forma-se pelos fluídos que extravasam dos vasos juntamente com os leucócitos e tecido desvitalizado presentes no foco da lesão. Com a degeneração e lise dos neutrófilos, o exsudato inflamatório passa a ser caracterizado como exsudato purulento. Todavia, a sua presença não prova que exista necessariamente uma infecção.

Como tem sido comprovado por vários autores que “*in vitro*” o extrato de Ipê-roxo tem atividade antimicrobiana contra várias bactérias gram-positivas, inclusive *S. aureus*, até mesmo resistente às penicilinas (ANESINI e PEREZ 1993; NAGATA et AL. 1998; RIFFEL et al. 2002; MACHADO et al. 2003) é possível que este efeito tenha ocorrido. A profilaxia efetiva da infecção

na ferida é uma condição fundamental para que ocorra o processo de cicatrização. Caso exista uma infecção a cicatrização é lenta ou até mesmo ausente. Portanto, a pomada de Ipê-roxo pelo possível potencial antibacteriano pode ser benéfica para a evolução da cicatrização.

Outro aspecto a ser considerado é a resistência às infecções pelo rato. Como observaram RIBEIRO et al. (1996) e RAHAL et al (2001), o rato (*Rattus norvegicus albinus*) possui uma certa resistência às infecções pós-operatórias, o que poderia influenciar a não ocorrência de infecções nas feridas superficiais dos animais do grupo controle.

Acrescente-se a isso, o fato de que as excelentes condições de assepsia e manejo ao qual os animais foram mantidos no Biotério Central da UEFS, pode ter repercutido na ausência de infecção pós-operatória na maioria dos animais. Portanto um estudo posterior em outras condições, com feridas infectadas experimentalmente, utilizando outra espécie animal se faz necessário para elucidar estas questões, e se for o caso, comprovar a atividade antibacteriana da pomada de Ipê-roxo.

3.5.4. Estudo histológico

Inflamação

Os achados histológicos do 3º DPO revelaram uma reação inflamatória aguda, caracterizada pela presença de elementos celulares com predominância de neutrófilos. No 7º DPO é que foi constatado um infiltrado linfocítico. Estes achados estão de acordo com o que é descrito na literatura. Os neutrófilos são os primeiros tipos celulares encontrados na fase aguda da inflamação, cuja principal função é a destruição bacteriana para a prevenção de infecção pós-operatória na ferida. Depois de 24 a 48 horas os neutrófilos se degeneram. Enquanto os linfócitos infiltram-se no foco da lesão mais tardiamente, por volta do quinto dia. (DEODHAR e RANA 1997; ADZICK 1999; SINGER e CLARK 1999).

As feridas tratadas com a pomada de Ipê-roxo exibiram, no 3º e 7º DPO, uma menor reação inflamatória, bem como uma menor quantidade de secreção, dor e edema, permitindo uma melhor evolução do processo de cicatrização. Este resultado, possivelmente, foi devido à ação antiinflamatória das naftoquinonas (lapachol) e flavonóide (quercetina) encontrados no Ipê-roxo.

O lapachol contido no extrato de Ipê-roxo quando administrado por via oral em ratos, apresentou atividade antiinflamatória, antiedematogênica e analgésica (ALMEIDA et al. 1990; MIRANDA et al 2001). No presente estudo, este efeito, possivelmente, ocorreu pela inibição de mediadores de inflamação. Some-se a isto, a possível ação do flavonóide que poderiam ter capturado radicais livres de oxigênio originados nesta fase. Desta forma, provavelmente, o Ipê-roxo apresentou um efeito protetor sobre as membranas celulares, com conseqüente efeito benéfico à proliferação celular e evolução da cicatrização. Este processo necessita de maiores esclarecimentos.

Tecido de granulação

Neste estudo, o tecido de granulação caracterizou-se pela proliferação fibroblástica e pela presença de capilares neoformados. Ele foi observado nos dois grupos a partir do 3º DPO com um aumento significativo no 7º DPO. Os achados encontram-se de acordo com a descrição de SINGER e CLARK (1999), onde por volta do 4º DPO inicia-se a proliferação de fibroblastos e o brotamento de novos capilares que constituem o tecido de granulação. A fibroplasia foi mais intensa, no 7º DPO, nas feridas tratadas com a pomada. A maior proliferação de fibroblastos neste período é semelhante ao que é relatado por STADELMANN et al. (1998) onde os fibroblastos surgem na ferida entre o segundo e terceiro dia de cicatrização, com predominância na primeira semana do processo.

Nos achados do presente estudo, não foi encontrada diferença significativa entre os dois grupos quanto à presença de neovasos. Porém, foi observado que as feridas tratadas com a pomada apresentaram a área cicatricial com uma coloração superficial mais rósea, o que pode ter sido influenciado pela atividade do flavonóide (quercetina), o qual tem efeito positivo sobre a vascularização. De acordo com STADELMANN et al. (1998) e ADZICK (1999) a neovascularização é de fundamental importância para a cicatrização na medida em que permite a nutrição e a oxigenação da área lesionada. Caso ocorra uma falha na angiogênese, a fibroplasia e a reepitelização estará prejudicada. Como o flavonóide é indicado para distúrbios vasculares, inclusive úlceras venosas (BRUNETON 1991; HENDLER 1994), e é um dos constituintes do Ipê-roxo, é possível que existiu um efeito protetor sobre a neovascularização da área lesionada com evolução mais rápida da cicatrização.

O início da deposição de fibras de colágeno, no 7ºDPO, correspondeu ao período de maior fibroplasia para ambos os grupos. Entretanto, as feridas tratadas possuíam uma maior intensidade

de deposição de fibras de colágeno, ocasionada pela presença intensa de fibroblastos no 7º DPO, com aumento crescente na sua deposição e melhor organização dessas fibras ao longo da evolução da cicatrização no 10º e 14º DPO, quando comparado ao grupo controle. Como descrito por BRUNETON (1991), o flavonóide (quercetina) estimula a hidroxilação da prolina, favorecendo o entrecruzamento das fibras de colágeno. Além de ter uma ação anti-elastase e anti-hialuronidade, que inibe a degradação do colágeno. Esta ação pode explicar a presença mais intensa das fibras de colágeno e sua melhor organização no grupo tratado com a pomada de Ipê-roxo, uma vez que este flavonóide faz parte da composição fitoquímica desta planta. Deve-se também considerar, a afirmativa de HENDLER (1994), que o flavonoides (quercetina) auxilia a atividade antioxidante da vitamina C, e esta em troca protege a quercetina da oxidação. Este fato, possivelmente, também influencie positivamente na evolução da cicatrização, pois a vitamina C participa da hidroxilação da prolina.

Reepitelização

Possivelmente, a maior reepitelização verificada nas feridas tratadas com a pomada de Ipê-roxo deve-se à ação antioxidante, que inibem a ação deletérica dos radicais livres evitando dano tecidual. A ação antioxidante do Ipê-roxo foi demonstrada por PARK et al. (2003). Neste aspecto, cabe ressaltar o trabalho de AWALE et al. (2005) que demonstraram o efeito inibitório dos componentes do Ipê-roxo sobre a produção de óxido nítrico. Segundo os autores, a inibição da síntese de óxido nítrico é benéfica na medida em que reduz os danos teciduais provocados por esta substância, quando produzida excessivamente. Some-se a isto, a afirmativa de WELLER (1997) e ATUESTA (2001) de que a integridade imunológica da pele é mantida pela produção constante de óxido nítrico em baixos níveis, e que esta substância estimula a proliferação celular e a reepitelização. Porém, inibe esta proliferação quando em concentração elevada. Portanto, é possível, que a pomada de Ipê-roxo ocasionou uma melhor reepitelização por inibir a produção de óxido nítrico. Este aspecto merece melhores esclarecimentos.

Outra observação é o efeito umectante da pomada que evita a perda de água por evaporação no foco da ferida proporcionando um micro-ambiente mais úmido, favorecendo a reepitelização. Conforme OVINGTON (2002), a difusão intercelular de mediadores, citocinas e fatores de crescimento só podem ocorrer em um micro-ambiente de ferida úmido. Um dos mecanismos pelos os quais curativos úmidos em feridas aumentam as taxas de cicatrização, por facilitar a comunicação intercelular dentro do foco da ferida. DEODHAR e RANA (1997) afirmam que a

movimentação de células epidérmicas na ferida é determinada em parte pelo conteúdo de água. O epitélio busca uma migração com uma umidade crítica. Quando a ferida encontra-se desidratada a dissecação e abertura para a migração do epitélio é prejudicada, retardando o processo de cicatrização.

3.5.5. Tensiometria

Este método foi idealizado por Worlasky e Prudden em 1962, citado por LOPEZ et al. (1987). Adaptou-se ao método descrito por VASCONSELOS et al. (2001) o uso de uma balança eletrônica de precisão. Apesar do método de tensiometria ser simples ele mostrou ser eficiente uma vez que existiu uma padronização dos procedimentos utilizados na aferição.

LOPEZ et al. (1987) e LOPEZ et al. (1989) argumentam que a medida da resistência à tensão é uma das formas mais confiáveis de avaliar a qualidade da cicatrização de feridas. Este teste é simples e suficientemente constante para aferir não só a força de coesão expressa em gramas, mas também pode correlacionar, com certa coerência, a quantidade de colágeno presente no tecido cicatricial. Estes autores observaram que quanto maior a força de coesão maior a quantidade de colágeno encontrada, e maior a elasticidade desse colágeno.

