



Universidade Federal do Ceará
Centro de Ciências
Programa de Pós – Graduação em Bioquímica

MIRELE DA SILVEIRA VASCONCELOS

ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTI-INFLAMATÓRIA E CICATRIZANTE
DO CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

Orientadora: Prof^ª. Dra. DIRCE FERNANDES DE MELO

Co-orientadora: Prof^ª.Dra. ERIKA FREITAS MOTA

FORTALEZA-CE

2011

MIRELE DA SILVEIRA VASCONCELOS

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTI-INFLAMATÓRIA E CICATRIZANTE
DO CAJU (*Anacardium occidentale* L.)**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof^ª. Dra. DIRCE FERNANDES DE MELO

Co-orientadora: Prof^ª.Dra. ERIKA FREITAS MOTA

FORTALEZA-CE

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V451a Vasconcelos, Mirele da Silveira.

Atividades antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante do caju (*Anacardium occidentale* L.) / Mirele da Silveira Vasconcelos. – 2011.

77 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2011.

Orientação: Profa. Dra. Dirce Fernandes de Melo.

Coorientação: Profa. Dra. Erika Freitas Mota.

1. *Anacardium occidentale*. 2. Caju. 3. Agentes antiinflamatórios. 4. Antioxidantes. I. Título.

CDD 572

MIRELE DA SILVEIRA VASCONCELOS

ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTI-INFLAMATÓRIA E CICATRIZANTE
DO CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ___/___/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Dirce Fernandes de Melo (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. Dra. Erika Freitas Mota (Co-Orientadora)

Universidade Federal do Ceará–UFC

Prof^a. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro

Universidade Estadual do Ceará-UECE

Dedico este trabalho de pesquisa aos meus pais Antônio Guimarães e Edna Vasconcelos e ao meu marido Francisco de Assis Rodrigues Araújo pelo incentivo, carinho e apoio ao longo de meus estudos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, saúde e perseverança em sempre lutar para atingir os objetivos propostos, dou infinitas graças.

A minha orientadora Prof^ª. Dra. Dirce Fernandes de Melo, pela oportunidade, ensinamentos e compreensão ao ter me acolhido tão bem em seu grupo de pesquisa ao longo de 4 anos desde a monitoria até o mestrado em Bioquímica.

À minha co-orientadora Prof^ª. Dra. Erika Freitas Mota, pelo carinho, interesse e cuidados constantes na orientação deste trabalho e pela amizade.

À Prof^ª. Dra. Ana Claudia, pela incansável ajuda, apoio, força, incentivos e pela amizade.

À Prof^ª. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro, pelas valiosas sugestões, indispensável ajuda e pela disponibilização do laboratório para a execução dos ensaios de inflamação e cicatrização e por ter aceitado o convite para participar desta banca.

À Prof^ª. Dra. Raquel Miranda, pela ajuda, ensinamentos e sugestões.

À Prof^ª. Dra. Adriana Rocha Tomé, pela disponibilidade na análises histopatológicas, ensinamentos de patologia e valiosa colaboração.

À amiga Neuza Félix, pela amizade, apoio e constante ajuda.

Aos colegas de laboratório e do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, incluindo professores e funcionários, que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Aos ex-membros do Laboratório de Fisiologia Vegetal III, pela amizade, apoio e pelos bons momentos passados juntos.

Aos meus pais, por terem sempre me incentivado e apoiado cada vez mais na minha escolha pela pesquisa.

Ao meu amado esposo, que de alguma forma (mesmo às vezes sem entender meu trabalho) me apoiou na minha carreira científica.

Aos meus irmãos, pela força, incentivos, confiança e amor.

À amiga Ingrid Tavares Figueiredo, pela incansável ajuda e amizade.

À amiga Liduína Maia, pela amizade, incentivos, apoio e ajuda.

À amiga Luciana Siqueira, pelo apoio, amizade e ajuda.

A todos os meus amigos, pelo apoio e amizade.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

Agradeço ainda à Prof^a. Dra. Maria Baccache Ary, pelo apoio, incentivos, amizade e por está sempre disposta a me ajudar nestes 8 anos no Departamento de Bioquímica e ao Prof. Dr. Fernando Monteiro de Paula, *in memoriam*, por ter me dado a oportunidade de participar da monitoria em Bioquímica e me apaixonar por esta disciplina, o meu profundo reconhecimento e eterna gratidão.

E em especial ao meu filhote de 5 meses que está em meu ventre, fruto abençoado de meu casamento, Pedro David Vasconcelos Araújo, que no final do mestrado veio para me dar força sendo um presente de DEUS trazendo muita alegria e novidades para minha vida e nossa família.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para execução desta produção.

*“Há um lugar, pra chegar, há uma ponte que
te levará para o outro lado”*

Chris Duran.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Fases da cicatrização de feridas e nutrientes-chaves envolvidos.	25
Tabela 2	Papel dos nutrientes chaves na cicatrização e viabilidade do tecido.	26
Tabela 3	Composição nutricional do suplemento para cicatrização Decubital®.	40
Tabela 4	Composição fitoquímica de antioxidantes não-enzimáticos em suco de caju maduro e suco de caju verde.	45
Tabela 5	Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o edema de orelha induzido por xileno.	46
Tabela 6	Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre a área da ferida.	48
Tabela 7	Avaliação histológica do processo de cicatrização nos diferentes grupos ao longo dos dias de tratamento.	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Planta do clone de cajueiro-anão precoce.	15
Figura 2	Pedúnculos verde e maduro do clone de cajueiro-anão precoce CCP 76.	16
Figura 3	Estrutura da pele.	20
Figura 4	Cicatriz fibrótica após processo de cicatrização da pele.	22
Figura 5	Correlação esquemática de células com as diferentes fases do processo de cicatrização.	23
Figura 6	Ajustamento de eventos durante o processo de reparo tecidual.	24
Figura 7	Capacidade antioxidante total em suco de caju maduro e suco de caju verde.	44
Figura 8	Conteúdo de compostos fenólicos em suco de caju maduro (SCM) e suco de caju verde (SCV).	45
Figura 9	Efeito dos sucos de caju maduro e verde na contração da ferida nos dias de pós-operatório (DPO).	49
Figura 10	Aspectos macroscópicos do processo de cicatrização em função dos dias de tratamento.	50
Figura 11a	Aspectos microscópicos de cicatrização nos diferentes grupos de tratamento no 14º dia de pós-operatório.	53
Figura 11b	Seções de cortes histológicos de todos os grupos durante o processo de cicatrização.	54

ABREVIATURAS

ABTS: 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico]

CEPA: Comissão de Ética em Pesquisa Animal

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

DEXA: Dexametasona

DPO: Dia do pós-operatório

HE: Hematoxilina e eosina

IBRAF: Instituto Brasileiro de Frutas

MEC: Matriz extra celular

MNC: Células mononucleares

NV: Neovascularização

OMS: Organização Mundial de Saúde

PF: Proliferação de fibroblastos

PMN: Células polimorfonucleares

RE: Re-epitelização

REF: Referência

SC: Suco de caju

SCM: Suco de caju maduro

SCV: Suco de caju verde

TG: Tecido de granulação

U: Ulceração

RESUMO

Anacardium occidentale L. (Anacardiaceae), conhecido popularmente como caju, é um típico pseudofruto tropical cujo suco é popularmente consumido no país pelas excelentes propriedades sensoriais e nutricionais, entretanto, os produtos são destinados ao mercado interno com extensas perdas de pedúnculos in natura. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante do caju *in vitro* e *in vivo*. Para tanto foi utilizado o suco do pseudofruto *in natura*, obtidos de clones de cajueiro CCP 76 nos estádios de maturação 2 (verde) e 6 (maduro). Foram determinados no suco os teores de polifenóis totais, ácido ascórbico, antocianinas totais, flavonóides amarelos, carotenóides, compostos fenólicos além da atividade antioxidante total. Para a avaliação das atividades anti-inflamatória e cicatrizante *in vivo* foram utilizados camundongos, mantidos sob condições adequadas de luz, temperatura e recebendo água e ração à vontade. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFC (nº de aprovação 85/09). Para avaliar o efeito do tratamento oral durante 30 dias consecutivos com os sucos de caju verde e maduro, utilizou-se a metodologia do edema de orelha induzido por xileno. Para avaliar o efeito dos sucos de caju verde e maduro na cicatrização, lesões foram induzidas no dorso do camundongo 15 dias após o tratamento de suplementação com os sucos. As lesões cutâneas foram submetidas a avaliações clínicas através de análises morfométricas e macroscópicas durante 21 dias. Os resultados foram expressos como média e erro padrão da média. Para avaliar as diferenças significativas entre as médias dos diferentes grupos, aplicou-se o teste de Mann-Whitney e ANOVA e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. O perfil fitoquímico dos sucos de pseudofrutos de caju verde e de maduro foi distinto, no qual o suco de caju maduro apresentou teores de antioxidantes não enzimáticos e capacidade antioxidante total superior ao suco de caju verde. Os resultados dos ensaios anti-inflamatório e cicatrizante mostraram que o suco de caju verde reduziu eficientemente a inflamação e acelerou a cicatrização de feridas durante a fase intermediária desse processo quando comparado ao suco de caju maduro. O suco de caju maduro parece agir na fase mais tardia da cicatrização. Estudos complementares devem ser realizados para maior compreensão das atividades biológicas dos sucos de caju verde e maduro através da identificação de compostos químicos responsáveis pela ação funcional dos mesmos.

Palavras -chave: Caju. Antioxidantes. Inflamação. Cicatrização.

ABSTRACT

Anacardium occidentale L. (Anacardiaceae), known as cashew, is a typical tropical pseudo whose juice is highly consumed in Brazil for its excellent sensory and nutritional properties. The aim of this study was to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory and wound healing activities of cashew apple in vitro and in vivo. The juice from fresh fruit were obtained from cashew clones CCP 76 in the maturation stage 2 (unripe) and 6 (ripe). Were determined in the juice total polyphenols, vitamin C, anthocyanins, flavanols, carotenoids, phenolic compounds and the total antioxidant activity. For the evaluation of anti-inflammatory activity and healing in vivo was performed in mice, kept under appropriate conditions of light, temperature and given water and food ad libitum. The experimental protocol was approved by the Ethics Committee for Animal Experiments of the UFC (n° 85/09). To evaluate the effect of oral treatment for 30 consecutive days with the juice of cashew apple ripe and unripe, we used the methodology of the ear edema induced by xylene. Regarding the effect of treatment with the juice of cashew in the healing lesions were induced on the backs of mice 15 days after initiation of treatment. The skin lesions by morphometric and macroscopic analysis were subjected to clinical evaluation for 21 days. Results were expressed as mean and standard deviation. To evaluate the significant differences between the means of different groups, we applied the Mann-Whitney test and ANOVA and differences were considered significant when $p < 0.05$. The ripe cashew apple juice (RCAJ) phytochemistry profile was better with levels of non-enzymatic antioxidants and total antioxidant capacity than the unripe cashew apple juice (UNCAJ). The anti-inflammatory and healing results showed that the UNCAJ reduced inflammation and accelerated wound healing process when compared to RCAJ. The present study demonstrated that the UNCAJ present high biological activity in inflammatory and wound healing models than the RCAJ.

Keywords: cashew apple, antioxidants, anti-inflammatory, wound healing.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 O caju e suas propriedades (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	14
1.2 Aspectos funcionais de substâncias de origem vegetal.....	17
1.3 Pele e inflamação.....	20
1.4 Aspectos envolvidos na cicatrização de lesões cutâneas.....	22
2. JUSTIFICATIVA.....	28
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4. MATERIAL.....	31
4.1 Material Vegetal.....	31
4.2 Animais.....	31
4.3 Reagentes.....	32
5. MÉTODOS.....	33
5.1 Estudo do potencial antioxidante do caju: Capacidade antioxidante total antioxidantes não enzimáticos.....	33
5.1.1 Preparação das amostras de caju.....	33
5.1.2 Avaliação de compostos antioxidantes totais.....	34
5.1.3 Conteúdo dos antioxidantes não enzimáticos.....	34
5.1.3.1 Determinação de vitamina C.....	34
5.1.3.2 Determinação de antocianinas.....	35
5.1.3.3 Determinação de flavonóides amarelos.....	35
5.1.3.4 Determinação de polifenóis totais.....	35
5.1.3.5 Determinação de compostos fenólicos.....	36
5.1.3.6 Determinação de carotenóides.....	37
5.2 Estudo do potencial anti-inflamatório dos sucos de caju de frutos verdes e maduros em modelo de edema de orelha.....	37
5.2.1 Avaliação do potencial anti-inflamatório dos sucos de caju de frutos verdes e maduros em modelo de edema de orelha.....	37
5.2.1.1 Grupos experimentais.....	37
5.3 Avaliação do potencial cicatrizante do caju.....	38
5.3.1 Avaliação do efeito da suplementação com os sucos de caju de frutos verdes e maduros na cicatrização de camundongos	38
5.3.1.1 Grupos experimentais.....	39
5.3.1.2 Suplementação de referência na cicatrização.....	39
5.3.1.3 Procedimentos cirúrgicos.....	41
5.3.1.4 Observações macroscópicas e análises morfométricas.....	41
5.3.1.5 Análises histopatológicas.....	41
5.4 ESTATÍSTICA.....	42
6. RESULTADOS.....	43
6.1 Capacidade antioxidante total.....	43
6.2 Antioxidantes não enzimáticos.....	43
6.3 Compostos fenólicos.....	43
6.4 Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o processo inflamatório.....	46
6.5 Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o processo de cicatrização	47
6.5.1 Morfometria.....	47
6.5.2 Avaliação macroscópica.....	49

6.5.3 Estudo histológico.....	51
7. DISCUSSÃO.....	55
8. CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....	63

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Caju e suas propriedades (*Anacardium occidentale*)

A distribuição da produção mundial da maioria dos frutos tropicais de importância econômica, como o caju (*Anacardium occidentale* L.), concentra-se nas zonas tropicais e subtropicais dos países menos desenvolvidos, regiões onde os frutos apresentam-se como importantes componentes da dieta, contribuindo como fontes principais de vitaminas e outros nutrientes (SOUZA FILHO *et al.*, 1999).

O Brasil é atualmente o terceiro maior produtor de frutas do mundo, atrás da China e da Índia, produzindo atualmente 40% de todas as frutas tropicais do mundo (ABDI, 2006). É também o maior produtor e exportador de sucos de frutas, nos últimos quinze anos (EMBRAPA, 2010).

Segundo dados do IBRAF (Instituto Brasileiro de Frutas), a balança comercial da cadeia de frutas gerou US\$ 2,9 bilhões, considerando frutas frescas e processadas. Em 2007, as exportações da cadeia geraram US\$ 3,3 bilhões, 45% a mais que em 2006, sendo US\$ 2,3 bilhões (IBRAF, 2008).

A colheita anual brasileira de frutas tropicais é de aproximadamente 38 milhões de toneladas, o que coloca o país em terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais. Os principais mercados compradores do produto brasileiro são a Europa, que absorve 70% das exportações, e o Mercosul, que importa 11% (SCHEIBLER; FILHO, 2006).

O consumo de fruta fresca é crescente em todo o mundo, por uma série de fatores que levam às modificações nos hábitos alimentares, tais como: maior cuidado com a saúde e aspectos nutritivos dos alimentos, com sensibilidade crescente em relação a fatores ecológicos e dietéticos, campanhas publicitárias sobre benefícios de consumo de frutas e hortaliças, envelhecimento da população, dentre outros (RODRIGUES, 2004).

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma árvore pertencente à família Anacardiaceae, nativo da América Tropical, de origem brasileira, popular na América do Sul (ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003). É cultivado em diversos países, destacando-se pela produção na Índia, Brasil, Moçambique e Tanzânia (PERTINARI; TARSITANO, 2002).

Em áreas cultivadas e de ocorrência espontânea, encontram-se cajueiros dos tipos comum e anão precoce. O cajueiro comum tem porte elevado, maior produção por planta e maior peso de castanha. Demora mais para iniciar a produção e tem poucos clones disponíveis

para cultivo. Sua grande desvantagem é o porte, que dificulta bastante a execução dos tratos culturais e fitossanitários (FERNANDES, 2010).

O cajueiro anão precoce (*A. occidentale* L. var. *Nanum*), representado na figura 1, encontrado com maior frequência em áreas cultivadas, vem sendo eleito para o cultivo, em função do pequeno porte e da produção precoce e elevada, características que facilitam bastante a execução dos tratos culturais e fitossanitários e, principalmente, a colheita do pedúnculo para o mercado de fruta de mesa. Entre os clones cultivados no Ceará o clone CCP 76 apresenta destaque, pela grande preferência para fruta fresca (FERNANDES, 2010; PAIVA *et al.*, 1998).

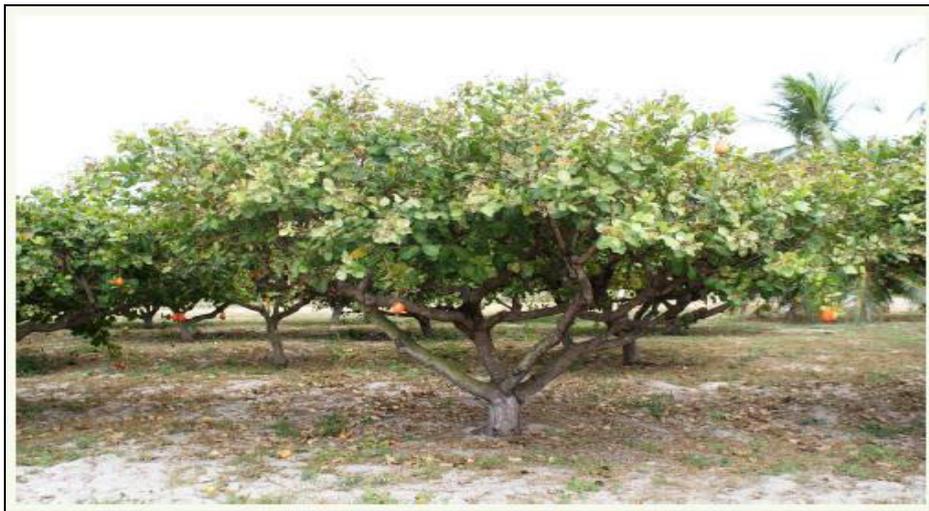


FIGURA 1 - Planta do clone de cajueiro-anão precoce. Fonte: PAIVA; BARROS, 2004.

