

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA E FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENVELHECIMENTO HUMANO

**Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em
ratos envelhecidos**

Cleide Luciana Toniollo

Passo Fundo
2012

Cleide Luciana Toniollo

Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Envelhecimento Humano da Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Envelhecimento Humano.

Orientador:
Prof.^a Dr.^a Telma Elita Bertolin

Passo Fundo
2012

CIP – Catalogação na Publicação

- T665f Toniollo, Cleide Luciana
Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em
ratos envelhecidos / Cleide Luciana Toniollo. – 2012.
62 f. : il. ; 30 cm.
1. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) –
Universidade de Passo Fundo, 2012.
2. Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Telma Elita Bertolin.
1. Pele - Envelhecimento. 2. Cicatrização. 3. Ficocianina. 4.
Envelhecimento. I. Bertolin, Telma Elita, orientadora. II. Título.

CDU: 613.98

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado DA ALUNA

CLEIDE LUCIANA TONIOLLO

Aos três dias do mês de setembro do ano dois mil e doze às quatorze horas, realizou-se, na Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade de Passo Fundo, a sessão pública de defesa da Dissertação: **"Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos"**, apresentada pela mestrande Cleide Luciana Toniollo, que concluiu os créditos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Envelhecimento Humano. Segundo os encaminhamentos do Conselho de Pós-Graduação (CPG) do Mestrado em Envelhecimento Humano e dos registros existentes nos arquivos da Secretaria do Programa, a aluna preencheu todos os requisitos necessários para a defesa. A banca foi composta pelos professores doutores Telma Elita Bertolin - orientadora e presidente da banca examinadora (UPF), Marilene Rodrigues Portella e Kátia Lilian Sedrez Celich. Após a apresentação e a arguição da dissertação, a banca examinadora considerou a candidata **APROVADA**, em conformidade com o disposto na Resolução Consun Nº 07/2010.

A banca recomenda a consideração dos pareceres, a realização dos ajustes sugeridos e a divulgação do trabalho em eventos científicos e em publicações.

Encerrados os trabalhos de defesa e proclamados os resultados, eu, Profª. Drª. Telma Elita Bertolin, presidente, dou por encerrada a sessão pela banca.

Passo Fundo, 03 de setembro de 2012.

Profª. Drª. Telma Elita Bertolin
Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Profª. Drª. Marilene Rodrigues Portella
Universidade de Passo Fundo - UPF

Profª. Drª. Kátia Lilian Sedrez Celich
Universidade de Inã - UNINGÁ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido, Jair Salini, companheiro de todas as horas, pelo amor, compreensão e dedicação que teve comigo nos momentos difíceis e de ausência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente, me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, permitir que pela fé se concretizasse em mais esta realização.

À Professora Telma Elita Bertolin, orientadora e amiga, que com boa vontade, compartilhou seus conhecimentos e suas experiências, possibilitando chegar ao final de cada etapa deste estudo.

Ao professor Clodomir Martinazzo pela valiosa orientação na análise estatística.

Aos funcionários do Biotério Central, da Universidade de Passo Fundo, o professor Sérgio Machado Porto pelas orientações durante a pesquisa, o veterinário Emerson Bernardon pelo auxílio durante os procedimentos e coleta de material para análise e o técnico Sérgio dos Santos Chagas pela ajuda constante durante as atividades com os animais, principalmente nos cuidados sanitários e de alimentação.

À Elaine Neckel Ferraz assistente de laboratório do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo pelo apoio e dedicação durante a confecção das lâminas.

Ao Dr. Clóvis Klock, médico patologista da Clínica de Medicina Diagnóstica de Erechim, pelas orientações, apoio e tempo dedicado para a análise histológicas das lâminas.

Ao meu marido, Jair Salini, pelo amor eterno, apoio incessante e por estar sempre ao meu lado nas horas de alegria e também de desânimo durante esta caminhada.

À minha família, fonte de minha força, por estarem sempre ao meu lado me apoiando e pelos cuidados constantes.

A todos os colegas e professores da pós-graduação em Envelhecimento Humano pelo convívio e aprendizado.

A todos que de uma forma ou outra colaboraram para que este trabalho fosse realizado com êxito.

*Além da Terra, além do Céu,
no trampolim do sem-fim das estrelas,
no rastro dos astros,
na magnólia das nebulosas.
Além, muito além do sistema solar,
até onde alcançam o pensamento e o coração,
vamos!
vamos conjugar
o verbo fundamental essencial,
o verbo transcendente, acima das gramáticas
e do medo e da moeda e da política,
o verbo sempre amar,
o verbo pluriamar,
razão de ser e de viver.*

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

TONIOLLO, Cleide Luciana. Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

Uma das principais funções da pele é servir como barreira mecânica ao meio externo. A perda em grandes proporções da sua integridade pode levar a importantes alterações da homeostase ou mesmo à morte do indivíduo. O processo de cicatrização constitui resposta imediata e dinâmica do organismo à lesão tecidual com o objetivo de restaurar a continuidade anatômica e funcional. Para que a cicatrização ocorra, deve existir um conjunto de condições, o que inclui um estado nutricional e uma terapia tópica adequada. As lesões cutâneas podem ser definidas como toda e qualquer ruptura da integridade de um tecido ou órgão, podendo atingir desde a epiderme que é a camada externa da pele até estruturas mais profundas como fâscias, músculos aponeuroses e órgãos cavitários. O tratamento e os cuidados com as lesões cutâneas envolvem um complexo processo, que vai desde a avaliação da lesão à escolha da cobertura adequada favorecendo a fisiologia da reparação tissular. O processo de regeneração tissular das lesões pode ser acelerado pelo uso de diferentes produtos terapêuticos. O presente trabalho objetivou avaliar a ação da ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos. Para tal, foram utilizados 40 ratos (*Wistarhannover*) machos envelhecidos com lesões de pele induzidas, estes foram divididos em 4 grupos com um n de 10 ratos, sendo que cada grupo recebeu um tipo de tratamento - G1(Ficocianina 10%); G2 (Ficocianina 20%); G3 (Ficocianina 30%) e G4 (Controle positivo -Kollagenase®), pomada de referência. As intervenções iniciaram no primeiro dia do pós-operatório seguido por um período de dezoito dias. Os ratos foram submetidos a um tipo de lesão cutânea no dorso anterior localizado ao nível do ângulo das escápulas. Estas lesões foram analisadas quanto à contração cicatricial, quantidade de colágeno total, fibrose e células inflamatórias. Para análise estatística foi utilizado o *software Bioestat 5.0* e para realizar a comparação entre os tratamentos e entre os parâmetros foi utilizado o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, ao nível de significância de 5%. Os resultados com a pomada ficocianina nas diferentes concentrações não apresentaram diferença significativa quando comparados aos resultados da pomada Kollagenase® (controle positivo) nas análises referentes a taxas de contração de feridas cruentas, e nos valores de síntese de colágeno total, inflamação e

de fibrose. Esses resultados demonstram que a ficocianina presente na cianobactéria *Spirulina platensis* pode ser utilizada no tratamento da cicatrização de lesões cutâneas, visto o seu bom perfil de segurança.

Palavras-chave: 1. Lesões cutâneas. 2. Cicatrização. 3. Ficocianina. 4. Envelhecimento.

ABSTRACT

TONIOLLO, Cleide Luciana. Ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

One of skins main functions is to act like a mechanical barrier to the external environment. The loss, in big proportions, of it's integrity may lead to important changes in homeostasis and even the death of the patient. The scarring process constitutes an immediate and dynamic answer from the organism to the tissue wound with the purpose to restore the anatomic and functional continuity. For the scarring to happen there must be a set of conditions, that include an appropriate nutritional state and a topical therapy. The skin injuries may be defined as any rupture of a tissue or organ integrity, it may reach from the epidermis, that is the most external skin layer, to deeper skin structures like fascia, muscle aponeuroses and cavities organs. The treatment and the caring of skin injuries involve a complex process that goes from the evaluation of the injury to the choice of the appropriate covering favoring the tissue repairing physiology. The tissue regeneration process of the injuries may be accelerated by the use of different therapeutic processes. The being work had as objective to evaluate the therapeutic action of phycocianyn in skin injuries induced in aged rats. For that, forty male aged rats (*Wistarhannover*) with induced skin injuries were used, they've been divided in four groups with a n of ten rats, therefore, each received a kind of treatment - G1(Phycocianyn 10%); G2 (Phycocianyn 20%); G3 (Phycocianyn 30%) e G4 (Positive control - Kollagenase®), reference cream. The intervention began on the first day of the postoperative, follow by a period of eighteen days. The rats were subject to a kind of skin injury on the fore back located at the scapulae angle. These injuries were analysed as the scarring contraction, amount of total collagen, fibrosis and inflammatory cells. For the statistical analysis and to perform the comparison between the treatments the Bioestat 5.0 software was used, and to perform the comparison between the parameters the non-parametric test of Kruskal-Wallis was used, to the level of significance of five percent. The results with the phycocianyn cream with different concentrations didn't show significant difference when compared to the Kollagenase® cream (positive control) on the different analysis referring to the concentration taxes of the bloody wounds, and on the values of the total collagen synthesis, inflammation and fibrosis. These results show that phycocianyn present in the cyanobacterium *Spirulina platensis* may be used in the scarring treatment of skin injuries, seen it's safe profile.

Key words: **1. Skin injuries. 2. Scarring. 3. Phycocianyn. 4. Agin.**

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Pele adulto-jovem. | 20 |
| Figura 2 - Pele envelhecida. | 21 |
| Figura 3 - Estruturas da pele. | 22 |
| Figura 4 - Fases da cicatrização, tipos celulares predominantes e resposta vascular. | 25 |
| Figura 5 - Organização dos grupos de intervenção segundo o conteúdo das pomadas. | 34 |
| Figura 6 - Análise evolutiva da contração cicatricial das feridas excepcionais. | 35 |
| Figura 7 - Método de cálculo das imagens, e resultados em cm ² . | 35 |
| Figura 8 - Evolução das áreas cruentas para os grupos G1, G2, G3 e G4 no tempo de tratamento. | 39 |
| Figura 9 - Resultados da análise para o sétimo dia, indicando os valores dos parâmetros. | 40 |
| Figura 10 - Distribuição dos valores médios dos parâmetros fibrose, inflamação e colágeno e seus respectivos desvios padrão. | 41 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais para os diferentes tratamentos. | 32 |
| Tabela 2 - Avaliação da contração cicatricial (circunferência em centímetros) média nos quatro grupos de ratos. | 39 |
| Tabela 3 - Valores dos parâmetros e dos testes de <i>Kruskal-Wallis</i> . | 40 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---------------|---|
| CEUA | Comitê de Ética no Uso de Animais |
| FEAR | Faculdade de Engenharia e Arquitetura |
| FIOCRUZ | Fundação Oswaldo Cruz |
| FURG | Fundação Universidade Federal de Rio Grande |
| GC | Grupo Controle |
| GS | Grupo Spirulina |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| ICB | Instituto de Ciências Biológicas |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PDGF | Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta |
| RL | Radicais Livres |
| TNF- α | Fator de Necrose Tumoral Alfa |
| UPF | Universidade de Passo Fundo |
| USA | United States of America |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 18 |
| 2.1. CRONOLOGIA DO ENVELHECIMENTO POPULACIONAL | 18 |
| 2.2. ENVELHECIMENTO HUMANO E LESÕES CUTÂNEAS | 19 |
| 2.3. ANATOMIA E FISIOLOGIA DA PELE | 21 |
| 2.4. REPARAÇÃO TISSULAR | 23 |
| 2.4.1. FASE INFLAMATÓRIA | 25 |
| 2.4.2. FASE FIBROBLÁSTICA | 26 |
| 2.4.3. FASE DE REMODELAMENTO | 27 |
| 2.5. TERAPÊUTICA DE FERIDAS | 27 |
| 2.6. FICOCIANINA | 29 |
| 2.7. POMADA KOLLAGENASE® | 30 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 31 |
| 3.1. LOCAL DO EXPERIMENTO | 31 |
| 3.2. MODELO EXPERIMENTAL E ESTUDO PILOTO | 31 |
| 3.3. OBTENÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA DAS POMADAS | 31 |
| 3.3.1. POMADA KOLLAGENASE® – CONTROLE POSITIVO | 31 |
| 3.3.2. POMADA FICOCIONINA | 32 |
| 3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 32 |
| 3.5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 33 |
| 3.5.1. PROTOCOLO DE SEDAÇÃO | 33 |
| 3.5.2. PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS/INDUÇÃO DAS LESÕES CUTÂNEAS | 33 |
| 3.5.3. APLICAÇÃO DAS POMADAS | 33 |
| 3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS | 34 |
| 3.6.1. AVALIAÇÃO DA CONTRAÇÃO CICATRICIAL – ANÁLISE FOTOGRÁFICA | 34 |
| 3.6.2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DAS FERIDAS | 36 |
| 3.6.3. TÉCNICA DE CONFECÃO DE LÂMINA PERMANENTE | 36 |
| 3.6.4. CUIDADOS ÉTICOS DOS ANIMAIS | 37 |
| 3.6.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA | 38 |
| 4. RESULTADOS | 39 |
| 4.1. AVALIAÇÃO DA CONTRAÇÃO CICATRICIAL | 39 |
| 4.2. QUANTIFICAÇÕES DO COLÁGENO TOTAL, FIBROSE E CÉLULAS INFLAMATÓRIAS | 40 |
| 5. DISCUSSÃO | 42 |
| 6. CONCLUSÃO | 48 |
| REFERÊNCIAS | 49 |
| ANEXOS | 60 |
| ANEXO A. PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO | 61 |

1. INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo no qual a interação celular e molecular reguladas de modo preciso governam muitas das agressões provindas do meio ambiente. É constituída por vários tipos de células interdependentes responsáveis pela manutenção da sua estrutura normal. Com o envelhecimento cronológico cutâneo, ocorre à modificação do material genético por meio de enzimas, alterações proteicas e o decréscimo da proliferação celular (BAUMANN, 2004). Estes eventos promovem a perda de tecido, da elasticidade, e da capacidade de regular as trocas gasosas. A replicação do tecido se torna menos eficiente. De acordo com Hirata, Sato e Santos (2004), as oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres (RL) aceleram o processo de senescência.