Apesar dos valores de tensão dos grupos estudados encontrarem-se muito abaixo da pele normal, estão dentro dos padrões normais para o tecido que cicatriza. O ganho de força de tensão durante o processo de cicatrização refletiu a remodelação das fibras colágenas, estando de acordo com as informações encontradas na literatura.

Vários autores relatam que as feridas só ganham nas primeiras três semanas, aproximadamente, 20 a 25% da sua força final. Vários meses depois, a força máxima encontra-se entre 70 a 80% da pele normal. Isto é explicado pela disposição inicial desordenada das fibras de colágeno que se acumulam rapidamente, e pela alta taxa de sua degradação. Posteriormente, a taxa à qual as feridas ganham resistência à tensão ocorre lentamente, o que reflete uma taxa lenta de deposição de colágeno e, mais importante, o seu remodelamento (WONG et al. 1996; STADELMANN et al. 1998; SINGER e CLARK 1999).

O colágeno é obviamente importante em todas as fases da cicatrização da ferida sendo fundamental na recuperação da força e integridade do tecido cicatricial (ADZICK 1999). Durante

o período de fibroplasia o colágeno é produzido de forma crescente, continuamente, até aproximadamente 21 dias, quando a homeostase é alcançada e a taxa de degradação do colágeno equilibra-se com a sua síntese. O conteúdo crescente de colágeno na ferida durante a fase fibroblástica correlaciona-se com a resistência crescente da ferida à tensão (STADELMANN et al 1998).

Isto foi observado no presente estudo, uma vez que as feridas tratadas com a pomada apresentaram uma maior resistência à tensão, e corresponderam às feridas que possuíam uma maior intensidade de fibroplasia e presença de fibras colágenas. Nas feridas tratadas, possivelmente, o efeito do Ipê-roxo sobre o entrecruzamento das fibras de colágeno e sua organização proporcionou feridas mais resistentes. Possivelmente, o entrecruzamento das fibras de colágeno pode ser explicado pelo conteúdo de quercetina do Ipê-roxo que aumenta a hidroxilação da prolina, e à ação anti-elastase e anti-hialuronidade que reduzem a degradação dessas fibras.

SHERRAT e DALLON (2002) argumentam que existe diferença significativa, quanto à estruturação das fibras colágenas, do tecido em cicatrização em relação à pele normal. No tecido em cicatrização as fibras colágenas são dispostas alinhadas, perpendicularmente, à superfície da pele. Enquanto que na pele normal as fibras colágenas são entrecruzadas e organizadas semelhante a um cesto. Esta diferença no arranjo das fibras de colágeno, é que fazem a diferenciação microscópica entre a cicatriz e a pele normal, e proporciona ao tecido uma fraca ligação e resistência à tensão. Como caracterizam DEODHAR e RANA (1997) o aumento da resistência à tensão deve-se ao entrecruzamento das fibras de colágeno.

Enfim, a vantagem, apesar de pequena, na tensiometria das feridas tratadas com a pomada de Ipê-roxo demonstra uma cicatrização superior, onde em todos os animais foi observada cicatrização completa no 14º DPO. Enquanto que no grupo controle existiam feridas ainda abertas. Portanto, pode-se presumir que a pomada de Ipê-roxo aumentou a deposição de colágeno e o entrecruzamento de suas fibras com conseqüente aumento de resistência à tensão no 14º e 21º DPO. Isto necessita de maiores esclarecimentos em estudos futuros, através da quantificação de colágeno pela dosagem de hidroxiprolina em feridas sob influência do Ipê-roxo.

3.6 Conclusões

Os resultados deste estudo, nas condições em que foi realizado, permite as seguintes conclusões:

- a) A pomada de Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) a 10% apresentou efeito positivo sobre a cicatrização de feridas cutâneas no modelo estudado.
- b) As feridas tratadas com a pomada apresentaram um fechamento mais rápido, com menor formação de crostas e menor quantidade de secreção.
- d) O uso da pomada de Ipê-roxo apresentou um efeito anti-inflamatório e estimulou a profiliação de tecido de granulação, evidenciado histologicamente pelo aumento da fibroplasia, neovascularização e deposição de fibras colágenas. Bem como acelerou a reepitelização das feridas.
- f) As feridas que receberam a pomada de Ipê-roxo, apresentaram uma melhor organização das fibras colágenas com conseqüente aumento da resistência à tensão.
- g) A pomada de Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) a 10% é indicada no tratamento rotineiro de feridas cutâneas em animais, sendo de baixo custo, fácil aquisição e preparação.
- h) Mais estudos são necessários para avaliar o efeito do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) sobre a cicatrização de feridas infectadas, bem como esclarecer a atividade de seus constituintes fitoquímicos sobre os vários componentes do processo de cicatrização.

3.7 Referências bibliográficas

ADZICK, N.S. Cicatrização da ferida: características biológicas e clínicas. In: SABISTON, J.R.; DAVID, C.; LYERLY, H.K. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. 15ªed. vol.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.194-206.

ALMEIDA, E.R.; SILVA-FILHO, A.A.; SANTOS, E.R.; LOPES, C.A.C. Antiinflammatory actin of lapachol. **J. Ethnopharmacol.**, v.29, p.239-241, 1990.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol.**, v.39, p.119-128, 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FARMACÊUTICOS HOMEOPATAS. **Manual de normas técnicas para farmácia homeopática**. 2ªed. São Paulo: ABFH, 1995. p.69-71.

ATUESTA, J.J. Oxido nítrico y biología cutánea. **Acta Méd. Colomb.**, v.26, n.4, p.202-204, 2001.

AWALE, S., KAWAKAMI, T.; TEZUKA, Y.; UEDA, J.; TANAKA, K.; KADOTA, S. Nitric oxide (NO) production inhibitory constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chem. Pharmacol. Bull.**, v.53, n.6, p.710-713, 2005.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991. p.159-172.

BÜRGER, M.E.; GHEDINI, P.C.; DORIGONI, P.A.; GRAÇA, D.L.; BALDISSEROTTO, B.; ALMEIDA, C.E.; CASSOL, R., MATOS, R.S., FROES, L.F., ZACHIA, R.A. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos tratados com pomada caseira à base de plantas medicinais. **R. Brás. Pl. Méd.**, v.5, n.2, p.91-97.

CANDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: Editora SENAC, 2001. p.29-41.

CARVALHO, P.S.P.; TAGLIAVINI, D.G.; TAGLIAVINI, R.L. Cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme de calêndula e da associação de confrei, própolis e mel em feridas infectadas: estudo clínico e histológico em ratos. **R. Ci. Bioméd.**, v.12, p.33-38, 1991.

CLEWLOW, J.A. A review of the history of veterinary wound management. **Word Wide Wound**, [serial online] Jul., 2003. Disponível em: <http://www.wordwidewounds.com>. Acesso em: 23 jul. 2004.

COELHO, M.C.O.C.; REZENDE, C.M.F.; NUNES, V.A.; SIMÕES, H. Substitutos temporários de pele em feridas: estudo experimental em cães. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, v.51, n.1, p.49-56, 1999a.

COELHO, M.C.O.C.; REZENDE, CMF.; TENÓRIO, A.P.M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ci. Rural**, v.29, n.2, p.297-303, 1999.

CRUZ, J.I.; LASAOSA, J.M. Anestesia de animales de laboratorio y de otras especies. In: GONZALO, J.M.; AVILA, I.; SAN ROMAN, F.; ORDEN, A.; SÁNCHEZ-VALVERDE, M.A.; BONAFONTE, I. et al. **Cirurgia veterinaria**. 1ªed. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 1994. p.605-628.

DEODHAR, A.K.; RANA, R.E. Surgical physiology of wound healing. **J. Pos.Grad. Med.**, v.43, n.2, p.52-56, 1997.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; GONÇALVES, G.F.; BELLETI, M.E.; SILVA, L.A.F.; FIORAVANTE, M.C.S.; CHAVES, N.S.T.; BOMBONATO, P.P.; CAMPOS, V.A.; OGATA, A.S. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaífera langesdorfii*). **Vet. Notícias**, v.4, n.1, p.77-82, 1988.

FALCÃO, S.C.; COELHO, A.R.B.; ALMEIDA, E.L.; GALDINO, C.A.P.M. Processo modificado de reprodução e amplificação de imagem para mensuração de área por planimetria: aplicação em feridas planas produzidas em cães, tratadas por curativos oclusivos de pele de rã. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.165-169, 2001.

HENDLER, S.S. **A enciclopédia de vitaminas e minerais**. Rio de Janeiro: Campus;1997. p364-369.

HINZ, B.; MASTRANGELE, D.; ISELIN, C.E.; CHAPONNIER, C.; GABBIANI, G. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. **Am. J. Pathol.**, v.159, p.1009-1020, 2001.

JANG, Y.C.; ARUMUGAM, S.; GIBRAN, N.S.; ISIK, F.F. Role of alfa-integrins and angiogenesis during wound repair. **Wound Rep. Regen.**, v.7, n.5, p.375-380, 1999.