O fruto do cajueiro (Figura 2) consiste da castanha, um aquênio reniforme (o verdadeiro fruto) e do falso fruto ou pseudofruto que é formado por um pedúnculo alongado, carnoso e suculento cujo consumo *in natura*, está relacionado, principalmente, com sua palatabilidade, coloração externa e suas excelentes propriedades sensoriais e nutricionais (KUBO *et al.*, 2006; RUFINO, 2008; SIVAGURUNATHAN *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2007).



FIGURA 2 - Pedúnculos verde e maduro do clone de cajueiro-anão precoce CCP 76. Fonte: RIBEIRO, 2003.

Segundo Barros (2002), no Brasil, a agroindústria do caju, iniciada na década de 1960, exerce importante papel econômico e social nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, em razão da expressiva geração de empregos e pela participação na geração de divisas externas, e apresenta, ainda, um diferencial em relação aos demais produtores mundiais, o aproveitamento industrial do pseudofruto, de grande potencial econômico.

O Brasil é pioneiro e líder no aproveitamento de pedúnculos de caju que são consumidos in natura e empregados na produção de suco integral, polpa congelada, néctar, cajuína, doces em calda, desidratados e cristalizados. Entretanto, os produtos são destinados, quase que exclusivamente, ao mercado interno com extensas perdas de pedúnculos in natura (AGOSTINI *et al*, 2002).

O caju foi relativamente negligenciado, apesar de sua considerável disponibilidade e quantidade. Um número de processos tem sido desenvolvidos para converter o pedúnculo em vários produtos como suco, geléia, xarope, molho e bebidas (LA VAN KINH *et al* 1997; WINTERHALTER 1991).

Provavelmente não mais que 10% do potencial de produção do pedúnculo é consumido ou utilizado na forma fresca ou processada (AKINWALE, 2000). Do total produzido anualmente na região Nordeste, 15% é aproveitado para a fabricação do suco (CARDOSO, 1999). Vale ressaltar que o Brasil é o único país do mundo que possui tecnologia, experiência e hábito de consumo, nas diferentes formas, o que é uma oportunidade a mais para a diversificação da utilização e aplicação do caju (MOURA, 1998). Embora o pedúnculo represente fonte rica em suco nutritivo, sua aceitação fora do Brasil tem sido reduzida em função da elevada adstringência (AGOSTINI *et al*, 2002).

O caju apresenta alto valor nutritivo, possuindo cerca de 156 a 387 mg de vitamina C por 100 g de pedúnculo e sendo rico em minerais como cálcio, ferro e fósforo também é considerado uma boa fonte de tiamina e riboflavina, membros fundamentais das vitaminas do complexo B, conhecidas como vitaminas B1 e B2 (MAIA *et al.*, 2007). Segundo Paiva e colaboradores (2000), o pedúnculo contém de 3 a 5 vezes mais vitamina C que a laranja, além de cálcio, fósforo e outros nutrientes. Apresenta ainda carotenóides e antocianinas, pigmentos naturais responsáveis por sua coloração característica (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

O perfil fitoquímico do caju revela uma complexa fonte natural de antioxidantes que faz deste suco um excelente alvo nas pesquisas medicinais (MELO-CAVALCANTE *et al.*, 2003). Por exemplo, seu alto teor de tanino faz dele um adequado remédio para inflamação da garganta e desinteria crônica em Cuba e Brasil (MORTON, 1987). Também tem sido relatada propriedades antibacterianas, antifúngicas e antitumorais (KUBO *et al.*, 1993a, b; KOZUBEK *et al.*, 2001) e antimutagênicas (SANTOS *et al.*, 2002).

A adstringência é decorrente da presença natural de taninos, presentes como compostos fenólicos ativos polimerizados no caju, capazes de precipitar proteínas e tendo também um efeito vasoconstrictor de reduzir o fluido de feridas e queimaduras, aumentando a regeneração tecidual (VAN WYK; GERICKE, 2003). É justamente a capacidade de precipitar proteínas, especialmente as proteínas salivares da cavidade oral, que confere a propriedade adstringente aos taninos, que como antioxidantes podem participar na prevenção de doenças crônico-degenerativas, tais como enfermidades cardiovasculares e câncer (SANTOS; SCALBERT, 2000).

Sua composição química, físico-química e qualidade nutricional pode variar dependendo de vários fatores como: variedade, solo, safra, grau de maturidade e condições climáticas (PINHEIRO, 2008). Mudanças sensoriais e bioquímicas que ditam as características de qualidade dos frutos ocorrem durante a pós-colheita e estão diretamente relacionadas com o metabolismo oxidativo (MELO *et al.*, 2001).

1.2. Aspectos funcionais de substâncias de origem vegetal e os antioxidantes

Segundo Lajolo (2005), os alimentos com alegações funcionais ou de saúde, são aqueles semelhantes em aparência aos alimentos convencionais, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos, úteis na manutenção de

uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além de suas funções nutricionais básicas.

Considerando que a nutrição adequada é o elemento chave para um estilo de vida saudável associado com o baixo risco de desenvolvimento de doenças, o consumo de cinco porções de frutas e outros vegetais por dia é recomendado para uma boa saúde, bem como a utilização da variabilidade entre as diversas espécies destes (STAHL; SIES, 2005).

Dados de estudos epidemiológicos têm mostrado consistentemente uma correlação inversa entre o consumo de vegetais e frutas e a incidência de diversas doenças crônicas, cujas evidências sugerem que uma dieta rica em alimentos de origem vegetal diminui o risco de doenças crônicas, devido aos fitoquímicos presentes que desempenham papel chave na redução de doenças inflamatórias crônicas (JEANELLE; LIU, 2004; STAHL; SIES, 2005). As propriedades quimioprotetoras das frutas tem sido parcialmente atribuídas aos antioxidantes presentes (OLSSON *et al.*, 2004; SUN *et al.*, 2002).

Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos devido a sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas, tanto nos alimentos como no organismo animal. Os antioxidantes podem agir retardando ou prevenindo a oxidação do substrato envolvido nos processos oxidativos impedindo a formação de radicais livres (HALLIWEL, 1995).

Dentre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos ou polifenóis, tais como os flavonóides, ácidos fenólicos, antocianinas e taninos. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres. Os compostos fenólicos podem inibir os processos da oxidação em certos sistemas, mas isso não significa que eles possam proteger as células e os tecidos de todos os tipos de danos oxidativos. Esses compostos podem apresentar atividade pró-oxidante em determinadas condições (DECKER, 1997). Somando-se a isto, estudos têm demonstrado que polifenóis naturais possuem efeitos significativos na redução do câncer, e evidências epidemiológicas demonstram correlação inversa entre doenças cardiovasculares e consumo de alimentos fonte de substâncias fenólicas, possivelmente por suas propriedades antioxidantes (KARAKAYA, 2004; NINFALI *et al.*, 2005).

Nutrientes essenciais, como vitaminas C e E, também podem proteger contra inflamação mediada por oxidante e danos aos tecidos, em virtude da capacidade destes em neutralizar as espécies reativas de oxigênio, mantendo o estado de antioxidante adequado, atenuando os possíveis danos e disfunções celulares e contribuindo para os efeitos benéficos

das frutas (AJAIKUMAR *et al.*, 2005; CONNER, 1996; SILVA *et al.*, 2004). Isso é importante porque o desequilíbrio entre as moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres e tem sido chamado de estresse oxidativo, podendo causar danos aos lipídios, proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e outras substâncias oxidáveis (LEITE, 2003; SIES, 1993). Vale ressaltar que esse desequilíbrio, por sua vez, está associado a muitos fenômenos fisiológicos, patológicos e a processos adversos como inflamação, envelhecimento, carcinogênese entre outros (DEAN *et al.*, 1997).

Algumas pesquisas têm demonstrado que os níveis de marcadores inflamatórios estão associados à predisposição ou manifestação de doenças crônicas já instaladas, mesmo quando os fatores de risco para essas doenças não estão presentes como a pressão arterial alta, sobrepeso ou obesidade, tabagismo e etilismo, inatividade física, dentre outros (PICKUP, 2004; RIDKER *et al.*, 2000).

Dietas ricas em antioxidantes derivados de frutas e outros vegetais apresentam efeitos benéficos para a saúde, dado que reforça a necessidade de campanhas mundiais de prevenção a doenças, enfatizando o benefício do consumo dos mesmos (SIES *et al.*, 2005). Os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Entretanto, nos alimentos é encontrada uma grande variedade de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (HERCBERG *et al.*, 1998; JACOB, 1995; NIKI *et al.*, 1995).

Existem consideráveis evidências que indicam que uma nutrição inapropriada afeta negativamente o sistema imune sendo, portanto, fortemente influenciado pelo estado nutricional do organismo e pelos nutrientes ingeridos na alimentação. Diversos nutrientes apresentam propriedades moduladoras do sistema imunológico com destaque para as substâncias com atividade antioxidante que desempenham papel crucial no balanço antioxidante/oxidante nas células imunes e são capazes de protegê-las do estresse oxidativo, preservando seu adequado funcionamento (MARCOS *et al.* 2003).

Ao longo da história, a fome tem sido considerada como um risco proeminente à saúde humana e, por muitos séculos, a ligação entre infecção e desnutrição tem sido bem reconhecida (BLACKBURN, 2001). Estimular o consumo de uma alimentação saudável e a aplicação de alimentos funcionais claramente parece interessante no contexto de uma civilização ocidental em face de um aumento progressivo dos problemas de saúde relacionados à nutrição e à desequilíbrios do sistema imunológico (MARCOS, 2003).

1.3. Pele e inflamação

A pele é o único, maior e extraordinário órgão de revestimento externo do corpo humano, representando 15% do peso corporal sendo embriologicamente originada dos folhetos ectodérmico e mesodérmico que vão formar suas três camadas (Figura 3): epiderme, derme e hipoderme ou tecido celular subcutâneo (AVELAR, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO., 1999; PROKSCH *et al.*, 2008).

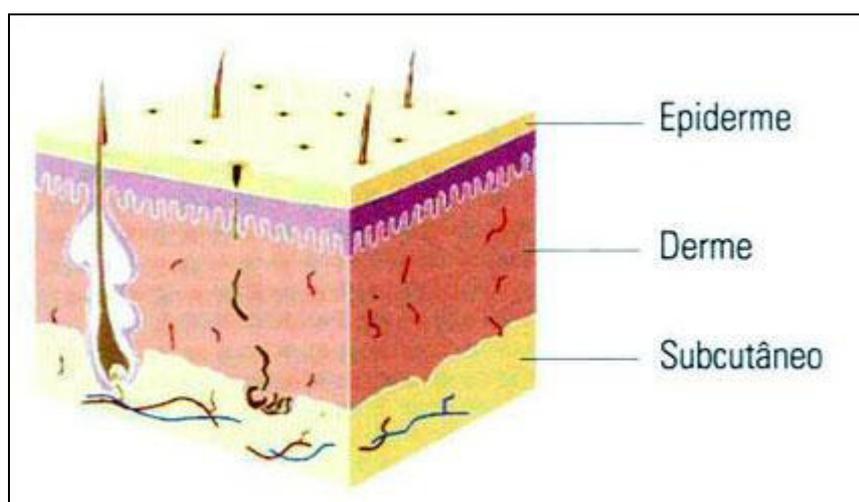


FIGURA 3 – Estrutura da pele. Pele e tecidos subjacentes podem ser divididos em três grandes divisões: epiderme, derme, tecido subcutâneo.

A epiderme, porção de origem ectodérmica, é a camada superior da pele. Glândulas sudoríparas e os folículos pilosos presentes nessa camada, que está em contato com o ambiente externo, têm a função de proteger a pele contra ressecamento e estão envolvidos também no mecanismo da termorregulação. Derme e hipoderme são de origem mesodérmica e caracterizam a porção conjuntiva servindo de suporte e união entre a pele e órgãos subjacentes respectivamente. A mais importante função da pele é formar uma barreira efetiva entre o interior e o exterior do organismo (AVELAR, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; PROKSCH *et al.*, 2008).

Na epiderme encontram-se barreiras físicas, química/bioquímica (antimicrobiana, imunidade inata) e imunológico adaptativas. A barreira física consiste do extrato córneo, em particular as junções célula-célula e proteínas associadas ao citoesqueleto, são componentes importantes. A barreira química/bioquímica (antimicrobiana, imunidade inata) consiste de

lipídios, ácidos, enzimas hidrolíticas, peptídeos antimicrobianos e macrófagos. A barreira imunológica (adaptativa) é composta de constituintes celular e humoral do sistema imune. Sendo um complexo sistema formado por um número de componentes interrelacionados, qualquer modificação nestes componentes resultam em alteração funcional da barreira sendo um evento central na patofisiologia de várias alterações e doenças da pele como dermatites, queimaduras, alergias, úlceras, lesões cutâneas inflamatórias, etc (PROKSCH *et al.*, 2008).

A resposta inflamatória, envolvida em diversas patologias inclusive cutâneas, é uma resposta do organismo frente a uma infecção ou a uma injúria tecidual, caracterizada, a nível clínico, por quatro sinais clássicos, que incluem calor, eritema, edema e dor (CONTRAN *et al.*, 2001). Este rápido e agudo processo resulta em aumentos significativos de níveis de mediadores inflamatórios circulantes produzidos a partir do plasma e das células (GABAT; KUSHNER, 1999; KPLB-BACHOFEN, 1991). Dentre os mediadores da inflamação, encontram-se histamina, metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico, neuropeptídeos e citocinas (CONTRAN *et al.*, 2001; RANG *et al.*, 2007).

O processo inflamatório compreende mecanismos imunes de defesa como: resposta inata (resposta inespecífica), responsável pelas características da região inflamada dividida em eventos vasculares e celulares e resposta adquirida (resposta específica), na qual há produção de anticorpos específicos contra um determinado agente agressor (COUTINHO *et al.*, 2009). Se a resposta inflamatória é exacerbada pode promover uma descompensação fisiológica, levando a perda de função do tecido e/ou órgão (RANG *et al.*, 2007; SERHAN; SAVILL, 2005).

A indução química da inflamação, em modelos animais, é feita por meio da administração de agente exógeno. O xileno é um agente químico flogístico, promotor da inflamação neurogênica que atua sobre as células-alvo da periferia como mastócitos, células do sistema imunológico, e do músculo liso vascular produzindo inflamação. O resultado dos sintomas inflamatórios deriva da liberação de substâncias de terminações nervosas sensoriais primárias (RICHARDSON; VASKO, 2002).

Substâncias de origem vegetal, pertencentes às mais diversas classes químicas, possuem atividade anti-inflamatória comprovada cientificamente. Dentre elas, destacam-se taninos e flavonóides (SIMÕES *et al.*, 2004; VEITCHNC; GRAYER, 2008). Os flavonóides tem a capacidade de agir sobre a inflamação e sobre o sistema imunológico, representando uma alternativa promissora frente aos processos inflamatórios (COUTINHO *et al.*, 2009; SIMÕES *et al.*, 2004).

1.4. Aspectos envolvidos na cicatrização de lesões cutâneas

No processo de cicatrização humano, as curas morfológicas são aquelas realizadas na epiderme e derme. Eventos epidérmicos são os de migração celular e proliferação de células epiteliais. Eventos cutâneos são infiltrado celular, formação de tecido de granulação e a produção de colágeno (WOOLF, 1998).

O reparo de tecidos pode se dar de duas formas: (1) pela regeneração com a recomposição da atividade funcional do tecido ou (2) pela cicatrização com restabelecimento da homeostasia do tecido com perda da sua atividade funcional pela formação de cicatriz fibrótica (Figura 4). A primeira envolve a reconstituição dos componentes teciduais de forma idêntica àqueles destruídos, como nos ferimentos superficiais cutâneos que somente danifica o epitélio. A cicatrização, pelo contrário, é uma resposta fibroproliferativa, na qual os anexos epidérmicos não se regeneram e mantém uma cicatriz de tecido conjuntivo em lugar da rede mecanicamente eficiente de colágeno na derme não ferida. Danos tissulares de qualquer natureza física, química ou biológica) desencadeiam de imediato uma série de eventos e sinais que ativam células envolvidas no reparo tissular (COTRAN *et al*, 2001).

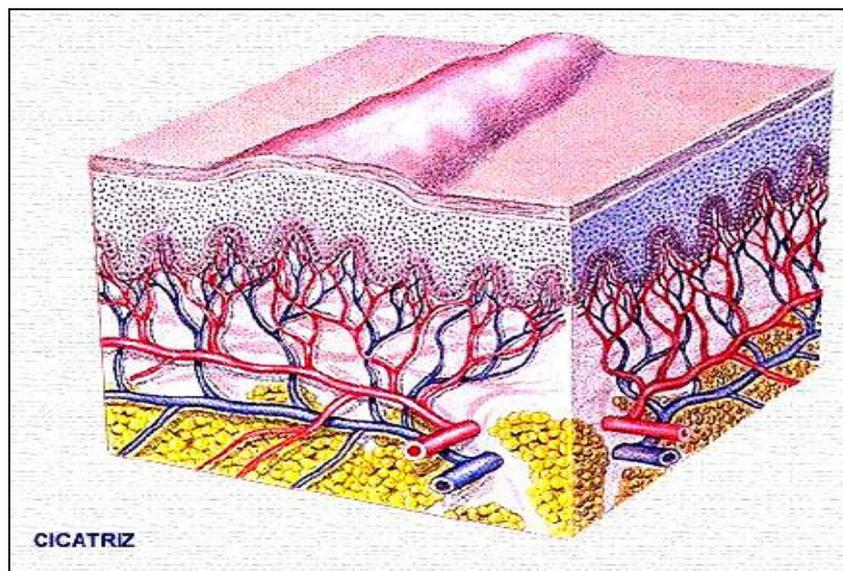


FIGURA 4 - Cicatriz fibrótica após processo de cicatrização da pele. Fonte: SINGER; CLARK, 1999.

A cicatrização de feridas é um dinâmico processo envolvendo eventos celulares complexos dentro de fenômenos fisiológicos, imunológicos e bioquímicos que requerem um equilíbrio harmonioso em ordem para garantir a restauração da função e da continuidade anatômica do tecido (JORGE *et al.*, 2008). O processo de cicatrização pode ser dividido didaticamente em quatro diferentes fases não excludentes entre si, mas superpostas, como observado na figura 5: (i) hemostasia ou coagulação, a qual previne a perda de sangue, (ii) inflamação e debridamento da ferida, que inicia imediatamente após a injúria com vasoconstrição que favorece a homeostase e liberação de mediadores inflamatórios além de recrutamento de células do sistema imune, (iii) migração, reparo ou fase de proliferação, caracterizada pela proliferação celular de tecido de granulação formado e mantido por fibroblastos e o processo angiogênico, (iv) maturação ou fase de remodelagem, que inclui remodelamento de tecido com suprimento de componentes das fibras colágenas pela deposição de colágeno, que aumentam a força tensil (JORGE *et al.*, 2008; KOKANE *et al.*, 2009).