O tratamento e os cuidados com as lesões cutâneas envolvem um complexo processo, que vai desde a avaliação da lesão à escolha da cobertura adequada favorecendo a fisiologia da reparação tissular. Vários fatores dificultam ou interferem no processo de regeneração tissular, dentre estes se destaca a idade avançada, visto a redução da espessura da pele, redução da multiplicação e migração das células da epiderme e diminuição dos queratinócitos e fibroblastos. O processo de regeneração tissular destas lesões pode ser acelerado pelo uso de diferentes produtos terapêuticos.

A relevância do tema abordado dá-se pelo fato de que estudos demonstram que 2/3 dos idosos apresentam queixas dermatológicas e acredita-se que pelo menos 7% das consultas médicas é devido à presença de lesões de pele (NORMAN; BOOCK, 2003).

Segundo Souza e Santos (2006) a fragilidade do envelhecimento associadas a alguns fatores como: condições mórbidas, alterações do estado neurológico e mental, estado nutricional, mobilidade, incontinências anal e urinária são características da população propensa à formação, recidiva e complicações das lesões de pele.

No Brasil as lesões de pele acometem grande parte da população idosa, constituindo-se num sério problema epidemiológico que merece atenção e cuidados multidisciplinares, possibilitando uma redução dos agravos e possíveis desencadeadores desse processo na melhoria na qualidade de vida dessa população (CAVALCANTE et al., 2010).

Em diversos setores da área de saúde, o tratamento de feridas vem sendo um tema em destaque. Esta é uma prática milenar que, nos primórdios da civilização estava intimamente ligada a costumes e hábitos populares e, com o desenrolar da história e do desenvolvimento tecnológico, conquistou seu merecido cunho científico (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007).

A busca de novas alternativas para o tratamento de lesões de pele torna-se bastante importante. E neste contexto, existem perspectivas de desenvolvimento de novas tecnologias que visam acelerar o processo cicatricial e reduzir as complicações que estas lesões podem acarretar (KIRSNER, 2003).

Dentre as novas tecnologias, estão às fibras de não tecido, impregnadas de alginato de cálcio e sódio, extraídas de alga marinha *Laminaria*, contendo ácido algínico como princípio ativo e com ação quimiotáxica para macrófagos e fibroblastos (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

De acordo com Trabelsiet al. (2004) o uso da cianobactéria *Spirulina platensis*, pode acelerar os processos de cicatrização de feridas, visto, a sua riqueza em vitamina A e capacidade bactericida, pela presença de 2,4,4 triclora-2 hidróxi-difenil-éter o qual é utilizado no tratamento de processos infecciosos. O potencial terapêutico da ficocianina um pigmento presente na composição da *Spirulina platensis* tem sido relatado para fins terapêuticos em humanos e também em animais (BERTOLIN et al., 2008).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou verificar a ação da ficocianina na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos envelhecidos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. CRONOLOGIA DO ENVELHECIMENTO POPULACIONAL

Na atualidade a proporção de pessoas com 60 anos ou mais vem crescendo com maior rapidez do que a de qualquer outra faixa etária. O número de idosos passou de 3 milhões em 1960, para 7 milhões em 1975. No ano de 1980 a população era 7,2 milhões (6,06%), em 1991 a população idosa cresceu para 10,7 milhões, sendo que esse número passou para 17 milhões em 2006, gerando um aumento de 600% em menos de cinquenta anos (BRASIL, 2002; CARVALHO; WONG, 2008).

O envelhecimento populacional decorre de vários fatores como: a evolução do conhecimento, o avanço da ciência e da tecnologia, melhor cobertura das necessidades sociais e da saúde, melhoria das condições sanitárias aliadas medidas de prevenção, queda das taxas de natalidade e de mortalidade, bem como pelo aumento da esperança média de vida (KOCH FILHO; BISINELLI, 2008).

Entre os anos de 1970 a 2025, é esperado um crescimento de 223%, ou em torno de 694 milhões, no número de pessoas mais velhas. Em 2025 existirá um total de aproximadamente 1,2 bilhões de pessoas com mais de 60 anos, e para o ano de 2050 dois bilhões de idosos, sendo que 80% destes estarão nos países em desenvolvimento (OMS, 2005).

De acordo com as projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o país continuará galgando anos na vida média de sua população, alcançando em 2050 o patamar de 81,29 anos, basicamente o mesmo nível da Islândia (81,80), China (82,20) e Japão (82,60) (IBGE, 2008; BERQUO; CUNHA, 2001).

Conforme Veras (2007), o Brasil hoje pode ser considerado como um jovem país de cabelos brancos tem-se em torno de 650 mil novos idosos incorporados à população brasileira todos os anos, sendo que a maior parte desses apresenta doenças crônicas ou algumas limitações funcionais.

2.2. ENVELHECIMENTO HUMANO E LESÕES CUTÂNEAS

Teixeira e Guariento (2010) dizem que o envelhecimento biológico é um processo que se inicia no nascimento e continua até que ocorra a morte, para os mesmos autores senescência descreve um período de mudanças relacionadas à passagem do tempo que causam efeitos deletérios no organismo.

A senescência é uma característica universal de organismos multicelulares (HUGHES et al., 2002). Esta pode ser definida como o conjunto de mudanças morfofuncionais ao longo da vida as quais ocorrem após a maturação sexual. Progressivamente essas mudanças comprometem a capacidade de resposta dos indivíduos ao estresse e aos desafios ambientais e à manutenção da homeostasia (JECKEL-NETO; CUNHA, 2006), diminuindo a probabilidade de sobrevivência gradualmente (NERI, 2005; BONSALL, 2006) bem como a capacidade reprodutiva (BONSALL, 2006; BAUDISH, 2005; KIRKWOOD, 2005).

A senescência representa um fenótipo complexo da biologia que se manifesta em todos os tecidos e órgãos. Esse processo afeta a fisiologia do organismo e exerce um impacto na capacidade funcional do indivíduo ao torná-lo mais suscetível às doenças crônicas. Esta muitas vezes é analisada sob uma perspectiva negativa, sendo considerada simplesmente como um processo de declínio e insucesso graduais e inevitáveis de vários processos de manutenção da vida (NAUSBAWN, 1996).

Dentro deste contexto cabe definir envelhecimento funcional como sendo: “a diminuição progressiva das capacidades funcionais de órgãos e sistemas”. Nos últimos 30 anos, a Gerontologia levou o estudo até a biologia das células e moléculas e procura mesmo genes moduladores da longevidade (ALMEIDA, 2007).

Com o envelhecimento ocorrem modificações nas células, resultando em uma diminuição da imunidade devido à redução das células de Langerhans, aumentando dessa forma o risco de lesões na pele. Aliado a isso ocorre também à diminuição dos melanócitos, o que reduz a proteção aos raios solares, à diminuição da produção de suor pelas glândulas sudoríparas resultando numa menor capacidade de termorregulação, bem como a redução da vascularização e da produção de colágeno (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009).

Com a redução da vascularização a resposta inflamatória nos idosos é lenta ocorrendo uma queda na produção de linfócitos, oxigenação deficiente e uma baixa na adesão leucocitária (MEIRELES; SILVA, 2007).

Segundo Toneto et al. (2004), em idosos as complicações relacionadas à ferida operatória, ocupam o terceiro lugar dentre as topografias mais frequentes de infecção hospitalar, representando uma prevalência de 23,6 das infecções. De acordo com Werner e Kuntsche (2000), essa complicação se torna suscetível no idoso devido, a realização de procedimentos invasivos somado ao declínio da resposta imunológica, e também as alterações fisiológicas do envelhecimento (FARAGE; MILLER; BERARDESCA, 2009).

Como consequência das alterações fisiológicas do envelhecimento ocorre a redução em torno de 20% na espessura da derme, conferindo uma aparência transparente à pele do idoso, como pode ser observado nas Figuras comparativas 1 e 2. Esse achatamento que é a junção epiderme-derme se dá devido ao apagamento das papilas dérmicas, a diminuição do contato entre essas duas camadas o que resulta em uma menor resistência na elasticidade da pele, deixando o idoso mais suscetível ao desenvolvimento de lesões de pele (IRION, 2005; JORGE; DANTAS, 2005; COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009).



Fonte: Prazeres, 2009.

Figura 1 - Pele adulto-jovem.



Fonte: Prazeres, 2009.

Figura 2 - Pele envelhecida.

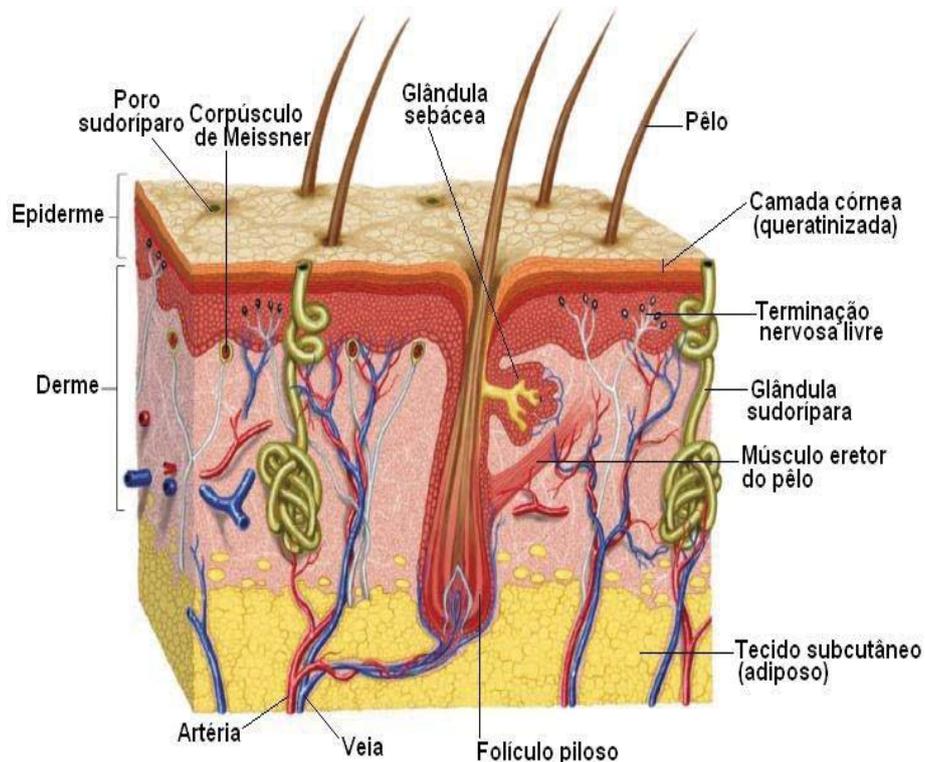
Todos esses fatores envolvidos conferem a pele do idoso maior risco de rotura, devido ao ressecamento e aumento no período de cicatrização, diminuição da velocidade de multiplicação das células envolvidas no processo de reparação tissular. As consequências danosas à pele são muitas em função do envelhecimento, por isso, o cuidado na preservação dessa integridade deve iniciar aos 30 anos, pois é neste período que ocorre em decréscimo das funções corpóreas e sendo que uma maior atenção deverá ser dada após os 45 anos (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009).