LOPEZ, H.S.; CAMBEROS, L.O.; CONTRERAS, G.G.; VARA, M.G. Eficacia cicatrizante de varios medicamentos de patente, la zabila y el propóleo. **Vet. Mex.**, v.18, p.33-37, 1987.

LÓPEZ, H.S.; CAMBEROS, L.O.; OCAMPO, A.A. Evaluación comparativa de la mezcla propoleo zabila con cicatrizantes comerciales. **Vet. Méx.**, v.20, p.407-413, 1989.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum; 2002. p.93-94.

MACHADO, T.B.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R.; LEAL, I.C.R.; SILVA, M.G.; AMARAL, A.C.F.; KUSTER, R.M.; NETTO-dosSANTOS, K.R. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant. *Staphylococcus aureus*. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v.21, p.279-284, 2003.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara; 1988. p.102-107.

MIRANDA, F.G.G.; VILAR, J.C.; ALVES, I.A.N.; CAVALCANTI, S.C.H.; ANTONIOLLI, A.R. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* bark aqueous extract. **B.M.C. Pharmacol.**, v.1, n.1, p.6-15, 2001.

MOTT, K.J.; CLARK, D.P.; STELLJES, L.S. Regional variation in wound contraction of Mohs surgery defects allowed to heal by second intention. **Dermatol. Surg.**, v.29, n.7, p.712-722, 2003.

NAGATA, K.; HIRAI, K-I.; KOYAMA, J.; WADA, Y.; TAMURA, T. Antimicrobial activity of novel furanonaphthoquinone analogs. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.42, n.3, p.700-702, 1998.

OLIVEIRA, H.P. **Aspectos clínicos e cirúrgicos das feridas**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG; 1987.

OLIVEIRA, S.T.; LEME, M.C.; PIPPI, N.L.; RAISER, A.G.; MANFRON, M.P. Formulações de confrei (*Symphytum officinale*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **R. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana**, v.7, n.1, p.61-65, 2000.

OVINGTON, L.Z. Overview of matrix metalloprotease modulation and growth factor protection in wound healing. **Wounds: Comp. Clin. Res. Pract.** v.14, n.5, p.12-19 2002.

PANIZZA, S.; ROCHA, A.R.; GECCHI, R.; SOUZA E SILVA, R.A.P. *Stryphnodendron barbatiman*: teor de tanino e propriedade cicatrizante. **R. Ci. Farm.**, v.10, p.101-106, 1988.

PARK B-S.; LEE, K-G.; SHIBAMOTO, T.; LEE, S-E.; TAKEOKA, G.R. Antioxidant activity and characterization of volatile constituents of Taheebo (*Tabebuia impetiginosa*). **J. Agri. Food Chem.**, v.51, p.295-300, 2003.

PRATA, M.C.; HADDAD, C.M.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; MOURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. **Acta Cir. Brás.**, v.3, n.2, p.43-48, 1988.

RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; BLESSA, E.P.; IWABE, S.; CROCCI, A.J. Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Ci. Rural**, v.31, n.6, p.1007-1011, 2001.

RAO, G.V.; SHIVAKUMAR, H.G.; PARTHASARATHI, G. Influence of aqueous extract of *Centella asiatica* on experimental wounds in albino rats. **Indian J. Pharmacol.** v.28, p.249-253, 1996.

RIBEIRO, R.C.; SANTOS, O.L.R.; FROTA, C.; CAPARICA FILHO, A.; ABOIM, E. Eficácia do açúcar, colagenase e nitrofurazona no tratamento das infecções incisionais: estudo experimental em camundongos. **R. Bras. Cir.**, v.86, n.1, 25-33, 1996.

RIFFEL, A.; MEDINA, L.F.; STEFANI, V.; SANTOS, R.C.; BIAZINI, D.; BRANDELLI, A. In vitro antimicrobial activity of a new series of 1,4 – naphthoquinones. **Braz. J. Méd. Bras. Res.**, v.35, n.7, p.811-818, 2002.

RINGLER, D.J. Inflamação e reparo. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.M. **Patologia veterinária**. 6ªed. São Paulo: Monole; 2000. p.157-165.

SAARIALHO-KERE, U.K.; KOVACS, S.O.; PENTLAND, A.P.; OLERUD, J.E.; WELGUS, H.G.; PARKS, W. Cell-matrix interactions modulate interstitial collagenase expression by human keratinocytes actively involved in wound healing. **J. Clin. Invest.**, v.92, n.6, p.2858-2866, 1993.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplica à experimentação animal**. 1ªed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia-UFMG; 1998.

SANTOS, L.O.M.; SIMÕES, M.L.P.B.; MACHADO, A.P.B.; MATIOSKI FILHO, G.R.; ENDO, P.C.; GRUEN, G.R.; CIPRIANI, V.R.; MESQUITA, L.D. Efeito da somatotropina sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cir. Brás.**, v.17, n.4, p.220-224, 2002.

SHERRAT, J.A.; DALLON, J.C. Theoretical models of wound healing: past successes and future challenges. **Comp. Rend. Biol.**, v. 325, n.5, p.557-564, 2002

SCHOSSLER, J.E.; SCHOSSLER, D.R. Avaliação clínica da anestesia geral pela tiletaminazolazepam associada ao fentanil em ratos (*Rattus norvegicus albinus*). **Acta Cir. Brás.**, v.8, n.1, p.32-34, 1993.

SILVA, M.F.A.; AMARAL, R.G.; ROSA, M.M.T.; SILVA, I.M.; VANDERLINDE, F.A.. Avaliação dos efeitos da carobinha (*Jacaranda pteroides*) sobre a cicatrização: estudo experimental em cobaias (*Cavia porcellus*). **R. Brás. Méd. Vet.**, v.20, n.6, p.254-256, 1998.

SINGER, A.J.; CLARK, R.A. Cutaneous wound healing. **N. Engl. J. Med.**, v.341, n.10, p.738-746, 1999.

SPERONI, E.; GOVONI, P.; GUIZZARDI, S.; RENZULLI, C.; GUERRA, M.C. Antiinflammatory and cicatrizing activity of *Echinacea pallida* root extract. **J. Ethnopharmacol.** v.79, n.2, p.265-272, 2002.

STADELMANN, W.K.; DIGENIS, A.G.; TOBIN, G.R. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. **Am. J. Surg.**, v.176, n.2 suppl 1, p.26-38, 1998.

STARLEY, I.F.; MOHAMMED, P.; SCHNEIDER, G.; BICKLER, S.W. The treatment of paediatric burns using topical papaya. **Burns**, v.25, n.7, p.636-639, 1999.

THOMAZ, J.B.; HERDY, C.D.C.; OLIVEIRA, J.C.P.; SOUZA, J.R.; ROBADEY, R.A. Fundamento da cicatrização das feridas. **Arq. Brás. Méd.**, v.70, n.2, p.62-72, 1996.

VASCONSELLOS, L.S.; ALBERTI, L.R.; NUNES, C.B.; PETROIANU, A. Efeito da hidrocortisona sobre a resistência cicatricial da pele em camundongos. **R. Col. Brás. Cir.**, v.28, n.6, p.438-443, 2001.

VIEIRA, S.C.; KRAUSE, G.A.; ZAMPIROLO, J.Á.; LUCINDA, R.M.; SCHLEMPER, V.; SCHLEMPER, S.E.M. Efeito cicatrizante da pomada de *Persea cordata* (Lauraceae) em feridas cutâneas de cobaias. **R. Brás. Pl. Med.**, v.3, n.2, p.31-35, 2001.

VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases: structure, function and biochemistry. **Circ. Res.: J. Am. Heart Assoc.**, v.92, n.5, p.827-839, 2003.

VU, T.H.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. **Gene Dev.**, v.14, n.17, p.2123-2133, 2000.

WAWERSIK, M.J.; MAZZALUPO, S.; NGUYEN, D.; COULOMBE, P.A. Increased levels of keratin 16 after epithelialization potential of mouse skin keratinocytes in vivo and ex vivo. **Mol. Biol. Cell**, v.12, n.11, p.3439-3450, 2001.

WELLER, R. Nitric oxide: a newly discovered chemical transmitter in human skin. **Br. J. Dermatol.**, v.137, n.5, p.665-672, 1997.

WONG, M.E.K.; HOLLINGER, J.O.; PINERO, G.J. Integrated processes responsible for soft tissue healing. **Oral Surg.**, v.82, n.5, p.475-492, 1996.

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados observados neste estudo permitem considerar que a fase inflamatória na cicatrização prevaleceu no 3º e 7º DPO, sendo caracterizada pela predominância de neutrófilos e uma menor quantidade de linfócitos. Neste período, de forma geral, as feridas do grupo tratado apresentaram uma inflamação mais moderada e um melhor aspecto macroscópico com menor formação de crostas e menor presença de secreção, quando comparado ao grupo controle.

O tecido de granulação caracterizou-se pela fibroplasia, proliferação conjuntiva e presença de vasos neoformados, sendo mais evidentes no 7º DPO. O uso da pomada intensificou a fibroplasia, e aumentou a deposição e organização das fibras colágenas no 10º e 14º DPO.