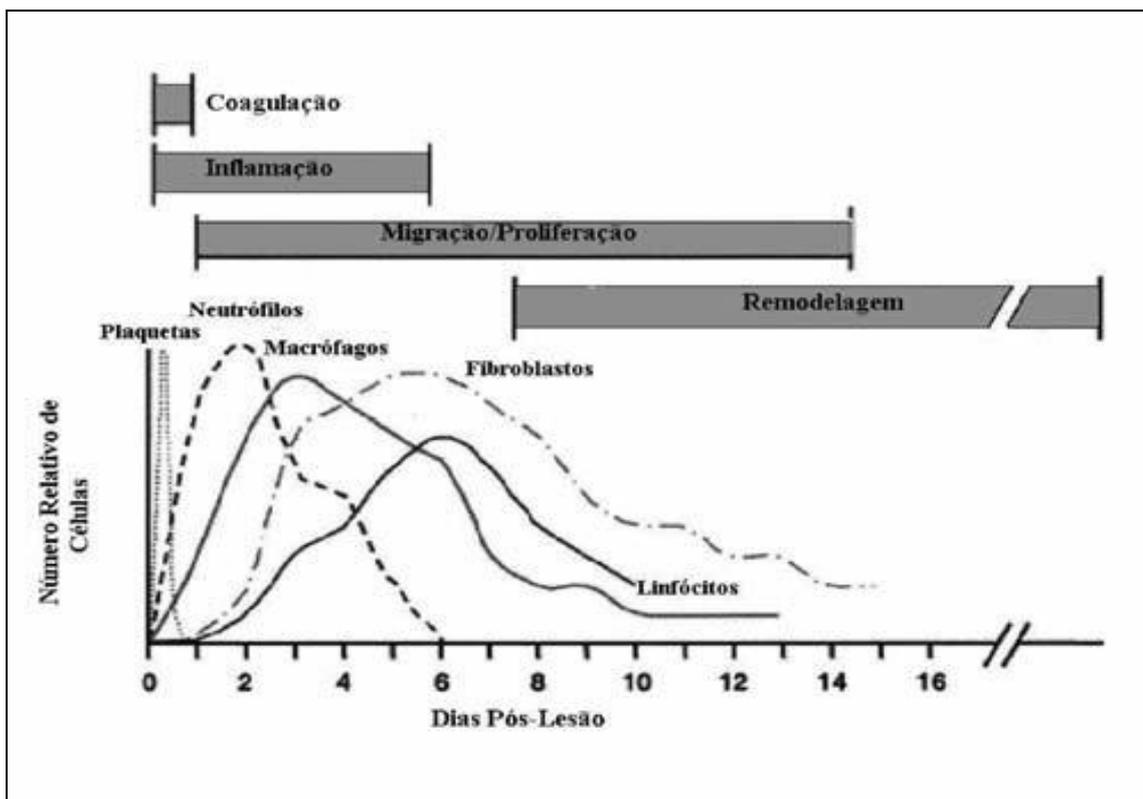


FIGURA 5 - Correlação esquemática de células com as diferentes fases do processo de cicatrização. Fonte adaptada: Park & Barbul, 2004.

O ajuste de eventos e tipos celulares é mostrado na figura 6, em uma linha do tempo de cicatrização de feridas. Há deposição de três tipos matriz extra celular (MEC), com a chegada de diferentes tipos celulares e ocorrência dos maiores eventos. Observa-se que dois tipos de fibronectinas estão presentes no sítio de injúria, plasmática (p) oriunda do sangue e celular (c) expressa por células no tecido (BRADSHAW; SAGE, 2001; CLARK, 1996; WOODS, 2001).

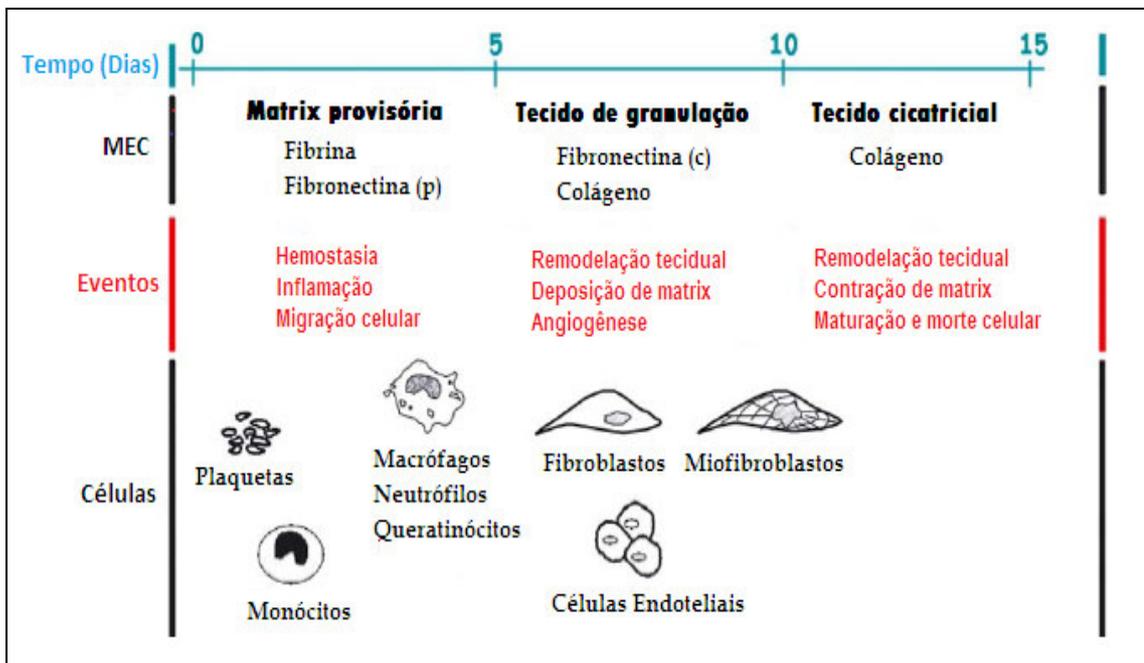


FIGURA 6 – Ajustamento de eventos durante o processo de reparo tecidual. Fonte adaptada de MIDWOOD et al., 2004.

O sistema imune desempenha um papel fundamental no processo da cicatrização de lesões cutâneas, pois além de participar da função inflamatória e de defesa do hospedeiro, as células deste sistema liberam citocinas, linfocinas e fatores de crescimento indispensáveis pela continuidade do processo (PARK ; BARBUL, 2004). O reparo completo de tecidos têm os leucócitos como um de seus mais importantes protagonistas pois essas células, além de suas conhecidas atividades imunes, estão intimamente envolvidas com as reações catabólicas de degradação de tecidos pela produção de proteases e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e também com as reações anabólicas de formação de tecidos pela produção de fatores de crescimento (RICHES, 1996) responsáveis pela recomposição da celularidade regional ou restabelecimento da sua homeostasia pela formação da cicatriz (CURI *et al*, 2005).

O processo de reparo tecidual depende, obviamente, de substratos nutricionais disponíveis e pode ser inibido ou negativamente influenciado por muitos fatores que podem ser divididos em fatores sistêmicos e fatores locais como: queimaduras, físico e químico, tratamento com corticosteroides ou drogas imunossupressoras e o estado nutricional por exemplo (THOMAS *et al*, 2010). O início da resposta de defesa é caracterizado pela infiltração de neutrófilos e liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, os quais iniciam o processo inflamatório. Se esta resposta inflamatória não é apropriadamente regulada, uma doença inflamatória da pele pode ser desencadeada (PIETROVSKI *et al*, 2008).

O princípio de uma ótima cicatrização é minimizar o dano no tecido e provê uma adequada perfusão e oxigenação tecidual, além de nutrição apropriada e um ambiente úmido no ambiente de cicatrização da ferida para restaurar continuidade anatômica e função da parte afetada (PIERCE; MUSTOE, 1995). O efeito da suplementação de nutrientes na cicatrização de tecidos em adultos saudáveis é uma área de importância clínica, mas há pouca informação disponível (SPENCER *et al*, 2004).

Quando se desenvolve uma ferida, cada fase do processo de cura exigir uma série de nutrientes na quantidade correta para evitar o retardo na cicatrização (GRAY; COOPER, 2001, THOMPSON; FURHAM, 2005). A tabela 1 descreve as fases de cicatrização da ferida e os nutrientes-chaves necessários.

TABELA 1 - Fases da cicatrização de feridas e nutrientes-chaves envolvidos.

Fases da cicatrização	Nutrientes
Hemostasia: vasoconstricção levando à redução do fluxo sanguíneo. Hemorragia controlada. Coagulação.	Energia, proteína e vitamina K.
Inflamação: glóbulos brancos e macrófagos removem bactérias e tecidos necróticos (mortos). Síntese de colágeno iniciado.	Energia, proteína, vitaminas A, C, E, selênio, antioxidantes.
Proliferação: Novos tecidos e vasos sanguíneos em crescimento. Os fibroblastos produzem colágeno.	Energia, proteína, ferro, cobre, vitaminas A, B6, C e zinco.
Remodelação: contínua ligação cruzada do colágeno aumentando a força tensil ou resistência à tração da ferida. Contração e fechamento da ferida. Maturação do tecido fibroso.	Energia, zinco, proteínas, vitamina C, ferro.

Fonte: JOHNSTON, 2007.

A maioria dos pacientes com feridas crônicas da pele sofre alterações no estatus nutricional relacionada à deficiência de micronutrientes, assim, terapias nutricionais atuais são destinadas a corrigir as deficiências nutricionais responsáveis pelo retardo na cicatrização (STECHMILLER, 2010).

TABELA 2 - Papel dos nutrientes chaves na cicatrização e viabilidade do tecido.

Nutriente	Função
Carboidratos	Energia para funcionamento de macrófagos, fibroblastos e leucócitos através da quebra de glicose que provê energia para atividade celular.
Proteínas	Necessária para síntese e reparo do tecido, resposta imunológica, fagocitose, angiogênese, proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e remodelação da ferida
Lipídios	Importante fonte de energia, componente de membranas celulares, envolvida na formação de mediadores inflamatórios e componentes da coagulação e formação de novas células
Vitamina A	Aumento da resposta imune, antioxidante, promove síntese de ligação cruzada do colágeno, resistência da ferida à tração e epitelização
Vitaminas do complexo B	Resposta imunológica, ligação cruzada do colágeno e resistência da ferida à tração
Vitamina C	Antioxidante, promove síntese do colágeno, angiogênese, otimiza a absorção de ferro, resistência da ferida à tração, promove função imune (neutrófilos e migração dos macrófagos)
Vitamina E	Antioxidante, neutralização de radicais livres, redução da lesão tecidual e aumento da resposta imune
Cobre	Síntese de ligação cruzada do colágeno e formação de leucócitos
Ferro	Promove síntese de colágeno, aumenta liberação de oxigênio tecidual e componente de muitos sistemas enzimáticos
Zinco	Amplificação da proliferação de células, aumenta a epitelização e melhora a resistência do colágeno
Vitamina K	Coagulação sanguínea

Fonte adaptada: JOHNSTON, 2007; CUKIER *et al.*, 2005.

No Brasil cerca de 70 plantas relacionadas pelo Ministério da Saúde que apresentam potencialidades medicinais, são estudadas quanto às suas propriedades farmacológicas, das quais cerca de 18 espécies são indicadas na medicina popular para o tratamento de feridas (SCHEFFER *et al.* 1999; SILVA, 2006).

A pesquisa de produtos naturais, no tratamento de feridas, tem-se intensificado para auxiliar na cicatrização, como o óleo de copaíba (CORRÊA, 1984; EURIDES; MAZZANTI, 1995), papaína (SANCHEZ NETO *et al.*, 1993), colágeno (ABRAMO, 1990), vitamina A (BONDI, 1989). Desta forma as propriedades farmacodinâmica, antiinflamatória e imuno-reguladora dos produtos naturais têm sido testadas em diversos tecidos, com o intuito de se buscar auxílio no processo de reparação tecidual (KILIÇ, 2005; REYNOLDS; DWECK, 1999).

Considerando o uso popular de espécies potencialmente importantes e a recomendação para o desenvolvimento de pesquisas visando a utilização de plantas com finalidades terapêuticas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), se faz necessário a identificação e estudos de plantas que possuam comprovada ação farmacológica e (ou) substâncias biologicamente ativas (SCHEFFER *et al.*, 1999).

A forte tendência mundial ao aproveitamento de recursos naturais no tratamento de feridas inclusive aqueles já utilizados há muito tempo pela medicina tradicional, faz da fitoterapia uma opção disponível, com as vantagens de não apresentar efeitos colaterais; facilidade no cultivo e manipulação; fácil aquisição e baixo custo (TIAGO, 1997).

2. JUSTIFICATIVA

No Brasil, as lesões cutâneas ou feridas acometem a população de forma geral, independente de sexo, idade ou etnia, há um elevado índice de pessoas com alterações na integridade da pele. Tais feridas podem ser secundárias a tratamentos, como procedimentos cirúrgicos, e ou tratamentos clínicos prolongados, como úlceras de pressão, constituindo assim, um sério problema de saúde pública. Atrasos na cicatrização, presença de infecção ou cicatrização excessiva oneram os gastos públicos/privados, prejudicam a qualidade de vida da população e continuam sendo causas importantes de morbimortalidade.

Dividido em fases, o processo de cicatrização tem como principal complicação distúrbios relacionados à inflamação que resulta na formação contínua de metabólitos reativos. Sabe-se que um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e os mecanismos antioxidantes de defesa da célula, leva a uma excessiva produção de metabólitos de oxigênio, gerando uma condição de estresse oxidativo que resulta em peroxidação de lipídeos, quebra de DNA e inativação enzimática.

Embora frequentemente referido e extensamente discutido o conceito da terapia nutricional na regulação da cicatrização de feridas através da intervenção dietética, na forma de suporte nutricional completo ou na simples suplementação nutricional individual, melhorando ou acelerando a resposta de cicatrização, este conceito nem sempre é suportado por dados objetivos, porém, um número de relatórios vem analisando a eficácia clínica de ervas naturais ou agentes biológicos.

Conhecer as substâncias presentes nas frutas com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes das quais muitas ainda não foram estudadas, torna possível seu aproveitamento integral como alimentos funcionais e fornecem compostos isolados que se enquadram como nutracêuticos. Os achados provenientes de pesquisas com animais experimentais, afirmam o potencial terapêutico deste insumo, abrindo perspectivas promissoras de estudos científicos.

A utilização de produtos naturais oferece vantagens tais como ser o ponto de partida para o desenvolvimento de novos medicamentos, fonte de novas moléculas para alvos moleculares complexos e fonte biológica renovável, cuja obtenção racional não causará efeitos sobre o meio ambiente. Além disso, efeitos colaterais associados à terapia convencional, justificam o crescimento destas pesquisas e o aumento na venda desses

produtos. Assim, a busca de alternativas terapêuticas em recursos naturais deve ser vista como uma importante estratégia científica.

A relação entre os produtos obtidos de fontes naturais e a cicatrização é antiga e, constantemente, tem sido objeto de estudos incessantes em busca da substância com efeito terapêutico ideal. O tratamento de feridas, dessa forma, constitui ainda um grande desafio e torna-se necessário o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos mais eficazes, menos tóxicos e de custo mais baixo.

O caju é um pseudofruto tropical que se destaca no contexto sócio-econômico, pelo grande potencial nutricional. Além disso, esse pseudofruto contém muitas propriedades medicinais e vem sendo usado na medicina tradicional para o tratamento de muitas doenças. Estima-se que no Brasil apenas 5% do pedúnculo produzido tenha destinação econômica, com centenas de milhares de toneladas desperdiçadas a cada ano. Nesse sentido, aumentar o percentual de aproveitamento *in natura* do pedúnculo e conhecer o valor nutricional e os constituintes do caju em suas diferentes fases de amadurecimento constitui um desafio permanente. Vale ainda ressaltar que frutas e outros vegetais contêm propriedades funcionais diversas devido às substâncias antioxidantes distintas, cujas atividades de algumas delas têm sido bem comprovadas nos últimos anos, como é o caso do caju. O fato de dependermos das frutas e dos sucos de frutas para obter algumas vitaminas, principalmente ácido ascórbico, e outros nutrientes importantes justifica mais ainda o interesse de se estudar as diferentes atividades biológicas que possam estar associadas aos componentes dos frutos, principalmente frutos de interesse comercial para nossa região. No entanto, há poucos relatos na literatura das propriedades funcionais com a suplementação oral deste suco de fruta em diferentes estádios de maturação.

Por todas as características relatadas e por haver poucos trabalhos na literatura avaliando a atividade antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante de sucos tropicais *in vivo*, aliado às propriedades farmacológicas já comprovadas, um estudo utilizando o suco de caju é de grande importância científica, econômica regional e nacional.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar as atividades antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante do caju (*Anacardium occidentale* L.).

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a capacidade antioxidante total dos sucos de caju de frutos verdes e maduros *in vitro*;

- Determinar a concentração de antioxidantes não enzimáticos (vitamina C, polifenóis totais, antocianinas, flavonóides amarelos, compostos fenólicos e carotenóides) dos sucos de caju de frutos verdes e maduros *in vitro*;

- Avaliar o potencial anti-inflamatório dos sucos de caju de frutos verdes e maduros, em modelo de edema de orelha em camundongo;

- Avaliar o efeito da suplementação com os sucos de caju, de frutos verdes e maduros, na cicatrização de lesões cutâneas em camundongos.

4. MATERIAL

4.1. Material Vegetal

O trabalho experimental foi realizado com pedúnculos de caju, *Anacardium occidentale*, clone CCP 76, em distintos estádios de maturação: pseudofrutos verdes (estádio 2) e pseudofrutos maduros (estádios 6). Os frutos, obtidos de plantio na estação experimental da EMBRAPA em Pacajus-CE, foram colhidos manualmente em novembro de 2009 e previamente selecionados quanto as suas características físicas de aspecto, tamanho, maturidade e qualidade sensorial. Em seguida, os pseudofrutos foram transportados para o laboratório de Bioenergética da Universidade Federal do Ceará (UFC) e armazenados a -20°C , em sacos plásticos devidamente identificados.

