

---

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA E CIÊNCIAS DA  
SAÚDE  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Comparando os efeitos da  
utilização da Papaína e dos  
Ácidos Graxos Essenciais - AGE  
em lesões cutâneas: estudo  
experimental.

GRAZIELA HAX

Porto Alegre  
2009

---

---

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA E CIÊNCIAS DA  
SAÚDE  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Comparando os efeitos da  
utilização da Papaína e dos  
Ácidos Graxos Essenciais - AGE  
em lesões cutâneas: estudo  
experimental.

**GRAZIELA HAX**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde, pelo programa de Pós-Graduação em Ciências de Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Área de Concentração em Clínica Cirúrgica.

**Orientador: Prof. Dr. Jefferson Braga da Silva**

Porto Alegre  
2009

---

**DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)**

H411c Hax, Graziela

Comparando os efeitos da utilização da papaína e AGE em lesões cutâneas: estudo experimental / Graziela Hax. Porto Alegre: PUCRS, 2009.

xiv; 63 f.: il. graf. tab.

Orientação: Prof. Dr. Jefferson Luís Braga da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Cirúrgica.

1. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS. 2. COLÁGENO. 3. PAPAÍNA. 4. FIBROBLASTOS. 5. ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS. 6. PELE/lesões. 7. MODELOS ANIMAIS. 8. RATOS WISTAR. 9. IMUNOISTOQUÍMICA. 10. ESTUDO COMPARATIVO. I. Silva, Jefferson Luís Braga da. II. Título.

C.D.D. 617.14

C.D.U. 616.5-003.93:547.962.9(043.3)

N.L.M. WR 102

Rosária Maria Lúcia Prena Geremia  
Bibliotecária CRB 10/196

*Dedicatória*  
*Dedico este trabalho a meu marido Mauro e a meu filho Tyago.*

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Ao professor Dr. Jefferson Braga Silva pela oportunidade e os ensinamentos.

Ao Professor Dr. Vinicius Duval da Silva, patologista do laboratório de patologia da PUCRS, pela colaboração nas peças para o estudo histopatológico e pelos ensinamentos do manuseio com as lâminas. Muito obrigada pela oportunidade.

Ao Prof. João Feliz Duarte de Moraes, coordenador do departamento de estatística da PUCRS, pela elaboração da análise estatística e por suas palavras de sabedoria e carinho. Jamais esquecerei.

Ao programa de Pós graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da PUCRS, meu muito obrigada.

À sempre amiga Patrícia Sesterheim, bióloga, pelo belo trabalho durante a realização dos experimentos e também pela doçura com que sempre me atendeu.

Ao técnico em histologia Tiago Giuliani por sua notável competência e presteza. Muito obrigado pelo trabalho que fez ao realizar de forma cuidadosa e exemplar o preparo de todo material histológico e imunoistoquímico e principalmente pelo aprendizado que me proporcionou.

À sempre amiga e colega Aline Custódio por me ajudar e acompanhar fielmente em toda a realização desta pesquisa. Jamais esquecerei todo o teu empenho, este mérito também é seu.

À amiga e colega Janete Urbanetto, por ser uma grande incentivadora, pelo seu empenho, pelo exemplo de profissionalismo, pela amizade, pela compreensão, pelo sorriso que tanto nos incentiva, minha eterna gratidão.

À sempre amiga e colega Marlina Cunha Tosta, minha primeira incentivadora em iniciar esta jornada, pela amizade, companheirismo, meu eterno obrigado.

Às sempre amigas e colegas Ana, Kátia, Elaine e Raquel por terem toda a paciência comigo e por acreditarem em mim.

Ao laboratório de Patologia da PUCRS, pela receptividade e confiança por parte de todos os profissionais.

Ao Laboratório de habilidades médicas, na pessoa de Gilmar, pela receptividade, por me proporcionar o desenvolvimento prático do experimento, pelos cuidados e carinho com os animais, agradeço muito.

---

Ao acadêmico de medicina Matheus Paganella, pelo belo trabalho que apresentou ao capturar as imagens e realizar a contagem de material imunohistoquímico. Obrigado pelo sorriso acalentador.

