

MARIÁUREA MATIAS SARANDY

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CICATRIZANTE DO EXTRATO DE REPOLHO
(*Brassica oleracea* var. *capitata*) EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2007

MARIÁUREA MATIAS SARANDY

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CICATRIZANTE DO EXTRATO DE REPOLHO
(*Brassica oleracea* var. *capitata*) EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 20 de julho de 2007.

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta
(Co-Orientador)

Prof. Marcelo Barreto da Silva
(Co-Orientador)

Prof^a. Josefina Bressan

Prof. Alexandre Sylvio Vieira da Costa

Prof. José Mário da Silveira Mezêncio
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar e direcionar por toda minha vida, me capacitando e dando-me forças para vencer mais uma caminhada

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Biologia Geral e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela oportunidade de ter realizado o curso.

Ao meu marido André por todo amor, apoio, carinho, compreensão, paciência, incentivo, motivações, infinitas virtudes que possibilitaram a concretização desse nosso sonho. A ele dedico com amor. A minha filhinha fofucha Ana Beatriz que apesar de tão pequenina, soube suportar minha ausência.

A minha mãe Creuza pela dedicação a Ana Beatriz e por tantos sacrifícios e amor por mim. Ao meu pai Emígdio, que mesmo distante sempre me apoiou, incentivou e amou.

Aos meus irmãos Juninho, Rebeca, Moisés pelo amor, compreensão e apoio em todos os momentos. A toda minha família que sempre esteve ao meu lado.

Ao meu professor e orientador Jose Mario da Silveira Mezencio, pela orientação e momentos de meditação na palavra de Deus que foram tão preciosos pra mim.

Aos meus co-orientadores e amigos Marcelo Barreto da Silva, que me incentivou e acreditou em mim; e Sérgio Luis Pinto da Matta, pelo bom humor, pelos ensinamentos e confiança depositada em meu trabalho. À eles, que muito representaram em minha formação.

Ao professor Elpídio que gentilmente cedeu o programa Quantiporo para que as análises para quantificação do colágeno tipo I e III fossem feitas.

As amigas da república das fofas, que merecem o nome que tem: Aline Borborema, Vivian, Juliana, Débora, Michele e Monique.

Aos colegas de turma pela amizade, união, pelos grupos de estudo, momento de descontração, ajuda nos laboratórios.

A todos os amigos: Frederico, Cláudia, Rejane, Sirlene, Edson, Max Edmilson, Fabiana, Michele, Gláucia, Gisele, Luíz, Maria Inês, Alex, e todos os demais colegas da Biologia Celular e Estrutural que indiretamente contribuíram para esta conquista.

A querida Reggiani por todos os momentos de dificuldades que juntas conseguimos superar e pela ajuda.

A amiga Yasmine por me acompanhar em toda essa caminhada e me ajudar em todos os momentos.

A Nízia pelo carinho, pela força e momentos de orações tão preciosos.

As estagiárias Franciane, Alice e Alvarina pela dedicação e cumplicidade.

Aos funcionários: Rose, Bethe, Diana, Salvadora, Chiquinho, Jorge, Adão, Monteiro, pelo apoio.

Aos demais professores do Programa de Biologia Celular e Estrutural pelos conhecimentos fornecidos.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a concretização deste sonho e que fazem parte desta história. Vocês sempre estarão em minhas boas memórias.... Obrigada por fazerem parte da minha vida.

BIOGRAFIA

MARIÁUREA MATIAS SARANDY, filha de Emígdio de Oliveira Sarandy Neto e Creuza Soares Matias Sarandy, nasceu em 10 de fevereiro de 1981 em Governador Valadares, Minas Gerais.

Na Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE, em Governador Valadares - MG, graduou-se em Ciências Biológicas no ano de 2002.

No período de janeiro de 2003 a agosto de 2004 trabalhou como bolsista da FAPEMIG no programa de Bolsa de Desenvolvimento Tecnológico e Industrial (BDTI) na Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE, em Governador Valadares – MG.

Em agosto de 2005 iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	VIII
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1- Pele	4
2.1.1. - Epiderme	5
2.1.2 - Derme	6
2.2 - Cicatrização.....	7
2.2.1- Fase inflamatória	7
2.2.2 - Fase fibroblástica e deposição de matriz extracelular	10
2.2.3 – Fase de remodelamento	12
2.3 - Fatores de crescimento	15
2.3.1- Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF).....	15
2.2.1- Fator de crescimento fibroblástico (FGF).....	15
2.2.1- Fator de crescimento epitelial (EGF)	16
2.4 - Fatores que interferem no processo de cicatrização	16
2.4.1- Fatores psico-emocionais	17

2.4.2 - Fatores sistêmicos	17
2.4.3 - Fatores locais.....	18
2.4.4 – Fatores mecânicos.....	18
2.5 - Fitoterapia	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 - Preparo da pomada e do bálsamo com extrato de brassica	23
3.2 - Animais.....	23
3.3 - Incisão cirúrgica e tratamentos.....	24
3.4 - Coleta e processamento do material	26
3.5 - Hemograma.....	27
3.6 - Análise estatística.....	28
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÃO.....	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

LISTA DE ABREVIações

- aFGF - Fator de crescimento fibroblástico ácido
- bFGF - Fator de crescimento fibroblástico básico
- EGE - Fator de crescimento epitelial
- FGF - Fator de crescimento fibroblástico
- FGF- β - Fator de crescimento fibroblástico beta
- FGF-7 - Fator de crescimento fibroblástico-7
- OMS - Organização Mundial de Saúde
- PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas
- TGF- β - Fator de crescimento transformante-beta
- TNF - Fator de necrose tumoral

RESUMO

SARANDY, Mariáurea Matias. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) em ratos Wistar** Orientador: José Mário da Silveira Mezêncio. Co-orientadores: Marcelo Barreto da Silva, Sérgio Luis Pinto da Matta e Sérgio Oliveira de Paula.

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos cicatrizantes do extrato de *Brassica oleracea* var. *capitata* a 10% nas formulações pomada e bálsamo, analisando histologicamente as feridas induzidas em modelo animal. Foram feitas cinco feridas cirúrgicas por animal com o auxílio de um bisturi em local demarcado com a boca de um tubo de ensaio de 10 mm umedecida em fucsina. Os animais foram agrupados aleatoriamente. Foram avaliados quatro tratamentos com seis repetições: pomada a base de *brassica* sp. 10%, bálsamo a base de *brassica* sp. a 10%, Dersani® e salina 0,9%; A cada 4 dias os animais foram pesados, as feridas foram medidas, e os fragmentos retirados para análise histológica. Os dados de fechamento da ferida foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$); os fragmentos foram incluídos em parafina e as lâminas analisadas em microscópio de polarização. Os resultados demonstraram que o uso do bálsamo promoveu melhor taxa de cicatrização, seguido pela pomada, Dersani® e salina 0,9%, obteve uma maior quantidade de fibras colágenas tipo I e melhor organização dessas fibras.

ABSTRACT

SARANDY, Mariáurea Matias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2007. **Evaluation of the healing effect of the extract of cabbage (*Brassica oleracea var capitata*) in Wistar rats.** Adviser: José Mário da Silveira Mezêncio. Co-advisers: Marcelo Barreto da Silva, Sérgio Luis Pinto da Matta and Sérgio Oliveira de Paula.

The objective of this work was to investigate the healing effects of the extract of *Brassica oleracea var. capitata* to 10% in the formulations ointment and balsam, analyzing histologically the wounds induced in animal model. They were made five surgical wounds by animal, with the aid of a bistoury, in place demarcated through the opening of a test tube of 10 mm humidified in fucsina. The animals were aleatorily separate. They were appraised four treatments with six repetitions: ointment to the base of *brassica* sp. to 10%, balsam to the base of *brassica* sp. to 10%, Dersani® and saline 0,9%. Of 4 in 4 days the animals were heavy, the wounds were measured and the fragments retired for histological analysis. The data of closing of the wound were analyzed statistically by the Tukey test ($p>0,05$). The fragments were included in paraffin and the glass slides analyzed in polarization microscope. The results demonstrated that the balsam presented better cicatrization rate, followed for the ointment, Dersani® and saline 0,9%, and it obtained a larger amount of type I collagen fibers and better organization of those fibers.

1. INTRODUÇÃO

A capacidade auto-regenerativa é um fenômeno universal dos organismos vivos. Nos organismos unicelulares, a capacidade auto-regenerativa está restrita à presença de enzimas responsáveis pela recuperação de elementos estruturais como os constituintes do citoesqueleto, membranas e paredes celulares, e de moléculas de alta complexidade como RNAs e o DNA (BALBINO et al., 2005).

A pele é o maior órgão do corpo humano. Nos adultos, sua área varia de 1,5 a 2,0 m² e seu peso de 8 a 10 Kg, sendo composta de três camadas distintas: derme e epiderme e o tecido subcutâneo (hipoderme), (SOUTO, 2006). Outros autores não reconhecem a hipoderme como camada da pele, apenas lhe serve de união com os órgãos subjacentes (JUNQUEIRA et al., 2004). A pele constitui importante barreira que dificulta a invasão do organismo por patógenos, sendo a manutenção de sua integridade de fundamental importância. Nosso organismo é freqüentemente agredido, e sendo a pele a região mais periférica e superficial, é freqüentemente lesada necessitando então de um processo de cicatrização, este processo inclui eventos pelos quais o organismo tende a reparar uma área lesada e ocorre de forma sistêmica e dinâmica buscando restaurar a continuidade dos tecidos (ABBAS & LICHTMAN, 2005).

O processo de cicatrização envolve migração de células inflamatórias, síntese de tecido de granulação, deposição de colágeno e de proteoglicanos, e a maturação da cicatriz, estando associado à intensa remodelação (SANTOS, 2000). Considerando-se que o processo de cicatrização é um fenômeno local do qual participam elementos comuns a vários setores do organismo, é fácil imaginar que fatores ambientais e fisiológicos exerçam grande impacto na evolução da cicatrização, podendo influenciar na qualidade da cicatriz, no tempo de cicatrização e na presença ou não de complicações (BIONDO-SIMÕES et al, 2006). Além disso, como decorrência do próprio trauma ou da ativação celular, o microambiente tem sua composição físico-química alterada, havendo baixa tensão de oxigênio,

diminuição de pH, presença de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio (COTRAN et al., 2000).

No processo de reparo de feridas são considerados, prioritariamente os aspectos macroscópicos e histológicos predominantes em cada uma das etapas. As principais etapas deste processo são: fase inflamatória, onde ocorrem os eventos iniciais do processo de reparo voltados para o tamponamento de vasos sanguíneos e ação de mediadores oriundos do processo da desgranulação de mastócitos (BRANDT et al., 2000); fase fibroblástica na qual inicia-se a formação de tecido de granulação (GUIDUGLI-NETO, 1992); fase de remodelação caracterizada pela deposição de fibras colágenas para formação da cicatriz (BALBINO, et al., 2005).

Depois de quase meio século de predomínio da medicina alopática e dos remédios sintéticos, as pessoas voltam sua atenção para os medicamentos naturais. É uma nova consciência ecológica que surge, buscando o equilíbrio do homem com o meio, diminuindo os efeitos tóxicos dos remédios, substituindo-os pela fitoterapia; garantida e testada pelos chás, através dos séculos (BALBACH et al., 1993).

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) foi utilizado na Roma antiga, em forma de cataplasma no tratamento das feridas de seus legionários (BALBACH et al., 1993). Em Governador Valadares, um grupo de enfermeiras utilizava curativos feitos com a folha do repolho em forma de cataplasma e procuraram o farmacêutico responsável pela farmácia de manipulação Doctor Pharma[®] para que fizesse um produto com essa *Brassica* e que fosse de fácil manuseio e aplicação. Após tomar conhecimento do fato e realizar alguns ensaios, o farmacêutico responsável pela Doctor Pharma[®], resolveu elaborar uma pomada e um bálsamo com a folha da *Brassica* sp e disponibiliza-la às enfermeiras que fizeram uso da mesma e registraram informalmente alguns resultados bastante satisfatórios do produto.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito cicatrizante da pomada e do bálsamo contendo *brassica* sp. (repolho) avaliando-se aspectos histológicos do processo de cicatrização, a regressão da ferida e

dados hematológicos em ratos Wistar submetidos a lesões cutâneas induzidas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Pele

A pele é o maior órgão do corpo, podendo atingir 16% do peso corporal. Possui múltiplas funções, tais como proteção do organismo contra perda de água, armazenamento de gorduras, carboidratos e proteínas, proteção contra atritos, termorregulação corporal, produção de vitamina, recepção sensorial além de fazer parte do sistema imunológico, tanto na imunidade inata como na adaptativa, sendo rica em células imunocompetentes. Constitui uma barreira resistente e impermeável de epitélio protegido por camadas de células queratinizadas (SCOTT, 1996), sendo a primeira barreira de defesa do corpo humano contra a infecção. Essa barreira pode ser rompida por dano físico, como ferimentos, queimaduras ou procedimentos cirúrgicos, que expõem os tecidos moles, tornam-os vulneráveis à infecção (LIMA et al., 2005).