4.2. Animais

Foram utilizados camundongos "swiss" machos, com 8 ± 1 semanas de idade, pesando entre 25 ± 1 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, cujas matrizes são oriundas do Centro de Bioterismo da UNICAMP/São Paulo. Os animais foram mantidos em caixas plásticas sob condições adequadas de luz e temperatura, recebendo ração e água à vontade.

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animal (CEPA) da UFC (n^o 85/09) e os animais foram manipulados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro e Experimentação Animal (COBEA). Foram utilizados os anestésicos cloral hidratado (1 g/kg, i.p.) e halotano para os modelos de cirurgia e em toda situação que causasse dor ao animal.

4.3. Reagentes

Todos os reagentes listados na metodologia e utilizados no experimento foram de grau analítico.

5. MÉTODOS

5.1. Estudo do potencial antioxidante do caju: Capacidade antioxidante total e antioxidantes não enzimáticos.

5.1.1. Preparação das amostras de caju

Os pseudofrutos, em distintos estádios de amadurecimento, foram triturados e homogeneizados, para a obtenção das polpas. A partir das polpas, foram preparados 200 mL de sucos para suplementação em animais na concentração (1:1), e em seguida acondicionados em eppendorfs âmbar (2 ml) a -18°C para posterior utilização. Para análise da capacidade antioxidante total e dos antioxidantes não enzimáticos, os frutos foram imediatamente triturados e homogeneizados para a obtenção de polpas e dos sucos (1:1) sendo também acondicionados em potes plásticos escuros e congelados a -18° C por 15 dias.

O extrato utilizado para determinação da atividade antioxidante total e polifenóis totais foi obtido a partir de 2 g da amostra de suco de caju maduro (SCM) e suco de caju verdes (SCV), seguindo a metodologia de Larruri e colaboradores (1997). Foram pesados 2 g da amostra, em um béquer, adicionados 40 mL de metanol 50%, homogeneizados e deixados em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Centrifugou-se a 16.000 g durante 15 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante foi recolhido em um balão volumétrico de 100 mL e denominado sobrenadante 1. Ao precipitado da primeira extração, foram adicionados 40 mL de acetona 70%, sendo homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos a temperatura ambiente. Foi feita uma nova centrifugação a 16.000 g durante 15 minutos, sendo o sobrenadante recolhido (sobrenadante 2) e adicionado ao balão volumétrico contendo o sobrenadante 1. O volume final (balão) foi ajustado para 100 mL com água destilada (LARRURI *et al*, 1997).

5.1.2. Avaliação da capacidade antioxidante total

Inicialmente, a partir do extrato obtido, foram preparadas três diferentes concentrações: 5.000, 15.000 e 20.000 mg/L. Em tubos de ensaio, foram adicionados, em ambiente escuro, 30 μ L do extrato e 3,0 mL da solução do radical 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico] (ABTS⁺) diluído em álcool etílico até obtenção de uma absorvância de $0,70 \pm 0,01$ a 734 nm, preparada a partir da solução estoque de ABTS 7 mM e persulfato de potássio 140 mM 16 horas antes da análise. Foi utilizada solução do antioxidante sintético, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox-Sigma 2000 μ M), preparado em álcool etílico, como antioxidante padrão. A atividade antioxidante total foi calculada com base em uma curva padrão de doses decrescentes de Trolox preparada a partir da solução padrão de trolox (2.000 μ M) em balões volumétricos de 10 ml com soluções de diferentes concentrações variando de 100 μ M a 1.500 μ M. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectronic Genesys 2) em comprimento de onda de 734 nm, 6 minutos após a adição da solução do radical. As análises foram realizadas em triplicata para cada concentração e os resultados expressos em μ M Trolox/ g de suco.

5.1.3. Conteúdo dos antioxidantes não enzimáticos

5.1.3.1. Determinação de Vitamina C Total

O conteúdo de vitamina C no SCM e SCV foi determinado de acordo com método de Tillman (2,6-dicloro-fenol-indofenol, 0,02%-DFI) segundo metodologia de Strohecker e Henning (1967). Das amostras de suco, protegidas da luz, foi retirada uma alíquota (1g de amostra) e adicionada em balão volumétrico (100 mL), sendo o volume completado com a solução extratora refrigerada (ácido oxálico 0,5%). Uma alíquota de 5 mL dessa solução foi titulada com solução padronizada a 0,02% de DFI- 2,6-diclorofenolindofenol (solução de Tillman), sendo o ponto de viragem detectado visualmente. Como padronização da solução de Tillman, foi utilizada uma solução de ácido ascórbico (50 μ g/ml). Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados expressos em percentagem (mg /100 g de amostra).

5.1.3.2. Determinação de Antocianinas

O extrato utilizado para determinação de antocianinas foi obtido a partir de 1 g da amostra de SCM e SCV, segundo Francis (1982). As amostras foram transferidas para um balão volumétrico (50 mL), envolvido com papel alumínio e volume aferido com etanol-HCl (1,5 N) deixado em repouso a 4 °C por uma noite. Após esse tempo, o material foi filtrado para um béquer (50 mL), sempre envolto por papel alumínio e em seguida, a absorbância foi medida a 535nm. O branco foi composto apenas da solução de etanol-HCl (1,5N). Todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados expressos em mg/100 g de amostra através da fórmula:

$$\text{Absorbância} \times \text{fator de diluição} / (98,2)$$

5.1.3.3. Determinação de Flavonóides amarelos

O extrato utilizado para determinação de flavonóides amarelos foi obtido a partir de 1g da amostra de SCM e SCV, segundo Francis (1982). As amostras foram transferidas para um balão volumétrico (50 mL), envolvido com papel alumínio e volume aferido com etanol-HCl (1,5 N) deixado em repouso a 4° C por uma noite. Então, o material foi filtrado para um béquer (50 mL), sempre envolto por papel alumínio e em seguida, a absorbância foi medida a 374 nm. O branco foi composto apenas da solução de etanol-HCl (1,5N). Todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados expressos em mg/100 g de amostra através da fórmula:

$$\text{Absorbância} \times \text{fator de diluição} / (76,6)$$

5.1.3.4. Determinação de Polifenóis Totais

A quantificação de compostos polifenólicos foi realizada para extratos dos SCM e SCV conforme descrito por Obanda e Awuor (1997). Esse método envolve a redução do

reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul cuja intensidade aumenta linearmente a 700 nm. Em tubos de ensaio, foram adicionados, 300 µL do extrato de suco, 1 mL de água destilada, 1 mL da solução Folin Ciocalteu (1:3), 2 mL da solução de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) a 20 %, 2 mL de água destilada e, em seguida, a mistura de reação foi homogeneizada. Como padrão, foi utilizada uma solução de ácido gálico. As concentrações de polifenóis solúveis totais foram calculadas com base em uma curva padrão a partir de doses crescentes de ácido gálico 98% (Acros Organics). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectronic Genesys 2) em comprimento de onda de 700 nm, 30 minutos após a adição dos reagentes. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico/ 100 g de suco. Todas as análises foram feitas em triplicata.

5.1.3.5. Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos em SCM e SCV foram determinados em três extrações de acordo com a solubilidade. Amostras de 5 g foram extraídas em 50 mL de água destilada, 50 mL de metanol 50% e 50 mL de metanol puro. As amostras extraídas em água foram postas em banho-maria por 15 min a 60°C, enquanto as extraídas em metanol foram aquecidas por 15 min a 100°C, sob refluxo. As amostras foram posteriormente agitadas por 15 min e filtradas à vácuo em papel. Os filtrados foram aquecidos para redução dos volumes até aproximadamente 5 mL, e transferidos para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água destilada. Os compostos fenólicos foram dosados pelo reagente de Folin-Denis, segundo Reicher *et al.* (1981). Uma alíquota de 1 mL foi retirada da amostra e adicionada a 2,5 mL do reagente de Folin-Denis e a 5 mL de Na_2CO_3 20%, em um balão volumétrico de 50ml, cujo volume foi completado com água destilada. As amostras foram agitadas e deixadas em repouso por 30 min, e as absorbâncias lidas em um espectrofotômetro a 720 nm.

5.1.3.6. Determinação de Carotenóides Totais

Os carotenóides totais de SCM e SCV foram determinados pelo método de Higby (1962). Em erlenmeyer de 250 mL, foram colocados 10 mL de suco, 30 mL de álcool isopropílico e 10 mL de hexano, seguido de agitação por 1 min. A solução foi transferida para funil de separação de 125 mL envolvido em papel alumínio, onde ajustou-se o volume com água. Após repouso por 30 minutos, procedeu-se a lavagem do material retirando a fase aquosa e deixando a fase de cor amarela. Repetiu-se esta operação por mais 2 vezes. Filtrou-se o conteúdo com algodão pulverizado com sulfato de sódio anidro para um balão volumétrico de 50 mL envolto em papel alumínio, onde foram adicionados à solução, 5 mL de acetona ajustando-se o volume com hexano. O branco foi composto de 5 mL de acetona e 45 mL de hexano. As leituras foram feitas a 450 nm e os resultados expressos em mg/100 g, calculados através da fórmula:

$$\text{Carotenóides Totais (mg\%)} = \text{D.O.} \times 2.$$

5.2. Estudo do potencial anti-inflamatório do caju

5.2.1 Avaliação do potencial anti-inflamatório dos sucos de caju de frutos verdes e maduros, em modelo de edema de orelha.

O efeito anti-inflamatório do pré-tratamento com SCM e SCV foi avaliado usando o modelo de edema de orelha induzido por xileno conforme Akindele & Adeyemi, (2007) com algumas modificações.

5.2.1.1. Grupos experimentais

Os animais foram alocados aleatoriamente e divididos em 4 grupos (n=8):

Grupo H₂O – animais que receberam por via i.g. 200 uL de água durante 30 dias consecutivos;

Grupo DEXA – animais que receberam por via i.g. dexametasona (5 mg/ Kg) como droga de referência durante 3 dias.

Grupo SCM - animais alimentados por via i.g. com 200 µL de suco de caju maduro durante 30 dias consecutivos;

Grupo SCV - animais alimentados por via i.g. com 200 µL de suco de caju verde durante 30 dias consecutivos;

Para induzir o edema de orelha 50 µL de xileno nas faces interna (25 µL) e externa (25 µL) da orelha direita foram aplicados em todos os grupos. A espessura da orelha foi mensurada antes e 1 hora após a indução da resposta inflamatória usando um micrômetro (Mitutoyo Serie 293), aplicado próximo a ponta distal da cartilagem da orelha. O edema foi expresso como aumento da espessura (mm) da orelha induzido após o desafio inflamatório (Edema (mm) = Δespessura depois - Δespessura antes). A espessura da orelha direita de cada animal antes da aplicação do xileno foi usada como controle neste ensaio. A atividade anti-inflamatória foi expressa como a percentagem de inibição do edema induzida pelos tratamentos com SCM, SCV e DEXA (controle positivo) em comparação ao grupo não tratado, H₂O - controle negativo (DE YOUNG *et al.*, 1989).

5.3. Avaliação do potencial cicatrizante do caju

5.3.1. Avaliação do efeito da suplementação com os sucos de caju, de frutos verdes e maduros, na cicatrização de camundongos

Para avaliação do potencial cicatrizante do caju em lesões cutâneas de camundongos, foi realizado experimento que consistiu da suplementação dietética durante 35 dias com SCM e SCV. O tratamento foi feito antes da indução da ferida (pré-tratamento durante 14 dias consecutivos) e após a cirurgia (tratamento durante 21 dias consecutivos). O desenho experimental foi delineado com finalidade de avaliar o percentual de contração da ferida e tempo de completa cicatrização através da mensuração da área não cicatrizada e para

comparar a eficácia dos tratamentos em relação ao controle negativo e à suplementação de referência utilizada no mercado. Adaptado de Collard & Roy., (2010).

5.3.1.1. Grupos experimentais

Os animais foram alocados aleatoriamente e divididos em quatro grupos (n= 10):

Grupo H₂O - animais que receberam por via i.g. 200 µL de água;

Grupo REF - animais que receberam por via i.g. 200 uL da suplementação de referência para cicatrização.

Grupo SCM- animais alimentados por via i.g. com 200 µL de suco de caju maduro;

Grupo SCV- animais alimentados por via i.g. com 200 µL de suco de caju verde;

5.3.1.2. Suplementação de referência na cicatrização

A amostra de suplementação oral de referência utilizada no grupo REF, controle positivo, foi obtida comercialmente e representa uma nutrição complementar para pacientes com úlceras de decúbito (Decubital ®). Apresenta variada composição nutricional (Tabela 3). Seu uso se justifica pelo seu alto teor em arginina (1,5 g/100 mL de bebida pronta), um nutriente condicionalmente essencial em situações de reparo tecidual além de apresentar outros componentes antioxidantes, como vitaminas e minerais, que juntos agem desempenhando papel importante no processo de cicatrização acelerando o reparo tissular. Tal suplemento em pó foi preparado dissolvendo-se seu conteúdo em água destilada até completa homogeneização segundo recomendações do fabricante e prontamente administrado via oral ao grupo REF, por 21 dias consecutivos imediatamente a partir do início da lesão cutânea (após a cirurgia).

TABELA 3 - Composição nutricional do suplemento para cicatrização Decubital®.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL			
Porção de 90g/210mL			
Nutrientes*, unidades	100g	% VD (**)	100 mL de bebida pronta
Valor energético, Kcal	440 Kcal	22	130 Kcal
Maltodextrina, g	48	***	14
Caseinato de cálcio e sódio, g	20	***	5,9
Proteínas do soro do leite, g	5,0	***	1,5
L-arginina, g	5,0	***	1,5
Gorduras saturadas, g	7,0	32	2,1
Gorduras monoinsaturadas, g	4,0	***	1,2
Sódio, mg	100	4,2	30
Cálcio, mg	200	20	59
Ferro, mg	5,0	36	1,5
Potássio, mg	400	***	118
Cloreto, mg	200	***	59
Fósforo, mg	200	29	59
Magnésio, mg	100	38	30
Zinco, mg	5,0	71	1,5
Cobre, mcg	50	111	15
Vitamina C, mg	20	44	5,9
Vitamina E (alfa-tocoferol), mg	5,0	50	1,5
Vitamina A, mcg	890	148	263
Vitamina K1, mcg	20	31	5,9
Vitamina D3, mcg	5,0	100	1,5
Ácido fólico, mcg	50	13	15

*Maioria dos ingredientes presentes na formulação. **Valores diários baseados em uma dieta de 2000 Kcal. ***VD não estabelecida. Fonte ANVISA – RDC N° 360 de 23/12/2003 e RDC N° 269 de 22/09/2005.

5.3.1.3. Procedimentos cirúrgicos

Todos os animais foram pesados e, posteriormente, anestesiados com cloral hidratado (1 g/kg, i.p.). Após a anestesia, os animais foram posicionados em decúbito ventral e submetidos à tricotomia na região dorsal. Após tricotomia, foi realizada em cada animal uma ferida, por excisão usando um molde de área 1 cm x 1 cm, de espessura total, envolvendo epiderme, derme e subcutâneo até exposição da face muscular (TRAMONTINA *et al.*, 2002).

5.3.1.4. Observações macroscópicas e análises morfométricas

As lesões foram observadas diariamente, considerando os seguintes parâmetros: edema, hiperemia, exsudato, tecido de granulação e re-epitelização. Para mensuração das áreas de contração das feridas, foi realizada planimetria nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 do pós-operatório (DALAZEN *et al.*, 2005). As feridas foram fotografadas com câmera digital e depois reproduzidas sobre papel transparente com caneta de retroprojektor.

As áreas obtidas foram digitalizadas usando escâner e comparadas com a quantidade de pixels dentro do perímetro de uma área conhecida usando a seguinte expressão matemática: $W_a = (K_a \times N_w) / N_k$, onde W_a = área da ferida, K_a = área conhecida, N_w = número de pixels dentro da área da ferida e N_k = número de pixels dentro da área conhecida. Assim, a área da ferida não cicatrizada e o percentual de contração foram calculados (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

5.3.1.5. Análises histopatológicas

Foram coletados fragmentos de pele nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 do pós-operatório. Os animais foram anestesiados com cloral hidratado (1 g/kg, i.p.) e as amostras de pele foram coletadas utilizando-se um punch de 5 mm. Em seguida, foram identificadas individualmente, fixadas em formol tamponado a 10% e processadas por técnicas histológicas convencionais. .

Foram obtidos cortes de 4 mm de espessura, sendo corados por hematoxilina-eosina (HE), para avaliação global dos tecidos. Posteriormente, os cortes histológicos foram

analisados, em estudo duplo cego, por um patologista, utilizando microscópio óptico com aumento de 400x e 1000x. A intensidade dos achados de HE foi analisada segundo os seguintes critérios: proliferação vascular ou neovascularização (NV), proliferação fibroblástica (PF), contagem de células mononucleares (MNC), polimorfonucleares (PMN), ulceração (U) e re-epitelização (RE). Os resultados foram expressos em escores para proliferação vascular, proliferação fibroblástica, contagem de células mononucleares e polimorfonucleares e em presente ou ausente para ulceração e re-epitelização (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

5.4. Estatística

Os resultados foram expressos como média e erro padrão. Todos os cálculos foram realizados usando o programa Graph-Pad PRISMA 5.0. Para avaliar as diferenças significativas entre as médias dos diferentes grupos nos tratamentos indicados foi aplicado o *U*-teste Mann-Whitney, para os resultados obtidos no ensaio anti-inflamatório e para os resultados obtidos no ensaio cicatrizante foi aplicado o teste, análise de variância, (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas com um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1. Capacidade Antioxidante Total

A figura 7 mostra a capacidade antioxidante total dos sucos de caju maduro (SCM) e de caju verde (SCV). Os valores dessa atividade foram expressos em μM Trolox/ g de amostra e representam as médias de análises realizadas em triplicata de dois experimentos independentes. O SCM revelou uma atividade aproximadamente duas vezes superior ao encontrado para SCV, isto é, $85 \pm 7 \mu\text{M}$ Trolox/ mg e $45,5 \pm 4 \mu\text{M}$ Trolox/ mg, respectivamente.