A meus avós Nércio e Arabella por serem exemplo de uma família correta e feliz. Nunca esquecerei o que fizeram por mim.

A meus pais Aida e Breno por me incentivarem em todos os momentos de minha vida e nunca me julgarem. O meu amor por vocês é incondicional.

A meu irmão Breno por ser um exemplo de irmão e profissional. O teu amor pelo trabalho e pela vida é o que faz com que eu nunca desista de tentar ser uma pessoa cada vez melhor.

A meus sogros, Ivani e Mauro pelo apoio e incentivo constantes e também por acreditarem em mim.

A meu filho Tyago pela inocência, bondade e pela paciência que teve comigo nos momentos de maior tensão. Eu te amo. Tu és a luz da minha vida.

A meu marido Mauro pelo incentivo e confiança diários. Não sei o que seria deste trabalho se eu não tivesse o teu ombro sempre a meu lado. Eu te amo. Serei sempre grata.

Aos funcionários da Pós graduação da Medicina da PUCRS, pelo carinho e receptividade.

Aos funcionários da Biblioteca da PUCRS, em especial a bibliotecária Rosária, pelo carinho e receptividade.

A meus queridos companheiros de trabalho nas áreas que realizo Coordenação Assistencial, peço desculpas se não estive tão presente quanto deveria e agradeço a todos por sempre me apoiarem e entenderem este momento.

Aos amigos e colegas de jornada na pós-graduação, pelo apoio, dias e horas inesquecíveis nestes anos.

Aos ratos utilizados neste estudo, meu respeito e agradecimento.

Às pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo.

---

## RESUMO

Conforme Mandelbaum, 2003 a cicatrização envolve muitos eventos e situações, exigindo conhecimento básico de diversas áreas, portanto uma atuação multidisciplinar se faz necessária para uma boa evolução da lesão. O reparo do tecido se dá através de duas formas: pela regeneração da atividade funcional do tecido ou pela cicatrização. Esta pesquisa trata-se de um estudo experimental tendo por finalidade comparar os efeitos da papaína 2%, AGE e soro fisiológico quando utilizados em lesões cutâneas circulares com dimensionamento de dois centímetros de diâmetro e espessura total no dorso de ratos da linhagem EPM-I Wistar. Utilizou-se doze ratos machos divididos em três grupos: C1 (grupo AGE), C2 (grupo controle) e C3 (grupo papaína), todos submetidos a trocas diárias de curativos após limpeza com solução de água bidestilada. Com base nos resultados obtidos verificamos que o produto AGE, durante o período de sete dias, não favoreceu a expressão de fibroblastos, o que pode ser explicado pela intensa aderência da gaze de algodão no leito da lesão, prejudicando, assim, o material histológico analisado por imunoistoquímica. Nesta mesma fase, em relação ao colágeno, observamos que o tratamento com papaína 2% apresentou seu menor pico quando comparado aos outros tratamentos, o que pode ser atribuído a seu efeito potencialmente sulfídrico, realizando assim um desgaste nas fibras colágenas. Conforme o método estatístico utilizado, ANOVA, constatou-se não haver diferença significativa entre os tratamentos propostos nesta pesquisa.

**DESCRITORES:** Cicatrização de feridas; colágeno; papaína; fibroblastos; Ácidos Graxos Essenciais; pele; modelos animais; ratos Wistar; imunoistoquímica; Estudo comparativo

---

**ABSTRACT**

According to Mandelbaum, 2003, healing involves many events and situations, requiring basic knowledge of different fields. Thus, multidisciplinary action is needed for the lesion to heal well. Tissue repair occurs in two ways: by the regeneration of functional activity of the tissue or by healing. This research is an experimental study aiming at comparing the effects of 2% papain, AGE and saline solution when used in circular skin lesions 2cm in diameter, with full thickness on the dorsum of EPM-I Wistar rats. Twelve male rats were used, divided into three groups: C1 (AGE group), C2 (control group) and C3 (papain group), all of them submitted to daily dressing changes after cleaning with bidistilled water solution. Based on the results obtained, we found that the product AGE, during the seven-day period, did not favor fibroblast expression, which can be explained by the intense adherence of cotton gauze to the lesion bed, thus impairing the histological material analyzed by immunohistochemistry. During the same phase, as regards collagen, we observed that treatment with 2% papain was at its lowest peak when compared to the other treatments, which can be attributed to its potentially sulfidric effect, thus wearing down the collagen fibers. According to the statistical method used, ANOVA, it was found that there was no significant difference between the treatments proposed in this research.