A pele por ser a região mais periférica e superficial do corpo é a mais freqüentemente lesada. As células epiteliais apresentam uma intensa adesão mútua, e são especialmente desenvolvidas nos epitélios sujeitos à fortes trações e pressões. Como envoltório de estruturas e órgãos situados internamente, a pele apresenta uma resistência maior que os órgãos envolvidos, com exceção dos ossos (CHEM et al., 2001). O conjunto formado pelas zônulas de oclusão e de adesão no epitélio constitui o complexo unitivo e é responsável por uma estrutura a muito conhecida como rede terminal, visível ao microscópio de luz, em preparados adequadamente corados.

Na superfície de contato entre as células epiteliais e o tecido conjuntivo há uma estrutura chamada lâmina basal que é composta principalmente por colágeno tipo IV, glicoproteínas laminina e entactina e proteoglicanas. A membrana basal é geralmente formada pela fusão de duas lâminas basais ou por uma lâmina basal e uma lâmina reticular (produzidas pelo conjuntivo). A membrana basal é uma fina camada de matriz extracelular especializada, sintetizada pelas células epiteliais e fibroblastos da lâmina própria. Faz parte do epitélio e representa a transição para a camada superficial da lâmina própria. (NEVES et al., 2004).

O epitélio de revestimento é estratificado, ou seja, possui várias camadas de células e estão sempre apoiadas numa camada de tecido conjuntivo que contém vasos sanguíneos cujo sangue nutre o epitélio (JUNQUEIRA et al., 2004).

2.1.1. Epiderme

A epiderme é a camada mais externa, composta por três diferentes linhagens celulares: os queratinócitos, os melanócitos e as células de Langerhans. É constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, de origem ectodérmica. A espessura e a estrutura da epiderme variam com o local (REHDER et al., 2004). A epiderme possui células que são organizadas em camadas das quais as mais superficiais são eliminadas por descamação enquanto nas camadas mais profundas ocorre divisão celular. Essa organização dá origem a cinco camadas: germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. A camada germinativa é a mais profunda, e faz limite com a derme, e a camada córnea é a mais superficial. A camada córnea, constituída por células escamosas, repletas de queratina, proporciona proteção contra traumas físicos e químicos. As várias camadas de queratinócitos intimamente unidos uns aos outros, fornecem barreira contra a invasão de microorganismos e água. O pigmento melanina presente na epiderme protege os tecidos subjacentes dos efeitos nocivos da luz solar especialmente dos raios ultravioleta (ARNOLD et al., 1994).

Na pele a população celular é mantida constante pela multiplicação das células da camada basal ou germinativa. A partir desta camada, as

células migram para a superfície em um processo de maturação, que culmina com a morte celular (AMÂNCIO, 2003).

2.1.2. Derme

A derme é a camada espessa, mais profunda, formada de tecido conjuntivo que se estende da epiderme até o tecido subcutâneo. Nesta camada situam-se os anexos da pele, muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. Pode ser dividida em camada papilar, mais externa, e camada reticular, mais interna. A derme contém muitos tipos diferentes de células, incluindo fibroblastos e fibrócitos, macrófagos, mastócitos e leucócitos sanguíneos, particularmente neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos (ARNOLD et al., 1994; SOUTO, 2006). Esta camada fornece um suporte físico firme para a epiderme e para os anexos cutâneos. As fibras colágenas proporcionam grande força de tensão e as fibras elásticas dão flexibilidade à pele. Existem diversos tipos de colágeno, mas 80 a 90% do colágeno existente na pele é do tipo I (COUTO et al., 2003; SOUTO, 2006). Os plexos vasculares fornecem sangue para a epiderme, sem penetrá-la. O controle realizado pelo hipotálamo e pelas fibras nervosas simpáticas sobre o fluxo sanguíneo na derme proporciona um mecanismo de termorregulação.

VIEIRA et al., (2002) consideram uma terceira camada da pele conhecida como hipoderme que é a camada mais profunda da pele, também chamada de tecido celular subcutâneo. Tem como função principal o depósito nutritivo de reserva, funcionando como isolante térmico, proteção mecânica, contra pressões e traumatismos externos, facilitando a mobilidade da pele em relação às estruturas subjacentes.

NORMAN & BOCK (2003), relatam que 10% dos pacientes hospitalizados e 20% de pacientes tratados em casa sofrem de ulcerações. Calculam que nos Estados Unidos, cerca de 1 bilhão de dólares são gasto por ano com feridas crônicas e em todo o mundo, cerca de 7 bilhões de dólares são investidos no sistema de saúde no tratamento de feridas. O custo de apenas uma pessoa com ulcerações pode variar de 400 dólares a 40.000 dólares. Segundo BERNARDES (2006), gastos com os pacientes portadores de úlceras foram calculado em 90 milhões de dólares por mês

pela previdência dos Estados Unidos, e no Brasil devemos ter cifras semelhantes, embora não tenhamos dados financeiros no momento sobre o assunto em estudo.

2.2. Cicatrização

A variabilidade e a complexidade clínica da cicatrização têm, historicamente, limitados avanços tecnológicos no sentido de aperfeiçoar o reparo celular. Entretanto, ainda prevalece a busca pela identificação de fatores determinantes e facilitadores deste evento. Apesar do grande incentivo, as investigações a respeito da modulação clínica e farmacológica do reparo tecidual ainda apresentam dados inconclusivos referentes às melhores alternativas de tratamento e cuidados com feridas (JOEGE & DANTAS, 2003).

As tentativas de restaurar a lesão induzida por uma agressão local começam muito cedo no processo da inflamação, e ao final resulta em reparo e substituição das células mortas por células saudáveis (CARVALHO, 2002). Para COTRAN et al. (2000), a resposta inflamatória está estreitamente interligada ao processo de reparação, visto que, a inflamação é fundamentalmente uma resposta protetora com função de livrar o organismo da causa inicial da lesão celular e das conseqüências dessa lesão. Sem a inflamação, as infecções prosseguiriam e as feridas não cicatrizariam, pois é nela que ocorre principalmente a ativação de macrófagos que irão fagocitar os elementos estranhos presentes na lesão e direciona a reepitelização através da fagocitose. A inflamação leva às conhecidas manifestações clínicas de calor, dor, edema e perda da função, sinais que podem ser mínimos, transitórios ou duradouros. A infecção intensifica e prolonga a inflamação (VIEIRA et al., 2002).

Segundo BLANES (2004), a remoção não somente da necrose como também de corpos estranhos do leito da ferida constitui um dos primeiros e mais importantes componentes a serem considerados no tratamento da ferida. De acordo com YAMADA (1999), enquanto limpeza de ferida refere-se ao uso de fluidos para, suavemente, remover bactérias, fragmentos, exsudato, resíduos de agentes tópicos, o desbridamento consiste na

remoção de tecidos necrosados aderidos ou de corpos estranhos do leito da ferida, usando procedimento mecânicos ou lavagem com soluções contendo substancias químicas. Esses tecidos necrosados interferem no processo normal de cura da ferida, por prolongar a fase inflamatória, inibir a fagocitose, promover o crescimento bacteriano, aumentando conseqüentemente o risco de infecção, e, por atuarem como barreiras físicas para a recuperação do tecido, ao inibirem a granulação e epitelização (VIEIRA et al., 2002). WADA et al., (2006) defendem o desbridamento cirúrgico para a remoção do tecido necrótico permitindo assim o melhor controle sobre a infecção local, preparando para conduzir a formação de um tecido de granulação saudável alcançando conseqüentemente o fechamento da ferida. A restauração da pele ocorre por meio de um processo dinâmico, contínuo, complexo e interdependente, composto por uma série de fases sobrepostas, denominadas de cicatrização e para melhor entender esse processo, VIEIRA et al., (2002) distribui nas seguintes fases: reação imediata, proliferação e maturação e remodelagem (Figura 1).

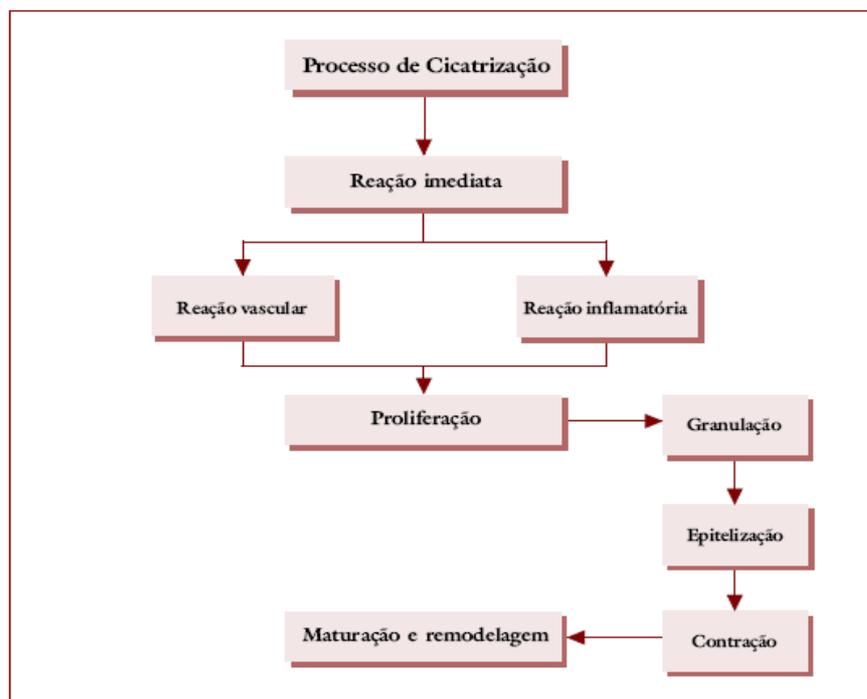


Figura 1 - Esquema mostrando as fases do processo de cicatrização segundo VIEIRA et al., (2002).

2.2.1 - Fase inflamatória

A resposta inflamatória é estreitamente relacionada com a reparação ou remodelação tecidual. Na inflamação ocorre a fase fibroblástica, com a ativação de macrófagos na ferida e produção de fatores de crescimento específicos tais como fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento epitelial (EGF). A matriz extracelular pode iniciar sua distribuição por um tecido conjuntivo mais forte e elástico. Estes fatores de crescimento são uma subclasse de citocinas (GREENBALGH, 1996), envolvidos no processo de cicatrização, sendo que o seu principal papel é estimular a proliferação celular. Os fatores de crescimento induzem a proliferação e migração de fibroblastos, neoformação de capilares sanguíneos, síntese de componentes da matriz extracelular como fibronectina, colágeno e proteoglicanos (CALICH & VAZ, 2000).

Os eventos iniciais do processo de reparo estão, nos primeiros momentos, voltados para o tamponamento de vasos sanguíneos que se rompem na ferida. Quase concomitante à lesão, e devido à influência nervosa, descargas adrenérgicas, e ação de mediadores oriundos da desgranulação de mastócitos, ocorre vasoconstrição como primeira resposta. A injúria do endotélio, ruptura, fissura ou erosão, dispara uma seqüência de eventos, iniciando-se com a deposição das plaquetas, prosseguindo com sua ativação e posterior recrutamento de novas plaquetas. O resultado dessa seqüência de eventos é a formação de um trombo rico em plaquetas, que provisoriamente tampona a lesão endotelial (LEFKOVITS et al., 1995). Esse trombo branco, rico em plaquetas, é rapidamente infiltrado pela fibrina, transformando-se em um trombo fibrinoso. Logo após, os eritrócitos são capturados por essa rede fibrinosa formando-se então, através da adesão dos eritrócitos, o trombo vermelho, principal responsável pela oclusão do vaso sanguíneo rompido (DAVIES, 1990). Este trombo, além de limitar a perpetuação da perda de constituintes circulatórios para os interstícios celulares, fornece uma matriz preliminar, que alicerçará a migração das células responsáveis pelo desencadeamento do processo de reparo (CANDIDO, 2001).