Farage, Miller e Berardesca (2009) dizem que, uma das consequências das lesões de pele em idosos é a prevalência da polifarmácia, aumentando o risco de reações auto-ímmunes, porque a administração concomitante de vários medicamentos pode criar uma sensibilidade muito maior para erupções da droga podendo simular outras afecções cutâneas. Estes mesmos autores colocam ainda que, pessoas mais velhas apresentam deficiências múltiplas, com o potencial de disfunção cognitiva, sendo este um agravante no tratamento. Somado a isso Salomé e Espósito (2010) salientam ainda os fatores psicológicos, pois os idosos que no seu cotidiano convivem com uma ferida, vivenciam muitos sentimentos negativos, como medo, tristeza, inutilidade, frustração e isolamento.

2.3. ANATOMIA E FISIOLOGIA DA PELE

A pele é o maior órgão do corpo, representando 15% de seu peso (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007). Um indivíduo adulto encontra-se revestido por aproximadamente 2 m² de pele, com aproximadamente 2 mm de espessura (IRION, 2005).

As funções da pele são: manter a integridade do corpo, proteger contra agressões externas, absorver e excretar líquidos, regular a temperatura, absorver luz ultravioleta, metabolizar vitamina D, detectar estímulos sensoriais além de servir de barreira contra microorganismos (MALAGUTTI; KAKIHARA, 2010). A pele é composta de duas camadas primárias (Figura 3). A camada externa, a epiderme, é uma camada epitelial. A camada interna, a derme, é uma camada de tecido conjuntivo (ALVARES, 1972).



Fonte: Prazeres, 2009.

Figura 3 - Estruturas da pele.

A epiderme é constituída pelo estrato córneo, camada fina e mais externa da epiderme, é composta de células desvitalizadas e queratinizadas. É seca, impermeável à água e rica em queratina. As camadas seguintes da epiderme (estrato lúcido, estrato basal, estrato granuloso e estrato germinativo) contêm células. A epiderme é uma camada protetora que proporciona uma barreira a lesões, à contaminação e à luz. Ela também evita a desidratação dos tecidos subjacentes, retém fluido e nutriente dentro da pele e produz melanina, a qual é responsável pela cor da pele (HAX, 2009).

A derme tem como função a sustentação da epiderme. Nessa camada encontram-se fibras colágenas, elásticas e reticulares que formam um denso tecido de sustentação. O colágeno confere à derme o tônus da pele e resistência. As fibras elásticas conferem elasticidade à pele, permitindo a movimentação, flexão e extensão dos membros, além da fixação da derme às estruturas adjacentes, epiderme e hipoderme. A derme é vascularizada sendo responsável pela nutrição do tecido e pela regulação térmica juntamente com as glândulas sudoríparas. A derme é composta ainda por glândulas sebáceas, músculos e vasos linfáticos (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009; LUND, 1999).

A hipoderme é também denominada de tecido subcutâneo. Sua estrutura oferece proteção contra lesão traumática, promove o isolamento térmico e proporciona reserva calórica, além do papel cosmético. Têm em sua estrutura os adipócitos, que são envolvidos em feixes de tecido conjuntivo e agrupados em lobos gordurosos (BLANES, 2004; CANDIDO, 2006).

2.4. REPARAÇÃO TISSULAR

Ferida refere-se a toda e qualquer ruptura da integridade de um tecido ou órgão, podendo atingir desde a epiderme, que é a camada externa da pele, até estruturas mais profundas como fáscias, músculos, aponeuroses e órgãos cavitários (JORGE; DANTAS, 2005).

O principal objetivo no tratamento das lesões cutâneas é promover rápida restauração da lesão, com cicatrizes satisfatórias do ponto de vista funcional e estético. Os avanços na biologia celular e molecular têm expandido sobremaneira a compreensão do complexo e ordenado processo de cicatrização das feridas (CLARK et al., 2000).

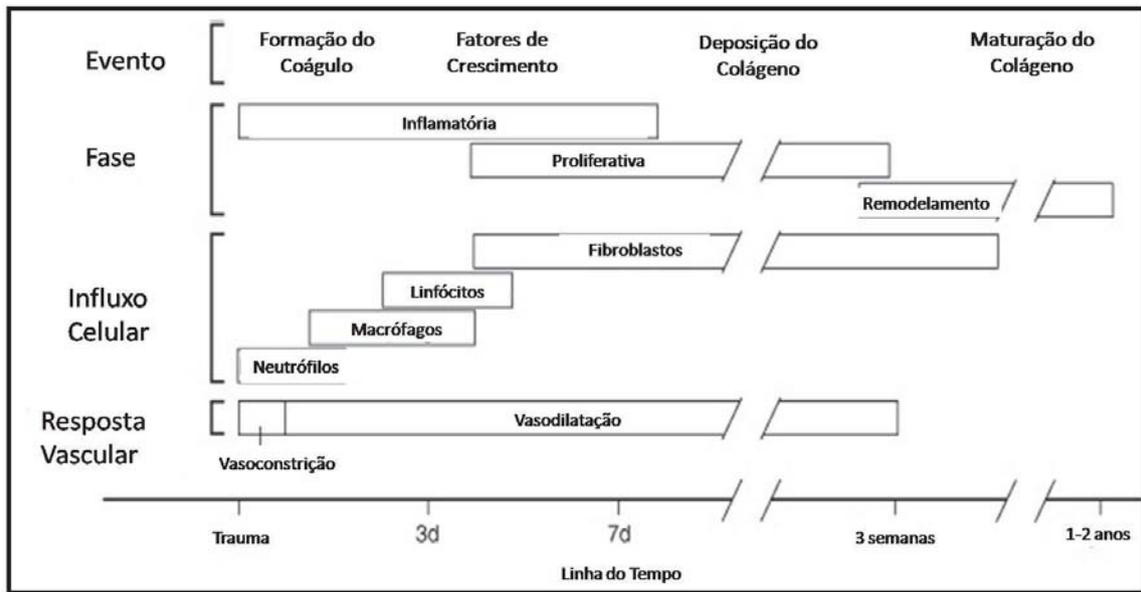
Jorge e Dantas (2005) definem cicatrização como, um processo sistêmico que consiste em uma complexa sequência de eventos coordenados e desencadeados pelo organismo que objetivam reconstruir o tecido lesado sendo este substituído por tecido conjuntivo vascularizado fibroso.

Para Barbul (1990) e Thornton et al. (1997) o processo de cicatrização constitui na resposta imediata e dinâmica do organismo à lesão tecidual com o objetivo de restaurar a continuidade anatômica e funcional.

Sob o ponto de vista histológico, esta é definida como a substituição do tecido lesado por tecido conjuntivo fibroso que, no seu estado permanente, formará uma cicatriz, com preservação da estrutura e função do tecido normal (DIEGELMANN, 1997).

O processo de cicatrização pode ocorrer por primeira, segunda e terceira intenção (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009). Na cicatrização por primeira intenção ocorre quando há possibilidade de aproximar os bordos da lesão. Na reparação por segunda intenção ocorre quando há uma perda de tecidos, e as extremidades da pele ficam distantes umas das outras impossibilitando a aproximação dos bordos. Na cicatrização por terceira intenção ocorre quando a lesão suturada é aberta para drenagem por um período de tempo e depois é possível novamente à aproximação dos bordos (MALAGUTTI; KAKIHARA, 2010; IRION, 2005).

A cicatrização das feridas de espessura parcial ocorre por regeneração das células epiteliais na superfície da ferida, essas células migram em direção a área lesionada, proliferando-se por mitose e incorporando-se à camada epitelial (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007). Já nas feridas de espessura total o processo de cicatrização ocorre por segunda intenção e é bem mais complexo, envolvendo uma sequência de eventos moleculares e celulares de forma ordenada e continua (MENEHIN; VATTIMO, 2003). Essa sequência sob o ponto de vista morfológico é classificada em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelamento (WITTE; BARBUL, 2003), como pode ser observado na Figura 4.



Fonte: Mathes e Hentz, 2006.

Figura 4 - Fases da cicatrização, tipos celulares predominantes e resposta vascular.

2.4.1. FASE INFLAMATÓRIA

A fase inflamatória e de hemostasia representa a primeira fase de qualquer processo de cicatrização, inicia-se com a ruptura de vasos sanguíneos e o extravasamento de sangue e caracteriza-se pela participação ativa de inúmeras células e fatores do sistema imunológico (MATHES; HENTZ, 2006).

Esta fase tem duração de 48 a 72 horas, com então aparecimento de dor, calor, rubor e edema, sinais clássicos da inflamação (HATANAKA; CURI, 2007).

A fase inflamatória pode ser subdividida em resposta vascular e resposta celular, pois o sangramento ocorre imediatamente após a lesão tecidual e o primeiro evento do processo de cicatrização é a hemostasia, a qual se faz por agregação plaquetária, ativação da cascata de coagulação e formação da rede de fibrina (KIRSNER; EAGLSTEIN, 1993; JORGE; DANTAS, 2005). Para Ono (2009) além da hemostasia, o coágulo sanguíneo formado constitui suporte para a intensa migração celular local.

Irion (2005) afirma que as plaquetas são as primeiras células a serem ativadas na lesão, com propriedades hemostática secretam vários mediadores envolvidos na

cicatrização, sendo liberado o fator de crescimento (PDGF), além de atrair e ativar os macrófagos e fibroblastos no sítio da lesão. Os vários mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos são produzidos pela cascata da coagulação, através da ativação do sistema complemento e por células do parênquima lesado, intensificando também a resposta inflamatória a lesão (LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

Silva, Figueiredo e Meireles (2007) descrevem outro evento importante da inflamação, a vasodilatação, com função de aumentar o fluxo sanguíneo local, afirmam ainda que essa fase seja a mais duradoura se comparada à vasoconstrição e que durante esse evento ocorre uma migração dos leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos) para o endotélio vascular, dando início ao processo de limpeza da lesão através da fagocitose.

De acordo com Li, Chen e Kirsner (2007) após o processo de inflamação os neutrófilos reduzem e há um aumento dos monócitos e macrófagos. Segundo Jorge e Dantas (2005) os macrófagos possuem em grande número de enzimas hidrolíticas e auxiliam na fagocitose, com capacidade de degradar partículas relativamente grandes, degradando da ferida todo material que não foi solubilizado pelos neutrófilos.

No entanto, a diminuição do número de neutrófilos na ferida não parece afetar a quantidade de macrófagos posteriormente (DOVI et al., 2003). Além disso, os mastócitos têm importante papel no recrutamento de neutrófilos nas feridas agudas, mas estudos experimentais mostram que, na sua ausência ocorre diminuição do recrutamento de neutrófilos, porém o número de macrófagos permanece inalterado (EGOZI et al., 2003; WELLER et al., 2006).

2.4.2. FASE FIBROBLÁSTICA

Neste processo de regeneração da lesão, a fase inflamatória é seguida pela fibroblástica também chamada de fase reconstrutiva ou proliferativa, denominada desta forma porque neste período a atividade predominante é a mitose celular, essa fase se estende de 12 a 14 dias (JORGE; DANTAS, 2005; SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007). As principais características nessa fase é a formação do tecido de granulação, neoangiogênese, deposição de colágeno, contração da ferida e reepitelização. Para a síntese desses componentes os principais agentes estimulantes são

as células endoteliais, os fibroblastos e os queratinócitos (IRION, 2005; COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009).

Ono (2009) afirma que, a angiogênese é estimulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, essencial para a cicatrização adequada. De acordo com Jorge e Dantas (2005), Hatanaka e Curi (2007), o aumento da perfusão os macrófagos liberam mediadores que ativam os fibroblastos, esses estando ativados elaboram o colágeno local que será depositado no espaço da ferida, fazendo com que a matriz extracelular seja substituída por um tecido conjuntivo mais forte e elástico.

A fibronectina causa a produção de uma matriz extracelular frouxa, e exerce função de estímulo e suporte para fibroblastos e para o colágeno produzido, mediando também o fenômeno de contração. Quando é produzida abundante matriz colágena, os fibroblastos cessam a síntese protéica e sofrem apoptose, caracterizando o final da fase fibroblástica (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007).

2.4.3. FASE DE REMODELAMENTO

A fase de remodelamento é também denominada por alguns autores de fase de maturação e consiste na reorganização das fibras de colágeno e na substituição do colágeno tipo III (imaturo) depositado de forma desorganizada pelo colágeno tipo I (maduro) disposta de forma organizada (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009).

Nessa fase que o organismo busca corrigir eventuais problemas da cicatriz, o volume desta diminui gradualmente e a coloração passa de vermelho ou rosa para uma cor mais esbranquiçada, característico do tecido cicatricial. O processo de remodelamento se estende normalmente de 12 a 15 meses (JORGE; DANTAS, 2005; SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007).