6.2. Antioxidantes não-enzimáticos

A tabela 4 mostra a composição fitoquímica de antioxidantes não enzimáticos nos sucos de caju de pseudofrutos maduros e verdes. Os resultados obtidos para o SCM revelaram valores médios de polifenóis totais $38,30 \pm 1,78 \text{ mg} / 100\text{g}$; antocianinas $2,05 \pm 0,03$; flavonóides amarelos $3,92 \pm 0,03$; conteúdo total de vitamina C $86,22 \pm 0,21$ e carotenóides $0,389 \pm 0,02$. Já no SCV, os valores médios encontrados foram: polifenóis totais $14,84 \pm 0,21$; antocianinas $0,69 \pm 0,07$; flavonóides amarelos $2,00 \pm 0,17$; conteúdo total de vitamina C $60,45 \pm 0,55$ e carotenóides $0,214 \pm 0,01$. Os antioxidantes não-enzimáticos dosados para SCM foram superiores quando comparados ao SCV revelando um aumento de 61% para polifenóis totais, 66% para antocianinas, 49% para flavonóides amarelos, 30% para conteúdo total de vitamina C e 50% para carotenóides.

6.3. Conteúdo de Compostos fenólicos

O conteúdo de compostos fenólicos presentes no SCM e no SCV está apresentado na Figura 8. Os valores foram expressos em mg/ 100 g de amostra e representam as médias de

análises realizadas em triplicata de dois experimentos independentes. Para o suco de caju maduro, os valores dos compostos fenólicos diméricos, oligoméricos e poliméricos foram respectivamente $42 \pm 0,07$ mg/100 g, $33,7 \pm 0,02$ mg/100 g e $36,7 \pm 0,06$ mg/100 g. Para o suco de caju verde os respectivos valores foram $26,7 \pm 0,06$ mg/100g, $24,7 \pm 0,01$ mg/100g e $23,7 \pm 0,02$ mg /100g. Tais resultados mostram que houve diferença quanto aos teores de compostos fenólicos sendo maiores no SCM comparado ao SCV.

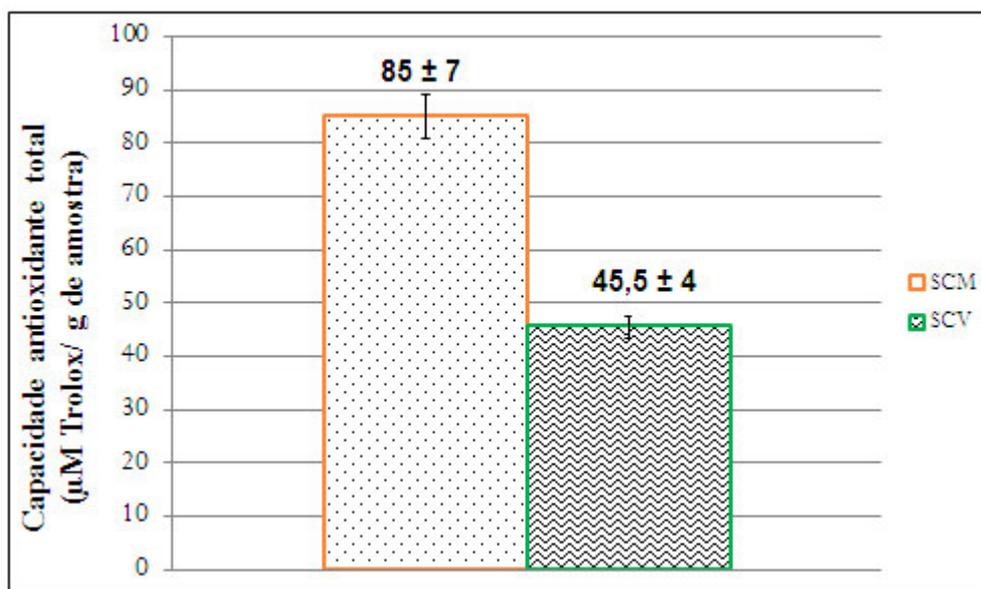


FIGURA 7 - Capacidade antioxidante total em suco de caju maduro (SCM) e suco de caju verde (SCV). Os valores dessa atividade foram expressos em μM Trolox/ g de amostra e representam as médias de análises realizadas em triplicata de dois experimentos independentes.

TABELA 4 - Composição fitoquímica de antioxidantes não-enzimáticos em suco de caju maduro e suco de caju verde.

Antioxidante não-enzimáticos* mg/100 g de amostra	Suco de caju maduro (SCM)	Suco de caju verde (SCV)	Diferença percentual entre SCM e SCV
Polifenóis Totais	38,30 ± 1,78	14,84 ± 0,21	61%
Antocianinas	2,05 ± 0,031	0,69 ± 0,07	66%
Flavonóides amarelos	3,92 ± 0,03	2,00 ± 0,17	49%
Vitamina C	86,22 ± 0,21	60,45 ± 0,55	30%
Carotenóides	0,389 ± 0,02	0,214 ± 0,01	50%

*Resultados expressos como média ± erro padrão da média de análises realizadas em triplicata de dois experimentos independentes.

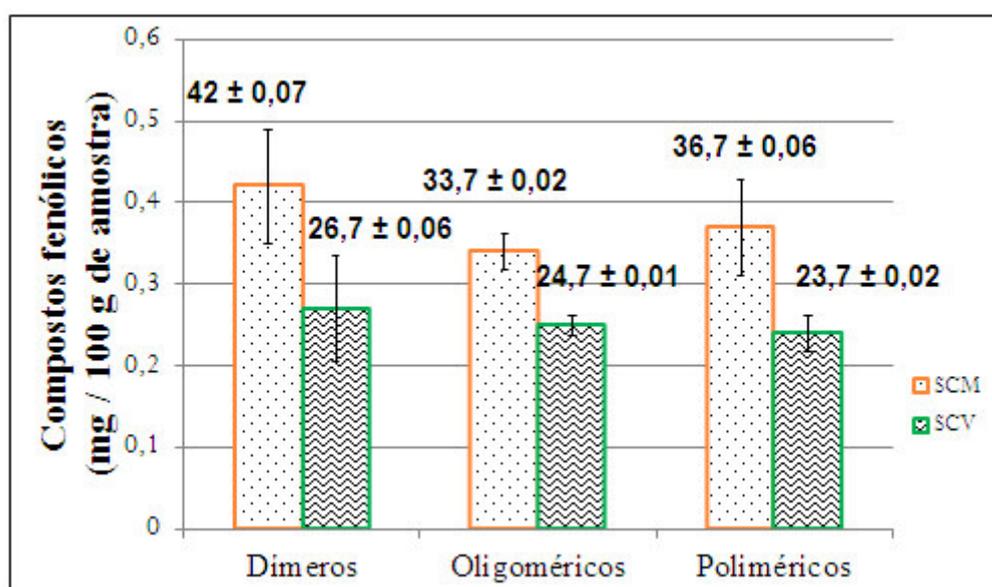


FIGURA 8 - Conteúdo de compostos fenólicos em suco de caju maduro (SCM) e suco de caju verde (SCV). Os valores foram expressos em mg/ 100g de amostra e representam as médias de análises realizadas em triplicata de dois experimentos independentes.

6.4. Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o processo inflamatório

A Tabela 5 mostra o efeito do suco de caju maduro e do suco de caju verde sobre o edema de orelha induzido por xileno.

O potencial anti-inflamatório dos grupos SCM e SCV foi avaliado em relação aos grupos água e Dexametasona. Para os grupos H₂O e DEXA os valores do edema foram de 56.7 ± 14.9 mm e 14.4 ± 6.9 mm, respectivamente. Já para os grupos suco de caju maduro e suco de caju verde, os valores do edema foram 51.0 ± 7.2 μ m e 19.0 ± 7.15 μ m, respectivamente. O percentual de inibição do edema de orelha foi 75% para o grupo DEXA, 10.1% para grupo SCM e 66.5% para grupo SCV.

Os grupos DEXA e SCV apresentaram as menores medidas estimadas para os edemas e os maiores percentuais de inibição da inflamação quando comparados com os grupos H₂O e SCM revelando que o SCV apresenta maior atividade anti-inflamatória.

TABELA 5 - Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o edema de orelha induzido por xileno.

Grupos	Edema (mm)	Inibição (%)
Água (H ₂ O)	56.7 ± 14.9^b	-
Dexametasona (DEXA)	14.4 ± 6.9^a	$75 \pm 4,46^a$
Suco de Caju Maduro (SCM)	51.0 ± 7.2^b	$10,01 \pm 3,8^b$
Suco de Caju Verde (SCV)	19.0 ± 7.15^a	$66,5 \pm 3,69^a$

Edema (mm) = Δ espessura depois - Δ espessura antes. Os valores correspondem a média \pm Desvio Padrão (n=8) do edema de orelha para os diferentes grupos bem como o percentual de inibição da inflamação calculado em relação ao grupo H₂O (100 % de inflamação). Diferentes letras indicam diferença significativa entre grupos (P < 0.05).

6.5. Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre o processo de cicatrização

6.5.1. Morfometria

A tabela 6 mostra os valores médios (n=6) das áreas das feridas dos grupos água (H₂O) como controle negativo, referência (REF) suplemento alimentar de cicatrização sendo controle positivo, suco de caju maduro (SCM) e suco de caju verde (SCV) nos dias de pós-operatório (DPO), 0, 3, 7, 14, 21. Esses resultados estão correlacionados com os da figura 12 que mostra o efeito do suco de caju maduro e suco de caju verde na contração da ferida nos dias 3, 7, 14, 21.

O processo de cicatrização de todos os grupos apresentou evolução normal no qual a área não cicatrizada da ferida decresceu enquanto que o percentual de contração aumentou ao longo dos dias. O valor médio do tamanho das feridas de todos os grupos no dia zero apresentou área em torno de 100 mm².

No 3º após indução das feridas (DPO) os valores de suas áreas para os grupos água e referência foram semelhantes, isto é, 88 e 81 mm² respectivamente. Os grupos SCM e SCV apresentaram as referidas áreas de 117 e 90 mm², indicando que o SCV tende a diminuir a área da ferida em relação ao SCM. O valor médio do percentual de contração das áreas das feridas para os grupos água e de referência foram também semelhantes, ou seja, 14,09% e 13,64% em relação à área inicial (dia zero). Já para os grupos tratados (SCM e SCV), apresentaram menor contração da área das feridas quando comparados aos grupos controles sendo menor para o grupo SCM (1,36%) quando comparado ao SCV (6,73%) sendo compatível com os resultados das áreas das feridas.

No 7º DPO as feridas do grupo referência apresentaram menor área ($67,64 \pm 5,65$ mm²) em relação ao grupo água ($82,58 \pm 4,80$ mm²), e os grupos SCM ($100,70 \pm 3,77$ mm²) e SCV ($84,20 \pm 4,67$ mm²). Os grupos SCM e SCV quando comparados entre si e entre os grupos controle revelaram uma tendência do grupo SCV em diminuir a área da ferida em relação ao grupo SCM sendo semelhante ao grupo H₂O, no tocante ao percentual de contração, os grupos H₂O e REF apresentaram maiores valores, isto é, 20,0% e 28,14% respectivamente quando comparados aos grupos SCM (12,9%) e SCV (13,42%), não diferindo estatisticamente.

No 14º DPO a área da ferida no grupo REF ($12,38 \pm 2,75 \text{ mm}^2$) é aproximadamente 4 vezes menor que a do grupo água ($45,68 \pm 3,87 \text{ mm}^2$) e a mesma proporção foi encontrada quando se comparou o grupo SCM ($44,10 \pm 10,69 \text{ mm}^2$) com SCV ($13,60 \pm 1,83 \text{ mm}^2$), pondo-se em evidência que o grupo SCV é semelhante ao grupo REF e o SCM ao grupo água. O percentual de contração dos grupos REF e SCV foram semelhantes (85,01% e 86,31%) e maiores que o do grupo água (55,78%) e SCM (67,54%) dia 14.

No 21º DPO a proporção da área da ferida entre os grupos REF ($0,70 \pm 0,33 \text{ mm}^2$) e água ($2,98 \pm 1,49 \text{ mm}^2$) manteve-se aproximadamente a mesma do dia 14º DPO (em torno de 4 vezes menor) mas nos grupos SCV ($0,20 \pm 0,09 \text{ mm}^2$) e SCM ($4,32 \pm 2,53 \text{ mm}^2$) a diminuição da área da ferida foi em torno de 21 vezes maior para o grupo SCV.

Ao longo de 21 dias, o percentual de contração das feridas foi aproximadamente 100% para todos os grupos.

TABELA 6 - Efeito dos sucos de caju maduro e verde sobre a área da ferida

Dia	Área não cicatrizada (mm^2)			
	H ₂ O	REF	SCM	SCV
0	$102,82 \pm 3,70^a$	$94,24 \pm 3,30^a$	$113,56 \pm 8,72^a$	$97,13 \pm 4,93^a$
3	$88,16 \pm 3,73^a$	$81,38 \pm 3,63^a$	$117,98 \pm 4,33^b$	$90,03 \pm 3,24^b$
7	$82,58 \pm 4,80^a$	$67,64 \pm 5,65^a$	$100,70 \pm 3,77^a$	$84,20 \pm 4,67^a$
14	$45,68 \pm 3,87^a$	$12,38 \pm 2,75^a$	$44,10 \pm 10,69^a$	$13,60 \pm 1,83^a$
21	$2,98 \pm 1,49^a$	$0,70 \pm 0,33^a$	$4,32 \pm 2,53^a$	$0,20 \pm 0,09^a$

Resultados expressos como médias \pm Erro Padrão (n=6). Diferentes letras na mesma linha indicam diferença significativa de área não cicatrizada entre grupos (P < 0.05).

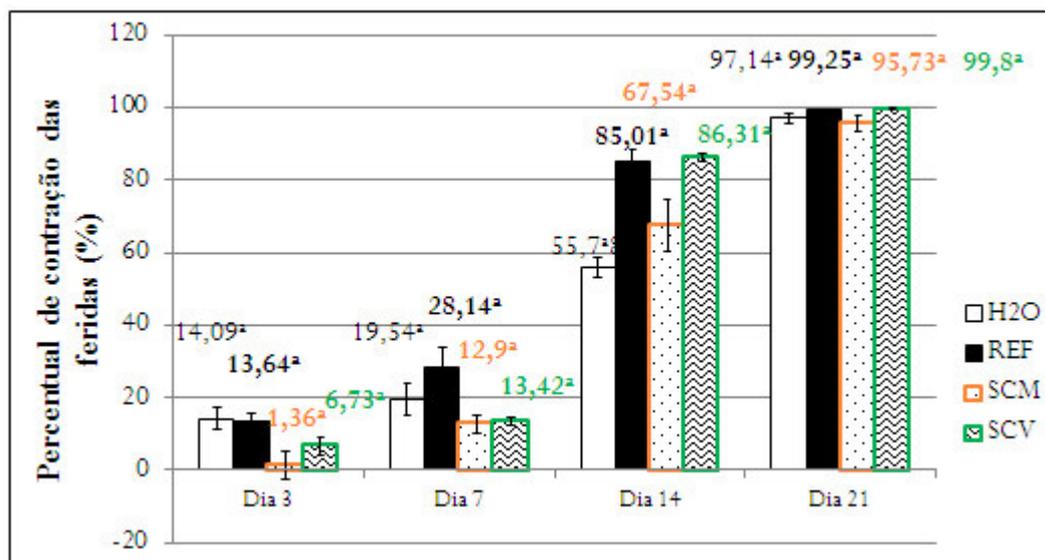


FIGURA 9 - Efeito dos sucos de caju maduro e verde na contração da ferida nos dias de pós-operatório (DPO). Os resultados expressos em percentual de contração (%) não foram significativamente estatísticos em relação aos tratamentos usados nos grupos experimentais ($p > 0,05$).

6.5.2. Avaliação macroscópica

A análise macroscópica da evolução do processo de cicatrização de feridas durante 21 dias dos grupos H₂O, REF, SCM e SCV está representada na Figura 10.

3º DPO: Os animais do grupo H₂O exibiram feridas secas, levemente edemaciadas e hiperêmicas. No grupo REF, 70% dos animais apresentaram feridas secas e retraídas nas quais 100% possuíam tecido de granulação bem fino nas bordas. No tratamento com SCM 70% os animais apresentaram feridas secas, hiperêmicas, com pequena retração além de tecido de granulação espesso e bem formado nas bordas. No tratamento com SCV as feridas estavam secas e retraídas. Nos animais dos grupos REF e SCV, não havia edema e hiperemia.

7º DPO: De modo geral, as feridas do grupo H₂O possuíam tecido de granulação escurecido, espesso e exuberante com alguns desprendimentos nas bordas e sinais de coagulação apesar das feridas estarem secas, sem exsudação. O grupo REF apresentou melhor aspecto quando comparado ao grupo H₂O, pois as feridas apresentaram-se secas, sem exsudação além de retraídas e com tecido de granulação de aspecto normal. Ambos os tratamentos (SCM e SCV) apresentaram feridas secas, limpas e com tecido de granulação

com aspecto normal. Entretanto, o grupo SCV revelou maior retração das feridas que o grupo SCM.

14º DPO: As crostas das feridas nos grupos H₂O e SCM ainda eram intensas. Os grupos REF e SCV exibiam crostas discretas, e 20% dos animais do grupo SCV não apresentava crosta, revelando tecido reepitelizado. O grupo H₂O apresentou feridas com TG espesso e desprendimento de crosta nas bordas. No grupo REF, as feridas estavam secas, retraídas e com tecido de granulação normal. O grupo SCV apresentava aspectos semelhantes ao grupo REF, com feridas bem retraídas e ainda 20% delas em processo final da cicatrização. Já o grupo SCM, exibia feridas com tecido de granulação espesso e sem retração notória.

17 e 21º DPO: Após 17 dias de pós-operatório, o grupo SCV apresentou cicatrização completa da ferida cutânea em aproximadamente 100% dos animais ao passo que nos demais grupos, 20% dos animais encontravam-se na fase final de cicatrização. Já com 21 dias a maioria das feridas dos quatro grupos encontrava-se fechadas e completamente reepitelizadas. As feridas dos animais dos grupos REF, SCM e SCV não apresentavam mais crostas, contudo, as cicatrizes no grupo SCM mostraram-se branco-acinzentadas e com descamação superficial. Já nos animais dos grupos REF e SCV, as cicatrizes apresentavam uma coloração branco-rósea, sem descamação.