Outras células tais como fibroblastos, mastócitos e linfócitos também participam desse processo e o macrófago, que é a célula inflamatória mais importante, permanece do terceiro ao décimo dia na ferida, fagocitando bactérias, eliminando corpos estranhos e direcionando o desenvolvimento de tecido de granulação (DIEGELMANN et al., 1981). Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente uma semana após o processo de lesão. Seu papel não é bem definido, porém sabe-se que suas linfocinas, tem importante influência sobre os macrófagos. Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com o importante papel da fibronectina (CLARK, 1998), sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais. Ela adere, simultaneamente à fibrina, ao colágeno e a outros tipos de células, funcionando assim como “adesivo” para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz. Além de formar essa base para a matriz extracelular, tem propriedades quimiostáticas e promove a opsonização e fagocitose de corpos estranhos e bactérias (MOSHER & URCHT, 1981).

2.2.2 - Fase fibroblástica e de deposição de matriz extracelular

Nesta fase ocorre a reparação do tecido conjuntivo e do epitélio. Na reparação do tecido conjuntivo ocorre a formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e de fibroblastos. Os fibroblastos surgem no segundo ou terceiro dia após o trauma, sendo uma célula fusiforme, com núcleo oval (BLANES, 2004). O fibrinogênio do exsudato inflamatório transforma-se em fibrina, formando uma rede, onde os fibroblastos depositam-se e passam a multiplicar-se e a secretar os componentes protéicos do tecido cicatricial. Junto a esta fibroplasia, ocorre intensa proliferação vascular. Este tecido formado por fibroblastos, substâncias produzidas por eles e vasos sanguíneos é denominado tecido de granulação, clinicamente apresentando-se com aspecto granuloso e avermelhado. O miofibroblasto é uma célula que está presente no tecido de granulação e confere capacidade contrátil, reduzindo a área de sangramento e facilitando a epitelização. Esta célula exhibe características de fibroblastos e

de células musculares lisas possuindo a maioria das características dos fibroblastos, mas contendo uma quantidade elevada de filamentos de actina e de miosina, que são abundantes nas células musculares lisas. Sua atividade contrátil é responsável pelo fechamento das feridas após as lesões, processo conhecido como contração da ferida (RAMALHO et al., 2003). A atividade mitótica do fibroblasto praticamente desaparece em torno do 15º dia. Estes passam a secretar as proteínas presentes no tecido de granulação, produzindo os componentes da substância fundamental e colágeno. A substância fundamental é formada por água, eletrólitos e glicosaminoglicanos têm aspecto semelhante a um gel e está distribuído entre fibras do tecido conjuntivo (BALBINO et al., 2005). Durante a fixação dos fibroblastos e seu amadurecimento fenotípico para células produtoras de colágeno, o processo de contração da ferida alcança a sua eficiência máxima. Apesar de seu mecanismo contrátil ainda não ser esclarecido, estas células são encontradas alinhadas ao redor de depósitos da nova matriz extracelular, fazendo união célula a célula e gerando força de tensão. Auxilia também no processo de contração da ferida, o ressecamento da sua crosta superficial que durante a desidratação diminui de tamanho e arrasta o tecido a ela aderido. Ao final desta fase de fibroplasia, ocorre a epitelização, etapa que levará ao fechamento das superfícies da úlcera. Esta epitelização faz-se pelo aumento de tamanho, da divisão e da migração das células da camada basal da epiderme por sobre a área de reparação do tecido conjuntivo subjacente. Nas feridas, com perda total da derme, a epitelização se faz apenas nas margens da mesma, pois não há anexos cutâneos remanescentes (ABLA & ISHIZUKA, 1995; VIEIRA et al., 2002). Fatores de crescimento, tais como o FGE, FGF e PDGF, são os prováveis responsáveis pelos aumentos das mitoses e hiperplasia do epitélio. Pesquisadores em várias partes do mundo têm estudado esses efeitos, e sabe-se também que a utilização de colágeno e citocinas são promessas para uma cicatrização mais rápida e eficaz (GENTILHOMME et al., 1999). Sabe-se que o plano de movimento dos queratinócitos migrantes é determinado também pelo conteúdo de água no leito da ferida. Feridas superficiais abertas e ressecadas reepitelizam mais lentamente do que as ocluídas (MANDELBAUM et al., 2003).

2.2.3 - Fase de remodelamento

É a terceira etapa do processo de cicatrização. Trata-se de um processo lento, que inicia com a formação do tecido de granulação e da reorganização das fibras de colágeno proliferado, estendendo-se por meses após a reepitelização. É responsável pelo aumento da força de tração. Durante a remodelagem ocorre a diminuição da atividade celular e do número de vasos sangüíneos, perda do núcleo dos fibroblastos, levando à maturação da cicatriz (VIEIRA et al., 2002). Nesta fase ocorre a reorganização do processo de reparação da lesão, com depósito de colágeno.

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, sendo enriquecido com mais fibras de colágeno, adquirindo a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz. Nesta etapa, surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I. Com a evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparecem, observando-se a apoptose de fibroblastos e células endoteliais, formando finalmente a cicatriz (BALBINO et al., 2005).

Os eosinófilos aparecem nas últimas fases da reparação e presume-se que podem estar relacionados à produção de fatores de crescimento (TODD et al., 1991). Nas fases em que a lesão completa o seu fechamento e os microorganismos eliminados, os linfócitos constituem os leucócitos mais abundantes em feridas humanas (ENGELHARD et al., 1998). Os linfócitos não somente são efetores imunes, mas também, produtores de fatores de crescimento (BLOTNIK et al., 1994). De forma notável, nesta etapa, eles são atraídos para a região da ferida em igual número que os monócitos e, a partir do décimo quarto dia, são os linfócitos que predominam na região (BLOTNIK et al., 1994). A resistência de uma cicatriz é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma com que as fibras estão organizadas. Quanto maior o número de ligações covalentes transversais, maior a resistência da cicatriz. Quando secretado na forma de tropocolágeno, as ligações transversais das fibras se dão por pontes de hidrogênio. No processo de amadurecimento da fibra, as lisinas, hidroxilisinas e lisinas glicosiladas, constituintes da molécula de tropocolágeno, são oxidadas até

aldeídos pela enzima lisiloxidase. Estes, após a oxidação, se ligam covalentemente com outros grupos aldeídos ou com lisinas não oxidadas, aumentando a resistência da fibra (BALBINO et al., 2005).

A neovascularização diminui e tardiamente a cicatriz é considerada avascular. Uma cicatrização normal tem aproximadamente 80% da força de tensão da pele normal, não volumosa. Inicialmente, a cicatrização tem aspecto plano e posteriormente enrijece-se e se eleva. Após um determinado tempo, a cicatriz se torna mais clara, menos rígida e mais plana, ocorrendo sua redução (MANDELBAUM et al., 2003).

Baixa tensão de oxigênio na ferida é um estímulo para a síntese de fatores de crescimento pelos macrófagos. No entanto a hipóxia é prejudicial a vários processos fisiológicos normais, em particular para a síntese de colágeno pelos fibroblastos. O oxigênio é necessário para hidroxilação dos resíduos de prolina e lisina nas cadeias polipeptídicas. Sem oxigênio suficiente, a molécula helicoidal de procolágeno não se forma e nem é liberada no espaço extracelular. Além do oxigênio, outro componente também importante nesse processo é a vitamina C cuja função principal é a hidroxilação do colágeno (DANTAS & SIQUEIRA JÚNIOR, 2000, BIONDO-SIMÕES et al, 2006).

A atividade dos fibroblastos depende do suprimento local de oxigênio sendo que em tecidos mal vascularizados a ferida não apresentará completa cicatrização. A superfície da ferida tem baixo teor de oxigênio, levando os macrófagos a produzir Fator de Crescimento Transformante-beta (TGF- β) e FGF, estimulando o processo de angiogênese. Capilares não danificados proliferam em direção à superfície, formando rede de capilares dentro da ferida, promovendo suprimento de oxigênio e nutrientes (DEALEY, 2001).

A cicatrização pode ocorrer por primeira ou segunda intenção. A de primeira intenção ocorre quando não há grande perda de tecido, as margens da ferida ficam próximas uma da outra e não há infecção. Na cicatrização por segunda intenção há perda de tecido, as margens ficam distantes uma da outra e há formação de tecido de granulação até que haja completa formação da cicatriz (REZENDE, 2004).

Após a lesão, o tecido freqüentemente é curado formando a cicatriz caracterizada pela superprodução desorganizada de matriz colágena. A cicatriz passa a apresentar a forma de massa fibrosa acrescida de fibras colágenas. Observa-se apoptose de fibroblastos e células endoteliais, e os eosinófilos aparecem nas últimas fases do processo de reparação. Neste processo presume-se que vários fatores de crescimento possam estar envolvidos. A contração celular define a eficácia com que as células exibem a matriz extracelular, mostrando o significativo papel na cura da ferida. Altas concentrações celulares podem levar à formação de cicatriz, e baixas concentrações podem impedir a cura da ferida (CAMPBELL et al., 2003). O principal componente de uma cicatriz de tecido conjuntivo maduro é o colágeno. Nas feridas em processo de cura, fibroblastos são recrutados e induzidos a sintetizar colágeno, num processo coletivo conhecido como fibroplasia, que é iniciada pela formação de tecido de granulação no espaço do ferimento. Esse tecido consiste de matriz frouxa de colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, e contém macrófago, fibroblastos, neovascularização e exsudatos (RYAN & MAJNO, 1997).

De acordo com DANTAS & SIQUEIRA JÚNIOR (2000), os neutrófilos e macrófagos são as primeiras células a chegar ao sítio da lesão. O papel principal dessas células é prevenir a infecção através de fagocitose de corpos estranhos do tecido agredido, bem como eliminar detritos da matriz extracelular. Dentre essas células, os macrófagos se destacam por comandarem as demais células durante os eventos que determinam o reparo tecidual devido à capacidade de produzirem numerosas citocinas, como PDGF, TGF- β , EGF, Fator de Necrose Tumoral (TNF), Fator de Crescimento Fibroblástico Beta (FGF- β), e outras. As citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos provocam influxo de neutrófilos, bem como migração e proliferação de células indiferenciadas, que iniciam a repopular do sítio da lesão. PDGF e TGF- β , liberados pela degranulação nos locais de injúria, provêm de sinais precoces de ativação e infiltração de macrófagos e neutrófilos, na fase inflamatória (COLLINS, 2000; ZHANG, 2003; CHEON et al., 2004).

A maturação e a remodelação constituem a fase final da cura de uma ferida, sendo que os macrófagos desempenham papel importante nessa fase da cicatrização, produzindo FGF- β , os quais apresentam quimiotaquismo positivo para fibroblastos, atraindo-os para a ferida e estimulando-os a se dividir, seguido da produção de fibras de colágeno. Durante essa fase, a cicatriz da ferida adquire sua máxima resistência. A resistência da matriz conjuntiva fibrosa pode ser atribuída à deposição de colágeno e remodelagem das fibras de colágeno, de modo que sejam formados feixes maiores dessa proteína, com maior número de ligações covalentes transversais entre as fibrinas (CARVALHO, 2002).

2.3 - Fatores de crescimento

2.3.1 - Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)

As plaquetas são consideradas a principal fonte de atividade mitogênica sendo o fator responsável por essa atividade o PDGF (TAKEHARA, 2000), sintetizado pelas plaquetas e armazenado nos grânulos α , sendo liberado quando há ativação plaquetária. São também sintetizadas por macrófagos, células endoteliais, células musculares lisas, queratinócitos e células tumorais. Provoca tanto a migração como a proliferação de monócitos (COLLINS, 2000).

Alguns estudos têm demonstrado que o PDGF pode alterar o fenótipo de células estromais e modular a hematopoiese, mas essa possível função foi investigada em pequenos estudos incluindo 5 pacientes, sugerindo também o efeito do PDGF sobre leucemias (FOSS & ULVESTAD, 2001).

2.3.2 - Fator de Crescimento dos Fibroblastos (FGF)

Trata-se de uma família de fatores de crescimento, que se liga aos glicosaminoglicanos e está fortemente concentrado na matriz extracelular. Os principais membros dessa família tais como FGF 1, 2, 3, 4 e 5 como também FGF ácido (aFGF) ou FGF básico (bFGF) (MEDEIROS et al. , 2003), regulam a proliferação, diferenciação, migração e, ou, a sobrevivência de uma variedade de células alvo (BEYER et al., 2003). Esses fatores

liberados no local da ferida por macrófagos e por células endoteliais que sofrem danos (MARTIN, 1997).

O FGF- β é o mais potente estimulador de crescimento dentre todos os outros fatores. Ele estimula a divisão e migração de fibroblastos, células endoteliais e células epiteliais (TAKEHARA, 2000), além de induzir todas as etapas necessárias para a formação de novos vasos sanguíneos e de promover a formação do tecido de granulação (COLLINS, 2000; TAKEHARA, 2000).