2.5. TERAPÊUTICA DE FERIDAS

Existem no mercado hoje cerca de 2.500 produtos que se destinam ao tratamento das feridas agudas e crônicas. A escolha destes produtos requer conhecimento de anatomia, fisiologia da pele e também o conhecimento do mecanismo

de ação de cada produto escolhido (COHEN; PRAZERES; SILVA, 2009; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Salman et al. (2008) realizaram um estudo com objetivo de investigar os efeitos de extratos de algas na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos desnutridos, este revelou no exame histopatológico que o grupo que recebeu extracto de algas derivadas de *spCholerella* por gavagem no pós-operatório apresentaram padrões de cura significativamente melhor do que para os outros grupos. Concluindo que o extrato derivado de microalgas *Cholerellas* tem efeitos favoráveis sobre a cicatrização de anastomoses de cólon experimental.

Em outro estudo realizado com cachorros portadores de dermatose parasitária, um ácaro de pele chamado *Demodex canis*, uma doença que está relacionada com fatores imunossupressivos e hereditários. Neste estudo os animais do grupo Spirulina (GS) receberam diariamente *Spirulina platensis*, via oral, na dose de 5 gramas para animais de até 20 kg e 10 gramas para animais entre 20 e 40 kg. Após 45 dias de tratamento, os animais do GS já haviam retornado aos valores normais do hematócrito e do leucograma, ao contrário do grupo controle (GC) que só retornou a normalidade após 90 dias. O sucesso terapêutico foi de 60% para os animais do grupo controle e de 100% para os animais do GS, recuperação esta, atribuída provavelmente devido ao conteúdo nutricional da *Spirulina* que atuou como imunomodulador (BEZERRA, 2009).

Pernegeret al. (1998) realizaram uma pesquisa na Universidade de Gênova, e observaram que dos 2.373 pacientes internados a incidência de novas lesões de pele foi de 277, representando (5,7 por mil pessoas ao dia). Os mesmos autores concluíram ainda que a idade do paciente e os fatores como: condição física, condição mental, atividade, mobilidade e incontinência foram os maiores riscos para o desenvolvimento das lesões.

Segundo Hanson et al. (1994) 1,7 milhão de pessoas desenvolvem lesões de pele anualmente nos Estados Unidos, sendo que a incidência dessas lesões em pacientes hospitalizados varia em torno de 2% a 40% (ALLMAN, 1989). Representando um custo estimado de US\$ 2.000 a US\$ 30.000 por paciente, somando um custo anual de US\$ 8,5 bilhões (ALLMAN, 1989).

Já no Brasil um estudo realizado no estado de Pernambuco no ano 2005, no Hospital da Restauração, mostrou que 68% dos curativos realizados tinham indicação para úlcera por pressão, somando um valor de R\$ 25 mil. O custo total com curativos usados nas lesões para os 12 meses daquele ano chegou a R\$ 33 mil. Cabe salientar que este custo envolveu somente um tipo de lesão de pele (LIMA; GUERRA, 2011).

2.6. FICOCIANINA

A ficocianina é um pigmento extraído da *Spirulina platensis*, seu peso seco pode chegar a 20% (BERTOLIN et al., 2007), é considerada a principal responsável pela atividade antioxidante e apresenta capacidade de ativar o sistema imunológico (ESTRADA; BESCÓS; VILLAR DEL FRESNO, 2001).

Diferentes estudos mostram que a *Spirulina platensis* é utilizada como um alimento tradicional de alguns povos do México e Africano, devido seu potencial nutracêutico (ESTRADA; BESCÓS; VILLAR DEL FRESNO, 2001; KHAN; BHADOURIA; BISEN, 2005), e por apresentar um alto teor protéico em torno de 65 a 70% do peso seco, farta quantidade de vitaminas e minerais (ANDRADE; COSTA, 2008), aminoácidos essenciais (BERTOLIN et al., 2009; COLLA et al., 2007), ácidos graxos poliinsaturados e vitaminas (COHEN, 1997), possui capacidade antioxidante devido seu alto teor de compostos fenólicos, tocoferol e pigmentos como carotenóides, ficocianina e clorofila (BERTOLIN et al., 2008).

Estas razões explicam o motivo que essa microalga vem sendo pesquisada como um suplemento nutricional, necessário para prevenção e tratamento de diversas doenças (SANCHEZ et al., 2003), como distúrbios neuropáticos, tais como diabetes, alguns tipos de tumores e anemia (BHARATHI; SALIMATH, 1986; LIU et al., 2000; HIRAHASHI et al., 2002), diminuição da hiperlipidemia, diminuição da pressão arterial, proteção a danos renais, promoção do crescimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* na microbiota intestinal (BERTOLIN et al., 2008). Conforme Johnson e Shubert (1986), a *Spirulina platensis* tem como função principal controlar os níveis de açúcar no sangue, como função secundária atua como antioxidante e como função terciária fornece grandes quantidades de ferro, ácido fólico e vitamina B12.

De acordo com diferentes autores a microalga possui eficiente atividade antiviral contra vários vírus patogênicos e tem também a capacidade de aumentar a resposta imunológica e estimular a função dos macrófagos (GUSTAFSON, 1989; OZDEMIR et al., 2004; ANDREWS et al., 2011).

Em estudo realizado por Parisiet al. (2009) com objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano dos compostos fenólicos extraídos da microalga *Spirulina platensis* frente aos microrganismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, mostrou que esses compostos apresentam elevada atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, evidenciando a possibilidade que a microalga apresenta para a produção intracelular de compostos com atividade antimicrobiana.

2.7. POMADAKOLLAGENASE®

Possui indicações para úlceras, queimaduras e feridas. É utilizada aplicando-se localmente sobre a região afetada, uma vez ao dia. Seu princípio ativo é a colagenase, uma enzima que tem por substrato o colágeno nativo e desnaturado, seu principal constituinte (75% do peso seco) da pele. É extraída do meio de cultivo do *Clostridium histolyticum* sendo utilizada para remover os restos celulares e extracelulares do tecido necrosado. Contribui para a neoformação de tecido e reepitelização das úlceras e demais lesões de pele. O colágeno do tecido sadio ou neoformado não é atacado pela colagenase. Sua apresentação encontra-se em creme, pomada ou unguento estéril para aplicação tópica com 250 unidades por grama (BENITZ; OLIVEIRA FILHO, 2006/2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. LOCAL DO EXPERIMENTO

Os experimentos foram realizados no Biotério Central e no Laboratório de Bioquímica e Histologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB).

3.2. MODELO EXPERIMENTAL E ESTUDO PILOTO

Para a realização desta pesquisa foram utilizados 40 ratos (*Wistarhannover*) machos, nascidos e mantidos no Biotério Central da UPF, alimentados com ração e água *ad libitum* e com ciclo claro-escuro de 12 horas. Estes foram divididos em quatro grupos com nº de 10 animais para cada tratamento. Durante todo o período de estudo os animais foram mantidos em gaiolas individuais identificadas e acomodados sobre estantes horizontais.

Para a realização desse estudo foram realizados previamente testes piloto com 10 ratos, para o treinamento de todos os passos do trabalho o que pode ter influenciado positivamente no rigor metodológico da pesquisa, pois a equipe dominava as técnicas. Sendo que não foram observadas complicações pós-operatórias (infecção ou hematoma) nem tanto óbito dos animais.

A ração utilizada para alimentação padrão para roedores, balanceada de acordo com as recomendações do *NationalResearchCouncil e NationalInstituteof Health* (USA), da marca Nuvital, tipo Nuvilab CR1. A quantidade de ração oferecida foi de 25 g/dia (consumo médio de um rato adulto) e este valor foi baseado no Manual para Técnicos em Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, 2005).

3.3. OBTENÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA DAS POMADAS

3.3.1. POMADA KOLLAGENASE® – CONTROLE POSITIVO

Foi utilizada como pomada de referência comercial no efeito cicatrização, a pomada Kollagenase® (Cristália – Reg. MS n 1.0298.0049), um fibrinolítico de uso adulto com ações terapêuticas cicatrizantes.

3.3.2. POMADA FICOCIONINA

A Ficocianina foi obtida no Laboratório de Bioquímica de Alimentos e de Bioprocessos da FEAR – UPF. Este pigmento foi extraído da cianobactéria *Spirulinaplantensis*, a qual foi procedente do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Fundação Universidade Federal de Rio Grande – FURG.

A manipulação desta pomada foi realizada pela farmacêutica Cristiane Bigolin da farmácia de manipulação Artesani da cidade de Erechim – RS. Os excipientes para formulação da pomada foram o extrato de ficocianina nas porcentagens utilizadas para cada grupo, 10%, 20% e 30% as quais foram adicionadas em creme base na quantidade suficiente para completar a fórmula (QSP).

a) Extração da Ficocianina

A ficocianina foi extraída pelo processo de congelamento/descongelamento, conforme (BERTOLIN et al., 2009). Para tal, foi utilizada 1 g da microalga *Spirulinaplantensis* em pó e adicionados 30 mL de água e submetidos a embalagens plásticas com tampa. As suspensões foram submetidas ao processo de ruptura celular por congelamento a 0°C por cerca de 3 horas e após esse período foram conduzidas ao refrigerador para o descongelamento a 4°C.

3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Na Tabela 1 estão apresentados os grupos experimentais com seus respectivos tratamentos.

Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais para os diferentes tratamentos.

| Grupos experimentais | Tratamentos |
|-----------------------------|---|
| G1 | Ficocianina 10% (pomada) |
| G2 | Ficocianina 20% (pomada) |
| G3 | Ficocianina 30% (pomada) |
| G4 | Controle Positivo – Pomada Kollagenase® |

3.5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.5.1. PROTOCOLO DE SEDAÇÃO

No período pré-operatório imediato os animais foram submetidos a jejum de 2 horas prévias ao procedimento cirúrgico. Para os procedimentos cirúrgicos, os ratos após pesados foram anestesiados com o uso de Zoletil 50 mg sendo administrado via intramuscular na dose de 40 mg/kg de peso corporal no músculo da panturrilha dos ratos.

3.5.2. PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS/INDUÇÃO DAS LESÕES CUTÂNEAS

Logo após a anestesia, os animais foram alinhados e posicionados em decúbito ventral, com os quatro membros estendidos e a cabeça alinhada ao tronco, em mesa apropriada. Em seguida foi realizada a tricotomia na região dorsal com lâmina para tricotomizador cirúrgico da marca 3M. No dorso anterior, a ferida excisional foi demarcada utilizando-se um bisturi modificado com 20 mm de circunferência, mantendo-se a borda anterior do círculo localizado ao nível do ângulo das escápulas. Logo após, com o uso de um bisturi cirúrgico foi excisado o fragmento cutâneo, este ocorreu no centro da área tricotomizada até a exposição da fáscia muscular dorsal sendo essa a espessura do fragmento cutâneo. A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze esterilizada.

Ao fim do procedimento cirúrgico os ratos foram mantidos em ar ambiente até completa recuperação e após 2 horas estes voltaram a receber água e ração *ad libitum* e submetidos a suas gaiolas individuais. Na sequência os animais receberam o analgésico Acetaminophen na dosagem de 110-300 mg/kg, 25-75 mg/250 g de 4/4 h por 3 dias do pós operatório, sendo esta recomendação de acordo com manual para técnicos em animais de laboratório (FIOCRUZ, 2005).

3.5.3. APLICAÇÃO DAS POMADAS

Para a aplicação das pomadas nos diferentes grupos foi realizada a limpeza da lesão com soro fisiológico (NaCl 0,9%) em jato na temperatura ambiente, o jato foi feito através de uma seringa de 20 ml com uma agulha 40 x 12 mm na ponta (LIMA et al.,

2007). Na sequência foram aplicadas 0,5 ml da pomada utilizada em cada grupo, quantidade suficiente para cobrir toda lesão, está foi mantida aberta. Este procedimento foi realizado durante 18 dias consecutivos uma vez por dia (Figura 5).