As feridas tratadas apresentaram uma maior percentagem de contração, com um tamanho mais reduzido em relação ao grupo controle. Isto evidencia uma melhor evolução cicatricial pelo efeito da pomada de Ipê-roxo. Constatou-se também uma reepitelização mais avançada, com presença de feridas já totalmente cicatrizadas a partir do 10º DPO. Bem como uma resistência à tensão superior ao grupo controle. Entretanto no período final do processo de cicatrização, no 21 DPO, não foi observada diferença entre os dois grupos.

Diante destes resultados evidencia-se que a pomada de Ipê-roxo possuiu um efeito positivo sobre a evolução da cicatrização. Possivelmente, o somatório da atividade dos constituintes do Ipê-roxo (naftoquinonas, flavonóides e taninos) explique o efeito benéfico sobre o processo de cicatrização, onde há uma possível ação moduladora da inflamação, associado à ação antioxidante, antimicrobiana e adstringente. Portanto, a torna indicada para o uso rotineiro no tratamento de feridas na clínica cirúrgica veterinária.

O presente estudo abre questões sobre a necessidade de explicações mais precisas, que esclareçam de modo adequado quanto à participação das frações dos constituintes do Ipê-roxo no processo de cicatrização, particularmente, os efeitos sobre a proliferação celular em culturas de fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos. Além de estudos de sua influência sobre mediadores químicos e citocinas. Como também, a necessidade de pesquisas sobre os efeitos do Ipê-roxo na cicatrização de feridas infectadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, R.; SHIMIZU, T.; OHKAWARA, A.; NISHIHARA, J. Enhancement of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression in injured epidermis and cultured fibroblast. **Biochem. Biophys. Acta.**, v.1500, n.1, p.1-9, 2000.

ABE, R.; DONNELLY, S.C.; PENG, T.; BUCALA, R.; METZ, C.N. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. **J. Immunol.**, v.166, p.7556-7562, 2001.

ACOSTA, J.B; LIZAMA,C.M. Some considerations on the physiological role of epidermal growth factor in relation to its pharmacological applications. **Biotechnol. Aplic.**, v.15, p.141-148, 1998.

ADZICK, N.S. Cicatrização da ferida: características biológicas e clínicas. In: SABISTON, J.R.; DAVID, C.; LYERLY, H.K. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. 15ªed. vol.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.194-206.

ALMEIDA, E.R.; SILVA-FILHO, A.A.; SANTOS, E.R.; LOPES, C.A.C. Antiinflammatory actin of lapachol. **J. Ethnopharmacol.**, v.29, p.239-241, 1990.

ALMEIDA, E.R. **Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus, 1993. p.284-287.

AMENDT, C.; MANN, A.; SCHIRMACHER, P.; BLESSING, M. Resistence of keratinocytes to TGFB- mediated growth restriction an apoptosis induction accelerates reepithelizationin skin wounds. **J. Cell Sci.**, v.115, p.2189-2198, 2002.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol.**, v.39, p.119-128, 1993.

ARORA, P.D.; NARANI, N.; MCCULLOCH, C.A.G. The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor-B induction of smooth muscle actin in fibroblasts. **Am. J. Pathol.** v.154, p.871-882, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FARMACÊUTICOS HOMEOPATAS. **Manual de normas técnicas para farmácia homeopática**. 2ªed. São Paulo: ABFH, 1995. p.69-71.

ATUESTA, J.J. Oxido nítrico y biología cutánea. **Acta Méd. Colomb.**, v.26, n.4, p.202-204, 2001.

AWALE, S., KAWAKAMI, T.; TEZUKA, Y.; UEDA, J.; TANAKA, K.; KADOTA, S. nitric oxide (NO) production inhibitory constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chem. Pharmacol. Bull.**, v.53, n.6, p.710-713, 2005.

BHUSHAN, N.M.; YOUNG, H.S.; BRENCHLEY, P.E.C.; GRIFFITHS, C.E.M. Recent advances in cutaneous angiogenesis. **Br. J. Dermatol.**, v.147, n.3, p.418-425, 2002.

BEARE, A.H.M.; O'KANE, .S.; KRANE, S.M.; FERGUSON, M.W.J. Severely impaired wound healing in the collagenase resistance mouse. **J. Invest. Dermatol.**, v.120, n.1, p.153-163, 2003.

BIKFALVI, A.; KLEIN, S.; PINTUCCI, G.; RIFKIN, D.B. Biological roles of fibroblast growth factor – 2. **Endocr. Rev.**, v.18, n.1, p.26-45, 1997.

BOOM, R.V.D.; WILMINK, J.M.; O'KANE, S.; WOOD, J.; FERGUSON, M.W.J. Transforming growth factor-B levels during second-intention healing are related to the different course of wound contraction in horse and ponies. **Wound Rep. Regener.**, v.10, n.3, p.188-194, 2002.

BOOTCOV, M.R.; BAUSKIN, A.R.; VALENZUELA, S.M.; MOORE, A.G.; BANSAL, M.; HE, X.Y.; ZHANG, H.P.; DONELLAN, M.; MAHLER, S.; PRYOR, K.; WALSH, B.J.; NICHOLSON, R.C.; FAIRLIE, D.; BRAUN, S.; ROBBINS, J.M.; BREIT, S.N. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-B superfamily. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.94, n.21 p.11514-11519, 1997.

BOOTHE, D.M.; BOOTHE J.R, H.W. Resposta tecidual local. ao traumatismo e à cirurgia. In: Bojrab MJ. **Mecanismos das moléstias na cirurgia dos pequenos animais**. 1ªed. São Paulo: Manole, 1996. p.13-20.

BORDER, W.A.; NOBLE, N.A. Transforming growth factor B in tissue fibrosis. **N. Engl. J. Med.**, v.331, n.19, p.1286-1292, 1994.

BRAIN, S. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. **Immunopharmacol.**, v.37, p.133-152, 1997.

BRAUN, S.; HANSELMANN, C.; GASSMANN, M.G.; KELLER, U.; BERCLAZ, C.B.; CHAN, K.; KAN, Y.W.; WERNER, S. Nrf2 transcription factor, a novel target of keratinocyte growth factor action which regulates gene expression and inflammation in the healing skin wound. **Mol. Cell Biol.**, v.22, n.15, p.5492-5505, 2002.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991. p.159-172.

BÜRGER, M.E.; GHEDINI, P.C.; DORIGONI, P.A.; GRAÇA, D.L.; BALDISSEROTTO, B.; ALMEIDA, C.E.; CASSOL, R.; MATOS, R.S.; FROES, L.F.; ZACHIA, R.A.. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos tratados com pomada caseira à base de plantas medicinais. **R. Brás. Pl. Méd.**, v.5, n.2, p.91-97.

CANDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: Editora SENAC, 2001. p.29-41.

CARVALHO, J.C.T.; ALMANÇA, C.C.J. **Formulário de prescrição fitoterápica**. São Paulo: Atheneu, 2003. p.100-101.

CARVALHO, P.S.P.; TAGLIAVINI, D.G.; TAGLIAVINI, R.L. et al. Cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme de calêndula e da associação de confrei, própolis e mel em feridas infectadas: estudo clínico e histológico em ratos. **R. Ci. Bioméd.**, v.12, p.33-38, 1991.

- CHEN, W.Y.J.; ABANTAGENO, G. Functions of hyaluronan in wound repair. **Wound Rep. Regener.**, v.7, n.2, p.79-89,1999.
- CHESNEY, J.; METZ, C.; STAVITSKY, M.B.; BUCALA, R. Regulated production of type I collagen and inflammatory cytokines by peripheral blood fibrocytes. **J. Immunol.**, v.160, p.419-425, 1998.
- CHIPEV, C.C.; SIMON, M. Phenotypic differences between dermal fibroblast from different body sites determine their responses to tension and TGFb1. **B. M. C. Dermatol.**, v.2, n.1, p.13-26, 2002.
- CLEWLOW, J.A. A review of the history of veterinary wound management. **Word Wide Wound**, [serial online] 2003 Jul. Disponível em: <http://www.wordwidewounds.com>. Acesso em: 23 jul. 2004.
- COELHO, M.C.O.C.; REZENDE, C.M.F.; NUNES, V.^a; SIMÕES, H. Substitutos temporários de pele em feridas: estudo experimental em cães. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, v.51, n.1, p.49-56, 1999a.
- COELHO, M.C.O.C.; REZENDE, CMF.; TENÓRIO, A.P.M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ci. Rural**, v.29, n.2, p.297-303. 1999b.
- COHEN, I.K.; DIEGELMANN, R.F.; CROSSLAND, M.C. Os cuidados como a cicatrização das feridas. In. SCHWARTZ, S.I.; SHIRES, G.T.; SPENCER, F.C. **Princípios de cirurgia**. 6^a ed. vol. 1. México: Mc Graw-Hill, 1996. p. 251-273.
- COSTA, A.M.A.; PEYROL, S.; PORTO, L.C.; COMPARIN, J.P; FOYATIER, J.L.; DESMOULIERE, A. Mechanical forces induce scar remodeling. **Am. J. Pathol.**, v.155, p.1671-1679, 1999.
- CRUZ, J.I.; LASAOSA, J.M. Anestesia de animales de laboratorio y de otras especies. In: GONZALO, J.M.; AVILA, I.; SAN ROMAN, F.; ORDEN, A.; SÁNCHEZ-VALVERDE, M.A.; BONAFONTE, I. et al. **Cirurgia veterinaria**. 1^aed. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 1994. p.605-628.
- DÁVILA, J.M.R.T.; DÍAZ, A.C.S.;VERGARA, G.N. Citoquinas y pele (parte I). **Fol. Dermatol. Peru** serial online] 1995 Set; 6(3). Disponível em: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/fofia>. Acesso em: 10 mai. 2004.
- DEALEY, C. **Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras**. São Paulo: Atheneu, 1996. p.1-27.
- DEODHAR, A.K.; RANA, R.E. Surgical physiology of wound healing. **J. Pos.Grad. Med.**, v.43, n.2, p.52-56, 1997.
- DI PIETRO, L.A.; BURDICK, M.; LOW, Q.E.; KUNKEL, S.L.; STRIETER, R.M.. MIP-1 as a critical macrophage chemoattractant in murine wound repair. **J. Clin. Invest.**, v.101, n.8, p.1693-1698, 1998.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, v.82, n.1, p.47-95, 2002.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; GONÇALVES, G.F.; BELLETI, M.E.; SILVA, L.A.F.; FIORAVANTE, M.C.S.; CHAVES, N.S.T.; BOMBONATO, P.P.; CAMPOS, V.A.; OGATA, A.S. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaífera langesdorfii*). **Vet. Notícias**, v.4, n.1, p.77-82, 1988.