2.3.3 - Fator de crescimento epitelial (EGF)

O EGF é mitogênico para fibroblastos *in vitro* e causa divisão dos hepatócitos *in vivo*, além de estimular a divisão de outros tipos celulares. Foi descoberto em pálpebras de rato (KUMAR, 1992). Distribui-se amplamente nas secreções e líquidos teciduais, como suor, saliva e conteúdo intestinal (COLLINS, 2000).

Por muito tempo, o FGF, o TGF- β e o EGF, associados à heparina, eram considerados como a chave para proliferação dos queratinócitos nas margens da ferida. Atualmente eles dividem essa posição com o fator de crescimento fibroblástico-7 (FGF-7) (MARTIN, 1997). Em estudo realizado por ONO (1995), o EGF e o FGF- β foram encontrados em baixa concentração. Estes autores relataram que a existência do EGF no exsudato ocorre em nível relativamente baixo.

2.4 - Fatores que interferem no processo de cicatrização

A observação clínica e microscópica do processo de cicatrização de lesões tem demonstrado que várias influências conhecidas e outras desconhecidas prejudicam a qualidade e adequação do reparo tecidual (ROBBINS et al, 1996; RODRIGUES DA SILVA, 2002). Muitos fatores locais e do hospedeiro influenciam a adequação da resposta inflamatória reparadora, dentre os quais podemos destacar os fatores psico-emocionais, sistêmicos, locais e mecânicos.

2.4.1- Fatores psico-emocionais

A idade é um fator importante, pois a velocidade metabólica da célula fica mais lenta com o passar dos anos. Há diminuição da síntese de colágeno e a pele fica fina e pouco elástica reduzindo a tensão tecidual (BALBINO et al., 2005).

O desgaste emocional é um fator que está principalmente ligado à idade, já que a depressão é muito comum nos pacientes acima de 65 anos. No caso das úlceras neuropáticas e diabéticas, não apenas a idade tem tanta influência, mas também o isolamento social que acontece com muita frequência, todos somados ao estresse do cotidiano (RODRIGUES DA SILVA, 2002).

2.4.2- Fatores sistêmicos

A irrigação sanguínea inadequada, normalmente causadas por arteriosclerose ou anormalidades venosas que retardam a drenagem, reduz a percussão tecidual aumentando a hipóxia, interferindo no metabolismo e na velocidade gerais do crescimento celular, prejudicando a cicatrização, enquanto a nutrição tem efeitos profundos sobre a cicatrização, quando a deficiência protéica, por exemplo, e em especial a deficiência em vitamina C inibe a síntese de colágeno retardando a cicatrização (BIONDO-SIMÕES et al., 2006).

O tabagismo causa obliteração de vasos sanguíneos com diminuição da força de carregamento de O₂ pelos eritrócitos, já que a baixa tensão de O₂ prejudica a angiogênese, a síntese de colágeno e reepitelização, além de ser depressor do apetite (MANDELBAUM et al., 2003).

Outro fator são as patologias. As principais patologias e suas associações que podem interferir no processo de reparo são: Diabetes mellitus; doenças auto-imunes (lúpus eritomatoso); doenças cardiovasculares; doenças vasculares (BIONDO- SIMÕES et al, 2006).

2.4.3- Fatores locais

Dentre os fatores, locais a infecção é isoladamente a causa mais importante do retardo da cicatrização. Deve-se partir do ponto que toda ferida está colonizada, já que as bactérias existentes na pele podem colonizar a lesão, mas isso não significa que esteja infectada. Suturas desnecessárias ou fragmentos de gaze, vidro, ou até mesmo osso, podem se constituir como impedimento à cicatrização, pois partículas estranhas renovam ou prolongam a reação inflamatória podendo ocorrer granulomas, ocasionando resistência à cicatrização (CANDIDO, 2001).

2.4.4- Fatores mecânicos

Fatores mecânicos como o aumento da pressão abdominal podem gerar a ruptura de feridas abdominais, denominada de deiscência da ferida (WADA et al., 2006).

2.5 - Fitoterapia

Fitoterápicos são definidos como produtos derivados de plantas usados com propósitos medicinais para promover a saúde. O consumo de fitoterápicos ocorre há aproximadamente 60.000 anos. Pesquisa recente demonstrou que cerca de 37% da população adulta dos Estados Unidos da América estão utilizando estes produtos. Nesse país são considerados “suplementos dietéticos”, enquanto que no Brasil são tidos como medicamentos pela Portaria nº22/1967 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e pela Resolução-RDC nº17/ 2005 (DESTRO et al., 2006).

Fitoterápicos são medicamentos obtidos exclusivamente de material botânico integral ou seus extratos usados com o propósito de tratamento médico (BALBACH & BOARIM, 1993). Como mencionado por SANDES & DI BIASI (2000), as plantas são importante fonte de substâncias que apresentam algum tipo de interferência no metabolismo animal e podem ser utilizados na forma de emplasto, exudato, infusão, xarope, e *in natura*.

O termo planta medicinal foi oficialmente utilizado durante o 31ª Assembléia da Organização Mundial de Saúde (OMS), quando foi proposto

que “planta medicinal é aquela que, administrada ao homem ou animais, por qualquer via ou sob qualquer forma, exerce alguma espécie de ação farmacológica” (SILVA, 2002).

O conhecimento sobre as plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. As observações populares sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das atividades terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos, bem como seus mecanismos de ação (MAIA et al., 2005).

Segundo a OMS, cerca de 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional para suprir as necessidades de assistência médica primária (FARNSWORTH, 1985). Esse conhecimento etnofarmacológico tem sido usado como ponto de partida para a experimentação visando a descoberta de novos princípios ativos com potencial farmacológico (ELIZABETSKY, 1987).

Grande parte dos medicamentos disponíveis no mercado como o Dersani[®], origina-se de produtos naturais, em especial de plantas. Entre as vinte drogas mais vendidas nos Estados Unidos em 1998, apenas sete não se originam diretamente de produtos naturais, mas tiveram em algum momento, a participação de produtos naturais na sua formulação (MIGUEL & MIGUEL, 2000). Segundo EDLICH & REDDY (2001), a missão dos laboratórios tem sido desenvolver métodos que permitam elaborar drogas envolvidas na cicatrização da ferida sem infecção, adesão e hipertrofia com formação de cicatriz.

O Brasil possui a maior biodiversidade de plantas do planeta, oferecendo recursos farmacológicos para a solução de muitas doenças. Doenças consideradas incuráveis, como o câncer e a AIDS, por exemplo, acredita-se que poderão ser erradicadas a partir dos recursos disponíveis na biodiversidade. Esses fatos justificam a necessidade de cuidados e conservação de nossos recursos naturais (MOUCO et al., 2003).

De acordo com CUZZELL & KRASNER (2003), existem hoje no mercado aproximadamente 2.500 itens que se destinam ao tratamento de

feridas agudas e crônicas, desde formas mais simples como o uso de emplastos, pomadas, soluções para higienização e anti-sepsia, bem como o uso de procedimentos complexos, chamados “curativos inteligentes” ou “bioativos”, que interferem de forma ativa nas diversas fases do processo cicatricial, em diferentes tipos de feridas.

BALBACH & BOARIM (1993) mencionam diversos autores e suas experiências no uso medicinal de *Brassica oleraceae* var. *capitata* (repolho). Estes autores citam que “os romanos empregavam a *Brassica oleracea* na forma de cataplasmas no tratamento de feridas”. De acordo com esses autores, a *Brassica oleracea* var. *capitata* teria finalidade em tratamentos como de cicatrização de abscessos, afecções reumáticas, tumores, prevenção de tuberculose, auxílio em casos de afonia, desnutrição, anemia, enfermidades gastrointestinais (úlceras), hemorróidas, alcoolismo, gota, entre outros.

Uma resolução do Ministério da Saúde (BRASIL, 2000) dispôs sobre o registro de produtos fitoterápicos, e recomendou à preparação de medicamentos a base de algumas plantas medicinais, mostrando a necessidade de produtos fitoterápicos (MOREIRA et al., 2001).

O consumo de fitoterápicos vem crescendo notavelmente nestes últimos anos, e atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares (YUNES et al., 2001). O crescimento do mercado de plantas medicinais se deve, principalmente, à grande tendência da busca por remédios fitoterápicos, vinculada especialmente a fatores socioeconômicos, pois os custos são menores, de manutenção das tradições culturais, à falência do sistema oficial da saúde e a busca de um medicamento com o menor efeito colateral por ser um produto natural.

Na região de Governador Valadares-MG, tem sido empregado emplasto manufaturado com folhas de *Brassica oleracea*, por enfermeiros de alguns hospitais no tratamento de feridas de pele em pacientes queimados, portadores de úlceras, feridas cirúrgicas e outras afecções, obtendo efeito cicatrizante significativo. Porém tal procedimento apresenta desconforto e aparência desagradável (FERRADEIRA et al, 2003).

Independentemente da origem do fármaco, a avaliação do perfil farmacológico envolve a realização de uma série de experimentos. Inúmeros ensaios usando substâncias específicas, microorganismos, células, órgãos ou animais, são utilizados para avaliar a atividade e a seletividade do fármaco. Estes procedimentos permitem definir mecanismos de ação de drogas através do uso de ensaios farmacológicos, toxicológicos, pré-clínicos e clínicos (GOMES, 2000). Alguns experimentos como ensaios pré-clínicos utilizando coelhos diabéticos (ANTUNES, 2004), Cobiaias (*Cavia cobaya*) sem diabetes (SILVA et al, 2004), ensaios toxicológicos com *Arthemisa salina* (ANTUNES et al., 2003) já foram realizados com a *Brassica olerácea* para avaliar e comprovar seu efeito cicatrizante.

Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para a cicatrização de feridas cutâneas destacam-se o mel (ORYAN & ZAKER, 1998), a própolis (SILVEIRA & RAISER, 1995), a babosa (CHITAHRA et al., 1995), sendo também utilizado o alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), o barbatimão (*Strynodendron barbatimao Mart*), a calêndula (*Calendula officinalis L.*), o cardo-santo (*Carduus Benedictus*), o confrei (*Symphytum officinale*), a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia Martius*), a guaçatonga (*Caesaria sylvestris*), a mil-folhas (*Achillea millefolium*), a parietária (*Parietaria officinalis*), o rubim (*Leonorus sibiricus*), e a tanchagem (*Plantago media L.*). O repolho (*Brassica oleraceae var. capitata*) é uma hortaliça rica em vitamina C, aumenta a resistência às infecções e ajuda na cicatrização (BALBACH & BOARIN, 1993). Essa brassica vem sendo utilizada como produto cicatrizante (FERRADEIRA et al, 2003), ressaltando o seu uso em diabéticos.

A utilização do repolho no tratamento de feridas tem sido estudada com o objetivo de determinar cientificamente seus efeitos, e mecanismos de ação. Uma vantagem da pomada de *Brassica sp.* deve-se ao fato que sua formulação contém apenas extrato de repolho e conservantes, enquanto outros medicamentos cicatrizantes encontrados no mercado são compostos de coquetéis de vitaminas e outros aditivos. Um levantamento sobre o uso da pomada foi realizado na Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE) localizada na cidade de Governador Valadares-MG, bem como alguns experimentos como o teste de toxicidade, microbiológicos, cultura de células,

dosagem de proteínas do extrato, ensaios clínicos com cobaias e apresentando resultados promissores (FERRADEIRA et al., 2003). Os estudos preliminares descritos na literatura sobre *Brassica oleraceae* (repolho), sugerem fortemente a presença de princípios ativos no processo de cicatrização, o que justifica nossa proposta de avaliar a cicatrização de lesões experimentais tratadas com extrato de Brassica com ênfase nos aspectos histológicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Imunologia e Virologia e no Laboratório de Biologia e Estrutural do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

3.1 - Preparo da pomada e do bálsamo com extrato de brassica

A pomada e o bálsamo feitas com o extrato de brassica foram manipulados pela Doctor Pharma[®]. Foi realizado a extração glicólica e maceração de 20 dias. O extrato obtido foi incorporado em concentração específica em base auto-emulcionante preparada pela farmácia. O mesmo extrato foi também adicionado em base líquida com triglicerídeos (bálsamo cicatrizante). Após a manipulação, foram enviados ao Laboratório de Imunologia e Virologia do departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, para realização dos testes pré-clínicos.