**KEY WORDS:** Scar healing ; collagen; papain; fibroblasts; AGE; skin; animals model; Wistar rats; immunohistochemistry; comparative study

---

---

**LISTA DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> - Foto confecção das lesões cutâneas .....   | 21 |
| <b>Figura 2</b> - Foto das lesões cutâneas .....   | 22 |
| <b>Figura 3</b> - Foto da mensuração das lesões com paquímetro .....   | 23 |
| <b>Figura 4</b> - Foto da evolução das lesões .....  | 29 |
| <b>Figura 5</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico.....      | 30 |
| <b>Figura 6</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico.....      | 30 |
| <b>Figura 7</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com soro fisiológico.....        | 31 |
| <b>Figura 8</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com soro fisiológico.....        | 31 |
| <b>Figura 9</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com soro fisiológico..... | 32 |
| <b>Figura 10</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE.....                  | 32 |
| <b>Figura 11</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE.....                    | 33 |
| <b>Figura 12</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE.....             | 33 |
| <b>Figura 13</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Papaína .....             | 34 |

---

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 14</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína .....                        | 34 |
| <b>Figura 15</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína .....                        | 35 |
| <b>Figura 16</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Papaína .....                 | 35 |
| <b>Figura 17</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE.....                           | 36 |
| <b>Figura 18</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE.....                      | 36 |
| <b>Figura 19</b> – Quantificação de colágeno por unidade de área / AGE.....   | 37 |
| <b>Figura 20</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico.....              | 37 |
| <b>Figura 21</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com soro fisiológico.....         | 38 |
| <b>Figura 22</b> - Quantificação de Colágeno por unidade de área / Controle.....  | 38 |
| <b>Figura 23</b> - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com papaína 2%. Picrosírius .....      | 39 |
| <b>Figura 24</b> - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com papaína 2% Picrosírius .....         | 39 |
| <b>Figura 25</b> - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com papaína 2%. Picrosírius ..... | 40 |
| <b>Figura 26</b> - Quantificação de Colágeno por unidade de área / Papaína .....  | 40 |
| <b>Figura 27</b> - Quantificação de Colágeno por unidade de área na utilização dos três tratamentos .....                     | 41 |

---

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 28</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE.....                   | 42 |
| <b>Figura 29</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE .....                    | 42 |
| <b>Figura 30</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE .....             | 43 |
| <b>Figura 31</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Soro Fisiológico .....     | 43 |
| <b>Figura 32</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Soro Fisiológico .....       | 44 |
| <b>Figura 33</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Soro Fisiológico..... | 44 |
| <b>Figura 34</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Papaína .....              | 45 |
| <b>Figura 35</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína.....                 | 45 |
| <b>Figura 36</b> - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Papaína.....          | 46 |
| <b>Figura 37</b> - Quantificação de fibroblasto por unidade de área na utilização dos três tratamentos .....                                 | 46 |

---

**LISTA DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1-</b> Quantificação de Colágeno por unidade de área na utilização dos três tratamentos .....     | 41 |
| <b>Tabela 2 -</b> Quantificação de fibroblasto por unidade de área na utilização dos três tratamentos ..... | 47 |

---

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|      |                          |
|------|--------------------------|
| AGE  | Ácidos graxos essenciais |
| DAB  | Diaminobenzidina         |
| FGFr | Growth Factor Fibroblast |
| g    | Gramas                   |
| HE   | Hematoxilina eosina      |
| MG   | Miligramas               |
| ml   | mililitros               |
| TA   | Temperatura ambiente     |
| UI   | Unidade Internacional    |