FALCÃO, S.C.; COELHO, A.R.B.; ALMEIDA, E.L.; GALDINO, C.A.P.M. Processo modificado de reprodução e amplificação de imagem para mensuração de área por planimetria: aplicação em feridas planas produzidas em cães, tratadas por curativos oclusivos de pele de rã. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.165-169, 2001.

FALKENBERG, M.B. Quinonas. 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**. 2ªed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC; 2000. p.545-567.

FELÍCIO, A.C.; CHANGA, C.V.; BRANDÃO, M.A.; PETERS, V.M.; GUERRA, M.O. Fetal growth in rats treated with lapachol. **Contracept.**, v.66, p.289-293, 2002.

FEUGATE, J.E.; LI, Q.J.; WONG, L.; GREEN, M.M. The cxc chemokine cCAF stimulates differentiation of fibroblasts in myofibroblasts anal accelerates wound closure. **J. Cell. Biol.**, v.156, n.1, p.161-172, 2002.

FRANK, S.; MADLENER, M.; WENER, S. Transforming growth factors b1,b2 e b3 and their receptors are differentially regulated during normal and impaired wound healing. **J. Biol. Chem**, v.271, n.17, p.1088-1093, 1996.

FRIESS, W. Collagen biomaterial for drug delivery. **Eur. J. Pharmacol. Biopharmacol.**, v.45, n.2. p.113-136, 1998.

GUERRA, M.O.; MAZONI, A.S.B.; BRANDÃO, M.A.F.; PETERS, V.M. Interceptive effect of lapachol in rats. **Contracept.**, v.60, p.305-307, 1999.

GOULART, M.O.F.; FALKOWSKI, P.; OSSOWSKI, T.; LIWO, A. Electrochemical study of oxygen interaction with lapachol and its radical anions. **Bioelectrochem.**, v. 59, p.85-87, 2003.

GRELLNER, W. Time-dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1, IL-6, TNF) in human skin wounds. **Forens Sci. Int.**, v.130, n.2-3, p.90-96, 2002.

HELDIN, C.H.; WESTERMARK, B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. **Physiol. Rev.**, v.79, p.283-316, 1999.

HENDLER, S.S. **A enciclopédia de vitaminas e minerais**. Rio de Janeiro: Campus; 1997. p.364-369.

HESS, C.T. **Tratamento de feridas e úlceras**. 4ªed. Rio de Janeiro: Reichmann e Affonso; 2002. p.1-57.

HINZ, B.; MASTRANGELE, D.; ISELIN, C.E.; CHAPONNIER, C.; GABBIANI, G. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. **Am. J. Pathol.**, v.159, p.1009-1020, 2001.

JAIN, R.K. Molecular regulation of vessel maturation. **Natu. Med.**, v. 9, n.6, p.685-693, 2003.

JANG, Y.C.; ARUMUGAM, S.; GIBRAN, N.S.; ISIK, F.F. Role of alfa-integrins and angiogenesis during wound repair. **Wound Rep. Regener.**, v.7, n.5, p.375-380, 1999.

JENSEN, P.; STEINBERG, J. The physiology of wound healing: Factors that help an hinder. (Wound management). **Podiatry Management**, [serial online] jun-jul, 2002. Disponível em: <http://www.podiatrym.com/podiatrymanagement.cfm>. Acesso em: 12 mai. 2004

KUMAGAI, Y.; TSURUTAMI, Y.; SHINYASHIKI, M.; HOMMA-TAKEDA, S.; NAKAI, Y.; YOSHIKAWA, T.; SHIMOJO, N. Bioactivation of lapachol responsible for DNA scission by NADPH-cytochrome P450 reductase. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v.3, p.245-250, 1997.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. **Patologia básica**. 5ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. p.21-50.

LANDEROS, M.M.V.; JUAREZ, P.; CASILLAS, F.L. El papel fisiopatológico delTGF-B en las nefropatías de diversas etiologías: los inhibidores del TGF-B como agentes terapéuticos potenciales. **Gac. Méd. Méx.**, v.139, n.2, p.126-133, 2003.

LAPIÈRE, C.M. Collagenase and impaired wound healing. **J. Invest. Dermatol.**, v.120, n.1, p.12-13, 2003.

LEE, J.L.; MUKHTAR, H.; BICKERS, D.R.; KOPELOVICH, L.; ATHARA, M. Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. **Toxicol. Appli Pharmacol.**, v.192, p.294-306, 2003.

LIEKENS, S.; CLERCQ, E.; Neyts, J. Angiogenesis; regulators and clinical applications. **Biochem. Pharmacol.**, v.61, n.3, p.253-270, 2001.

LINGEN, M.W. Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in inflammation and wound healing. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.125, p.67-71, 2001.

LIMA, N.M.F.; SANTOS, A.F.; PORFÍRIO, Z.; GOULART, M.O.F; SANT'ANA, A.E.G. Toxicity of lapachol and isolapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabra*, *S. mansoni cercariae*, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. **Acta Tropic.**, v.83, p.43-47, 2002.

LOMONTE, B. Las citokinas, elementos centrales para la comprensión y manipulación terapéutica del sistema inmune (parte 1). **Rev. Col. Microbiol. Quim. Clin. Costa Rica**, v.1, p.44-47, 1995.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, E.J.; PINTO, A.S. Flavonóides. **Biotechnol. Ci. Desenv.**, v.3, n.17, p.18-22, 2003.

LOPEZ, H.S.; CAMBEROS, L.O.; CONTRERAS, G.G.; VARA, M.G. Eficacia cicatrizante de varios medicamentos de patente, la zabala y el propóleo. **Vet. Mex.**, v.18, p.33-37, 1987.

LÓPEZ, H.S.; CAMBEROS, L.O.; OCAMPO, A.A. Evaluación comparativa de la mezcla propoleo zabila con cicatrizantes comerciales. **Vet. Méx.**, v.20, p.407-413, 1989.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum; 2002. p.93-94.

LOW, Q.E.H.; DRUGEA, I.A.; DUFFNER, L.A.; QUINN, D.G.; COOK, D.N.; ROLLINS, B.J. Wound healing in MIP-1 and MCP-1 mice. **Am. J. Pathol.**, v.159, p.457-463, 2001.

LÜBECK, W. **O poder terapêutico do ipê-roxo**. São Paulo: Madras, 2001. 124p.

MACHADO, T.B.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R.; LEAL, I.C.R.; SILVA, M.G.; AMARAL, A.C.F.; KUSTER, R.M.; NETTO-dosSANTOS, K.R. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant. *Staphylococcus aureus*. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v.21, p.279-284, 2003.

MANUSKIATTI, W.; MAIBACH, H.I. Hyaluronic acid and skin: wound healing and aging. **Int. J. Dermatol.**, v.35, n.8, p.539-544, 1996.

MULLER, W.A. Leukocyte: endothelial cell interactions in the inflammatory response. **Lab. Invest.**, v.82, p.521-534, 2002.

MARTIN, P. Wound healing: Aiming for perfect skin regeneration. **Sci.**, v.276, p.510-522, 1997.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara; 1988. p.102-107.

MIRANDA, F.G.G.; VILAR, J.C.; ALVES, I.A.N.; CAVALCANTI, S.C.H.; ANTONIOLLI, A.R. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* bark aqueous extract. **B.M.C. Pharmacol.**, v.1, n.1, p.6-15, 2001.

MODOLIN, M.L.A. Biologia da cicatrização dos tecidos. In: MÉCEGA, J.M.; ZANINI, A.S.; PSILLAKIS, J.M. **Cirurgia plástica**. 2ªed. Rio de Janeiro: Medsi; 1992. p.9-13.

MOTT, K.J.; CLARK, D.P.; STELLJES, L.S. Regional variation in wound contraction of Mohs surgery defects allowed to heal by second intention. **Dermatol. Surg.**, v.29, n.7, p.712-722, 2003.

MOULIN, V.; AUGER, F.A.; GARREL, D.; GERMAIN, L. Role of wound healing myofibroblasts on epithelialization of human skin. **Burns**, v.26, n.1, p.3-12, 2000.