3.2 - Animais

Foram utilizados 24 ratos wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com dez semanas de vida, clinicamente sadios, obtidos do biotério central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa, com peso médio em gramas +/- desvio padrão (%) de cada grupo sendo: pomada – 325 +/- 49,09; bálsamo – 328 +/- 47,3; Dersani[®] - 319 +/- 32,3 e salina 0,9% 338 +/- 20,35. Estes animais foram mantidos

individualmente, em gaiolas higienizadas diariamente. Os animais foram mantidos por sete dias no local do experimento para ambientação (ONO, 2002). Ao longo do experimento os animais foram alimentados uma vez por dia com ração para ratos Labcil[®], água *ad libitum* e capim (*Panicum maximum*), vegetal rico em fibras e vitamina C, sendo mantidos no laboratório de nutrição experimental do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa.

3.3 - Incisão cirúrgica e tratamentos.

Os animais foram mantidos em ambiente controlado: fotoperíodo 12/12, temperatura termoneutra 22°C. Após a ambientação, os animais foram depilados na região lateral do dorso a 10 mm de diâmetro da área cervical, utilizando-se aparelho da marca Wahl Clipper Corporation[®], e anestesiados. As feridas cirúrgicas foram feitas com bisturi sendo o tamanho de 10 mm de diâmetro, marcado com a boca de um tubo de ensaio do mesmo diâmetro e com o corante cristal violeta. A profundidade da ferida atingiu apenas derme e epiderme, com o espaçamento entre as lesões de 40 mm (ONO, 2002). Foram realizados quatro tratamentos com seis repetições conforme a descrição a seguir:

A) Animais tratados com brassica 10%:

a) Tratamento com pomada (*Brassica oleracea* var. *captata* – extrato glicólico a 10%), álcool cetosteárico, monooleato sorbitano etoxilado, vaselina, ácido graxo com poliol éster (Cetiol HE), lanolina anidra, carbamida, metilparabeno, propilparabeno e água desmineralizada). Nestes animais foram aplicados aproximadamente 0,1g de pomada por ferida, duas vezes ao dia.

b) Tratamento com bálsamo (Simeticone[®] emulsão. *Brassica oleracea* var. *captata* – extrato glicólico a 10%), pró-vitamina B5 (d pantenol). Óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.). Óleo de copaíba (*Copaifera officinalis* L.) Metilparabeno. Propilparabeno. Butilhidroxitolueno. Óleo de rícino hidrogenado etoxilado. Triglicéride de ácido e cáprico caprílico). Nestes animais foram

aplicados aproximadamente 0,1g de bálsamo por ferida, duas vezes ao dia.

- B) Controle positivo - Tratamento com Dersani[®] (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, lecitina de soja, vitamina A e vitamina E, ácido capróico e óleo de girassol - ácido linoleico): nestes animais foram aplicados aproximadamente 0,1ml de Dersani[®] por ferida, duas vezes ao dia.
- C) Controle negativo - Animais não tratados: nestes animais foram aplicados na ferida solução salina (NaCl) 0,9% (grupo controle) duas vezes ao dia.

Foram coletadas amostras das feridas nos dias 4, 8, 12, 16 e 20. No primeiro dia, foram realizadas cinco feridas cirúrgicas no dorso de cada animal (Figura 2).

No quarto dia foram coletados fragmentos da ferida nº1 (f1). Estes fragmentos continham a borda e o centro da ferida, sendo feito assim também nos demais dias (ferida nº 3 f3, ferida nº4 f4, ferida nº5 f5 e ferida nº6 f6) como demonstrado na tabela 1. O fragmento coletado no primeiro dia (f0), era de tecido ileso.

Tabela 1 – Representação dos fragmentos retirados nos 20 dias de tratamento

Dia	Nº ferida / fragmento
1º	Pele íntegra = Fragmento 0 – F0
4º	Ferida 1 = Fragmento 1 – F1
8º	Ferida 2 = Fragmento 2 – F2
12º	Ferida 3 = Fragmento 3 – F3
12º	Ferida 4 = Fragmento 4 – F4
20º	Ferida 5 = Fragmento 5 – F5

A ordem de localização das lesões está apresentada na figura 2. A ferida nº cinco foi medida de quatro em quatro dias com o auxílio de um paquímetro. Os animais foram pesados a cada dia da coleta de fragmentos e o peso anotado em uma planilha. Os tratamentos iniciaram-se

imediatamente após a lesão e as feridas foram higienizadas e a aplicação dos medicamentos e da salina feita duas vezes por dia durante todo o experimento.

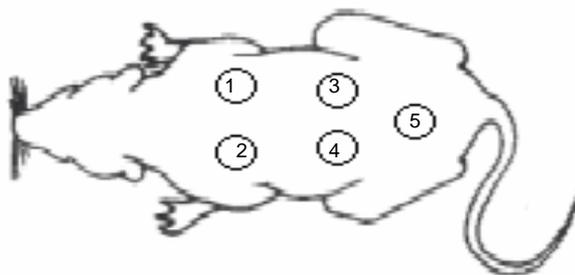


Figura 2 – Representação esquemática da localização das feridas na região dorso-lateral de rato wistar.

3.4 – Coleta e processamento do material

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral/Universidade Federal de Viçosa. Em intervalos regulares de quatro dias, os animais foram sedados com éter e fragmentos de tecidos foram coletados das feridas, contendo uma pequena margem de pele íntegra (CONINCK, 1996).

Foi utilizado, para encontrar a taxa de cicatrização, o modelo linear $y=bx+a$; VNDERPLANK (1963) aplicou este modelo em estudos biológicos associando o valor de “b” a taxa de progresso de uma epidemia podendo assim, comparar matematicamente as diferenças epidemiológicas. No caso exposto, o valor de “b” representa a taxa de fechamento da lesão ou taxa de cicatrização por dia. Optou-se pelo modelo linear pela sua facilidade de explicação biológica bem como pelo fato de o mesmo ter se ajustado aos dados obtidos.

Os fragmentos de tecidos foram fixados isoladamente em solução contendo formaldeído 10% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 por 24

horas. Em seguida foram utilizados os procedimentos rotineiros para inclusão em parafina seguindo as seguintes etapas:

Desidratação em etanol (70%, 80%, 90%,100%, sendo neste último três vezes), diafanização (xilol I, II, III), infiltração (parafina histológica I, II, III) e emblocamento. Foram obtidos cortes de 4 μ m em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2045 Multicut[®], Germany) os quais foram corados com picrossírius e hematoxilina e eosina. O picrossírius baseia-se na utilização do sírius-red que é um corante vermelho-escuro, fortemente ácido. Quando os tecidos são corados com sírius-red seus grupamentos sulfônicos reagem com os grupamentos amínicos das moléculas de lisina do colágeno, aumentando a birrefringência apresentada na polarização. Após a desparafinização e hidratação, as preparações foram coradas pelo sírius-red durante 1 hora, lavadas em água destilada, contracoradas com hematoxilina por 6 minutos, lavadas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e montadas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Foram obtidas imagens em microscópio de polarização e avaliadas a quantidade de fibras colágenas dos tipos I e III presentes antes e após o tratamento. A documentação da imagem foi realizada no mesmo aparelho onde foram feitas as análises (Fotomicroscópio Olympus AX-70[®]). A partir de cada amostra foram capturadas quatro imagens de diferentes regiões do campo histológico. A análise foi feita usando o programa QuantPoro que diferencia as fibras pelas cores vermelho, verde e azul. Os intervalos que definiram a identificação das cores vermelho, amarelo, verde e preto foram previamente padronizados e depois utilizados em todas as imagens obtidas. A cor vermelha e amarela representaram as fibras colágenas do tipo I, o verde representou as fibras colágenas do tipo III, e o preto representou regiões onde não foram encontradas nenhum tipo de fibra. O programa fornecia a porcentagem de cada cor, os dados eram anotados em planilha.

3.5 – Hemograma

O hemograma foi realizado no sangue coletado com EDTA (Ácido Etilenodiamino tetra-acético) de todos os animais antes da incisão cirúrgica (dia 1) e ao final do tratamento (dia 20) através de um corte no plexo venoso da cauda. Em seguida foi realizado o hematócrito utilizando centrífuga

capilar da marca Sigma[®]. A contagem global de leucócitos foi feita em câmara de Neubauer e o esfregaço analisado em microscópio Olympus CX 40[®], após a coloração com Giemsa.

3.6 - Análise estatística

Os dados de peso dos animais, medidas da área das feridas e dados hematológicos foram analisados por meio de análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) e teste de TUKEY. Para verificar qual tratamento se diferenciou dos demais procedeu-se à construção de um intervalo de confiança de 95% ao redor da média sendo efetuada a comparação em modo gráfico. Todas as variáveis foram analisadas em relação a sua homocedasticidade e normalidade antes de aplicarmos a ANOVA. As análises foram efetuadas utilizando o programa Statistica 6.0 (STATOSOFT, 2001).

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

A média do peso corporal dos animais utilizados durante todo experimento variou de 319g a 342 g (Tabela 2), apresentando um coeficiente de variação de 3,82 sendo que valores semelhantes foram encontrados por FUNG et al., (2003) que trabalharam com a mesma linhagem de animais. Foi observada diferença estatística do peso dos animais em relação aos diferentes tratamentos. Verificou-se também que os animais do grupo que receberam tratamento com bálsamo e com pomada de brassica e Dersani[®] não apresentaram diferença estatística entre si. Os animais dos grupos controle que recebeu tratamento com Dersani[®] e salina 0,9% apresentaram diferenças estatísticas em relação a variável peso.

Tabela 2 - Peso corporal dos animais (gramas) em função dos tratamentos nos diferentes dias

Tratamentos	Média +/- DP
Salina 0,9%	338 +/- 20,35 a
Dersani [®]	319 +/- 32,13 ab
Bálsamo	328 +/- 47,30 ab
Pomada	325 +/- 49,09 b
DMS	20,22

- Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). Média +/- desvio padrão (%); DMS – Diferença Mínima Estatística.

Os animais tratados com a pomada tiveram uma oscilação considerável do peso, enquanto os animais tratados com bálsamo tiveram uma queda do peso, porém com menor oscilação do mesmo. Nos tratados com salina observamos um ganho de peso e com Dersani® os animais após os cinco primeiros dias começaram a ganhar peso, entretanto perderam no final do experimento (Figura 3). Tal fato sugere que os medicamentos que deixam a ferida úmida, ou seja, o bálsamo, a pomada e o Dersani® induzem a um processo inflamatório, essencial à cicatrização (MANDELBAUM, 2003), podendo levar a um quadro clínico de febre e falta de apetite levando a perda de peso, porém, para que fossem confirmados esses dados clínicos seriam necessário os valores da temperatura corporal dos animais e essa variável não foi medida.

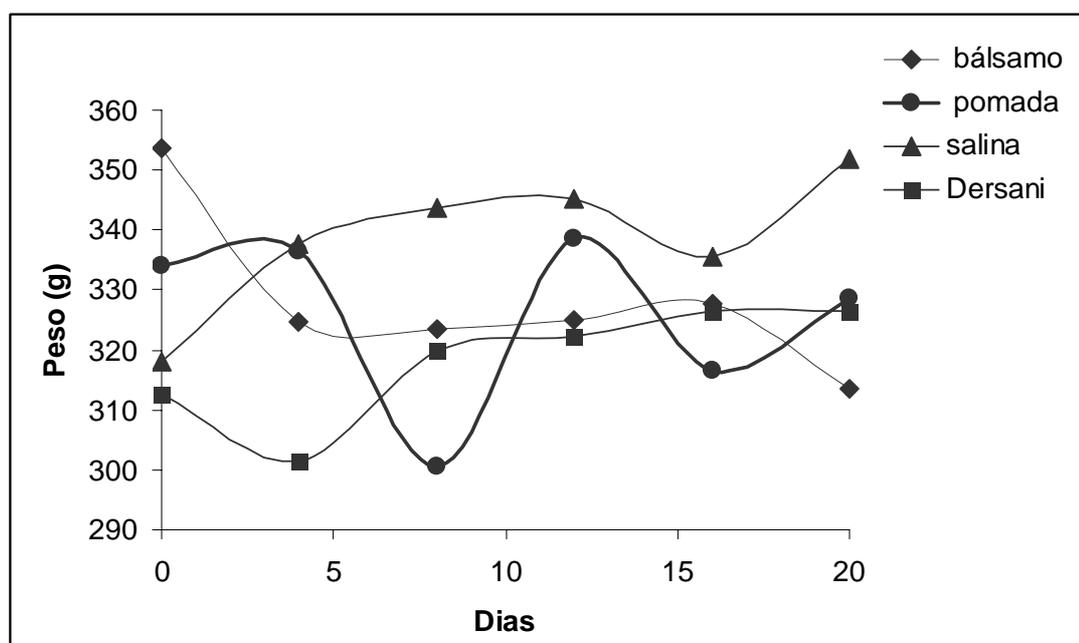


Figura 3 – Valores médios do peso dos animais nos diferentes tratamentos em função do tempo.