---

---

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 1  |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO .....  | 4  |
| 2.1 Anatomia e fisiologia da pele.....   | 4  |
| 2.2 A Fisiologia da Cicatrização de Feridas.....   | 6  |
| 2.2.1 Introdução: .....  | 6  |
| 2.2.2 Cicatrização de feridas .....  | 6  |
| 2.2.3 Fase inflamatória.....   | 7  |
| 2.2.4 Fase proliferativa-nesta fase ocorre .....   | 8  |
| 2.2.5 Fase de maturação .....  | 9  |
| 2.3 Fatores Locais e Sistêmicos que podem influenciar no processo cicatricial .....                      | 9  |
| 2.3.1 Relacionados ao agente lesivo .....  | 9  |
| 2.3.2 Relacionadas ao hospedeiro .....   | 9  |
| 2.3.3 Relacionados ao tratamento tópico da lesão .....   | 10 |
| 2.4 Produtos para o tratamento de feridas .....  | 11 |
| 2.4.1 Histórico.....   | 11 |
| 2.4.2 Características dos principais recursos disponíveis para auxiliar na cicatrização de feridas ..... | 12 |
| 2.4.3 Novas tecnologias no tratamento de feridas .....   | 13 |
| 3 OBJETIVOS .....  | 17 |
| 3.1 Objetivo Geral .....   | 17 |
| 3.2 Objetivos Específicos.....   | 17 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS .....   | 18 |
| 4.1 Parecer ético .....  | 18 |
| 4.2 Material .....   | 19 |
| 4.2.1 Animais utilizados e cuidados dispensados .....  | 19 |
| 4.3 Métodos.....   | 20 |
| 4.3.1 Fotografias .....  | 20 |
| 4.3.2 Técnica operatória.....  | 20 |
| 4.3.3 Tratamentos instituídos .....  | 22 |
| 4.3.4 obtenção de amostras das feridas .....   | 23 |

---

---

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.3.5 | Preparo histológico e imunohistoquímico.....            | 24 |
| 4.3.6 | Análise das imagens.....                                | 26 |
| 4.3.7 | Programas utilizados.....                               | 27 |
| 4.3.8 | Testes Estatísticos Aplicados.....                      | 27 |
| 5     | RESULTADOS.....   | 28 |
| 5.1   | Avaliação macroscópica das feridas cutâneas.....        | 28 |
| 5.2   | Avaliação histológica.....                              | 30 |
| 5.3   | Avaliação Imunoistoquímica.....                         | 42 |
| 6     | DISCUSSÃO.....  | 48 |
| 7     | CONCLUSÃO.....  | 54 |
| 8     | REFERÊNCIAS.....  | 55 |
|       | ANEXOS.....   | 58 |
|       | Anexo 1 – Testes estatísticos.....                      | 59 |
|       | Anexo 2 – Banco de Dados.....                           | 61 |
|       | Anexo 3 – Ofício de aprovação do Comitê de Ética.....   | 62 |
|       | Anexo 4 – Comprovante do envio do artigo original.....  | 63 |
|       | Anexo 5 – Artigo original enviado a revista AMRIGS..... | 65 |

---

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de feridas variou durante séculos com o objetivo de melhores resultados cicatriciais em menor tempo possível. Em uma revisão de literatura, Andrade<sup>1</sup> descreve que já na pré-história vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama eram aplicados sobre as feridas. Na Mesopotâmia, elas eram lavadas com água ou leite e o curativo era realizado com mel ou resina. Lã de carneiro, folhas e cascas eram utilizadas para sua cobertura. Os egípcios concluíram que as feridas fechadas cicatrizavam mais rápido, por isso utilizavam tiras de pano para sua cobertura. A introdução das armas de fogo nas guerras européias no século XIV levou ao surgimento de um novo tipo de ferida de cura mais difícil. O avanço da química levou a descoberta de compostos de cloro e iodo que foram utilizados para a limpeza do material e da pele nos séculos 18 e 19.<sup>2</sup>

Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada por qualquer trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que aciona as frentes de defesa orgânica contra o ataque.<sup>3</sup>

---

---

Para obtenção da evolução adequada de qualquer tipo de ferida se faz necessário o conhecimento do processo cicatricial.