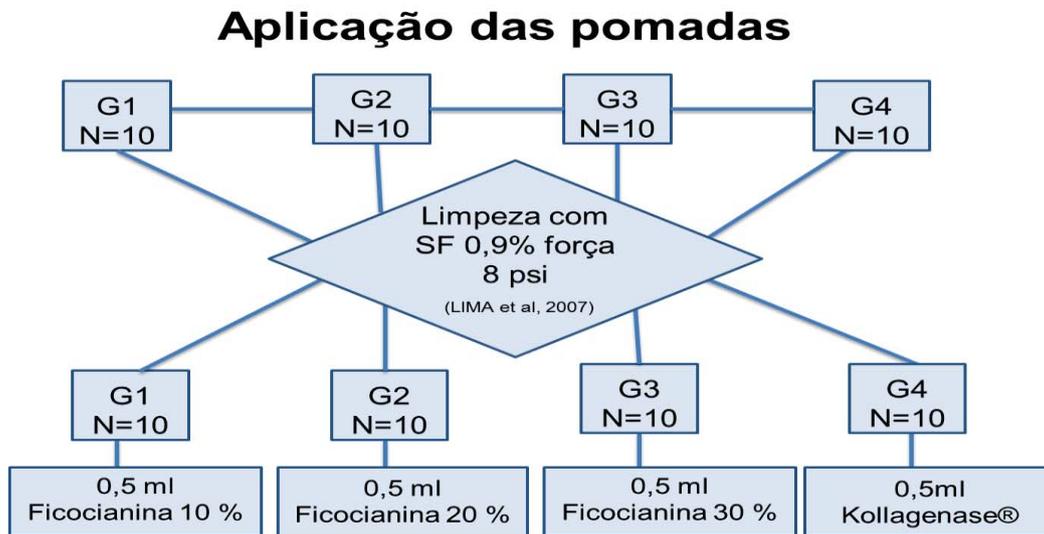


Figura 5 - Organização dos grupos de intervenção segundo o conteúdo das pomadas.

3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS

3.6.1. AVALIAÇÃO DA CONTRAÇÃO CICATRICIAL – ANÁLISE FOTOGRÁFICA

O efeito da contração cicatricial foi avaliado na ferida excisional através da análise computadorizada de fotos digitais padronizadas. Elas foram tiradas a 30 cm da superfície em que o animal sedado foi posicionado. Uma régua graduada em milímetros foi posicionada ao mesmo nível do ferimento em estudo, sobre o dorso do animal. A documentação fotográfica foi feita logo após o procedimento cirúrgico e em diferentes tempos do pós-operatório (po): 0° po; 4° po; 12° po; 18° po, como pode ser observado na Figura 6. No sétimo dia de pós-operatório foi realizada a coleta de material para biópsia utilizando-se cinco animais de cada grupo seguido de eutanásia, após este período seguiu-se a avaliação fotográfica com o restante da amostra.

As fotografias foram registradas com uma máquina fotográfica semiprofissional, Câmera Nikon 12.1 Mega Pixels 115x Zoom. As imagens das planigrafias foram digitalizadas, analisadas em programa computadorizado específico

para edição e formatação de imagens, o programa Imagem Tool e sua área quantificada em centímetros quadrados.

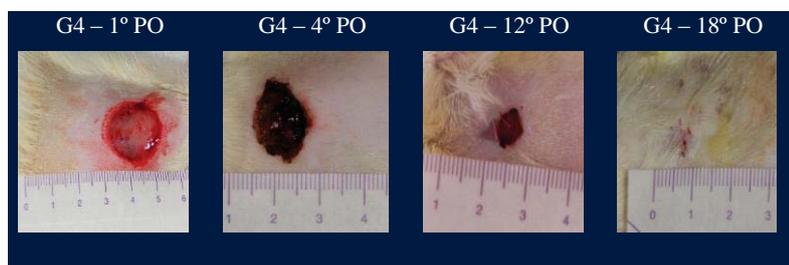


Figura 6 - Análise evolutiva da contração cicatricial das feridas excepcionais.

A fim de corrigir possíveis diferenças na distância câmera fotográfico-ferida, bem como para padronizar uma unidade de medida universal para as áreas cruentas, cada imagem avaliada foi calibrada pelo programa utilizando a régua adjacente à ferida.

A seguir, com auxílio de um mouse, procedeu-se o contorno manual da imagem, cujo resultado em cm^2 , corresponderia ao valor da área da ferida (Figura 7).

As taxas de contração cicatricial das feridas excepcionais foram obtidas subtraindo-se a área cruenta inicial do pós-operatório imediato, em cada animal, pela área cruenta em cada tempo pós-operatório.

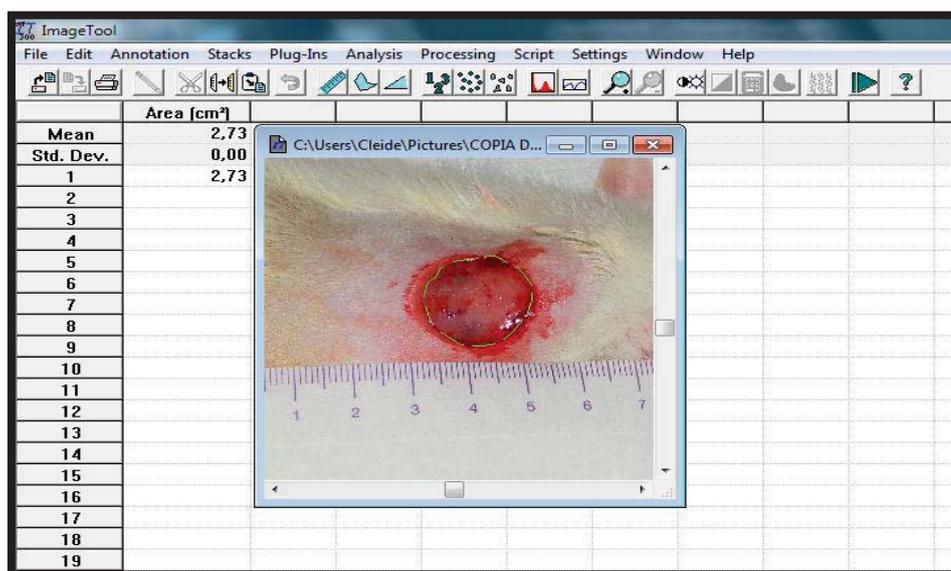


Figura 7 - Método de cálculo das imagens, e resultados em cm^2 .

3.6.2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DAS FERIDAS

A realização das biópsias foi realizada no sétimo dia de pós-operatório por excisão da área total da lesão e após foi realizada a eutanásia do animal biopsiado.

As amostras de feridas foram colocadas em frascos com formol a 10%, identificados e armazenados em armários a temperatura ambiente.

3.6.3. TÉCNICA DE CONFECÇÃO DE LÂMINA PERMANENTE

Após a coleta, procedeu-se a fixação, o material foi cortado em pequenos fragmentos de 0,5 cm e colocado em formol 10% (fixador) por 24 horas. O volume de formol foi de 10 vezes maior que o volume da peça. Após este procedimento procedeu-se a desidratação, a qual consistiu nas seguintes etapas: álcool 70% - por 12 horas; álcool 80% - Over night; álcool 95% - por 2 horas; álcool 100% - por 2 horas. Na sequência realizou-se a diafanização, na qual as peças ficaram no xilol I por 1 hora e no xilol II por mais 1 hora. Após realizou-se a parafinação na qual se utilizou parafina 60° I (na estufa) por 1 hora e parafina 60° II por mais 1 hora. E, para finalizar este processo, foi realizada a inclusão, esta se deu através do preenchimento da caixinha com parafina líquida e com ajuda de uma pinça com a ponta aquecida para não fixar na parafina foi colocado o material na caixinha com parafina líquida, onde ficou por aproximadamente 30 minutos para solidificar a parafina, terminado este processo de inclusão foi aparado os blocos e retirado o excesso de parafina do material.

Para a identificação, foi fixado um papel com a data da coleta e o grupo de tratamento pertencente, conseguiu-se isso através de uma pinça aquecida que ao encostar-se à parafina, essa derrete imediatamente possibilitando a fixação do papel.

Em seguida, para fixar o bloco no suporte do micrótomo foi aquecido o suporte na lamparina para fixar o bloco. Após a fixação do bloco no suporte, foi colocado na água para resfriar.

Para obter uma fatia inteira os cortes foram de 4 a 5 micras, com auxílio de um pincel, retirou-se a fita do micrótomo que foi disposta sobre a água na bacia histológica. Esta água continha algumas gotas de álcool e a temperatura foram reguladas em 30 a 38°C.

Separaram-se os cortes da fita com auxílio de uma pinça e posteriormente fez-se a pesca dos cortes separados, com auxílio de uma lâmina. As lâminas foram mantidas em um recipiente com álcool até a hora da pesca. Antes de pescar os cortes, foi retirado o excesso de álcool da lâmina, com papel absorvente. Em seguida a lâmina foi identificada e colocada sobre um suporte para secar.

Após este processo a lâmina passou pelo processo de coloração, o qual consiste em 6 etapas: 1º) Desparafinização: Nesta etapa as lâminas foram colocadas numa cestinha e levadas até a estufa a 60°C, deixadas por 10 minutos para derreter a parafina, em seguida colocou-se em: Xilol I – 5 minutos e Xilol II – 5 minutos. 2º) Hidratação: As lâminas foram deixadas em álcool absoluto – 5 minutos, álcool 90% - 5 minutos, álcool 70% - 10 minutos. Após, foram lavadas bem para retirar o excesso de álcool. 3º) Coloração HE: coloração de rotina na histologia. O primeiro corante foi a Hematoxilina as lâminas foram deixadas 4 minutos neste, após sacudiu-se a cesta para escorrer o excesso de corante e as lâminas foram lavadas com água corrente. O segundo corante foi a Eosina, nesta foi realizado mais ou menos 3 passadas em seguida realizado o mesmo processo do primeiro. 4º) Desidratação: Esta etapa consistiu em passar as lâminas no álcool 70% e lavar, álcool 80% e lavar; álcool 90% e lavar; álcool + xilol I e lavar e para finalizar ficou 5 minutos no xilol puro. 5º) Montagem da lâmina: Colocou-se uma gota de Permount (cola especial para cortes histológicos) sobre o material corado e sobre o Permount a lamínula. Deixou-se secar a temperatura ambiente por aproximadamente 36 horas. 6º) Limpeza da lâmina: nesta etapa foi realizado a raspagem da lâmina com um bisturi para retirar o excesso de Permount e foi colocada a lâmina no xilol e realizada a limpeza da mesma com gaze. Por fim, a lâmina ficou pronta e poderá ser guardada por tempo indeterminado.

3.6.4. CUIDADOS ÉTICOS DOS ANIMAIS

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Passo Fundo (CEUA-UPF) aprovou o projeto desta pesquisacom o parecer 007/2011 com registro de número 002/2011na CEUA no que concerne ao respeito à vida dos animais utilizados. Todos os animais sobreviveram até a data prevista para a eutanásia e então foram sacrificados.

3.6.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi utilizado o *software Bioestat 5.0* e para realizar a comparação entre os tratamentos e entre os parâmetros foi utilizado o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, ao nível de significância de 5%. Optou-se por esse teste porque, além da amostra ser pequena para cada grupo, os valores são escores e, portanto não apropriados para testes paramétricos. Como teste post hoc, foi utilizado o método de Dunn. Foi também utilizada estatística descritiva com o cálculo de médias e desvio padrão bem como apresentação de resultados na forma de tabelas e gráficos.

O experimento foi realizado com ratos da variedade (*Wistarhannover*), ratos idosos e machos. Os ratos foram divididos em 4 grupos (tratamentos), cada um com 10 animais. Os grupos foram classificados em: ficocianina 10%, ficocianina 20%, ficocianina 30% e Kollagenase®. Os 40 casos foram processados e confeccionadas lâminas coradas pelo HE e pelo Picro-sirius. As lâminas foram analisadas por patologista Dr. Clóvis Klock, sem a informação de qual grupo pertencia cada lâmina, as lâminas foram identificadas com um número, no qual foram analisados os seguintes parâmetros: Infiltrado Inflamatório, Colágeno e Fibrose. Cada parâmetro foi categorizado como: 0 – sem valor para o parâmetro; X – pouco valor para o parâmetro; XX – valor moderado para o parâmetro e XXX – valor intenso do parâmetro.

Todos os casos foram analisados no mesmo microscópio Nikon Eclipse E200, analisados com objetivas E Plan 4X, 10 X, 20 X, 40 X.

Portanto, os valores obtidos na análise dos parâmetros foram marcados como valores inteiros 0, 1, 2 e 3, respectivamente aos valores 0, X, XX e XXX.

4. RESULTADOS

4.1. AVALIAÇÃO DA CONTRAÇÃO CICATRICIAL

A avaliação da contração cicatricial foi verificada através da análise computadorizada de fotos digitais padronizadas conforme descrito no item 3.6.1. A Tabela 2 apresenta a média da avaliação da contração cicatricial nos 4 grupos das feridas induzidas nos ratos no dia zero, dia 4, dia 12 e dia 18 após a indução das feridas.