A solução salina 0,9% é considerada um agente de limpeza completamente seguro, sendo recomendado pelos fabricantes seu uso em conjunto com diversos produtos modernos para o tratamento de feridas (DEALEY, 2001). No presente trabalho observa-se que tanto os medicamentos à base de brassica como o Dersani® são úmidos, não favorecendo assim a formação de crostas e facilitando o contato e absorção

do princípio ativo dos medicamentos com o tecido. Os animais cujas lesões foram tratadas com salina 0,9% apresentaram uma ferida mais seca, no entanto não havia crosta. Segundo MANDELBAUM (2003), feridas superficiais abertas e ressecadas reepitelizam mais lentamente e inúmeros curativos são utilizados para produzir umidade local, melhorando de 35% a 45% a taxa de reepitelização dessas feridas.

A medida das feridas é um aspecto importante no processo de avaliação de uma ferida e é essencial fazer medições em intervalos regulares. Observou-se neste experimento que houve aumento na área da ferida dos animais tratados com a pomada de brassica sp a 10% ou com o Dersani® (Figura 4). Segundo DEALEY (2001), o tamanho e o formato de uma ferida se alteram durante o processo de cicatrização, onde nos estágios iniciais, à medida que se renovam os tecidos necróticos, a ferida parece aumentar de tamanho. Isto ocorre porque a real extensão da ferida estava mascarada pelo tecido necrótico. Há considerável exudação na fase inflamatória e pouquíssima na epitelização.

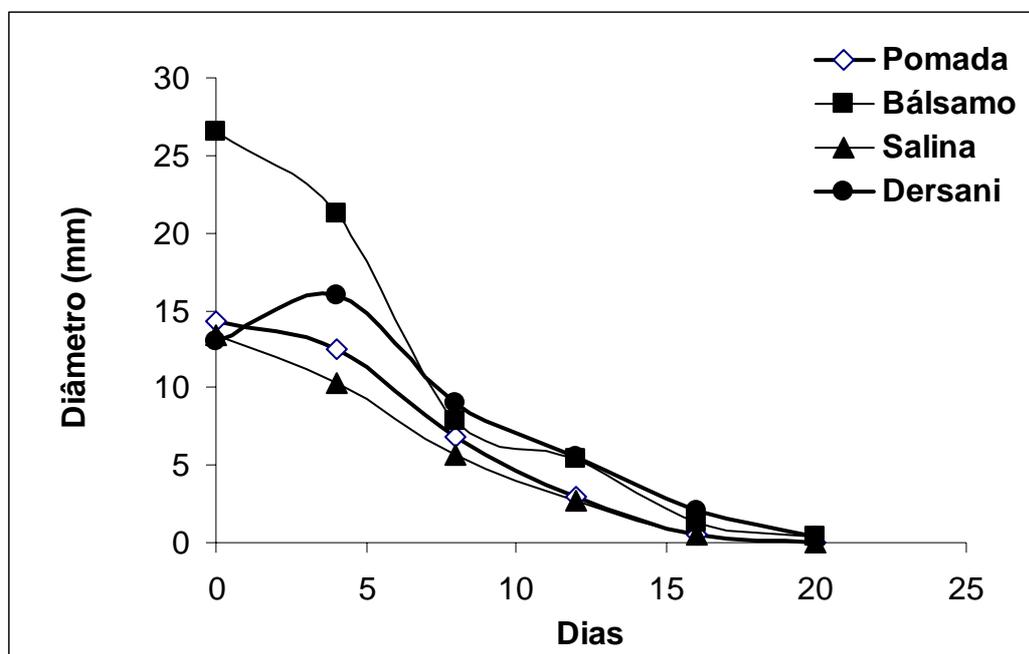


Figura 4 - Evolução do diâmetro das feridas cutâneas submetidas a 20 dias de tratamento.

A comparação estatística entre as médias da taxa de cicatrização dos diferentes tratamentos é mostrada na Tabela 3. Observa-se que a taxa de cicatrização nos animais tratados com bálsamo a base de brassica sp a 10% foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que os demais tratamentos. Analisando a taxa média de contração da ferida encontrada na equação ($Y = bx + a$), sendo representada pela letra “b”. A melhor taxa de cicatrização encontrada foi a do grupo de animais tratados com bálsamo sendo de 15,64 mm/dia (Tabela 3). Foram analisados os coeficientes de determinação da regressão (R^2), que variou de 0,88 para Dersani[®] a 0,95 para salina 0,9%. Acredita-se que o bálsamo, por conter em sua composição além do extrato de brassica sp. alguns aditivos, demonstrou-se melhor do que os demais tratamentos, tanto esteticamente como em rapidez e eficácia na cicatrização da ferida.

Tabela 3 – Evolução da cicatrização (mm de diâmetro), comparando as médias da área da ferida e taxa de cicatrização obtidas a partir da equação, $Y = bx + a$

Tratamentos	Evolução da cicatrização (mm de diâmetro) nos dias						Média da área da ferida	Taxa de cicatrização (mm/dia)
	1 ^o	4 ^o	8 ^o	12 ^o	16 ^o	20 ^o		
Pomada	114	121	68	29	5	0	56,61	6,84 b
Salina 0,9%	133	103	56	27	5	0	54,44	7,06 b
Dersani [®]	130	160	90	56	20	4	77,00	7,11 b
Bálsamo	265	212	78	54	12	0	103,84	15,64 a

Em ratos, os valores normais da contagem global de leucócitos variam entre 3.000 a 17.000 células/mm³, portanto os animais mantiveram os valores normais dentro da espécie. Não foi observada variação significativa (Tabela 4), entre os quatro tratamentos na contagem global de leucócitos. Da mesma forma não foi observado diferença estatística no hematócrito nos quatro tipos de tratamentos, o que nos leva a concluir que esses dois dados não podem ser utilizados como referência para avaliação da atividade cicatrizante neste experimento.

Tabela 4 - Comparação entre a contagem global de leucócitos nos diferentes tratamentos. CV - Coeficiente de Variação. DP - Desvio Padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$)

Tratamento	Média
Bálsamo	5.950 a
Salina	9.933 a
Pomada	10.600 a
Dersani [®]	12.660 a
CV	60,92
DP (%)	59,62

Quando submetidas à luz polarizada as fibras colágenas mais espessas e fortemente birrefringentes apresentam-se coradas de tons amarelo a vermelho e representam o colágeno I, enquanto as fibras mais finas e dispersas, fracamente birrefringentes apresentam-se coradas de verde e representam o colágeno III, como visto nos experimentos realizados por BIONDO-SIMÕES, (2005).

Os valores encontrados nas análises feita através do programa QuantPoro (que diferencia as fibras do tipo I e III pelas cores), não demonstraram diferença significativa quando submetidos ao teste de Tukey ($P>0,05$). Apesar disso, as imagens de fragmentos de pele sob polarização, mostraram maior número de fibras colágenas tipo III (Figura 5), nos tecidos dos animais que receberam tratamento com o bálsamo, porém nos últimos cinco dias apresentou-se um declínio indicando a ação das colagenases neste tipo de colágeno o qual será substituído pelo colágeno tipo I (DANTAS & SIQUEIRA JÚNIOR, 2000) que é mais espesso sendo também o tipo de colágeno mais abundante em nosso organismo (JUNQUEIRA et al., 2004; BIONDO-SIMÕES et al, 2006). O colágeno tipo III é o colágeno que surge precocemente e, portanto, o tipo mais comum nas cicatrizes imaturas (TENIUS, 2007). O colágeno tipo I também foi encontrado em maior quantidade nos tecido dos animais tratados com bálsamo que nos demais tratamentos apresentando uma curva crescente (Figura 6), enquanto os

animais tratados com Dersani[®] e pomada de brassica sp apresentaram uma curva estável nos últimos cinco dias. Os tecidos cujos animais foram tratados com solução salina 0,9% apresentaram uma curva em declínio quando analisado o colágeno tipo I (Figura 6).

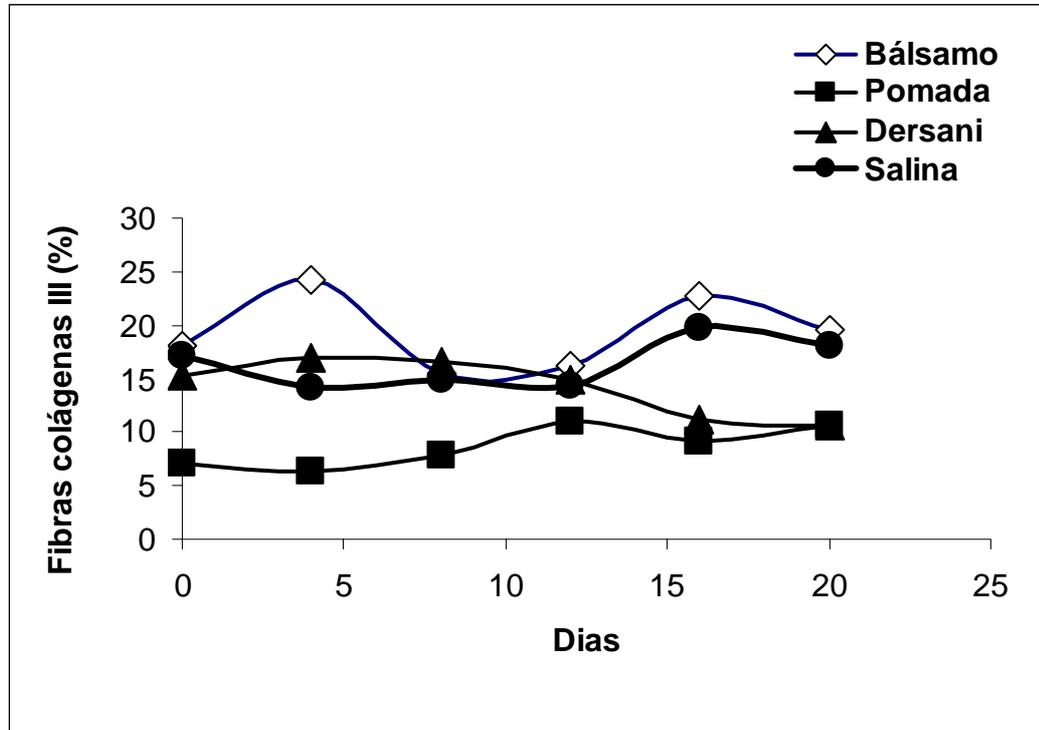


Figura 5 - Valores médios da contagem de fibras colágenas tipo III dos animais em função do tempo e dos diferentes tratamentos.

Não existem relatos a respeito do efeito da brassica sp sobre o colágeno, no entanto alguns experimentos foram realizados analisando fatores como hipotireoidismo e idade, observando-se menor concentração de colágeno tipo I nas cicatrizes dos animais hipotireoideanos, tanto jovens quanto velhos no 7.º dia de experimento, sendo a baixa concentração de colágeno tipo III, mais importante, encontrada nas cicatrizes dos animais velhos analisadas com 14 dias (BIONDO-SIMÕES et al., 2005). Outra variável analisada foi a presença de carcinomas no qual o colágeno do tipo I foi observado presença mais intensa nos tumores menos agressivos (MARTINS et al.,2003), e a influencia da irradiação onde o maior número de fibras colágenas tipo III foi observado nos tecidos obtidos de animais que receberam irradiação com laser GaAsAl 30J/cm² e as fibras colágenas tipo I foi igual nos diferentes tratamentos (GONÇALVES, 2006).