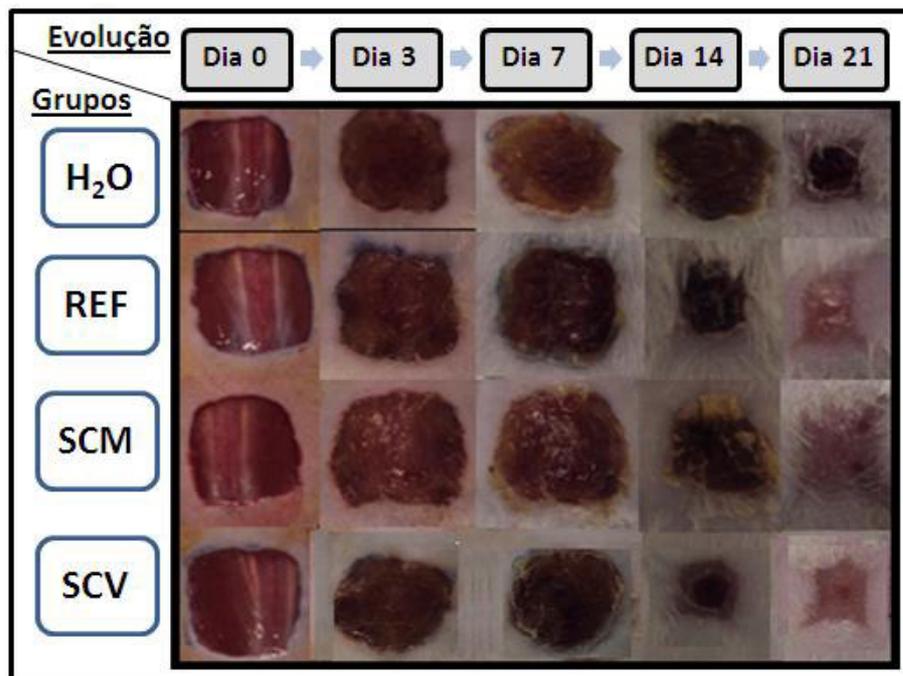


FIGURA 10 - Aspectos macroscópicos do processo de cicatrização em função dos dias de tratamento. Grupos: Água (H₂O), Referência (REF), Suco de Caju Maduro (SCM) e Suco de Caju Verde (SCV) em 0, 3, 7, 14 e 21 dias.

6.5.3. Estudo Histológico

Os resultados da avaliação histológica do processo de cicatrização nos diferentes grupos estão apresentados na Tabela 7. Seções microscópicas dos cortes histológicos de tecidos em função dos tratamentos durante o processo de cicatrização encontram-se apresentadas na Figura 11a.

No pós-operatório (dia zero), não foram evidenciadas (Figura 11b) alterações estruturais em seções de cortes histológico de biópsias coletadas de todos os grupos, razão pelo qual não está apresentado na tabela 7.

3º DPO: Os grupo H₂O e SCM apresentavam infiltrado inflamatório e edema intensos. No grupo H₂O, além da presença de neutrófilos e eosinófilos, o infiltrado inflamatório teve predominância de macrófagos e linfócitos apresentando também discreta hemorragia e presença de ulceração. O grupo REF apresentou edema discreto, infiltrado inflamatório moderado para ambas células polimorfonucleares e mononucleares. Já o grupo SCV apresentou edema moderado e infiltrado inflamatório intenso. Os infiltrados inflamatórios observados para os grupos REF e SCV estavam localizados mais na região basal do tecido conjuntivo, porém sem congestão para ambos grupos. Tais grupos revelaram moderada proliferação de fibroblastos com destaque para o grupo REF que foi o único a apresentar uma alta capacidade de re-epitelização com poucos dias do pós-operatório, quando comparada aos outros grupos.

7º DPO: Foi verificado edema moderado nos grupos H₂O e SCM. Havia presença de re-epitelização e ausência de ulceração nos grupos nos grupos REF e SCV. Já os grupo H₂O e SCM não apresentavam re-epitelização e a área de úlcera ainda estava presente apenas no grupo SCM. O grupo H₂O, apresentou intensa proliferação de fibroblastos. Já para o grupo REF a proliferação de fibroblastos foi moderada. Em geral, a proliferação dos fibroblastos foi verificada como principal atividade no 7º dia sendo intensa nos grupos SCM e SCV. A neovascularização estava presente em todos os grupos: discreta para grupo H₂O, intensa para REF e moderada para os grupos SCM e SCV.

14º DPO: Foi observado edema discreto no grupo H₂O e moderado no grupo SCM com predomínio moderado de células mononucleares. Foi evidente ausência de ulceração já evidente em todos os grupos. Todos os grupos apresentavam re-epitelização do tecido.

21° DPO: Foi observado ausência de edema em todos os grupos. Neovascularização foi intensa para a maioria dos grupos, exceto para o grupo H₂O, com presença moderada de novos vasos. Foi observado que os tratamentos aplicados aos grupos SCM e SCV, não induziram congestão e necrose nas áreas das feridas durante o período de estudo.

TABELA 7 - Avaliação histológica do processo de cicatrização nos diferentes grupos ao longo dos dias de tratamento.

Tratamento por dia de biópsia	Processo de Cicatrização						
	Ed	PMN	MNC	FP	NV	RE	U
Dia 3							
H ₂ O	+++	++	+++	+	-	-	+
REF	+	++	++	++	-	-/+	-/+
SCM	+++	++	+++	+	-	-	+
SCV	++	+++	+++	++	-	-	+
Dia 7							
H ₂ O	++	+	++	+++	+	-	-
REF	-	-	+++	++	+++	+	-
SCM	++	+	++	+++	++	-	+
SCV	-	-	+++	+++	++	+	-
Dia 14							
H ₂ O	+	-	++	+++	++	+	-
REF	-	-	+	+++	+++	+	-
SCM	++	+	++	+++	+++	+	-
SCV	-	-	+	+++	++	+	-
Dia 21							
H ₂ O	-	-/+	-/+	+++	++	+	-
REF	-	-	+	+++	+++	+	-
SCM	-	-	++	+++	+++	+	-
SCV	-	-	+	+++	+++	+	-

Seções coradas com hematoxilina e eosina foram pontuadas como discreto (+), moderado (++) e severo (+++) para remodelação epidérmica e/ou dérmica. Re-epitelização e ulceração foram pontuadas como presente (+) e ausente (-). Ed: edema; PMN: células polimorfonucleares; MNC: células mononucleares; FP: proliferação de fibroblastos; NV: neovascularização; RE: re-epitelização; U: ulceração.

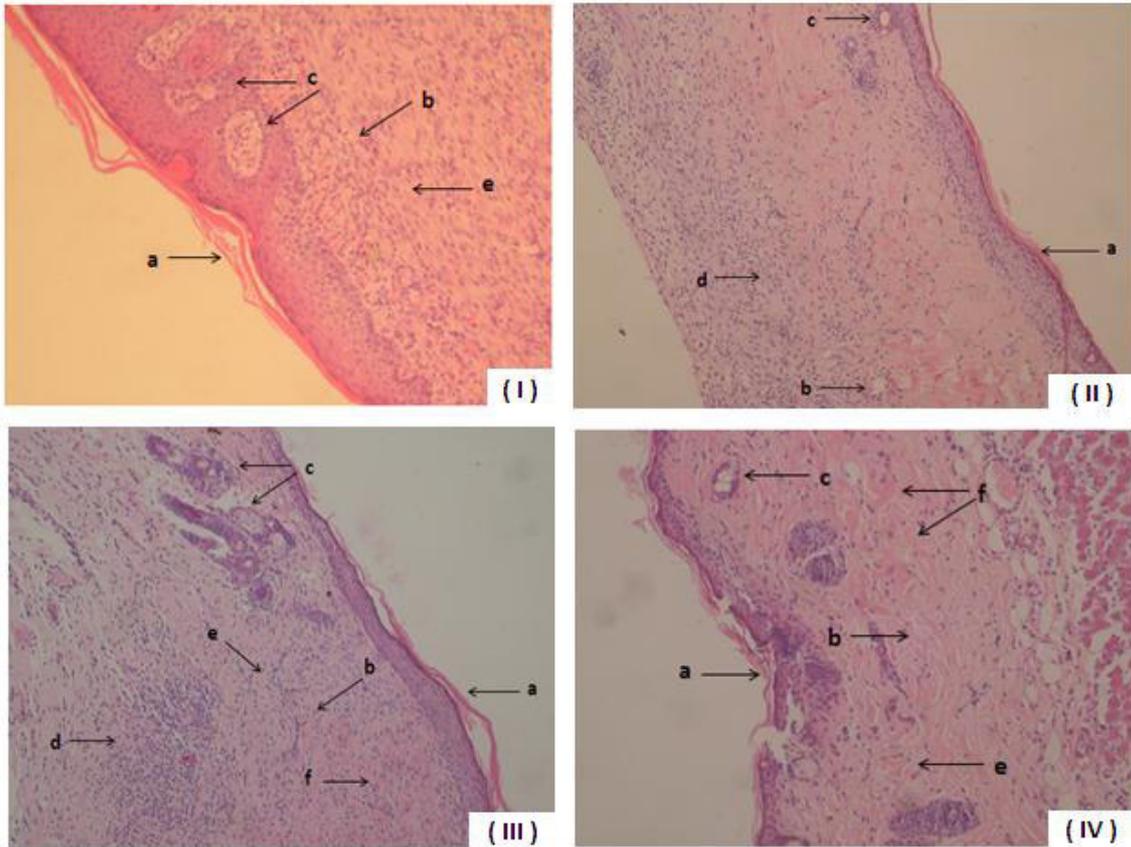


FIGURA 11a - Aspectos microscópicos de cicatrização nos diferentes grupos de tratamento no 14º dia de pós-operatório. (a) re-epitelização da epiderme com queratina; (b) neovascularização; (c) formação de folículo piloso; (d) foco inflamatório; (e) proliferação de fibroblastos; (f) reorganização das fibras colágenas. Aumento: 100x.

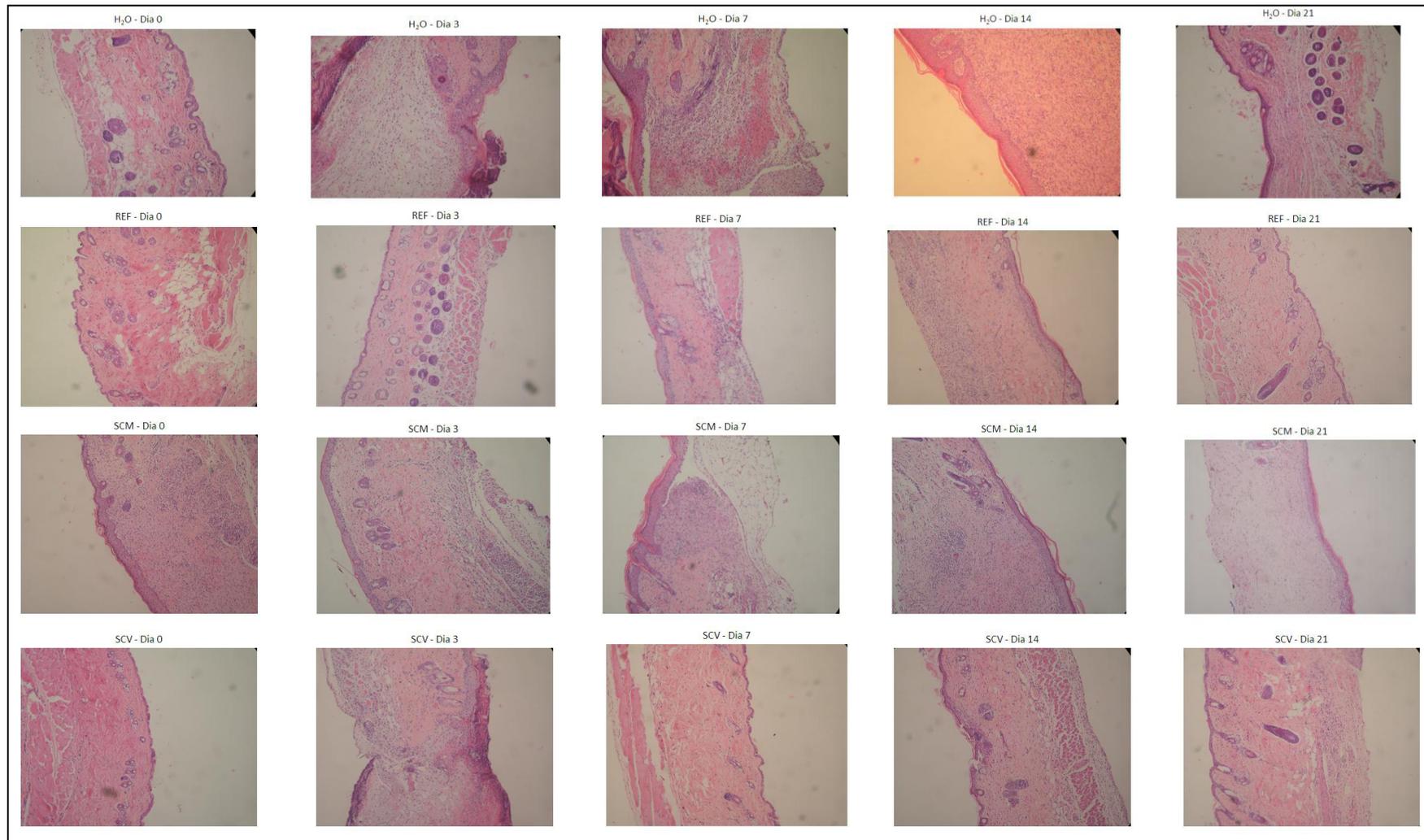


FIGURA 11b – Seções de cortes histológicos de todos os grupos durante o processo de cicatrização

7. DISCUSSÃO

Analisando os resultados observou-se maior capacidade antioxidante total nas amostras de SCM em relação ao SCV. Os conteúdos de polifenóis totais, vitamina C, flavonóides amarelos, antocianinas e carotenóides também foram maiores SCM que no SCV. Pelos resultados obtidos verifica-se diferenças no perfil fitoquímico de sucos de caju em diferentes estágios de maturação, apresentando maior teor desses componentes nos estágio 6, quando o pseudofruto encontra-se maduro. A presença das substâncias responsáveis pelo perfil fitoquímico está associada a maior capacidade antioxidante e de remoção de radicais livres deste suco. Seu perfil fitoquímico revela uma complexa fonte natural de antioxidantes, compostos que fazem deste suco um excelente alvo para neutralizar espécies de radicais livres, inibir sua formação e prevenir danos a componentes celulares e subsequente morte celular (MELO-CAVALCANTE *et al.*, 2003; OLSSON *et al.*, 2004; SUN *et al.*, 2002).

Simões *et al.* (2001) avaliaram o conteúdo de vitamina C ao estudarem a composição química de pedúnculos de caju CCP-76 em diferentes estádios de desenvolvimento. Os resultados revelaram que o pedúnculo de caju CCP-76 imaturo apresentou diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento, com maiores conteúdos de vitamina C (240,44 mg/100g) do que no fruto maduro, evidenciando que os frutos sofrem diversas transformações ao longo do período de desenvolvimento e crescimento. Dados semelhantes foram verificados por Figueiredo (2000), ao avaliar pedúnculos de cajueiro anão precoce CCP-76, com diferença significativa nos teores de vitamina C total, carotenóides, antocianinas e outros compostos fenólicos durante o desenvolvimento e maturação apresentando aumento contínuo com o decorrer do amadurecimento.

Os taninos são uma classe de compostos fenólicos e classificam em hidrolisáveis (fenólicos dímeros e oligoméricos) e condensados (KHANDABABAEI; REE, 2001). Pesquisas sobre atividade biológica dos taninos evidenciaram ação anti-inflamatória e cicatrizante. Sabe-se que a maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (MELLO; SANTOS, 2001). Os fenólicos poliméricos são melhor extraídos por água, enquanto os oligoméricos, são extraídos por metanol 50%. Já os compostos fenólicos de menor tamanho, os dímeros, são mais facilmente separados em

metanol puro (REICHER *et al.*, 1981). Os resultados dos compostos fenólicos, da mesma forma que os outros constituintes analisados nos sucos, revelaram maior conteúdo para fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos no SCM do que no SCV. Refletindo aumento no conteúdo de taninos hidrolisáveis durante o amadurecimento do pedúnculo de caju. Dados semelhantes também foram obtidos por Alves *et al.* (1999) que encontraram aumento gradual no conteúdo de taninos com o amadurecimento do fruto, em trabalho realizado com pedúnculos de clone de cajueiro anão-precoce CCP-76. Contrastando com os resultados dessa pesquisa, Sondhi e Pruthi (1980) observaram uma redução acentuada no conteúdo de taninos com o amadurecimento do pedúnculo. Figueiredo (2000) justifica que plantas diferentes cultivadas em regiões distintas, assim como uso de métodos distintos para a determinação dos citados compostos, explicam em parte as divergências encontradas.

Na pós-colheita de frutos, o amadurecimento é a fase mais estudada principalmente por ser nessa fase que as mudanças na composição dos frutos ocorrem com mais intensidade (BRON, 2006). A destruição acentuada das clorofilas e a síntese paralela de pigmentos carotenóides e antocianinas são responsáveis pelas modificações de cor na maioria dos frutos, sendo o mais óbvio sintoma de amadurecimento (MATTOO *et al.*, 1975; PATTERSON, 1970). Tais pigmentos acumulados nos estádios finais de maturação proporciona uma aparência atrativa característica do pedúnculo maduro, apresentando, porém, grande variação entre os diferentes tipos de frutos (FIGUEIREDO, 2000; MOURA, 2004). Essa fase que ocorre no final do desenvolvimento e início da senescência do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005), parece ser um processo coordenado de eventos bioquímicos e reorganizações metabólicas, sendo considerado um processo irreversível. As mudanças na composição antioxidante dos sucos de caju verde e maduro, obtidas em nosso trabalho, podem estar relacionadas com o aumento do metabolismo e taxa respiratória do fruto, favorecendo a produção de radicais livres, que por sua vez direciona a produção dos antioxidantes não-enzimáticos, componentes da capacidade antioxidante total no fruto maduro, refletida em seu suco.

O efeito protetor contra radicais livres exercido por frutos tem sido atribuído à presença de fitoquímicos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam os polifenóis (KAUR; KAPOOR, 2002). Para verificar se os compostos bioativos presentes no caju (vitamina C, carotenoides, antocianinas, flavanóis e polifenóis totais) contribuíam diretamente para a atividade antioxidante total do fruto, Abreu (2007) observou uma correlação direta apenas para os compostos polifenóis totais e vitamina C, sendo a correlação bem maior para os

polifenóis, mostrando que esses componentes contribuem em maior quantidade para a ação antioxidante do pedúnculo de caju.