NAGATA, K.; HIRAI, K-I.; KOYAMA, J.; WADA, Y.; TAMURA, T. Antimicrobial activity of novel furanonaphthoquinone analogs. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.42, n.3, p.700-702, 1998.

NITHYA, M.; SUGUNA, L.; ROSE, C. The effect of nerve growth factor on the early responses during the process of wound healing. **Biochem. et Biophys.**, v.1620, n.1-3, p.25-31, 2003.

NOLI, C.; MIOLO, A. The mast cell in wound healing. **Vet. Dermatol.**, v.12, n.6, p.303-313, 2001.

OLIVEIRA, H.P. **Aspectos clínicos e cirúrgicos das feridas**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG; 1987.

OLIVEIRA, S.T.; LEME, M.C.; PIPPI, N.L.; RAISER, A.G.; MANFRON, M.P. Formulações de confrei (*Symphytum officinale*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **R. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana**, v.7, n.1, p.61-65, 2000.

O'TOOLE, E.A. Extracellular matrix and keratinocyte migration. **Clin. Exp. Dermatol.**, v.26, n.6, p.525-530, 2001.

OVINGTON, L.Z. Overview of matrix metalloprotease modulation and growth factor protection in wound healing. **Wounds: Comp. Clin. Res. Pract.** v.14, n.5, p.12-19 2002.

PANDO, R.H. Participación del factor de transformación tumoral-B en la regulación de la inflamación y la respuesta inmunológica. **Gac. Méd. Méx**, v.139, n.2, p.135-138, 2003.

PANIZZA, S. **Plantas que curam**. 24ªed. São Paulo: IBRASA; 1997. p.126-127.

PANIZZA, S; ROCHA, A.R.; GECCHI, R.; SOUZA E SILVA, R.A.P. *Stryphnodendron barbatiman*: teor de tanino e propriedade cicatrizante. **R. Ci. Farm.**, v.10, p.101-106, 1988.

PARK B-S.; LEE, K-G.; SHIBAMOTO, T.; LEE, S-E.; TAKEOKA, G.R. Antioxidant activity and characterization of volatile constituents of Tahebo (*Tabebuia impetiginosa*). **J. Agri. Food Chem.**, v.51, p.295-300, 2003.

PINTO, C.; DANTAS, A.P.; DE MOURA, K.C.G.; EMERY, F.S.; POLEQUEVITCH, P.F.; PINTO, M.C.F.R.; DE CASTRO, S.L.; PINTO, A.V. Chemical reactivity studies with naphthoquinones from *Tabebuia* with anti-trypanosomal efficacy. **Arzneim-Forschu/Drug Res.**, v.50, n.12, p.1120-1128, 2000.

POPE, E.R. Cicatrização da pele. In: BOJRAB, MJ. **Mecanismos das moléstias na cirurgia dos pequenos animais**. 1ªed. São Paulo: Manole; 1996. p.178-183.

PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **J. Ethnopharmacol.**, v.76, p.93-98, 2001.

POWELL, D.W.; MIFFLIN, R.C.; VALENTICH, J.D.; CROWE, S.E.; SAADA, J.I.; WEST, A.B. Myofibroblasts I. Paracrine cells important in health and disease. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, v.277, n.1, p.1-19, 1999.

PRATA, M.C.; HADDAD, C.M.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; MOURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. **Acta Cir. Brás.**, v.3, n.2, p.43-48, 1988.

PROBST, C.W. Cicatrização das feridas e regeneração de tecidos específicos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia veterinária**. São Paulo: Manole; 1998. p.66-77.

RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; BLESSA, E.P.; IWABE, S.; CROCCI, A.J. Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Ci. Rural**, v.31, n.6, p.1007-1011, 2001.

RAO, G.V.; SHIVAKUMAR, H.G.; PARTHASARATHI, G. Influence of aqueous extract of *Centella asiatica* on experimental wounds in albino rats. **Indian J. Pharmacol.** v.28, p.249-253, 1996.

RIBEIRO, R.C.; SANTOS, O.L.R.; FROTA, C.; CAPARICA FILHO, A.; ABOIM, E. Eficácia do açúcar, colagenase e nitrofurazona no tratamento das infecções incisionais: estudo experimental em camundongos. **R. Bras. Cir.**, v.86, n.1, 25-33, 1996.

RIFFEL, A.; MEDINA, L.F.; STEFANI, V.; SANTOS, R.C.; BIAZINI, D.; BRANDELLI, A. In vitro antimicrobial activity of a new series of 1,4 – naphthoquinones. **Braz. J. Méd. Bras. Res.**, v.35, n.7, p.811-818, 2002.

RINGLER, D.J. Inflamação e reparo. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.M. **Patologia veterinária**. 6ªed. São Paulo: Monole; 2000. p.157-165.

SAARIALHO-KERE, U.K.; KOVACS, S.O.; PENTLAND, A.P.; OLERUD, J.E.; WELGUS, H.G.; PARKS, W.C. Cell-matrix interactions modulate interstitial collagenase expression by human keratinocytes actively involved in wound healing. **J. Clin. Invest.**, v.92, n.6, p.2858-2866, 1993.

SACAU, E.P.; BRAUN, A.E.; RAVELO, A.G.; FERRO, E.A.; TOKUDA, H.; MUKAINAKA, T.; NISHINO, H. Inhibitory effects of lapachol derivatives on Epstein-Barr virus activation. **Bioorg. Méd. Chem.**, v.11, p.483-488, 2003.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 1ªed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia-UFMG; 1998.

SANTOS, A.F.; FERRAZ, P.A.L.; PINTO, A.V.; PINTO, F.R.; GOULART, M.O.F.; SANT'ANA, A.E.G. Molluscicidal activity of 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones and derivatives. **Int. J. Parasitol.**, v.30, p.1199-1202, 2002.

SANTOS, L.O.M.; SIMÕES, M.L.P.B.; MACHADO, A.P.B.; MATIOSKI FILHO, G.R.; ENDO, P.C.; GRUEN, G.R.; CIPRIANI, V.R.; MESQUITA, L.D. Efeito da somatotropina sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cir. Bras.**, v.17, n.4, p.220-224, 2002.

SCHAFFER, M.; BARBUL, A. Lymphocytes function in wound healing and following injury. **Br. J. Surg.**, v.85, n.4, p.444-460, 1998.

SCHAFFER, M.; BEITER, T.; BECKER, H.D.; HUNT, T.K. Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair? **Arch. Surg.**, v.133, n.10, p.1107-1116, 1998.

SCHEFFER, M.C.; MING, L.C.; ARAÚJO, A.J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: QUEIROZ M.A., GOEDERT C.O., RAMOS S.R.R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro** [serial on-line]. Embrapa-CPATSA; 1999. Disponível em: <http://www.cpatosa.embrapa.br/catpub.html>. Acesso em: 05 mai 2003.

SCHOSSLER, J.E.; SCHOSSLER, D.R. Avaliação clínica da anestesia geral pela tiletamina-zolazepan associada ao fentanil em ratos (*Rattus norvegicus albinus*). **Acta Cir. Bras.**, v.8, n.1, 32-34, 1993.

SCHWENTKER, A.; VODOVOTZ, Y.; WELLER, R.; BILLIAR, T.R. Nitric oxide and wound repair: role of cytokines. **Nitric Oxide**, v.7, n.1, p.1-10, 2002.

SEPLANTEC - Secretaria de Planejamento e Tecnologia. **Inventário de plantas medicinais do estado da Bahia**. Salvador; 1979. p.234-235.

SHARP, P.A. A brief history of wound healing. In: Annual Scientific Congress Joint Meeting with the Royal College of Surgeons of Edinburg; 2002 Mai 11-15; Adelaide. **A.N.Z. J. Surg.**, v.72 ,(Suppl 1), A103, 2002.

SHERRAT, J.A.; DALLON, J.C. Theoretical models of wound healing: past successes and future challenges. **Comp. Rend. Biol.**, v. 325, n.5, p.557-564, 2002

SILVA, A.J.M.; BUARQUE, C.D.; BRITO, F.V.; AURELIAN, L.; MACEDO, L.F.; MALKAS, L.H.; HICKEY, R.J.; LOPES, D.V.S.; NOEL, F.; MURAKMI, Y.L.B.; SILVA, N.M.V.; MELO, P.A.; CARUSO, R.R.B.; CASTRO, N.G.; COSTA, P.R.R. Síntesis and preliminary pharmacological evaluation of new 1,4-naphthoquinones structurally related to lapachol. **Bioorg. Méd. Chem.**, v.10, p.2731-2738, 2002.

SILVA, M.F.A.; AMARAL, R.G.; ROSA, M.M.T.; SILVA, I.M.; VANDERLINDE, F.A.. Avaliação dos efeitos da carobinha (*Jacaranda pteroides*) sobre a cicatrização: estudo experimental em cobaias (*Cavia porcellus*). **R. Brás. Méd. Vet.**, v.20, n.6, p.254-256, 1998.

SISSON, S. Tegumento comum. In: GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ªed. Vol.1. Rio de Janeiro: Interamericana; 1981. p.225-227.

SINGER ,A.J.; CLARK, R.A. Cutaneous wound healing. **N. Engl. J. Med.**, v.341, n.10, p.738-746, 1999.