Tabela 2 - Avaliação da contração cicatricial (circunferência em centímetros) média nos quatro grupos de ratos.

| Tratamento | Circunferência (cm) nos dias pós-operatórios | | | |
|------------------------|--|-------|--------|--------|
| | Dia 0 | Dia 4 | Dia 12 | Dia 18 |
| Ficocianina 10% | 2,73 | 1,79 | 0,76 | 0,18 |
| Ficocianina 20% | 2,48 | 1,93 | 1,78 | 0,11 |
| Ficocianina 30% | 2,90 | 2,41 | 0,48 | 0,02 |
| Kollagenase® | 2,68 | 2,61 | 0,36 | 0,00 |

Observa-se claramente, com o auxílio da Figura 8 que o comportamento cicatricial das feridas tratadas por qualquer uma das formulações é praticamente igual, isto é, todas as feridas declinaram em tamanho na mesma proporção. Exceção nesse comportamento pode ser observada para Ficocianina a 10%.

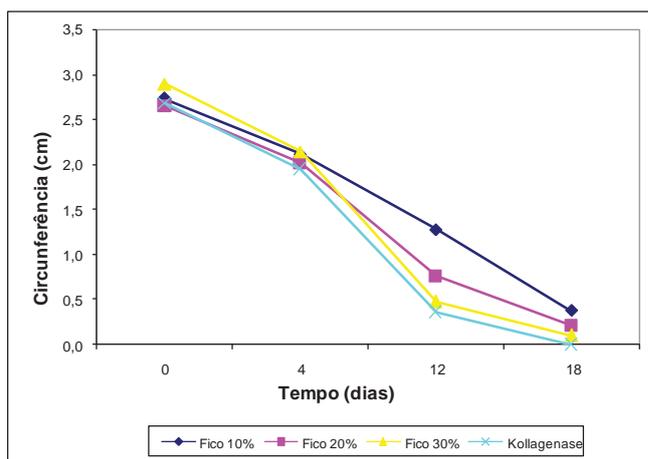


Figura 8 - Evolução das áreas cruentas para os grupos G1, G2, G3 e G4 no tempo de tratamento.

A Figura 10 apresenta a distribuição dos valores médios dos parâmetros de cada tratamento, bem como seus respectivos desvios padrão. Apesar do teste aplicado para comparações dos valores dos parâmetros de cada tratamento não ser paramétrico (*Kruskal-Wallis*), anteriormente citado, ou seja, que não se baseia na média resolveu-se, aqui, mostrar o comportamento médio com seus respectivos desvios padrão, uma vez que é uma medida estatística de mais fácil visualização. Os valores dos desvios-padrão são relativamente altos, conforme observados na Figura 8, em particular para a inflamação.

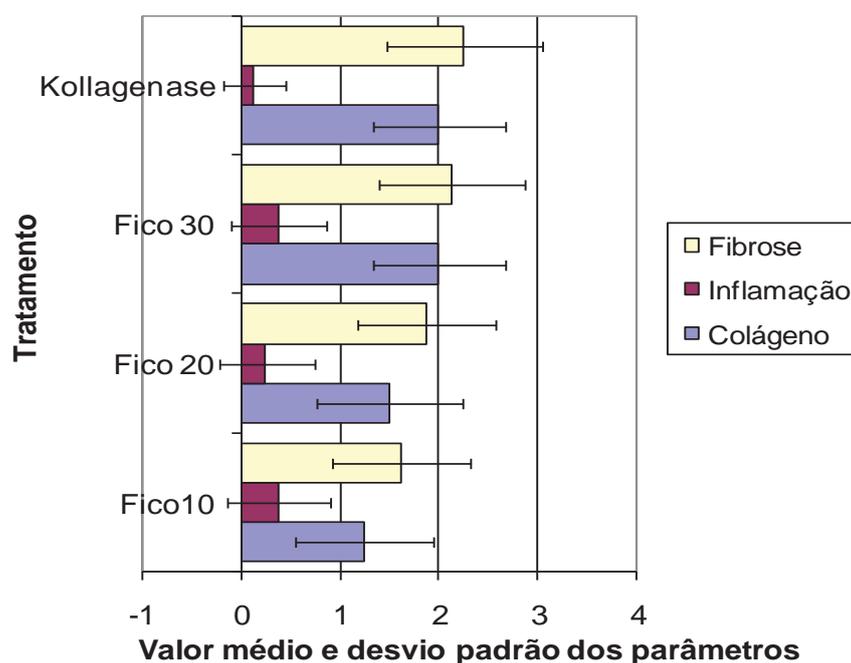


Figura 10 - Distribuição dos valores médios dos parâmetros fibrose, inflamação e colágeno e seus respectivos desvios padrão.

5. DISCUSSÃO

Nesta pesquisa utilizou-se o rato da linhagem Wistar, pois biologicamente apresenta características facilitadoras com relação a manuseio e acompanhamento, apresenta também boa resistência à manipulação e agressão cirúrgica, além de baixo custo, tem sido amplamente utilizado em pesquisas que investigaram a influência de drogas tópicas no estudo da cicatrização em lesões de pele. Optou-se por utilizar ratos machos, pois variações dos ciclos hormonais das fêmeas poderiam interferir no mecanismo do processo de cicatrização (TEVES et al., 1986; PEREIRA, 2012).

Apesar de o rato ser muito utilizado em estudos de cicatrização é importante atentar para as diferenças deste em relação à pele humana na hora da interpretação dos resultados (BROWN, 1995). Mas de acordo com Mcfarlane, Deyoung e Henry (1965), apesar de existirem achados histológicos diferentes da pele humana, os vasos sanguíneos responsáveis pela irrigação cutânea são subdérmicos em ambos e apresentam as mesmas alterações de perfusão de macro e microvascularização.

Os modelos que se utilizam de feridas abertas permitem o estudo dos principais mecanismos envolvidos na cicatrização, dentre eles a contração, formação do tecido de granulação, além de permitir o estudo das diversas estruturas celulares responsáveis pelo processo cicatricial (GALIANO et al., 2004).

Para confecção das lesões foi escolhido o dorso do rato, por ser um local com o melhor sítio para incisão, pois evita irritação por contato e auto-canibalismo (EURIDES et al., 1996).

Neste estudo optou-se por um controle positivo (Kollagenase®), pois se sabe e vários estudos mostram que a cicatrização em meio seco apresenta muitas desvantagens como: desidratação do tecido o que leva a morte celular, retardando a angiogênese, formação de necrose e esfacelos, aumento da dor, perda de líquidos além de favorecer um ambiente ideal para microrganismos, aumentando o risco de infecção (FRANCO; GONÇALVES, 2008; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; JORGE; DANTAS, 2005; FERREIRA et al., 2012).

Concordamos com a afirmação dos autores acima, pois na prática profissional é observado, muitas vezes que as lesões são mantidas secas ou sem tratamento tópico

ideal sendo assim, estas vem a desenvolver aspecto desidratado, com a formação de crostas, acompanhadas com queixa de dor pelo paciente, tendo como consequência o retardo da cicatrização. Isso ainda é muito comum nas instituições de saúde, talvez por falta de conhecimento, experiência, capacitação e treinamento dos profissionais que atuam no tratamento e orientação dos pacientes que apresentam lesões, orientando os mesmos para manterem suas lesões abertas e secas sem nenhum tipo de medicamento.

A investigação da cicatrização necessita de processos de quantificação. Os principais parâmetros utilizados são: clínicos, mecânicos, bioquímicos e histológicos (HENDRIKS; MASTBOOM, 1990; CORREA-NETO et al., 2009).

No presente estudo, optamos pela utilização de parâmetros histológicos (quantificação do colágeno total, inflamação e fibrose) e parâmetro clínico (avaliação macroscópica através da avaliação da contração cicatricial). O que se observa atualmente, de forma crescente, são profissionais, instituições, e indústrias, se empenhando e buscando a excelência para proporcionar ao portador de lesões de pele, em especial àquelas de caráter crônico, um tratamento eficaz, em curto prazo que possam trazer maior conforto e breve retorno à normalidade de sua vida (MARIA; AUN, 2004).

Os antioxidantes presentes em extratos de plantas vêm atraindo cada vez mais a atenção dos consumidores e o uso de plantas com propriedades terapêuticas também chama a atenção dos pesquisadores. Extratos de frutas, cereais, e de diferentes vegetais, e seus produtos derivados, têm mostrado atividades antioxidantes efetivas em diferentes sistemas modelos. A atividade antioxidante de compostos orgânicos é dependente de algumas características estruturais, que incluem, na maioria dos casos, a presença de grupamentos fenólicos. Desta forma, flavonóides, fenilpropanóides e outros compostos aromáticos são os principais alvos da busca por antioxidantes (BAUMANN, 2004).

Dentre os antioxidantes estudados, encontra-se a ficocianina a qual foi utilizada neste estudo, com objetivo de verificar sua ação em lesões de pele induzidas em ratos envelhecidos. Esta pesquisa demonstrou que a ficocianina apresenta efeitos benéficos quando utilizada como cicatrizante numa concentração de 30%.

Conforme Hargreaves (2006), o aumento da idade leva a uma diminuição na síntese de colágeno e as fibras elásticas tornam-se deformadas e menos flexíveis. O

suporte estrutural determinado pela derme vai se perdendo, de modo que a pele torna-se menos elástica, mais fina e menos hábil para resistir a alterações mecânicas.

Segundo Biondo-Simões et al. (2005), em estudos, relataram o atraso da cicatrização em idosos e demonstraram a diminuição do colágeno tanto em seres humanos como em animais. Kletsaset al. (2000) não encontraram evidências da relação de dependência da idade com o declínio da resposta de fibroblastos humanos aos vários fatores de crescimento. Para os autores a capacidade de sintetizar está mantida e as alterações estariam na dependência de fatores sistêmicos, como os níveis de hormônios.

Em um estudo realizado por Goldfeder et al. (2005), os resultados mostraram uma desaceleração da atividade metabólica dos fibroblastos com o envelhecimento e estes perderam a sua capacidade de aderir às fibras de colágeno, limitando a possibilidade de organização do tecido dérmico.

A quantidade de colágeno total apresenta seu primeiro pico de produção por volta do 7º dia após a lesão, continuando em ascensão até o 14º dia e, após, com o decorrer da fase de remodelamento, é estabelecido um equilíbrio entre a síntese e a degradação das fibras colágenas (STADELMANN et al., 1998). No presente experimento foi observada maior quantidade do colágeno total das feridas excepcionais do grupo G2 e G3, mostrando que os grupos tratados com ficocianina em maior concentração apresentam-se em fase mais adiantada do processo de cicatrização da lesão.

Conforme Panigrahi, Panda e Patro (2011), extratos testados de *Spirulina* revelou a presença de flavonóides, alcalóides e triterpenóides. Os flavonóides são conhecidos por reduzir a peroxidação lipídica não só através da prevenção ou inibição da peroxidação lipídica acredita-se que para aumentar a viabilidade de fibras de colágeno através da promoção da síntese de DNA. Assim a propriedade de cicatrização de *Spirulina*, pode ser atribuída aos fitoconstituintes presentes na mesma.

O processo de cicatrização constitui resposta imediata e dinâmica do organismo à lesão tecidual com o objetivo de restaurar a continuidade anatômica e funcional (BARBUL, 1990; THORNTON et al., 1997). No que diz respeito ao ponto de vista histológico, este pode ser definido como a substituição do tecido lesado por tecido conjuntivo fibroso que, no seu estado permanente, formará uma cicatriz, com

preservação da estrutura e função do tecido normal (DIEGELMANN, 1997). Pode ser dito ainda que este representa um processo dinâmico e interativo, que envolve células inflamatórias e células do parênquima lesado, complexa cadeia de mediadores solúveis, bem como a matriz extracelular (EFRON et al., 2001; GILLITZER; GOEBELER, 2001; WILGUS, 2008). Apesar dos eventos ocorrerem de forma dinâmica e se sobreporem no tempo, do ponto de vista morfológico é possível classificá-los sequencialmente em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelamento (WITTE; BARBUL, 1997).

A primeira fase do processo de cicatrização é a inflamatória, a qual tem início no momento da ruptura do tecido (PHILLIPS, 2000). A reepitelização também se inicia precocemente e segue até o fechamento completo da ferida. Este processo representa uma sequência de eventos que envolvem migração e proliferação de células epiteliais adjacentes ao local da ferida. O processo cicatricial é fisiológico e inicia-se com resposta inflamatória caracterizada pelo aumento do fluxo sanguíneo, permeabilidade, capilar, migração de leucócitos para a região lesada e extravasamento de plasma, formando o exsudato inflamatório (MODOLIN; BEVILACQUA, 1985; HILDEBRAND et al., 2005; MARTIN; LEIBOVICH, 2005). No presente estudo pode-se perceber que nos G2 e G3 apesar de não apresentarem valores estatísticos significativos apresentaram valores semelhantes e com menor número de células inflamatórias no sétimo dia quando comparados com o G1, podendo desta forma concluir que com relação a reação inflamatória esses 2 grupos estão mais próximos do resultado da pomada de referência G4. Já no grupo G1 pode-se concluir que houve um atraso na primeira fase da cicatrização devido à presença de maior número de células inflamatórias no sétimo dia.