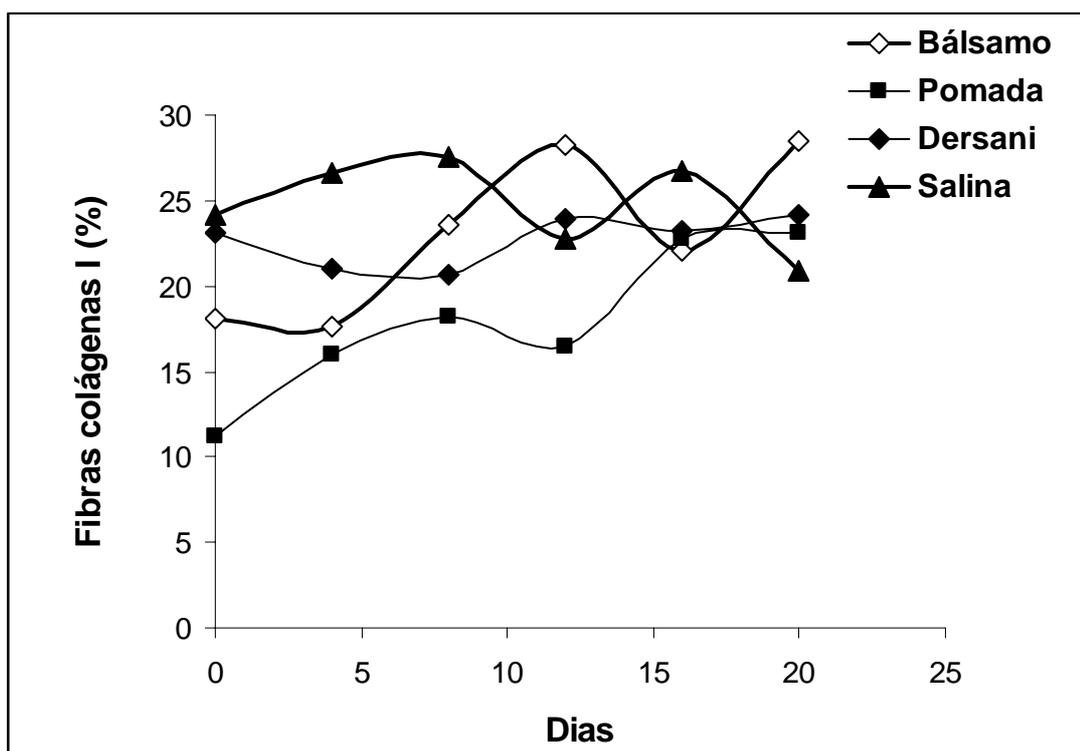


Figura 6 - Valores médios da contagem de fibras colágenas tipo I dos animais em função do tempo e dos diferentes tratamentos.

Os animais tratados com Dersani[®] apresentaram inicialmente um perfil de produção de fibras colágenas tipo I e III semelhante ao dos animais tratados com salina, mas esse perfil mudou a partir do 12^o dia onde o grupo Dersani[®] apresentou uma queda e o da salina um aumento dessas fibras. Já a pomada de Brássica, tanto para o colágeno tipo I como para o tipo III manteve uma curva com ligeiro crescimento.

Outro fator importante além da quantidade de colágeno é a organização dessas fibras, o que podemos observar na Figura 7. Nesta figura são observadas fotomicrografias de secções histológicas de pele de ratos Wistar obtidas no 20^o dia do experimento. Observa-se a presença de fibras colágenas tipo I e fibras colágenas tipo III e sua distribuição. As fibras em vermelho e amarelo são fibras colágenas do tipo I e as fibras em verde representam as fibras de colágeno tipo III. As regiões que aparecem escuras representam área onde não foram evidenciadas fibras de colágeno. Na figura 7.1, obtida dos animais tratados com o bálamo, observa-se fibras colágenas mais organizadas e espessas.

De acordo com BIONDO-SIMÕES (2005), a resistência da cicatriz seria dependente tanto da quantidade de colágeno como da organização do mesmo. Observa-se também maior quantidade de fibras colágenas do tipo I; Na Figura 7.2, representando secções de pele de animais que receberam tratamento com pomada, pode-se observar predominância de fibras colágenas do tipo III, enquanto as fibras colágenas do tipo I são observadas em menor quantidade. Quando comparado ao grupo tratado com salina, os animais tratados com Dersani[®] não apresentaram diferenças em relação às fibras de colágeno tipo I e III, mas quanto a organização das fibras, o Dersani[®] apresenta melhor disposição das mesmas (Figura 7.3 e 7.4).

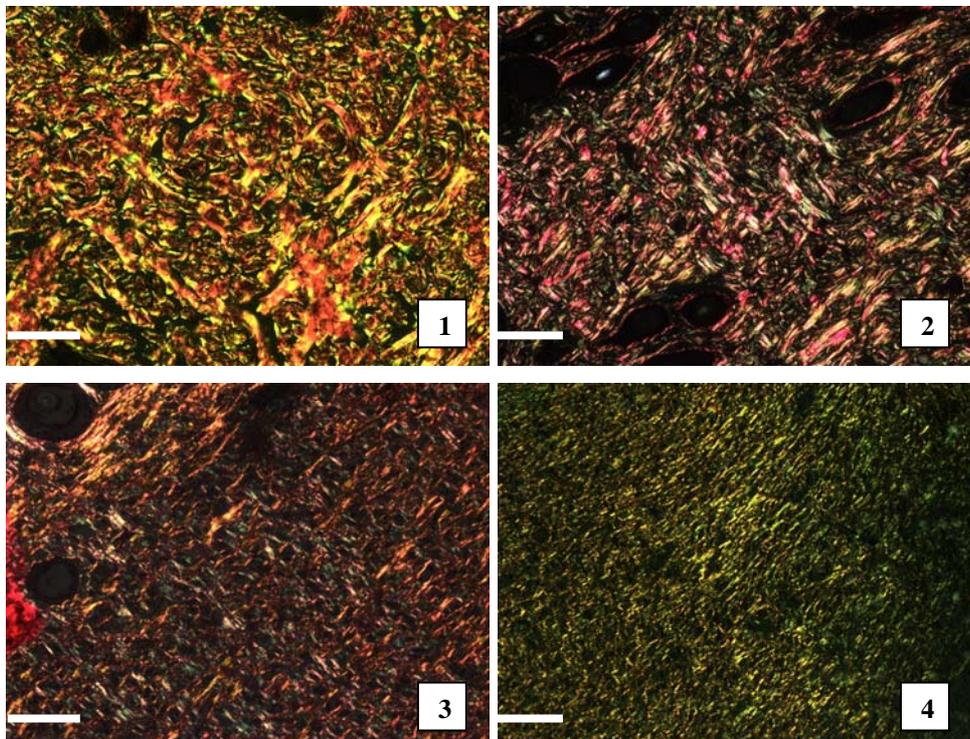


Figura 7 - Secções histológicas de pele de ratos Wistar no 20º dia do experimento (PSP), barra: 10µm. 1 - Bálsamo; 2 - Pomada; 3 - Dersani[®]; 4 - Salina.

Comparando-se as diferentes formulações de brassica observa-se que o bálsamo induziu a maior quantidade de colágeno I e III. Quando comparado aos controles encontramos no tratamento com bálsamo além de maior quantidade de fibras colágenas, melhor organização das fibras.

5. CONCLUSÕES

O reparo de feridas é um processo complexo, que envolve interações celulares, fatores externos e orgânicos que devem ser considerados. Algumas alternativas bem como medicamentos e radiação tem sido testadas com o objetivo de otimizar esse processo. O presente trabalho avaliou o efeito cicatrizante do extrato de *Brassica olerácea* observando taxa de cicatrização e aspectos histológicos.

O bálsamo de brassica a 10% destacou-se por apresentar uma melhor taxa de cicatrização, de 15,64 mm/dia.

Os dados hematológicos não apresentaram diferenças estatísticas significativas nos diferentes tratamentos. Em função disso, não foram utilizados como referência para avaliação da atividade cicatrizante.

As feridas dos animais tratadas com bálsamo apresentaram maior quantidade e melhor organização das fibras colágenas. Esses dados suportam nossa hipótese de que o bálsamo promove maior eficiência na cicatrização, aumentando a proliferação de fibras colágenas tipo III, acelerando assim a deposição do colágeno I.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLA, L.E.F.; ISHIZUKA, M.M.A. Fisiopatologia das Feridas. In: FERREIRA, L.M. **Manual de cirurgia plástica**. São Paulo: Atheneu, p.5-11, 1995.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5^oed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p. 580, 2005.

ALMEIDA, M.S.; FERREIRA, R.I.; BÓSCOLO, F.N. Influence of irradiation on collagen content during wound healing in diabetic rats. **Pesq Odontol Bras.**, v.16, n. 4, p. 293-298, 2002.

AMÂNCIO, A. da C.G. Efeitos do ultra-som terapeutico na integração de enxertos de pele total em coelhos. Dissertação de mestrado em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de São Carlos, Universidade de São Paulo, 68p, 2003.

ANTUNES, F.R.; SARANDY, M.M.; FREIRE, M.C.M.; SILVA, M.B.; MALAQUIAS, L.C.C.; ALBERTO-SILVA, C. Ensaio de toxicidade do extrato de *Brassica sp em Artemia salina L*. **Anais do I simpósio de Pesquisa e Iniciação Científica**. Ed.Univale.Governador Valadares, p.110, 2003.

ANTUNES, F.R. Efeito cicatrizante de pomada de *Brassica sp*. Em lesões cutâneas de coelhos. Governador Valadares. Monografia apresentada ao

curso de farmácia da Universidade Vale do Rio Doce - UNIVALE, 116p, 2004.

ARNOLD, J.R.H.L.; ODOM, R.B.; JAMES, W.D. A pele: estrutura básica e função. **Doenças básicas da pele de Andrews: Dermatologia clínica**. 8ª ed. São Paulo: Manole LTDA, 1994, p.1-14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Dermatologia Sanitária. **Manual de prevenção de incapacidades**. Brasília, 2000. 107p.

BALBACH, A.; BOARIM, D. **As Hortaliças na Medicina Natural**. Itaquaquecetuba: Vida Plena, 1993, p. 28.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazil J. of Pharmaceutic Science**. vol. 41, n. 1, p. 27-51 2005.

BERNARDES, C.H.A. Úlcera de perna na hipertensão venosa, varicose, Santos-SP, p.63-67, 2006.

<http://www.sbacvrij.com.br/paginas/revistas/pdf/2003/02/Ulcera-Perna.pdf>

Acesso em 17 de maio de 2007.

BEYER, T. A.; WERNER, S.; DICKSON, C.; GROSEA, R.; Fibroblast growth factor 22 and its potential role during skin development and repair. **Experimental Cell Research**, v.287, n. 10, p.228-236, 2003.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; IOSHII, S.O.; BORSATO, K.S.; ZIMMERMANN, E. O processo de cicatrização influenciado pelo hipotireoidismo e pelo envelhecimento. Estudo da cicatrização da parede abdominal, em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, supp. n.1, p. 120-128, 2005.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; ALCANTARA, E.M.; DALLAGNOL, J.C. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. **Rev. Col. Bras. Cir.** v.33, n.2, p.74-78, 2006.

BLANES, L. **Tratamento de feridas**. Baptista-Silva JCC, editor. Cirurgia vascular: guia ilustrado. São Paulo: 2004. Disponível em: URL: <http://www.bapbaptisia.com>. Acesso em 10 de mai. 2007.

BLOTNIK, S.; PEOPLES, G. E.; FREEMAN, M. R. E.; EBERLEIN, T. J.; KLAGSBRUN, M. T lymphocytes synthesize and export heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor, mitogens for vascular cells and fibroblast differential production and release by CD4+ and CD8+ T cells. **Proc. Natl. Acad. SCI. USA.**, v. 91, p. 2890-2894, 1994.

BRANDT, E.; PETERSON, F.; LUDWIG, A.; EHLERT, J.E.; BOCK, L.; Fald, H. D. The beta-thromboglobulins and platelet factor 4: blood platelet derived CXC chemokines with divergent roles in early neutrophil regulation. **J. Leukoc. Biol.**, v. 7, p. 471-478, 2000.

CAMPBELL, B. H.; CLARK, W. W.; WANG, J. H. C. A multi-station culture force monitor system to study cellular contractility, **J. Biomechanics**. v. 36, p. 137-140, 2003.

CALICH, V. & VAZ, C. Imunologia. Rio de Janeiro. IN: JANCAR S. Imunidade Natural e Inflamação. p. 11-30, 2000.

CANDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: SENAC-SP, p.128, 2001.

CARVALHO, P.T.C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria: Estudo experimental em ratos diabéticos** [Dissertação de Mestrado]. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2002. 72p.

CHEN, C.C.; MO, F.E.; LAU, L.F. The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 47329-46337, 2001.

CHEON, S. S.; NADESAN, P.; POON, R.; ALMAN, B. A. Growth factors regulate β -catenin-mediated TCF-dependent transcriptional activation in fibroblasts during the proliferative phase of wound healing. **Exp. Cell Research**, v. 293, p.267-274, 2004.

CHITAHRA, P.; SAJITHALAL, G.B.; CHANDRAKASAN, G. Influence of Aloe Vera on collagen turnover in healing of dermal wounds in rats. **Indian J. of Experiment Biology**, v.36, n.9, p.896-901, 1995.

CHRISTOPHER, E. Kinetic aspects of epidermal healing. In: MAIBACH, H.; ROVEE, D. **Epidermal wound healing**. St Louis: Mosby, 1972.

CLARK, R.A. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair. **Arch Dermatol**, v.124, p. 201, 1988.

CLARK, R.A.F. Biology of dermal wound repair dermatological clinics. **J. Invest. Dermatol.**, v.11, n.4, p.647-661, 1993.