SPERONI, E.; GOVONI, P.; GUIZZARDI, S.; RENZULLI, C.; GUERRA, M.C. Antiinflammatory and cicatrizing activity of *Echinacea pallida* root extract. **J. Ethnopharmacol.** v..79, n.2, p.265-272, 2002.

STADELMANN, W.K.; DIGENIS, A.G.; TOBIN, G.R. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. **Am. J. Surg.**, v.176, n.2 suppl 1, p.26-38,1998.

STARLEY, I.F.; MOHAMMED, P.; SCHNEIDER, G.; BICKLER, S.W. The treatment of paediatric burns using topical papaya. **Burns**, v.25, n.7, p.636-639, 1999.

STEINERT, J.; KHALAF, H.; RIMPLER, M. High-permormance liquid chromatographic separation of some naturally occurring naphthoquinones and anthraquinones. **J. Chromatogr.**, v.723, p.206-209, 1996.

SVENSJO, T.; YAO, F.; POMAHAC, B.; WINKLER, T.; ERIKSSON, E. Cultured autologous fibroblasts angement epidermal repair. **Transpl.**, v.73, n.7, p.1033-1041, 2002.

TATESHITA, T.; ONO, I.; KANEKO, F. Effects of collagen matrix containing transforming growth factor (TGF) B1 on wound contraction. **J. Dermatol. Serv.**, v.27, n.2. p.104-113, 2001.

TIAGO, F. **Feridas: etiologia e tratamento**. 4ªed. Ribeirão Preto: Fundação de Apoio ao Ensino Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo; 1997. p.65-136.

THOMAZ, J.B.; HERDY, C.D.C.; OLIVEIRA, J.C.P.; SOUZA, J.R.; ROBADEY, R.A. Fundamento da cicatrização das feridas. **Arq. Brás. Méd.**, v.70, n.2, p.62-72, 1996.

TOMARIZ, E.; GRINNELL, F. Modulation of fibroblast morphology and adhesion during collagen matrix remodeling. **Mol. Biol. Cell**, v.13, n.2, p.3915-3929, 2002.

TONNESEN, M.G.; FENG, X.; CLARK, R.A.F. Angiogenesis in wound healing. In: Symposium Proceedings. **J. Invest. Dermatol.**, v.5,n.1, p.40-46, 2000.

TZENG, E.; BILLIAR, T.R. Nitric oxide and the surgical patient identifying therapeutic targets. **Arch. Surg.**, v. 132, n.9, p.977-982, 1997.

UEDA, S.; UMEMURA, T.; DOHGUCHI, K.; MATSUZAKI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. IWASHIMA, A.. Production of anti-tumour-promoting furano-naphthoquinones in *Tabebuia avellanedae* cell cultures. **Phytochem.**, v.36, n.2, p.323-325, 1994.

VASCONSELLOS, L.S.; ALBERTI, L.R.; NUNES, C.B.; PETROIANU, A. Efeito da hidrocortisona sobre a resistência cicatricial da pele em camundongos. **R. Col. Brás. Cir.**, v.28, n.6, p.438-443, 2001.

VIEIRA, S.C.; KRAUSE, G.A.; ZAMPIROLO, J.Á.; LUCINDA, R.M.; SCHLEMPER, V.; SCHLEMPER, S.E.M. Efeito cicatrizante da pomada de *Persea cordata* (Lauraceae) em feridas cutâneas de cobaias. **R. Brás. Pl. Med.**, v.3, n.2, p.31-35, 2001.

VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases: structure, function and biochemistry. **Circ. Res.: J. Am. Heart Assoc.**, v.92, n.5, p.827-839, 2003.

VU, T.H.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. **Gene Dev.**, v.14, n.17, p.2123-2133, 2000.

WAWERSIK, M.J.; MAZZALUPO, S.; NGUYEN, D.; COULOMBE, P.A. Increased levels of keratin 16 after epithelialization potential of mouse skin keratinocytes in vivo and ex vivo. **Mol. Biol. Cell**, v.12, n.11, p.3439-3450, 2001.

WELLER, R. Nitric oxide: a newly discovered chemical transmitter in human skin. **Br. J. Dermatol.**, v.137, n.5, p.665-672, 1997.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiol. Rev.**, v.83, p.837-870, 2003.

WITTE, M.B.; BARBUL, A. Role of nitric oxide in wound repair. **Am. J. Surg.**, v.183, n.4, p.406-412, 2002.

WONG, M.E.K.; HOLLINGER, J.O.; PINERO, G.J. Integrated processes responsible for soft tissue healing. **Oral Surg.**, v.82, n.5, p.475-492, 1996.

ANEXOS

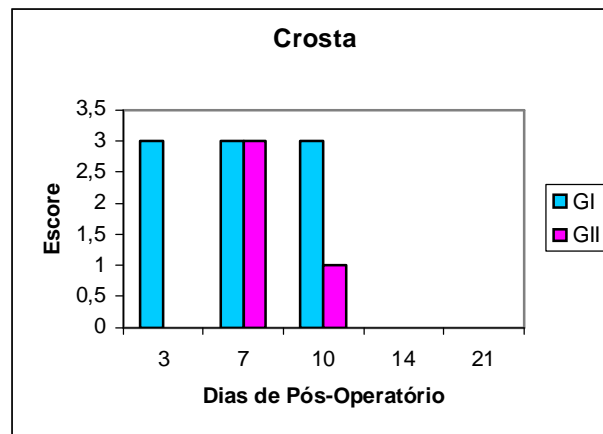


Figura 22 - Gráfico da mediana do escore de crostas das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

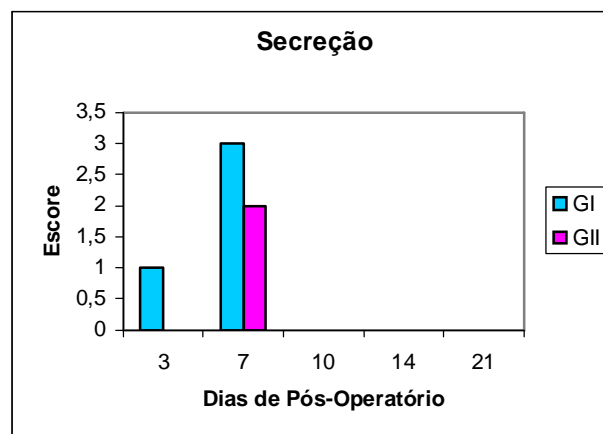


Figura 23 - Gráfico da mediana do escore de secreção das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

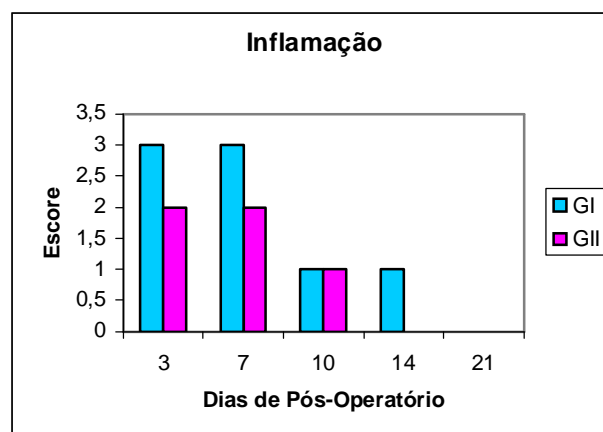


Figura 24 - Gráfico da mediana do escore de inflamação das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

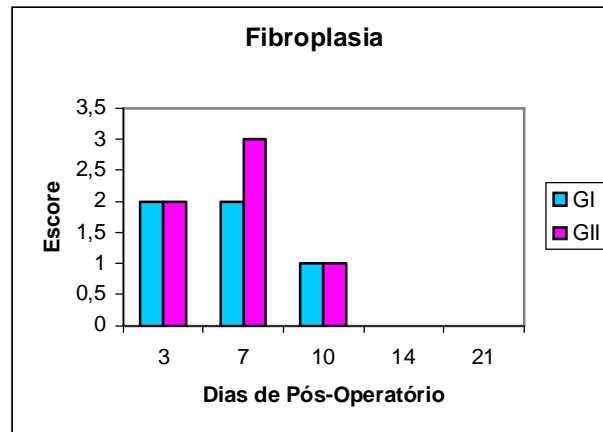


Figura 25 - Gráfico da mediana do escore de fibroplasia das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

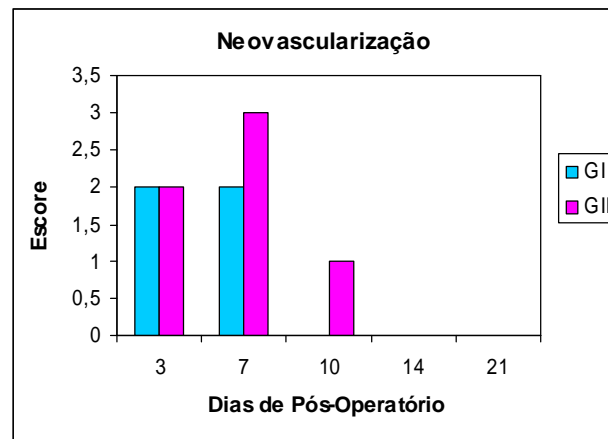


Figura 26 - Gráfico da mediana do escore de neovascularização das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