A cicatrização envolve muitos eventos e situações, exigindo conhecimento básico de diversas áreas, portanto uma atuação multidisciplinar se faz necessária para uma boa evolução da lesão. O reparo do tecido se dá através de duas formas: pela regeneração da atividade funcional do tecido ou pela cicatrização.<sup>4</sup>

O tratamento e o uso de curativos em uma variedade de lesões apresenta grande desafio para os profissionais envolvidos. A seleção do curativo é complexa, e as decisões frequentemente precisam ser modificadas, baseadas nas condições das lesões.

Segundo Rogenski,<sup>5</sup> existe atualmente em todo mundo, grande tendência para o aproveitamento de recursos naturais na terapêutica, por apresentarem vantagens econômicas, serem eficientes e apresentarem poucos efeitos nocivos à saúde. A papaína e o AGE são uma dessas alternativas naturais e vêm sendo utilizados com grande êxito em várias instituições hospitalares para o tratamento dos mais diversos tipos de feridas.

A papaína é uma enzima derivada do vegetal *Carica papaya*, que tem a propriedade de decompor substâncias protéicas. Como efeito terapêutico, apresenta características bactericida/bacteriostático, antiinflamatório, debridante químico e bioestimulante, promovendo alinhamento das fibras colágenas evitando a formação de quelóides.<sup>6</sup>

---

Ácidos graxos essenciais (AGE) são lipídios insaturados ricos em ácido linoléico. Apresentam poder quimiotático para leucócitos, promovem proliferação e mitose celular. Tem ação estimulante para desbridamento autolítico.

Com base deste conhecimento e por utilizar estes dois produtos na prática diária do tratamento de lesões cutâneas de pacientes internados no HSL – PUCRS, foi que surgiu por parte da autora o interesse em comparar a eficácia de cada um desses produtos, quando utilizados em lesões semelhantes, realizadas no dorso de ratos da linhagem Wistar EPM – 1 com peso e idade iguais, para que, após a conclusão do experimento possamos indicar com segurança qual produto apresenta melhor resultado cicatricial.

---

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Anatomia e fisiologia da pele**

A pele é o maior órgão do corpo. Sendo a maior interface entre o corpo e o ambiente, é adaptada para servir a muitas funções diferentes. Ela está constantemente relacionada com atividades biológicas e bioquímicas. A pele é composta de duas camadas primárias. A camada externa, a epiderme, é uma camada epitelial. A camada interna, a derme, é uma camada de tecido conjuntivo. A epiderme é ligada à derme pela camada basal. A área entre a epiderme e a derme possui interdigitações que evitam o descolamento das duas durante tensões externas.<sup>7</sup>

A epiderme é composta de várias camadas. O estrato córneo, camada fina e mais externa da epiderme, é composto de células desvitalizadas e queratinizadas. É seca, impermeável a água e rica na proteína protetora chamada queratina. As camadas seguintes da epiderme (estrato lúcido, estrato basal, estrato granuloso e estrato germinativo) contêm células. A epiderme é uma camada protetora que proporciona uma barreira a lesões, à contaminação e à luz. Ela também evita a desidratação dos tecidos

---

---

subjacentes, retém fluidos e nutrientes dentro da pele e produz melanina, a qual é responsável pela cor da pele.<sup>7</sup>

A derme é composta primariamente de tecidos conjuntivos fibrosos de colágeno e elastina. Estas fibras estão entremeadas dentro de uma matriz de polissacarídeos e proporcionam força e elasticidade a pele. Os folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas estão contidos na derme. Uma rede de linfáticos, vasos sanguíneos e terminações nervosas cutâneas suprem os anexos da pele.<sup>7</sup>

A derme produz pêlos, regula a temperatura do corpo, abriga receptores sensoriais, supre nutrientes, oxigênio e sintetiza várias substâncias químicas. Ela é composta por fibroblastos, colágeno, substância matricial e proteínas de elastina.

Abaixo da derme há tecido conjuntivo frouxo e tecido adiposo, chamados de camada subcutânea. Ela proporciona isolamento, suporte e amortecimento para a pele e outros tecidos, a fim de suportar tensões e pressões. Ela também armazena energia para a pele. Abaixo desta camada, estão localizados fásia e músculos que proporcionam amortecimento adicional por sobre as estruturas ósseas.