CONINCK, A. Healing of full-thickness wounds in pigs: effects of occlusive and nonocclusive dressings associated with a gel vehicle. **J. of Derm. Science**, v. 13, p. 202-211, 1996.

COUTO, R.C.; PEDROSA, J.M.G.; NOGUEIRA, J.M. Infecção Hospitalar e outras complicações não-infecciosas de doenças epidemiológicas, controle e tratamento. 3º ed. IN: PINHEIRO, S.M.C.Feridas. p. 589-608. Rio de Janeiro: MEDSI, 2003.

CUZZEL, J. KRASNER, D. Curativos. In: GOGIA, P. **Feridas – Tratamento e Cicatrização**. Rio de Janeiro: Revinter, 2003, cap 9, p. 103-114.

DANTAS, C.J.S.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.F. **Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000, p.173-225.

DAVIES M. J. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. **Circulation**, v. 82, p.II-38 - II-46, 1990.

DEALEY, C. **Cuidando de Feridas: um guia para as enfermeiras**. São Paulo: Atheneu, 2ª ed., 2001, p. 49-207.

DESTRO, M. W. B.; SPERANZINI, M.B.; DESTRO, C; GUERRA, C.; RECCO, G.C.; CAPOCHIN ROMAGNOLO, L.G. Estudo da utilização no pré-operatório de medicamentos ou drogas fitoterápicas que alteram a coagulação sanguínea. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, 2006.

DIEGELMANN, R.F.; COHEN, I.K.; KAPLAN, A.M. The role of macrophages in wound repair: a review. **Plast Reconstr Surg**; v. 68, p.107,1981.

EDLICH, R. F.; REDDY, V. R. Wound repair in emergency medicine during the last three decades. A view toward the new millennium. **The J. of Emergence Med.**, v. 20, n. 2, p. 167-193, 2001.

ELIZABETSKY, E. **Ciência e Cultura**. Rio de Janeiro: Revinter. p. 39, 697-702, 1987.

ENGELHARD, E.; TOKSOY, A.; GOOBELER, M.; DEBUS, S.; BRÜCKER, E. B.; GILLITZER, R. Chemokines IL-8, Groa, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phasespecific infiltration of eucocyte subsets in human wound healing. **Am. J.Pathol.**, v.153, p. 1849-1860, 1998.

FARNSWORTH, N.R. Plantas medicinais. **Bulletin of the WHO.** v. 63, p.965-981, 1985.

FERRADEIRA, I.S.; ANTUNES, F.R.; SARANDY, M.M.; ALBERTO-SILVA, C.; BARRETO, M. **Levantamento do uso da pomada de *Brassica* sp. no município de Governador Valadares.** Anais do Simpósio de Pesquisa e Iniciação Científica – UNIVALE, Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares - MG, p.116, 2003.

FOSS, B.; ULVESTAD, E. Platelet-derived growth factor (PDGF) in human acute myelogenous leukemia: PDGF receptor expression, endogenous PDGF release and responsiveness to exogenous PDGF isoforms by in vitro cultured acute myelogenous leukemia blasts **European Journal of Haematology**, v. 66, p.365-376, 2001.

FUNG, D. T.C.; GABRIEL, Y. F.; LEUNG, M. C. P.; TAY, D. K. C. Effects of a therapeutic laser on the ultrastructural morfology of repairing medial collateral ligament in a rat model. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 32, p.286-293, 2003.

GENTILHOMME, E.; NEVEUX, Y.; LEBEAU, J.; DESMOULIERE, A.; BERGIER, J.; SCHMITT, D.; HAFTEK, M. Modulation of a fibrotic process induced by transforming growth factor beta-1 in dermal equivalents. **Cell Biol Toxicol**, v.15, n.4, p.229-38,1999.

GOMES, M.J.V.M., REIS, A.M.M. **Ciências Farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar.** São Paulo: Atheneu, 2ºed., 2000.

GONÇALVES R.V., Influência do Laser Arseneto de Gálio e Arseneto de Gálio – Alumínio e Pomada Cicatrizante em Feridas Cutâneas de Ratos Wistar. Viçosa: Universidade federal de Viçosa, 2006. 43p. (Dissertação, Mestrado em Biologia Celular e Estrutural).

GREENBALGH, D. The role of growth factors in wound healing. **J. of trauma**, v. 41, n. 1, p. 159-167, 1996.

LIMA, A. A. S.; GRÉGIO, A. M.; TANAKA, O.; MACHADO, M.A.N.; FRANÇA B.H.S. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial.**, v. 10, n. 5, 2005.

GUIDUGLI-NETO, J. The efect of roentgen radiation on thecapillary sprontsonal superficial loops of granulation tissue II: ultrastructural aspect. **Rev. Odontol.** Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 6, p. 66-71, 1992.

HINMAN, C.D.; MAIBACH, H. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. **Nature**, v. 200, n.377. 1963.

JANCAR, S. Imunidade Natural e Inflamação. In: CALICH, V.; VAZ, C. **Imunologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2ºed., 2000, p.11-30.

JOEGE, S.A.; DANTAS, S.R.P.E.; Abordagem multiprofissional do tratamento de feridas. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. p.351.

JUNQUEIRA, L.C.;CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 10º ed. p.487, 2004.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L.. **Basic Pathology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 5ª ed., 1992, p. 772.

LEFKOVITS J.; PLOW, E.F.; TOPOL, E.J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. **N. Engl. J. Med.** v. 332, p. 1553-1559, 1995

MAIA, A.P.A., et al.; Estudo farmacognóstico e avaliação citotóxica do látex de *Jatropha sp* (Euphorbiaceae) frente a *Arthemisa salina*. In: Anais do III Simpósio de Pesquisa e Iniciação Científica da Univale. Editora Univale, p. 93. 2005.

MANDELBAUM,S.H.; Di SANTIS, É.P; MANDELBAUM.; M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. **An. Bras. Dermatol.**, v.78, n. 5, p. 521-522, 2003.

MARTIN, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. **Science**, v.276, p.75-87, 1997.

MARTINS, B.G. REIS, S.R.A., SILVA, T.M.C., Collagen type I expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Pesq Odontol Bras**, v.17, n.1. p. 82-8, 2003.

MEDEIROS A.C.; DANTAS FILHO A.M., ROCHA K.F.B., AZEVÊDO I.M., MACÊDO F.Y.B. Ação do fator de crescimento de fibroblasto básico na cicatrização da aponeurose abdominal de ratos. **Acta Cir Bras**. vol 18, v. 1, 2003.

MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. **Desenvolvimento de Fitoterápicos**. São Paulo: Robe Editorial, 2000, 116p.

MOSHER, D.F.; FURCHT, L.T. Fibronectin: review of its structure and possible functions. **J Invest Dermatol**, v. 77, n. 175, 1981.

MOREIRA, R.A.; ACÚRIO, F.A.; BRANDÃO, M.G.L. Interesse de farmacêuticos, envolvidos em dispensação, por plantas medicinais e fitoterapia. **Rev. Pharmácia Brasileira**, n. 25, p.72-75. 2001.

MOUCO, G.; BERNARDINO, M.J.; CORNÉLIO, M.L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Rev. Biotec. Ciência & Desenv.** n. 31, 2003.

NEVES, B.M.J., NETO, J.G., PONTES, P. Diferenciação histopatológica e imunoistoquímica das alterações epiteliais no nódulovocal em relação aos pólipos e ao edema de laringe. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.** v 70, nº 4 p. 439-448, 2004.

NORMAN, R. A.; BOCK, M. Wound care in geriatrics. **Dermatologic Therapy**, v.16, p. 224-230, 2003.

ONO, I. Studies on cytokines related to wound healing in donor site wound fluid. **J. of Dermal. Science**, v. 10, p. 241-245, 1995.

ONO, I. The effects of basic fibroblast growth factor (b-FGF) on the breaking strength of acutes incisional wounds, **J. of dermal Scie**, v 29, p. 104-113, 2002.

ORYAN, A.; ZAKER, S.R. Efects of tropical aplication of honey ou cutaneous wound healing in rats, **Zentralbl Veterinarmed.** v.45, n.3, p.181-188, 1998.

RAMALHO, L. N. Z.; ZUCOLOTO, S.; RAMALHO, F.S.; CASTRO-E-SILVA JR, O. de; CORRÊA, F.M.A. Efeito de agentes anti-hipertensivos sobre as células estreladas durante a regeneração hepática em ratos. **Arq. Gastroenterol**, v. 40, n. 1, 2003.

REHDER, J.; MARTINHÃO, L.R.S.; ISSA, C.M.B.M.; Puzzi, M.B. Modelo de epiderme humana reconstruída in vitro com queratinócitos e melanócitos sobre derme humana morta desepidermizada. **Sao Paulo Med. J.**, São Paulo, v. 122, n. 1, 2004.

REZENDE, J.M. Reproduzido do livro **Linguagem Médica**, Cidade: AB Editora e Distribuidora de Livros Ltda, 3ª ed., 2004. <http://usuarios.cultura.com.br/jmrezende>. Acesso em 17 de maio de 2007.

ROBBINS, S.L., COTRAN, R.S., KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 4, pp. 44-100, 2000.

ROBBINS, COTRAN, R.S., KUMAR, V.; COLLINS, T. Patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 79, 1996.

RODRIGUES DA SILVA, L.C. Fatores que interferem no processo de cicatrização. **Gestor Comercial Nursing Care Cooperativa de Enfermagem**, 2002.

RYAN, G. B.; MAJNO, G. Acute inflammation: a review. **Am. J. Pathol.** v.86, p. 185-276, 1997.

SANDES, A.R.R.; DI BIASI, G. Biodiversidade e diversidade química e genética. **Ver. Biotec. Ciência & Desenv.** ano II, n. 13, Mar/Abr, 2000.

SANTOS, V.L.C.G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: DUARTE, Y.A.O.; DIOGO, M.J.D. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; 2ªed., 2000, p.265-306.

SCOTT, D. W. **Dermatologia de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Interlivros Edições LTDA, 2ªed., 1996, p.173-225.

SILVA, M. B.; ALBERTO-SILVA, C.; MALAQUIAS, L. C. C.; SARANDY, M. M.; ANTUNES, F. R.; FREIRE, M. C. M. Comparative effect of a phytotherapeutic product as cicatrizing. **III Internations Syposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants.II Latin American Symposium on the Procuction of Medicinal and Aromatic Plants and Condiments**. Campinas, SP. p A08-14. 2004.

SILVEIRA, L.; RAISER, A.G. Controle microbiológico dos efeitos in vivo de duas apresentações de própolis em feridas contaminadas de cães. **Veterinária Notícias**, v.1, n.1, p.11-17, 1995.

SOUTO, L. R. M.; Modelo de pele humana reconstruída in vitro composta de derme e epiderme associadas. **Sao Paulo Med. J.**, São Paulo, v.124, n.2, p. 71-76, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em 2 maio de 2007. Pré-publicação.

STATSOFT. Inc (2001) STATISTICA (data analysis software system) Version 6. www. Statsoft.com.

TAKEHARA, K. Growth regulation of skin fibroblasts. **J. of Dermal. Scie**, v.24, p. 70-77, 2000.

TENIUS, F.P.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; IOSHII, S.O. Efeitos do uso crônico da dexametasona na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **An Bras Dermatol**. v.82, n.2, p. 141-149, 2007.

TODD, R.; DONOFF, B.R.; CHIANG, T.; CHOU, M.Y.; ELOVIC, A.; ALLAGHER, G.T.; WONG, D.T. The eosinophil as a cellular source of ransforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds. **Am. J. Pathol.**, v. 138, p. 1307-1313, 1991

VANDERPLANK, J.E. Plant diseases: Epidemcs and control. **Academcs Press**. New York, p. 344, 1963.

VIEIRA, C.S.C.A.; MAGALHÃES, E.S.B.; BAJAI, H.M. Manual de condutas para úlceras neurotróficas e traumáticas. **Caderno de Reabilitação em Hanseníase**, n.2, p. 52, 2002.

YAMADA, B.F.A. Terapia tópica de feridas: limpeza e desbridamento. **Rev. Esc. Enf. USP**, n. 33, p.133-40, 1999.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

WADA, A.; FERREIRA, M.C.; TUMA JÚNIOR, P.; ARRUNÁTEGUI, G. Experience with local negative pressure (vaccum method) in the treatment o complex woreds. **Sao Paulo Med. J.**, v. 124, n. 3, p.150-153, 2006.

WINTER, G.D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. **Nature**; v. 193. p. 294, 1962.

ZHANG, F. The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischaemic skin wounds. **The British Association of Plastic Surgeons**, v 56, p. 334-341, 2003.