Reforçando o resultado encontrado, alguns autores concluíram que a microalga *Spirulinaplantensis* possui eficiente atividade antiviral contra vários vírus patogênicos e tem também a capacidade de aumentar a resposta imunológica e estimular a função dos macrófagos (GUSTAFSON, 1989; OZDEMIR et al., 2004; ANDREWS et al., 2011).

Em recente estudo realizado por Madhyastha et al. (2012) em ratos com lesões de pele induzidas a aplicação de ficocianina acelerou a primeira fase da cicatrização de feridas. Sendo assim pode ser provada a atividade terapêutica da ficocianina como agente de cicatrização de feridas e pode-se concluir que a ficocianina acelera a primeira fase do processo de cicatrização.

Segundo Panigrahi, Panda e Patro (2011) o extracto de Spirulina em várias concentrações na base de pomada é capaz de induzir a cura significativa em feridas.

O tecido de granulação é formado por uma matriz composta de fibroblastos, células inflamatórias e vasos sanguíneos. Os fibroblastos produzem grande variedade de substâncias importantes no processo cicatricial. Durante o 2º e 3º dias pós-trauma, os fibroblastos agem principalmente na proliferação e migração celular, formando fibrose (SINGER; CLARK, 1999).

Fibrócitos são fibroblastos inativos cuja atividade celular é a fibrose (BANKS, 1992). São menores do que os fibroblastos e possuem aspecto fusiforme com poucos prolongamentos citoplasmáticos. Seu citoplasma é acidófilo, com pouca quantidade de retículo endoplasmático rugoso. O núcleo é menor, mais alongado e possui maior quantidade de cromatina quando comparado à célula ativa. Com estímulos adequados, como durante a cicatrização, os fibrócitos reverterem-se para o estado de fibroblastos e miofibroblastos, reativando sua capacidade de síntese (QUAN et al., 2004).

No presente experimento foi observado maior número de fibrose no grupo tratado com pomada em maior concentração de ficocianina (G3), o que sugere que em tal grupo no 7º dia pós-operatório a fase de proliferação celular está mais adiantada do que nos grupos tratados com pomada em menor concentração de ficocianina (G1 e G2).

Em um estudo realizado por Madhyastha et al. (2008), o qual foi projetado para examinar a propriedade de cicatrização de ficocianina em relação à proliferação de fibroblastos em ratos, foi observado que a ficocianina aumentou a proliferação desses de maneira significativa, neste mesmo estudo os autores colocam que os dados fornecem evidência conclusiva do uso terapêutico da ficocianina como agente cicatrizante de feridas.

A contração da lesão é responsável por reduzir a área da ferida. Neste estudo a análise das áreas cruentas das feridas excisionais mostrou haver maior taxa de contração levando a valores menores de área cruenta nos grupos tratados com pomada em maior concentração de ficocianina, ou seja, 30%.

O miofibroblasto é a principal célula responsável pela contração da ferida. Presente no tecido de granulação é o principal tipo celular envolvido no reparo tecidual

através da deposição de componentes da matriz extracelular (tenascina, fibronectina, metaloproteinases e colágenos I e III) (ZHANG et al., 1994). As melhores taxas de fechamento das feridas dos grupos tratados com a pomada de ficocianina 30% em estudo pode ter relação com o número e/ou o aumento da função dos miofibroblastos.

Em um estudo realizado, a análise fotoquímica preliminar dos extratos testados de *Spirulina* revelou a presença de flavonoides, alcaloides e triterpinoides. Os triterpinoides e flavonoides são conhecidos por promover o processo de cicatrização de feridas devido principalmente à sua propriedade adstringente e antimicrobiana, o que parece a ser responsável pela contração da ferida (PANIGRAHI; PANDA; PATRO, 2011).

Em um estudo realizado com cachorros portadores de dermatose parasitária, um ácaro de pele chamado *Demodex canis*, uma doença que está relacionada com fatores imunossupressivos e hereditários. Neste estudo os animais do grupo *Spirulina* (GS) receberam diariamente *Spirulinaplatensis*, via oral, na dose de 5 gramas para animais de até 20 kg e 10 gramas para animais entre 20 e 40 kg. Após 45 dias de tratamento, os animais do GS já haviam retornado aos valores normais do hematócrito e do leucograma, ao contrário do grupo controle (GC) que só retornou a normalidade após 90 dias. O sucesso terapêutico foi de 60% para os animais do grupo controle e de 100% para os animais do GS, recuperação esta, atribuída provavelmente devido ao conteúdo nutricional da *Spirulina* que atuou como imunomodulador (BEZERRA, 2009).

O tratamento das feridas cutâneas complexas (decorrentes de traumas, queimaduras, cirurgias de grande porte e úlceras por pressão) leva a altos custos ao sistema público de saúde. As feridas não cicatrizadas geram problemas socioeconômicos, com diminuição da produtividade e da qualidade de vida dos indivíduos acometidos, o que pode ser agravado se não for tratado com uma terapia tópica adequada (STADELMANN et al., 1998).

Na atualidade existem grandes avanços científicos no que concerne ao conhecimento sobre a fisiologia de reparação de tecidos e a função das mais variadas substâncias no mecanismo de reparo tecidual, no entanto, muito ainda precisa ser elucidado.

6. CONCLUSÃO

Nas condições da presente pesquisa, em que ratos com lesões cutâneas induzidas foram, submetidos a curativos diários durante 18 dias de pós-operatório com pomada de ficocianina em diferentes concentrações e foram comparados com ratos tratados com pomada de referência no mercado, Kollagenase®, pode-se concluir que o uso da pomada de ficocianina na concentração de 30% mostrou resultado semelhante à pomada de referência, sendo capaz de promover:

- a) Contração mais rápida de feridas excepcionais dorsais, com menores áreas cruentas das mesmas ao final do período de 18 dias de pós-operatório;
- b) Aceleração da primeira fase da cicatrização, reação inflamatória;
- c) Maior concentração de fibrose presente no tecido cicatricial no sétimo dia de pós-operatório;
- d) Maior produção de colágeno total no sétimo dia de pós-operatório.
- e) Maior custo-benefício se comparada a pomada de referência no mercado. Valor de 30% inferior.

Os resultados do presente estudo permitem vislumbrar novas possibilidades de pesquisa na área da terapia tópica e cicatrização. Dentre eles:

- a) O estudo imunistoquímico celular de feridas cutâneas tratadas com produtos tópicos com propriedades antioxidantes;
- b) A relação com o número e/ou o aumento da função dos miofibroblastos na contração de feridas tratadas com ficocianina;
- c) Verificar qualitativamente o colágeno (maturo e imaturo) das feridas tratadas com ficocianina;
- d) Verificar a avaliação tensiométrica do tecido das feridas tratadas com ficocianina.

REFERÊNCIAS

- ALLMAN, R. M. Epidemiology of pressure sores in different populations. *Decubitus*, v. 2, n. 2, p. 30-33, 1989.
- ALMEIDA, H. O metabolismo nos caminhos do envelhecimento. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, v. 2, p. 39-46, 2007.
- ALVARES, S. *Contribuição para o estudo histométrico e histoquímico do processo de reprovação de lesões obtidas experimentalmente na pele de ratos albinos*. 1972. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1972.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 5, p.1551-1556, 2008.
- ANDREWS, S. R. et al. Yeast extract, brewer's yeast and *Spirulina* in diets for *Leishmania* fingerlings affect haemato-immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. *Research in Veterinary Science*, v. 91, n. 1, Aug. 2011.
- BANKS, W. J. *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.
- BARBUL, A. Immune aspects of wound repair. *Clinics in Plastic Surgery*, v. 17, n. 3, p. 433-442, July 1990.
- BAUDISH, A. Hamilton's indicators of the force of selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 23, 2005. Disponível em: <www.demogr.mpg.de/papers/working/wp-2004-017.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2012.
- BAUMANN, L. *Dermatologia cosmética: princípios e práticas*. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.
- BENITZ, S.; OLIVEIRA FILHO, F. *PR VadeMecum: guia de medicamentos*. 12. ed. Rio de Janeiro: Soriak Com. e Prod., 2006/2007.
- BERQUO, E. S.; CUNHA, E. M. G. P. *Morbidade feminina no Brasil (1979-1995)*. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001.
- BERTOLIN, T. B. P. Potencial antioxidante da ficocianina em sistema lipídico óleo de soja e azeite de oliva. *Alimentos e Nutrição*, UNESP, Marília, v. 17, p. 287-291, 2007.

_____. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Araraquara, v. 29, n. 2, p. 109-117, 2008.

_____. Effect of microalga *Spirulina platensis* (*Arthrospiraplatensis*) on hippocampus lipoperoxidation and lipid profile in rats with induced hypercholesterolemia. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 52, p. 1253-1259, 2009.

BEZERRA, L. F. *Uso da Spirulina associado ao amitraz no tratamento da demodicose canina generalizada juvenil*. 2009. 50 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2009.

BHARATHI, P.; SALIMATH, G. S. Dietary components inhibit lipid peroxidation in erythrocyte membrane. *Nutrition Research*, v. 6, p. 1171-1178, 1986.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P. et al. O processo de cicatrização influenciado pelo hipotireoidismo e pelo envelhecimento: estudo da cicatrização de anastomoses intestinais, em ratos. *Acta Cirurgica Brasileira*, São Paulo, v. 20, suppl.1, p. 113-119, 2005.

BLANES, L. Tratamento de feridas. 2004. Disponível em: <<http://bapbaptista.com.br/feridasLeila.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2010.

BONSALL, M. B. Longevity and ageing: appraising the evolutionary consequences of growing old. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological sciences*, v. 361, n. 1465, p. 119-135, Jan. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Programas e projetos: saúde do idoso*. 2002. Disponível em: <www.saude.gov.br>. Acesso em: 16 nov. 2010.

BROWN, E. J. Phagocytosis. *Bioessays*, v. 17, n. 2, p. 109-117, Feb. 1995.

CANDIDO, L. C. *Livro do feridólogo: tratamento clínico cirúrgico de feridas cutâneas agudas e crônicas*. Santos: Luiz Cláudio Candido, 2006.

CARVALHO, J. A. M.; WONG, L. I. R. A transição da estrutura etária da população brasileira na primeira metade do século XXI. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 597-605, mar. 2008.

CAVALCANTE, A. M. R. Z. et al. Diagnóstico de enfermagem: integridade tissular prejudicada identificado em idosos na Estratégia de Saúde da Família. *Revista*

Eletrônica de Enfermagem, Goiânia, v. 12, n. 4, p.727-735, 2010. Disponível em: <<http://www.fen.ufg.br/revista/v12/n4/v12n4a19.htm>>. Acesso em: 01 jun. 2011.

CLARK, M. A. et al. Wound healing associated with severe surgical illness. *World Journal of Surgery*, v. 24, n. 6, p. 648-654, June 2000.

COHEN, V. D. F.; PRAZERES, S. J.; SILVA, A. C. B. Aspectos morfológicos do tecido tegumentar. In: PRAZERES, S. J. (org.). *Tratamento de feridas: teoria e prática*. Porto Alegre: Moriá, 2009. p.15-36.

COHEN, Z. The chemicals of Spirulina. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis, 1997. 233 p.

COLLA, L. M. et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, May 2007.

CORREA-NETO, M. P. et al. Efeito da suplementação dietética de arginina na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 7-14, mar. 2009.

DIEGELMANN, R. F. Cellular and biochemical aspects of normal and abnormal wound healing: an overview. *The Journal of Urology*, v. 157, n. 1, p. 298-302, Jan. 1997.

DOVI, J. V. et al. Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 73, n. 4, p. 448-455, Apr. 2003.

EFRON, D. T. et al. A novel method of studying wound healing. *The Journal of Surgical Research*, v. 98, n. 1, p. 16-20, June 2001.

EGOZI, E. I. et al. Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Repair and Regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, v. 11, n. 1, p. 46-54, Jan./Feb. 2003.

ESTRADA, J. E. P.; BESCÓS, P.; VILLAR DEL FRESNO, A. M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco*, v. 56, n. 5/7, p. 497-500, 2001.

EURIDES, D. et al. Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatão. *Uruguaiana*, v. 2/3, n. 1, p. 30-40, 1996.

FARAGE, M. A.; MILLER, K. W.; BERARDESCA, M. H. Clinical implications of aging skin: cutaneous disorders in the elderly. *American Journal of Clinical Dermatology*, v. 10, n. 2, p. 73-86, 2009.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, São Paulo, v. 46, n. 3, jun. 2012.