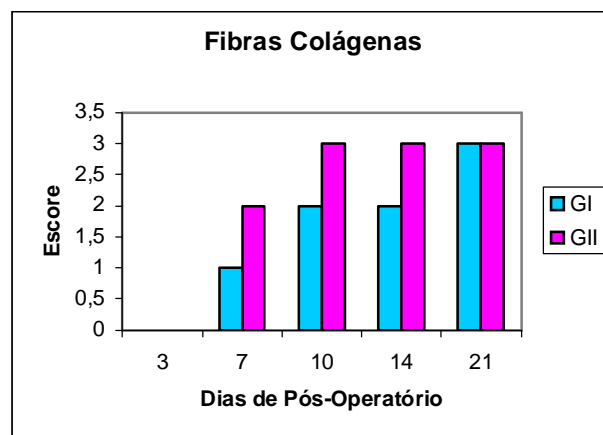


Figura 27 - Gráfico da mediana do escore de fibras colágenas feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

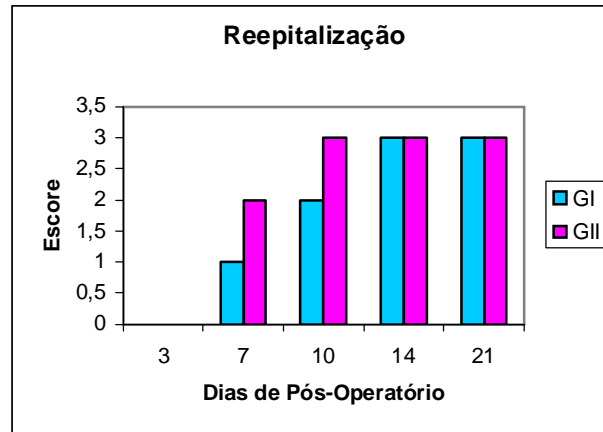


Figura 28 - Gráfico da mediana do escore de reepitalização das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

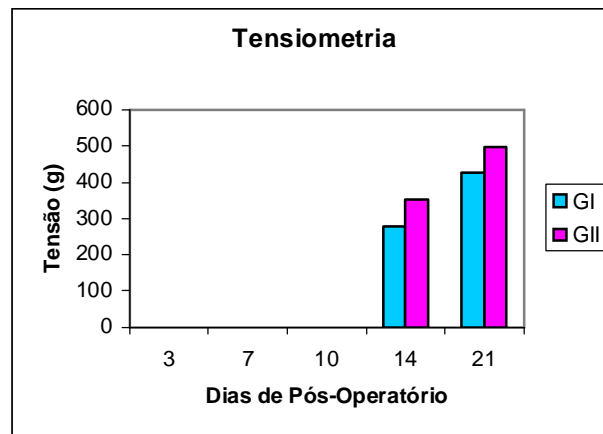


Figura 29 - Gráfico da mediana do escore de tensiometria das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no DPO.

Tabela 4. Valores percentuais da avaliação qualitativa macroscópica das feridas do grupo controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

DPO	EQ	Crosta		Secreção		Edema		Hiperemia		Dor		Membrana Basal	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
3°	3	80				20				20			
	2	20	20			20				60	20		
	1		20	60	20		20			20	60		
	0		60	40	80	60	80	100	100		20	100	100
7°	3	80	60	60		20				20			
	2			20	60	20				40			
	1		40		40			60	60	20			
	0	20		20		60	100	40	40	20	100	100	100
10°	3	60											40
	2											20	20
	1	20	60	20	40							40	20
	0	20	40	80	60	100	100	100	100	100	100	40	20
14°	3											60	100
	2											40	
	1	40											
	0	60	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
21°	3											100	100
	2												
	1	20											
	0	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100		

EQ = Escore de qualificação

0 = Ausente

1 = Mínimo

2 = Moderado

3 = Intenso

Tabela 5. Valores percentuais da avaliação qualitativa histológica das feridas dos grupos controle (GI) e tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

DPO	EQ	Inflamação		Fibroplasia		Neovasos		Fibras Colágenas		Reepitelização	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
3°	3	100	40	40	40	40	20				
	2		60	40	60	40	80				
	1			20		20			20		
	0							100	80	100	100
7°	3	50		50	60		60		40		40
	2	50	80		20	75	20	25	20	50	20
	1		20	50	20	25	20	75	40	25	
	0									25	40
10°	3								75	33	75
	2	33		33	25		25	100	25	67	25
	1	67	50	33	50	33	25				
	0		50	33	25	67	50				
14°	3			20		20		25	100	80	100
	2							75		20	
	1	60		20	33						
	0	40	100	60	67	80	100				
21°	3							100	100	100	100
	2						20				
	1				20						
	0	100	100	100	80	100	80				

EQ = Escore de qualificação

0 = Ausente

1 = Mínimo

2 = Moderado

3 = Intenso

Tabela 6. Resultados da avaliação qualitativa macroscópica das feridas do grupo controle (GI) no dia de pós-operatório (DPO).

Animal	DPO	Crosta	Secreção	Edema	Hiperemia	Dor	Membrana Basal
1	3°	3	1	3	0	2	0
2		3	1	0	0	3	0
3		2	0	0	0	2	0
4		3	0	2	0	2	0
5		3	1	0	0	1	0
6	7°	3	2	0	1	2	0
7		3	3	2	1	1	0
8		3	3	3	1	3	0
9		3	3	0	0	2	0
10		0	0	0	0	0	0
11	10°	0	0	0	0	0	1
12		3	1	0	0	0	0
13		3	0	0	0	0	1
14		1	0	0	0	0	2
15		3	0	0	0	0	0
16	14°	1	0	0	0	0	2
17		0	0	0	0	0	3
18		0	0	0	0	0	3
19		0	0	0	0	0	3
20		1	0	0	0	0	2
21	21°	0	0	0	0	0	3
22		0	0	0	0	0	3
23		0	0	0	0	0	3
24		1	0	0	0	0	3
25		0	0	0	0	0	3

Escore de qualificação:

0 = Ausente

1 = Mínimo

2 = Moderado

3 = Intenso

Tabela 7. Resultados da avaliação qualitativa macroscópica das feridas do grupo tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

Animal	DPO	Crosta	Secreção	Edema	Hiperemia	Dor	Membrana Basal
1	3°	2	0	1	0	1	0
2		1	0	0	0	2	0
3		0	0	0	0	1	0
4		0	1	0	0	1	0
5		0	0	0	0	0	0
6	7°	1	1	0	1	0	0
7		3	2	0	0	0	0
8		3	2	0	1	0	0
9		1	2	0	0	0	0
10		3	1	0	1	0	0
11	10°	0	0	0	0	0	3
12		0	0	0	0	0	2
13		1	1	0	0	0	0
14		1	0	0	0	0	3
15		1	1	0	0	0	1
16	14°	0	0	0	0	0	3
17		0	0	0	0	0	3
18		0	0	0	0	0	3
19		0	0	0	0	0	3
20		0	0	0	0	0	3
21	21°	0	0	0	0	0	3
22		0	0	0	0	0	3
23		0	0	0	0	0	3
24		0	0	0	0	0	3
25		0	0	0	0	0	3

Escore de qualificação:

0 = Ausente

1 = Mínimo

2 = Moderado

3 = Intenso

Tabela 8. Resultados da avaliação qualitativa histológica das feridas do grupo controle (GI) no dia de pós-operatório (DPO).

Animal	DPO	Inflamação	Fibroplasia	Neovasos	Fibras Colágenas	Reepitelização
1	3°	3	2	2	0	0
2		3	3	3	0	0
3		3	3	2	0	0
4		3	2	3	0	0
5		3	1	1	0	0
6	7°					
7		3	3	2	1	0
8		3	3	2	1	1
9		2	1	2	2	2
10		2	1	1	1	2
11	10°	1	2	1	2	2
12		1	0	0	2	3
13		2	1	0	2	2
14						
15						
16	14°	1	1	0	3	3
17		1	0	0	2	3
18		0	0	0	2	3
19		0	0	0	2	3
20		1	3	3		2
21	21°	0	0	0	3	3
22		0	0	0	3	3
23		0	0	0	3	3
24		0	0	0	3	3
25						

0 = Ausente
 1 = Mínimo
 2 = Moderado
 3 = Intenso

Tabela 9. Resultados da avaliação qualitativa histológica das feridas do grupo tratado (GII) no dia de pós-operatório (DPO).

Animal	DPO	Inflamação	Fibroplasia	Neovasos	Fibras	
					Colágenas	Reepitelização
1	3°	3	2	2	0	0
2		2	3	3	0	0
3		2	2	2	0	0
4		3	2	2	0	0
5		2	3	2	1	0
6	7°	2	3	3	3	3
7		2	2	0	1	0
8		2	3	3	2	3
9		1	1	1	3	2
10		2	3	3	1	0
11	10°	0	0	0	3	3
12		1	2	2	2	2
13		1	1	0	3	3
14		0	1	1	2	3
15						
16	14°					
17		0	1	0	2	3
18		0	0	0	3	3
19						
20		0	0	0	3	3
21	21°	0	0	0	3	3
22		0	1	2		3
23		0	0	0	3	3
24		0	0	0		3
25		0	0	0		3

Escore de qualificação:

0 = Ausente

1 = Mínimo

2 = Moderado

3 = Intenso