Com o objetivo de avaliar as atividades biológicas e funcionais dos sucos de caju verde e maduro procedeu-se a investigação do potencial anti-inflamatório através do edema de orelha induzido por xileno e do potencial cicatrizante dessa fruta regional em lesões cutâneas pelo modelo de excisão de feridas em camundongos.

No modelo de inflamação aguda induzida por xileno, ambos sucos de caju verde e maduro apresentaram atividade anti-inflamatória, quando comparados ao controle negativo e a droga de referência. Porém a maior atividade anti-inflamatória foi observada nos animais tratados com o suco de caju verde, uma vez que o mesmo não diferiu da dexametasona ($p > 0.05$) enquanto o suco de caju maduro diferiu ($p < 0.05$). Ademais, o efeito do suco de caju verde foi significativamente distinto quando comparado ao suco maduro ($p < 0.05$).

Neste ensaio de inflamação a alta capacidade antioxidante apresentada pelo suco de caju maduro, não foi suficiente para potencializar uma ampla resposta anti-inflamatória. Considerando o pré-tratamento deste suco durante 30 dias consecutivos, espera-se que o nível de substâncias antioxidantes nos organismos dos animais deste grupo estejam altos e atuem internamente neutralizando radicais livres ou modulando fatores ligados a inflamação, porém, os resultados sugerem que os altos teores dessas substâncias parecem não suficientes para atuar nos mecanismos envolvidos no modelo neurogênico.

Não é conhecido o mecanismo de atuação do suco de caju verde, porém, o mesmo apresentou resultado equivalente à droga anti-inflamatória Dexametasona neste ensaio de inflamação. Segundo Rang *et al.*, (2007), a dexametasona é um glicocorticoide que atua inibindo a transcrição do gene da enzima cicloxigenase-2 e induzindo a proteína lipocortina, inibidora da enzima fosfolipase A. Além disso, reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como Fator de Necrose Tumoral- α (TNF α) e Interleucina-1 (IL1), segundo Kim *et al.* (2004).

A atividade anti-inflamatória do caju já vem sendo estudada através de extratos obtidos com outras partes da planta do cajueiro, como por exemplo a castanha (DAVIS *et al.*, 2007), casca do caule (VANDERLINDE *et al.*, 2009), folhas (RUNNIE *et al.*, 2004), no entanto, são escassos os relatos na literatura da atividade anti-inflamatória pela ingestão do suco obtido do pedúnculo.

A cicatrização é um problema que requer uma abordagem compreensiva multifacetada e neste presente estudo foi avaliado o efeito cicatrizante do suco de caju.

Nos resultados morfométricos e macroscópicos após o ensaio de cicatrização durante 21 dias também observou-se uma melhor resposta à cicatrização de feridas nos animais que foram tratados oralmente com o suco de caju verde, dados que foram confirmados pelas análises histológicas. Na fase inflamatória do processo cicatricial as feridas do grupo SCV apresentam-se menos edemaciadas, hiperêmicas, sem exsudação e com formação de tecido de granulação normal assim como a suplementação de referência ao contrário dos achados nos grupos SCM e H₂O. Os resultados da área da ferida e percentual de contração obtidos neste experimento não foram estatisticamente significativos em relação aos tratamentos utilizados nos grupos experimentais, exceto no dia 3, cuja menor área não cicatrizada foi verificada nos grupos água e REF.

O efeito do polissacarídeo de caju foi avaliado na fase inflamatória do processo cicatricial em camundongos cujo tratamento proposto propiciou sinais flogísticos menos acentuados (edema e hiperemia) durante o período inflamatório, interferindo na resposta imune, assim como no processo cicatricial, compatível com o processo de reparação mais avançado do ponto de vista histopatológico (SCHIRATO *et al.*, 2006).

No animais tratados com o suco de caju verde houve uma re-epitelização do tecido a partir do 7º DPO com contração significativa no 14º DPO semelhante ao controle positivo (grupo REF). O grupo SCM apresentou uma re-epitelização mais atrasada, evidenciada apenas a partir do 14º DPO com intensa proliferação de fibroblastos e angiogênese, porém, com presença de foco inflamatório bem evidente no corte histológico predominando células mononucleares, sugerindo um processo irritante, enquanto nos cortes histológicos do grupo SCV o epitélio já havia estratificado pela presença das respectivas camadas da pele e com re-organização das fibras colágenas. Os resultados sugerem que a quantidade de componentes presentes no suco de caju verde tem implicações na modulação células envolvidas nos aspectos iniciais da fase inflamatória o que contribuiria para acelerar o processo de reparo sendo melhor evidenciado nas fases tardias da cicatrização. Uma vez, que a fase inflamatória apresentou-se com menos sinais flogísticos no grupo SCV contrariando os achados nos grupos SCM.

Resguardando os aspectos éticos, os modelos experimentais são úteis para a pesquisa de cicatrização pois permitem criar em laboratório de investigação condições que se assemelham às encontradas na prática clínica (ONO, 2009).

No grupo REF, os animais receberam a suplementação durante 21 dias consecutivos imediatamente após a realização da ferida. Tal suplemento nutricionalmente formulado com nutrientes antioxidantes e com função plástica e energética trata-se de uma

dieta imunomoduladora a base de arginina muito utilizada para acelerar a cicatrização em pacientes hospitalizados. Vários estudos experimentais e clínicos já avaliaram os efeitos da suplementação de arginina na cicatrização cutânea, porém ainda não se tem um consenso nem sobre a sua efetividade em melhorar a resposta cicatricial nem sobre os mecanismos de ação possivelmente envolvidos (DEBATS *et al.*, 2009).

Relevante é o fato de que o grupo SCV mesmo pré-tratados 15 dias antes da indução da ferida, diferente do grupo controle positivo, tiveram resultados semelhantes ao grupo REF a partir do 14º DPO mesmo recebendo apenas o suco de caju verde.

O valor nutricional da suplementação de referência é bem superior aos sucos de caju verde e maduro. Surpreendente é o fato do grupo de animais que recebeu SCV alcançar resultados equivalentes ao potencial cicatrizante observado no grupo REF. Poucas das substâncias antioxidantes presentes na suplementação de referência também estão presentes nos sucos de caju verde e maduro, como vitamina C e alguns micronutrientes, porém os teores de polifenóis, flavonóides, outros compostos fenólicos, vitamina C e capacidade antioxidante do suco de caju responsáveis pela variada composição fitoquímica podem explicar os efeitos funcionais, com destaque para o suco verde. Segundo Barth *et al.* (2005), diversos antioxidantes naturais consumidos como frutas frescas provê efeitos benéficos, que são superiores aos resultados de suplementos dietéticos ou fitoquímicos purificados. Os antioxidantes não atuam sozinhos, agem em sinergia e são reciclados por outros antioxidantes (CERQUEIRA *et al.*, 2007).

Pace *et al.*, (2006) demonstrou que o uso de antioxidantes como vitamina C em ratos com feridas cutâneas, mostrou melhor viabilidade e maior taxa de angiogênese que os grupos controle. O suco de caju além de ser uma rica fonte de vitamina C, contém ainda ácidos orgânicos, antioxidantes, minerais, carboidratos nutrientes que são prontamente utilizados durante o processo de reparo tissular. Em um estudo placebo controlado, duplo-cego em humanos uma suplementação nutricional oral derivada de planta acelerou a cicatrização cutânea da pele, associada a menor inflamação atribuindo a este suplemento a capacidade de modular processos envolvidos na cicatrização de feridas (SPENCER *et al.*, 2004).

O suco de caju verde apresentou melhores resultados tanto nos ensaios anti-inflamatório e cicatrizante, apesar de possuir menor concentração de antioxidantes não-enzimáticos, compostos fenólicos e capacidade antioxidante total.

Por ser um órgão dinâmico, altamente proliferativo, a pele tem uma necessidade inerente a determinadas vitaminas e minerais para apoiar a sua estrutura, funcionamento e

desenvolvimento. A exposição da pele para ambas as fontes internas e externas de radicais livres parece criar uma demanda para antioxidantes tópicos e suporte nutricional adequado para se defender. O tecido lesado necessita do processo de reparação que deve ser alimentado por meio do metabolismo oxidativo e, portanto, requer oxigênio suplementar. Isto amplifica a demanda de oxigênio no tecido lesado que caracteristicamente sofre de perturbações vasculares e leva a um déficit de oxigênio causando hipóxia ao ferimento. A hipóxia da ferida limita a cicatrização e o estatus de oxigenação dos tecidos é um importante determinante do sucesso de cura (SEN; ROY, 2008). As espécies reativas de oxigênio (ROS) são radicais livres produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e fazem também parte do processo inflamatório e de reparo tecidual (CERQUEIRA *et al.*, 2007; WOJCIAK-STOTHARD, 2005). A remoção de tecidos necróticos e inativação de bactérias que ocorre no processo inflamatório fase de cicatrização de feridas resulta na produção de altos níveis de radicais livres (TODOROVIC, 2003).

Há mais de uma década foi proposto que sistemas biológicos oxidantes não são necessariamente sempre os gatilhos para o dano oxidativo e que oxidantes, tais como H_2O_2 poderia realmente servir como mensageiros de sinalização e dirigir vários aspectos da sinalização celular (SEN; PACKER., 1996). Trabalhos recentes identificaram que o oxigênio não é apenas necessário para desinfetar feridas e combustível de cura, mas que processos de sinalização redox dependentes de oxigênio representam um componente integrante da cascata de cicatrização. A noção amplamente difundida de que radicais livres biológicos são, necessariamente, agentes de destruição está agora a enfrentar sérios desafios (LINNANE *et al.*, 2007).

O potencial anti-inflamatório e cicatrizante do suco de caju verde pode parcialmente ser atribuído aos conteúdos de compostos fenólicos, destacando-se os taninos hidrolisáveis presentes que podem atuar de maneira sinérgica potencializando o efeito biológico e funcional com a suplementação deste suco. O pedúnculo de caju, além dos taninos hidrolisáveis, flavonóides amarelos e antocianinas também possui outros compostos fenólicos como os ácidos anacárdicos que são compostos biossintetizados a partir de ácidos graxos (AGOSTINI-COSTA, 2004). Estudos revelam que os taninos são um dos importantes fitoconstituintes responsáveis pela cicatrização de feridas, uma vez que possuem propriedades adstringentes e antimicrobianas, e promovem a cicatrização de feridas por vários mecanismos celulares; quelante dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio, promovendo a contração da ferida e aumentando a formação de vasos capilares e fibroblastos (DETERS, 2001; DEVI; FERNANDEZ, 2002; MEERA, 2010; RANE; MENGI, 2003). Sua atividade

biológica e funcional pode ser atribuída também a presença e concentração de ácidos anacárdicos, compostos que não foram analisados neste trabalho. Dentre as diversas atividades biológicas descritas para os ácidos anacárdicos (AGOSTINI-COSTA, 2004), destaca-se o potencial de inibir enzimas oxidantes como lipoxigenase e prostaglandinas sintases envolvidas na cascata do processo inflamatório (KUBO *et al.*, 2006).

O mecanismo pelo qual o suco verde age como anti-inflamatório e cicatrizante não é conhecido, porém, sugere-se seus constituintes modulem a resposta imune associada à inflamação e cicatrização tecidual. As células do sistema imune da pele além das funções protetoras de seus mediadores parecem ter importância nos estágios posteriores da cicatrização, como a fase proliferativa abrangendo a re-epitelização, angiogênese e remodelação que contribuem para a formação da cicatriz (WILGUS, 2008). Os antioxidantes presentes no suco de caju maduro parecem não ter papel nas fases iniciais da resolução da ferida podendo estar atuando nas fases mais tardias do processo de cicatrização.

8. CONCLUSÃO

O perfil fitoquímico dos sucos de pseudofrutos de caju verde e de maduro foi distinto. O suco de caju de fruto verde apesar de ter mostrado menor capacidade antioxidante total, menor conteúdo em vitamina C, carotenóides e polifenóis totais, antocianinas, flavonóides e compostos fenólicos quando comparado ao suco de caju de pseudofruto maduro, apresentou maior atividade anti-inflamatória e cicatrizante de feridas, induzidas em camundongos swiss, durante a fase intermediária desse processo.

O suco de caju maduro parece agir na fase mais tardia da cicatrização. Estudos complementares devem ser realizados para maior compreensão das atividades biológicas dos sucos de caju verde e maduro através da identificação de compostos químicos responsáveis pela ação funcional dos mesmos.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. R. A. **Qualidade e atividade antioxidante total de pedúnculos de clones comerciais de cajueiro anão precoce**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos. Fortaleza, 2007. 111f.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; JALES, K. A.; GARRUTI, D. S.; PADILHA, V. A.; LIMA, L. B.; AGUIAR, M. J.; PAIVA, J. R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis na Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1075-1080, 2004.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, M. V.; LIMA, A.; AGUIAR, M. J.; LIMA, J. B.; PAIVA, J. Tanino em pedúnculos de caju: efeito de algumas variações genéticas e climáticas. **Boletim CEPPA**, v. 20, n. 2, p. 267-278, 2002.

AGUIAR, L.P.;ALVES, R.E.; LIMA, D.P.; *et al.* Carotenóides totais em pedúnculos de clones de caju anão precoce (*Anacardium occidentale* L. Var.Nanum). **In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos 17, Fortaleza, SBCTA**, 2000. V. 2, n.5, p.55.

AJAIKUMAR, K. B. *et al.* The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 96, n. 1/2, p. 171-76, 2005.

AKINDELE,A.J., ADEYEMI, O.O. Antiinflammatory activity of the aqueous leaf extract of *Byrsocarpus coccineus*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 25-28, 2007.

AKKOL,E.K.;KOCA,U.;PESIN,I.;YILMAZER,D.;TOKER,G.,YESILADA,E.Exploring the Wound healing activity of *Arnebia densiflora* (Nordm.)Ledeb. by in vivo models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.124, p.137–141, 2009.

AMORIM, E.; MATIAS, J.E.F.; COELHO, J.C.U.; CAMPOS, A.C.L.; STAHLKE-JÚNIOR, H.J.; TIMI, J.R.R.; ROCHA, L.C.A.; MOREIRA, A.T.R.; RISPOLI, D.Z.; FERREIRA, L.M. Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* na cicatrização de feridas cutâneas - estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, supl. 2, p. 67-76, 2006.

ANDRADE-WARTHA, E.R.S. **Propriedades antioxidantes de clones do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa de defesa do organismo animal.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANTONIO, F.I. **Aspectos macroscópicos e microscópicos da reparação de feridas cutâneas de camundongos (*Swiss-Vallée*) tratadas com o creme de *Hyptis suaveolens* e *Croton urucurana* Baill.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.): a variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003.

AVELAR, J. M. Fisiologia da Pele e Cicatrização: In Cukier, C. Magnoni, D. Alvarez, T. **Nutrição baseada na fisiologia dos órgãos e sistemas.** São Paulo: SARVIER, 2005.

BALLKWILL, F. **Cytocine cell biology** – a practical approach. Oxford University Press, New York, 2000, 254p.

BARROS, L. de M. **Caju. Produção: aspecto técnico;** Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE). – Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2002. 148p.; (Frutas do Brasil; 30).

BLACKBURN GL. Pasteur's quadrant and malnutrition. **Nature**, v.409 (6818), p. 397-401, 2001.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos.** Varela, São Paulo, 2001. 143 p.

BRASILEIRO-FILHO, G. *Bogliolo* - **Patologia Geral.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 62-65.

BRON, I. U. **Amadurecimento do mamão 'Golden':** ponto de colheita, bloqueio da ação do etileno e armazenamento refrigerado. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2006.

CARDOSO, J. E. *et al.* Genetic resistance of dwarf cashew (*occidentale* .) to anthracnose, black mold, and angular leaf spot. **Protection**, Guildford, v. 18, n. 1, .23-27, 1999.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. AUGUSTO, O. Dietetic antioxidants: controversies and perspectives. **Química Nova**, v.30, p.441-449, 2007.

CHITARRA, M. I. F. & CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.

CLARK, R. A. F. (1996). **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York, London: Plenum Press.

COLLARD, E., ROY, S. Improved Function of Diabetic Wound-Site Macrophages and Accelerated Wound Closure in Response to Oral Supplementation of a Fermented Papaya Preparation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 13, n. 5, 2010.

CONNER, E. M. Inflammation, free radicals and antioxidants. **Journal of Nutrition**, v. 12, p. 274-277, 1996.

CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins: Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 44-100.

COUTINHO, M. A. S., MUZITANO, M. F., COSTA, S. S. Flavonoids: Potential therapeutic agents for the inflammatory process. **Revista Virtual de Química**, v.3, p. 2009.

CUKIER, C. MAGNONI, D. ALVAREZ, T. **Nutrição baseada na fisiologia dos órgãos e sistemas**. São Paulo: SARVIER, 2005.

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

DALAZEN, P.; MOLON, A.; BIAVATTI, M.W.; KREUGER, M.R.O. Effects of the topical application of the extract of *Vernonia scorpioides* on excisional wounds in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, p. 82-87, 2005.

DAVIS L, Stonehouse W, Loots du T, Mukuddem-Petersen J, van der Westhuizen FH, Hanekom SM, Jerling JC. The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. **European Journal of Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 155-164, 2007.

DEAN, R.T.; FU, S.; STOCKER, R.; DAVIES, M.J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. **Biochemistry Journal**, v.324, n.1, p.1-18, 1997.

DEBATS, I. B., D. I. BOOI, *et al.* Oral arginine supplementation and the effect on skin graft donor sites: a randomized clinical pilot study. **J Burn Care Res**, v.30, n.3, May-Jun, p.417-26. 2009.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v.55, n.11, p.396-407, 1997.

DETERS, A., DAUER, A, SCHNETZ, E., FARTASCH, M. AND HENSEL ,A. High molecular compounds (Polysaccharides and proanthocyanidins) from *Hamamelis virginiana* bark influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence of irritated skin. **Phytochemistry**.v. 58, p. 949-958, 2001.

DEUTSCH, H. F.; EVENSON, M. A.; DRESCHER, P.; CHRISTOPH, S. E MADSEN, P. O. **J. Pharm. Biomed**, 1994.

DEVI. P.; MEERA. R. Study of antioxidant, antiinflammatory and wound healing activity of extracts of *Litsea glutinosa*. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, p. 155-163, 2010.

EDWARDS, J.C.W.; SEDGWICK, A. D.; WILLOUGHBY, D. A. The Formation of a Structure with the Features of Sinovial Lining by Subcutaneous Injection of Air: an *in vivo* Tissue Culture System. **Journal of Pathology**, v. 134, p. 147-156, 1981.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A indústria do caju – sua importância no Brasil e no mundo**. Brasília, EMBRAPA, 1983, 42 p. (Mimeografado).