FIOCRUZ. *Manual para técnicos em animais de laboratório: capacitação de pessoal de níveis elementar e médio em biotérios – CPNEMB*. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz/CICT, 2005.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p.203-206, maio/jun. 2008.

GALIANO, R. D. et al. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Repair and Regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, v. 12, n. 4, p. 485-492, jul./ago. 2004.

GILLITZER, R.; GOEBELER, M. Chemokines in cutaneous wound healing. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 69, n. 4, p. 513-521, Apr. 2001.

GOLDFEDER, E. M. et al. *Envelhecimento normal*. Florianópolis, SC, 2005. Disponível em: <www.ccb.ufsc.br/~crisina/sm_2005_1_med_7002.htm>. Acesso em: 29 jul. 2012.

GUSTAFSON, K. Aids antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae). *Journal of the National Cancer Institute*, v. 81, n. 16, p. 1254-1256, Aug. 1989.

HANSON, D. S. et al. Evaluation of pressure ulcer prevalence rates for hospice patients post-implementation of pressure ulcer protocols. *The American Journal of Hospice & Palliative Care*, v. 11, n. 6, p. 14-19, Nov./Dec. 1994.

HARGREAVES, L. H. H. *Geriatrics*. Brasília: Seep, 2006.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Farmácia*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HAX, G. *Comparando os efeitos da utilização da papaína e AGE em lesões cutâneas: estudo experimental*. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre: 2009.

HENDRIKS, T.; MASTBOOM, W. J. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. *Diseases of the Colon and Rectum*, v. 33, n. 10, p. 891-901, Oct. 1990.

HILDEBRAND, K. A. et al. The basics of soft tissue healing and general factors that influence such healing. *Sports Medicine and Arthroscopy Review*, v. 13, n. 3, p. 136-144, Sept. 2005.

HIRAHASHI, T. et al. Activation of the human innate immune system by Spirulina: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology*, v. 2, p. 423-434, 2002.

HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, Buenos Aires, v. 23, n. 3, p. 418-424, 2004.

HUGHES, K. A. et al. A test of evolutionary theories of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, n. 22, p. 14286-14291, Oct. 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Contagem da população 2007*. IBGE, 2008. Disponível em: <www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/>. Acesso em: 15 ago. 2012.

IRION, G. *Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

-
- JECKEL-NETO, E. A.; CUNHA, G. L. Teorias biológicas do envelhecimento. In: FREITAS, E. V. et al. *Tratado de geriatria e gerontologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 13-22.
- JOHNSON, P.; SHUBERT, E. I. Bioavailability and prevention of anemia. *Nutrition Research*, v. 6, p. 85-94, 1986.
- JORGE, S. A.; DANTAS, S. R. P. E. *Abordagem multidisciplinar no tratamento de feridas*. São Paulo: Atheneu, 2005.
- KHAN, Z.; BHADOURIA, P.; BISEN, P. S. Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 6, n. 5, p. 376-379, Oct. 2005.
- KIRSNER, R. Tissue engineering shows promise in areas other than skin repair. In: ANNUAL MEETING OF THE AAD, 61, 2003, San Francisco, USA. *Palestra*. [S. l.]: Revista Med News, 2003.
- KIRSNER, R. S.; EAGLSTEIN, W. H. The wound healing process. *Dermatologic Clinics*, v. 11, n. 4, p. 629-640, Oct. 1993.
- KIRKWOOD, T. B. L. Evolution of ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, v. 123, p. 737-745, 2005.
- KLETSAS, D. et al. Fibroblast responses to exogenous and autocrine growth factors relevant to tissue repair: the effect of aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 908, p. 155-166, June 2000.
- KOCH FILHO, H. R.; BISINELLI, J. C. Abordagem de famílias com idosos. In: MOYSÉS, S. T.; KRIGER, L.; MOYSÉS, S. J. *Saúde bucal das famílias: trabalhando com evidências*. São Paulo: Artes Médicas, 2008. p. 236-245.
- LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, v. 25, n. 1, p. 9-18, Jan./Feb. 2007.
- LIMA, C. I. et al. Integridade da pele comprometida em clientes ortopédicos. In: SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B. *Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem*. São Caetano do Sul, SP: Yendis, 2007. p. 239-260.
- LIMA, A. C. B.; GUERRA, D. M. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 267-277, 2011.
-

LIU, Y. et al. Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells. *Journal of Applied Phycology*, v. 12, p. 125-130, 2000.

LUND, C. Prevention and management of infant skin breakdown. *Nursing Clinics of North America*, Philadelphia (PA), v. 34, n. 4, p. 907-20, Dec. 1999.

MADHYASTHA, H. K. et al. UPA dependent and independent mechanisms of wound healing by C-phycocyanin. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 12, p. 2691-2703, 2008.

_____. Regulation of growth factors-associated cell migration by C-phycocyanin scaffold in dermal wound healing. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 39, p. 13-19, 2012.

MALAGUTTI, W.; KAKIHARA, C. T. *Curativos, estomias e dermatologia: uma abordagem multiprofissional*. São Paulo: Martinari, 2010. 552p.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 525-542, set./out. 2003.

MARIA, R. P.; AUN, R. B. *Projeto e implantação de um serviço de atendimento a pacientes portadores de feridas em uma instituição pública*. 2004. Disponível em: <www.r&rtratamentodeferidas.com.br>. Acesso em: 12 nov. 2011.

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, v. 15, n. 11, p. 599-607, Nov. 2005.

MATHES, S. J.; HENTZ, V. R. *Plastic surgery*. Philadelphia, PA: SaundersElsevier, 2006.

MCFARLANE, R. M.; DEYOUNG, G.; HENRY, R. A. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plastic and Reconstructive Surgery*, n. 35, p. 177-182, Feb. 1965.

MEIRELES, B. I.; SILVA, L. C. R. Fundamentos biológicos para o atendimento ao portador de lesões de pele. In: SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES I. B. *Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem*. São Caetano do Sul, SP: Yendis, 2007. p.55-80.

MENEGHIN, P.; VATTIMO, M. F. F. Fisiopatologia do processo cicatricial. In: JORGE, S. A.; DANTAS, S. R. P. E. *Abordagem multidisciplinar no tratamento de feridas*. São Paulo: Atheneu, 2003.p. 31-41.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R. G. Cicatrização das feridas: síntese das aquisições recentes. *Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica*, São Paulo, v. 14, n. 6, p. 208-213, jun. 1985.

NAUSBAWM, N. J. What good is it get old? *Medical Hypotheses*, v. 47, n. 2, p. 77-79, 1996.

NERI, A. L. *Palavras-chave em gerontologia*. 2. ed. Campinas, SP: Alínea, 2005.

NORMAN, R. A.; BOCK, M. Wound care in geriatrics. *Dermatologic Therapy*, v. 16, n. 3, p. 224-230, 2003.

ONO, M. C. C. *Influência de dieta imunomoduladora na cicatrização cutânea em ratos*. 2009.135p. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

OMS – Organização Mundial da Saúde. *Envelhecimento ativo: uma política de saúde*. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde, 2005.

OZDEMIR, G. et al. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Research*, v. 18, n. 9, p. 754-757, Sept. 2004.

PANIGRAHI; B. B.; PANDA, P. K.; PATRO, V. J. Wound healing activity of spirulina extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v. 6, n. 2, Jan./Feb. 2011.

PARISI, A. S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Araraquara, v. 30, n. 3, p. 297-301, 2009.

PEREIRA, D. S. T. et al. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2012, 7p.2012. Disponível em: <www.hindawi.com/journals/jbb/2012/460841/cta/>. Acesso em: 15 ago. 2012.

PERNERGER, T. V. et al. Hospital acquire pressure ulcers: risk factors and use of preventive devices. *Archives of Internal Medicine*, v. 158, n. 7, p. 1940-1945, Sept. 1998.

PHILLIPS, S. J. Physiology of wound healing and surgical wound care. *Asaio Journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*, v. 46, n. 6, p. 2-5, Nov./Dec. 2000.

PRAZERES, S. J. (Org.). *Tratamento de feridas: teoria e prática*. Porto Alegre: Moriá, 2009.

QUAN, T. E. et al. Circulating fibrocytes: collagen secreting cells of the peripheral blood. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 36, n. 4, p. 598-606, Apr. 2004.

SALMAN, B. et al. Effectsof *Chlorella* sp. microalgae extract on colonic anastomosis in rats with protein-energy malnutrition. *Colorectal Disease: the Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, v. 10, n. 5, p. 469-478, June 2008. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18070156>>. Acesso em: 8 dez. 2010.

SALOMÉ, G. M.; ESPÓSITO, V. H. C. O impacto da ferida para o idoso com diabetes mellitus: um estudo fenomenológico. *Nursing*, São Paulo, v. 13, n. 146, p. 365-372, jul. 2010.

SANCHEZ, N. et al. Efecto de la *Spirulina platensis* en la toxicidad producida por acrilamida. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, La Habana, v. 8, n. 1, abr. 2003. Disponível em: <http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol8_1_03/pla02103.htm>. Acesso em: 1 dez. 2010.

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

SINGER, A. J.; CLARCK, R. A. Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 341, n. 10, p. 738-746, Sept. 1999.

SOUZA, D. M. S. T.; SANTOS, V. L. C. G. Úlceras por pressão e envelhecimento. *Revista Estima*, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 36-44, jan./mar. 2006.

STADELMANN, W. K. et al. Impediments to wound healing. *American Journal of Surgery*, v. 176, n. 2, p. 39-47, Aug. 1998.

TEIXEIRA, I. N. D. O.; GUARIENTO, M. E. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 15, n. 6, p. 2845-2857, set. 2010.

TEVES, D. C. et al. Biologia das reparações teciduais. *Jornal Brasileiro de Medicina*, Rio de Janeiro, n. 50, p. 39-44, 1986.

THORNTON, F. J. et al. Wound healing in sepsis and trauma. *Shock*, v. 8, n. 6, p. 391-401, Dec. 1997.

TONETO, M. G. et al. Gastrectomia em pacientes idosos: análise dos fatores relacionados a complicações e mortalidade. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias*, Rio de Janeiro, v. 31, n. 6, p. 373-379, 2004.

TRABELSI, L. et al. Activités inhibitrices et stimulatrices de substances extracellulaires de lacyanobactérie filamenteuse *Arthrosipraplatensis*. In: SANTOS, G. C. *Les cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement*. France: Colloque International: Île des Embiez, 2004.

VERAS, R. Fórum. Envelhecimento populacional e as informações de saúde do PNAD: demandas e desafios contemporâneos. Introdução. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 10, out. 2007.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. *The Surgical Clinics of North America*, v. 77, n. 3, p. 509-528, June 1997.

_____. Repair of full-thickness bowel injury. *Critical Care Medicine*, v. 31, suppl. 8, suppl., p. 538-546, Aug. 2003.

WELLER, K. et al. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, v. 20, n. 13, p. 2366-2368, Nov. 2006.

WERNER, H.; KUNTSCHKE, J. Infection in the elderly: what is different? *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, v. 33, n. 5, p. 350-356, Oct. 2000.

WILGUS, T. A. Immune cells in the healing skin wound: influential players at each stage of repair. *Pharmacological Research*, v. 58, n. 2, p. 112-116, Aug. 2008.

ZHANG, K. M. D. et al. Myofibroblasts and their role in lung collagen gene expression during pulmonary fibrosis: a combined immunohistochemical and in situ hybridization study. *The American Journal of Pathology*, v. 145, n. 1, p. 114-125, July 1994.

ANEXOS

Anexo A. Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Passo Fundo



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

PARECER Nº 007/2011

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Passo Fundo, em reunião no dia 20/07/11, analisou o protocolo de pesquisa "*Spirulina platensis* na terapêutica de lesões cutâneas induzidas em ratos" registro na CEUA Nº 002/2011 de responsabilidade do pesquisador **Telma Elita Bertolin**.

Em relação aos aspectos éticos, a Comissão considerou o estudo relevante e com relação custo-benefício adequada, por não haver alternativa validada que substitua a experimentação em animais. O pesquisador e seus colaboradores estão comprometidos com a observância dos procedimentos para o uso científico de animais estabelecidos na Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008 e dos "*Princípios Éticos para o Uso de Animais de Laboratório*" preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL).

Diante do exposto, a Comissão, de acordo com suas atribuições definidas na Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

O pesquisador deverá apresentar relatório à CEUA ao final do estudo.

Situação: PROTOCOLO APROVADO

Passo Fundo, 21 de julho de 2011.

Prof. Carlos Bondan
Coordenador – CEUA – UPF