_____.**Campanha nacional de aumento da produtividade do cajueiro e produtos derivados do cajueiro**. Fortaleza, 1992, 4p.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em:<<http://www.embrapa.gov.br>>. Acesso em: 17 jan. 2010.

FERNANDES, J. B., HOLANDA, J. S., CHAGAS, M. C. M., LIMA, J. M. P., OLIVEIRA, J. S. F. **RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS PARA O CULTIVO DO CAJUEIRO**, 2009. Disponível em: http://www.emparn.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/emparn/arquivos/pdf/cartilha_cultivo%20do%20caju.pdf. Acesso em 31/01/2010.

FERNÁNDEZ, A., ÁLVAREZ, A., GARCIA, M.D., SÁENZ, M.T. (2001). Anti inflammatory effect of *Pimenta racemosa* var. *ozua* and isolation of the terpinene lupleol. **II Farmaco**, v. 56:335-338.

FERNANDEZ, O., CAPDEVILA, J.Z, DALLA, G. AND MELCHOR, G. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, 564- 568, 2002.

FIGUEIREDO, R.W. **Qualidade e bioquímica de parede celular durante o desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculos de cajueiro-anão-precoce CCP-76 submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio.** (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FRANÇA, F.M.C. Produção, comercialização e mercado. In: LIMA, V. de P.M.S. **Cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil.** Fortaleza, Banco do Nordeste do Brasil, 1988. p. 63-80.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS,P. (ed.) **Anthocyanins as food colors.** New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.. **N Engl J Med**, V. 340; P. 448-454, 1999.

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

GLASL H 1983. Zur photometrie in der drogenstandardisierung- 3. Gehaltsbestimmung von Gerbstoffdrogen. **Deutsche Apotheker Zeitung** 123: 1979-1987.

GREEN, L.C.; WAGNER,D.A.; GLOGOWSKI,J.; SKIPPER,P.L.; WISHNOK, P.S.; TANNENBAUM, S.R. Analisis of nitrate, nitrite, and 15N nitrite in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, p. 131-138, 1982.

GUL, N.Y.; TOPAL, A.; CANGUL, T.; YANIK, K. The effects of topical tripeptide copper complex and helium-neon laser on wound healing in rabbits. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 1, p. 7-14, 2008.

- GURR, E. *The Rational Use of Dyes in Biology*. 115p. Leonard Hill, Londres, 1965.
- HALLIWEL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food Chemistry Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-17, 1995.
- HATANAKA, E.; CURI, R. Fatty acids and wound healing: a review. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.
- HATANO, T.; KAGAWA, T.; YASUHARA, T.; OKUDA, T. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. **Chemistry Pharmacology Bulletin**, v. 36, p. 1090-2097, 1988.
- HERCBERG, S., GALAN, P., PREZIOSI, P., ROUSSEL, A.M., ARNAUD, J., RICHARD, M.J., MALVY, D., PAUL-DAUPHIN, A., BRIANCON, S., FAVIER, A. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, Bern, v.68, n.1, p.3-20, 1998.
- HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 27, p. 42-49, 1962.
- IBRAF (Instituto Brasileiro de frutas) acesso em 14 de Janeiro de 2008. www.ibraf.org.br/news/news_item.asp?NewsID=1202 IBRAF 2008.
- JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v.15, n.5, p.755-766, 1995.
- JOHNSTON, E. Review: The role of nutrition in tissue viability. **Wound Essentials**, v. 2, 2007.
- JORGE, M. P., MADJAROF, C., RUIZ, A. L.T. G., FERNANDES, A. T., RODRIGUES, R. A. F., SOUSA, I. M. O., FOGLIO, M. A., CARVALHO, J. E. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 361-366, 2008.
- JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. Pele e anexos. In: Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica**. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.303-14.
- KAMAMOTO, F. **Contração de feridas**: revisão bibliográfica e estudo da contração gerada por fibroblastos normais e quelóides. 2007. 117 p. Dissertação (Faculdade de Medicina) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v.37, p.153-161, 2002.

KERR, J. The use of essential oils in healing wounds. *The International Journal of Aromaterapy*, v. 12, n. 4, p. 202-206, 2002.

KHOVIDHUNKIT W, KIM MS, MEMON RA, SHIGENAGA JK, MOSER AH, FEINGOLD KR, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res*, v.45, n. 7, p. 1169-96, 2004.

KILIÇN. The effect of Aloe vera gel on experimentally induced peritoneal adhesions in rats. *Revue Méd. Vét*, v. 156, p. 409-413, 2005.

Kolb-Bachofen V. A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiology*, v. 183, p. 133-145, 1991.

KUBO I, MASUOKA N, HA TJ, TSUJIMOTO K. Antioxidant activity of anacardic acids. *Food Chemistry*, v. 99, p. 555-562, 2006.

LAJOLO, F.M. Alimentos funcionais: uma visão geral. In: DE ANGELIS, R. C. **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas.** São Paulo: Atheneu, 2005. p.175-181.

LANGLEY-EVANS SC, CARRINGTON LJ. Diet and the developing immune system. *Lupus*, v. 15, n. 11, p. 746-752, 2006 .

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agric Food Chem.*, v. 45, p.1390-1393, 1997.

LEITE, H.P.; SARNI, R.S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. . *Bras. Nutr. Clín.*, v.18, n.2, p.60-65, 2003.

LINNANE, A. W., KIOS, M., VITETTA, L. The essential requirement for superoxide radical and nitric oxide formation for normal physiological function and healthy aging. *Mitochondrion*, v. 7, p. 1-5, 2007.

LOPES, G.C., SANCHES, A.CC., NAKAMURA, DIAS-FILHO, B.P., HERNANDES, L., MELLO, J.C.P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrisation of cutaneous wound in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 265-272, 2005.

KHANDABABAE, K.; REE, T.V. Tannins: classification and definition. **Nature Product Reports**, v.18, p.641- 649, 2001.

MAGALHÃES, M.S.F. **Avaliação do efeito do Dersani e da água de coco liofilizada no modelo cutâneo de cicatrização por segunda intenção em ratos Wistar**. 2007. 178 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Cirurgia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

MAIA, G.A. Nutritional aspects of some tropical juices of Latin American. In: 13 rd IFU WORLD CONGRESS, 2001, Sydney. **13 rd IFU SYDNEY WORLD CONGRESS: International Federation of Fruit Juice Producers**, CD-Rom, 2001.

MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; LIMA, A.S. **Processamento de sucos de frutas tropicais**. Fortaleza: Edições UFC, 2007.

MAIA, G.A.; SOUSA-FILHO, M. S.M.; FIGUEIREDO, R.W.; BRASIL, I.M. Caracterização química de pedúnculos de diferentes clones de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.). **Revista Ciência. Agrônômica**, v.35, p. 272-278, 2004.

MARCOS, A.; NOVA, E.; MONTERO, A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. **Eur J Clin Nutr**. v. 57, n. Suppl 1, p. S66-69, 2003.

MARTINS, P.S.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; SEQUEIRA, J.L.; NICOLLETTI, J.L.M.; THOMASIAN, A. Comparison between phytotherapics on equine wound healing. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, p. 1-7, 2003.

MATTOO, A.K.; MURATA, T.; PANTASTICO, Er.B.; CHACHIN, K.; OGATA, K.; MELO, D.F.de; LIMA, M.da G.S.; NOGUEIRA, F.D.L. Manejo na Pós Colheita Melhora a Conservação de Frutas Tropicais. Pesquisas FUNCAP – **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 2, p. 16 - 17, 2001.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 2.ed. São Paulo: Michalany, 1990. 277p.

MIDWOOD, K. S., WILLIAMS, L.V., SCHWARZBAUER, J.E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 36, p. 1031–1037, 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria da Atenção Básica. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006.

MOTA & WONG, D. Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse anti-sera during the course of immunization. **Life Science**, v.8, p.913-820, 1969.

MOUDGIL, K.D. In: TALWAR, G.P., GUPTA, S.K., editors. A handbook of practical and clinical immunology. **New Delhi**: CBS publishers, 1993,pp.194.

MOURA, C. F. H. **Armazenamento de pedúnculos de cajueiro anão precoce BRS 189, CCP 76, END 183 e END 189 sob diferentes temperaturas e atmosferas**. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

MOURA, C. F. H. **Qualidade de pedúnculo de clones de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L var *nanum*) irrigados**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 56f ,1998.

NIKI, E., NOGUSHI, N., TSUCHIHASHI, H., GOTOH, N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and b-carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1322-1326, 1995.

NINFALI, P. et al. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. **Br. J. Nutr.**, Wallingford, v. 93, n. 2, p.257-66, 2005.

NITZ, A.C.; ELY, J.B.; D'ACAMPORA, A.J.; TAMES, D.R.; CORRÊA, B.C. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopus didymus* e *Calendula officinalis*. **Arquivos Catarinense de Medicina**, v. 35, n. 4, 2006.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 74, p. 209-215, 1997.

OLIVEIRA, V. H. **Cultivo do Caju Anão Precoce Sistema de Produção**. Fortaleza, CE, 2002 Tropical (Fortaleza, CE). – Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 36p.; (Frutas do Brasil; 31).

ONO, M. C. C. **Influência de dieta imunomoduladora na cicatrização cutânea em ratos.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Área de Concentração: Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009. 125 f.

OVARY, Z. Cutaneous anaphylaxis in the albinos rat. *International Archives Allergy Application Immunology*, v. 3, 1952, 292p.

PACE, D., A. C. L. CAMPOS, *et al.* Effect of antioxidants (vitamin C, vitamin E and Ginkgo biloba) on the viability of dorsal skin flaps in rats. **Rev Soc Brasil Cir Plast**, v.21, p.77-81. 2006.

PAIVA, J. R., BARROS, L. M. **Clones de cajueiro: obtenção, características e perspectivas.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 26p. (Documentos nº 82, ISSN 1677-1915). Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_082.pdf. Acesso em 22/01/2010.

PAIVA, J.R.; ALVES, R.E.; BARROS, L.M.; CAVALCANTI, J.J.V.; ALMEIDA, J.H.S.; MOURA, C.F.H. Produção e qualidade de pedúnculos de clones de cajueiro anão precoce sob cultivo irrigado. Fortaleza: **EMBRAPA-CNPAT**, 1998. 5 p. (EMBRAPACNPAT. Comunicado Técnico, 19).

PARK, J.E.; BARBUL, A.B. Understanding the role of immune regulation in wound healing. **Am. J. Surg.**, v. 187, p. 11S-16S, 2004.

PATTERSON, M.E. The role of ripening in the affairs of man. **HortScience**, Alexandria, v.5, n.1, p.30-33, 1970.

PEARSON, D., **Tecnicas de Laboratorio para el Analisis de Alimentos.** Zaragoza: Acibria, 1976, 331p.

PERTINARI, R.A.; TARSITANO, M.A.A. Comercialização de caju in natura na região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, p.697-699, 2002.

PHAN, C.T. Chemical changes during ripening and senescence. In: PANTASTICO, Er.B. **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables.** Westport, AVI, 1975, p.103-127.

PICKUP JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 27(3), p. 813–23, 2004

PINHEIRO, A. M. **Desenvolvimento de néctares mistos à base de caju ((*Anacardium occidentale* L.) e açaí (*Euterpe oleracea* mart)).** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências. Depto. de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2008.

PROKSCH, E., BRANDNER, J. M., JENSEN, J-M. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, v. 17, p. 1063-1072, 2008.

RAHM, DA. Guide to perioperative nutrition. **Aesthetic Surg J.** v.2, p. 385-90, 2004.

RANE, M.M.; MENGI, S.A.. Comparative effect of oral administration and topical application of alcoholic extract of *Terminalia arjuna* bark on incision and excision wounds in rats. **Fitoterapia**. v.74, p. 553-558, 2003.

RANG, H. P.; DALE, M.M; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. **Farmacologia**. Rio de Janeiro:Elsevier, 6 ed., 2007.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic. Boil. Med.**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RECIO, M.C., GINER, R.M., MÁÑEZ, J.L. (1995). Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. **Planta Médica**, 61:182-185.

REICHER, F., SIERAKOWSKI, M.R., CORREA, J.B.C. Determinação espectrofotométrica de taninos pelo reativo fosfotúngstico-fosfomolibdico. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.24, n.4, p.407-411, 1981.

REYNOLDS T, DWECK AC. Aloe vera leaf gel: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v.1, p. 3-37, 1999.

RIBEIRO, J.L. 2003. Desempenho produtivo de oito clones de cajueiro-anão precoce cultivados sob regime de sequeiro no cerrado sul maranhense. Comunicado Técnico 153/ EMBRAPA/ **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://www.cpamn.embrapa.br/publicacoes/comunicado/2003/CT153.pdf>. Acesso em 17/01/2010.

RICHARDSON, J.D., VASKO, M.R. Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.302, p.839–845, 2002.

RICHES, D. W. Macrophage involvement in wound repair, remodeling and fibrosis. In: CLARK, R. A. F., (Ed.) **The molecular and cellular biology of wound repair**. 2. ed. New York: Plenum, 1996, p. 143-168.

RIDKER PM, HENNEKENS CH, BURING JE, RIFAI N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Engl J Med**, v.342 (12), p. 836–43, 2000.

RODRIGUES, M.G.V. **Produção e mercado de frutas desidratadas**. Portal TODAFRUTA. 2004. Disponível em: http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6687. Acesso em 18 de julho de 2009.

RUFINO, M.S.M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Área de concentração: Agricultura Tropical – Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

RUNNIE, I.; SALLEH, M. N.; MOHAMED, S.; HEAD, R. J.; ABEYWARDENA, M. Y. Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92(2–3), p. 311–316, 2004.

SCHEFFER, M.C.; MING, L.C.; ARAÚJO, A.J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: QUEIROZ M.A., GOEDERT C.O., RAMOS S.R.R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro** [serial on-line]. Embrapa-CPATSA; 1999. Disponível em: <http://www.cpatosa.embrapa.br/catpub.html>. Acesso em: 17 jan 2010.

SCHEIBLER, M. V.; FILHO, F. F. L. Frutas Tropicais: Levantamento das. Exportações Brasileiras. **Rev. de Negócios Internacionais**, Piracicaba,4 (6):19-23,2006.

SCHIANTARELL, P.; CADEL, S.; ACERBI, D.; PAVESI, L. Antiinflammatory activity and Bioavailability of percutaneous piroxicam. **Arzneim.-Forsch./Drug Research**, v. 32, p. 230-235, 1982.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; LIMA FILHO, J. L.; LEÃO, A. M. A.C.; PORTO, A. L. F. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v. 36, n.1, p.149-154, 2006.

SEN, C. K.; ROY, S. Redox signals in wound healing. **Biochim. Biophys. Acta** 1780, 1348-1361, 2008.

SEN, C.K.. PACKER, L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription, **FASEB Journal**, v. 10, p. 709–720, 1996.

SERHAN, N.C. e SAVIL, J. Resolution of Inflammation: The beginning programs the end. **Nature Immunology**, v. 6 (12), p.1191-1197, 2005.

SIES H, STAHL W, SEVANI A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. **Journal of Nutrition**, v. 135, p. 969-972, 2005.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **European Journal**, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SILVA, B. M. et al. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: Antioxidant activity. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 15, p. 4705-12, 2004.

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

SIMÕES, A.N.; MENEZES, J.B.; ANDRADE, J.C.; FREITAS, D.F.; COSTA, F.B.; SOUZA, P.A. Caracterização química de pedúnculos de caju CCP-76 em diferentes estádios de desenvolvimento. **Caatinga**, v.4, p.,75-78, 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; **Farmacognosia - da Planta ao Medicamento**, 5ª ed., Editora da UFSC: Santa Catarina, 2004.

SINGER, A. J., CLARK, R. A.F. Review Article: Cutaneous Wound Healing. **N English Journal of Medicine**, v. 341, p. 738-746, 1999.

SIVAGURUNATHAN, P., 2SIVASANKARI, S. AND 1MUTHUKKARUPPAN, S.M. Characterisation of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) fruits collected from Ariyalur District. **Journal Bioscience Research** , v. 1, n. 2, p. 101-107, 2010.

SOARES, J.B. **O caju - aspectos tecnológicos**. Fortaleza:BNB, 1986. 256 p.

STAHL W, SIES H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochim Biophys Acta**, v.1740, p.101-7, 2005.

STECHMILLER, J.K. Understanding the Role of Nutrition and Wound Healing. **Nutr Clin Pract**, v. 25, p. 61-68, 2010

STROHECKER , R.; HENNING, H. M. **Analises de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, p. 428, 1967.

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

TODOROVIC, V. Food and wounds: nutritional factors in wound formation and healing. **Clin Nutr Update**, v.8, n.2, p. 6-9, 2003.

VANDERLINDE, F. A., LANDIM, H. F., COSTA, E. A, GALDINO, P.M, MACIEL, M. A. M., ANJOS, G. C., MALVAR, D.C., CÔRTEZ, W. S., ROCHA, F. F. **Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L.** Braz. J. Pharm. Sci. 2009, vol.45, n.3 ISSN 1984-8250. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjps/v45n3/08.pdf>. Acesso em 21 de janeiro de 2010.

VASCONCELOS, A.K.P., TOMÉ, A.R., PEREIRA, B.S., NUNES-PINHEIRO, D.C.S. Avaliação dos unguentos à base de extratos hexânicos ou etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre as lesões cutâneas experimentais em coelhos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 1, p. 59-65, 2007.

VEITCHNC, GRAYER RJ. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Nat Prod Rep.**, v.25, n. 3, p.555-611, 2008

WHITE, G.W. Maltodextran, NF powder: a new concept in equine wound healing. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.15, n. 7, p. 296-298, 1995.

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, 2008.

WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W.; Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 111, p. 544-547, 1962.

WOJCIAK-STOTHARD, L.Y.; TSANG, S.G. Haworth, Rac and Rho play opposing roles in the regulation of hypoxia/reoxygenation-induced permeability changes in pulmonary artery endothelial cells, Am. J. Physiol., Lung Cell. **Molecular Physiology**, v.288, p.749-760, 2005.

WOODS, A. SYNDECANS: Transmembrane modulators of adhesion and matrix assembly. **The Journal of Clinical Investigation**, v.107, n. 8, p. 935-941, 2001.

WOOLF, N.: Basic and Systemic Pathology. W.B. Saunders Company, Chap.8 the natural history of inflammation II: Wound healing, p 75-83. 1998.