---

## **2.2 A Fisiologia da Cicatrização de Feridas**

### 2.2.1 Introdução:

A reparação tecidual é um processo complexo, pelo qual todas as feridas cicatrizam na mesma seqüência de eventos, incluindo indução ao processo inflamatório agudo pela própria lesão, regeneração de células parênquimatosas, migração e proliferação do tecido cognitivo, síntese de proteínas, remodelação do tecido cognitivo e componentes parenquimatosos, colagenização e aquisição de força tensional.<sup>8</sup>

### 2.2.2 Cicatrização de feridas

O processo fisiológico de reparação tecidual pode ser dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e remodeladora. Estes três estágios duram períodos de tempo variáveis, o que exige do profissional que atua nesta especialidade do cuidado ao ser humano um conhecimento profundo, de forma a adequar sua avaliação e conduta, proporcionando a facilitação deste processo.

---

### 2.2.3 Fase inflamatória

A resposta inflamatória é uma reação local não específica à lesão do tecido e/ou invasão bacteriana. É uma parte importante dos mecanismos de defesa do corpo, e fase essencial do processo de cicatrização. Os sinais de inflamação foram descritos pela primeira vez por Celsus no século primeiro da era cristã, como vermelhidão, calor, dor e inchaço.<sup>9</sup>

Esta fase tem as funções de ativar o sistema de coagulação, promover o debridamento da ferida e defesa contra microrganismos. É composta por três outras fases que ocorrem quase que simultaneamente:

Fase trombocítica - a hemostasia é a primeira resposta à lesão e se caracteriza pela vasoconstrição. Os trombócitos são responsáveis pela agregação plaquetária e ativação da cascata de coagulação.

Fase granulocítica – nesta fase os granulócitos liberam enzimas proteolíticas mediadoras (colagenases, elastases e hidrolases ácidas); Há aumento do fluxo sanguíneo (vasodilatação); perda de líquidos, proteínas e células pelos capilares (produção de exsudato); ocorre a quimiotaxia (atração de macrófagos) e a fagocitose (os neutrófilos e macrófagos digerem as bactérias e restos celulares).

Fase macrofágica – nesta fase há o início da reparação, onde os macrófagos secretam proteases, fatores de crescimento e substâncias vasoativas que dão

---

---

continuidade ao processo de debridamento e exercem a função de controle central das fases de cicatrização subsequentes.

#### 2.2.4 Fase proliferativa-

Granulação – é a formação de um tecido novo composto de capilares, colágeno e proteoglicans. A formação de capilares nesta fase resulta da liberação de fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos que estimulam a proliferação de células endoteliais dos vasos sanguíneos. Nesta fase há produção de colágeno pelos fibroblastos.

Segundo Simões e col.,<sup>10</sup> o fibroblasto pode ser considerado uma célula adaptativa, podendo realizar várias funções como uma célula reguladora devido à dupla função de síntese e reabsorção de colágeno, mantendo o equilíbrio quantitativo e qualitativo desta proteína.

Epitelização – nesta fase as principais prioridades são a formação de um tecido conjuntivo novo e epitelização. Ela caracteriza-se pela redução da capilarização e aumento do colágeno.

---

### 2.2.5 Fase de maturação

Nesta fase ocorre a remodelação do colágeno e redução da capilarização. A cicatriz torna-se mais clara e plana.

## **2.3 Fatores Locais e Sistêmicos que podem influenciar no processo cicatricial**

O período cicatricial depende de vários fatores locais e sistêmicos que podem influenciar prejudicialmente o processo cicatricial.

### 2.3.1 Relacionados ao agente lesivo

- A. Extensão da lesão: tamanho, quantidade, penetração, potencial de produção de doença do agente invasor.
- B. Duração e persistência da lesão: duração da exposição ao agente lesivo, corpos estranhos resistentes a digestão pelas enzimas orgânicas.

### 2.3.2 Relacionadas ao hospedeiro

- A. Fatores locais: desvitalização e necrose tecidual, infecção, corpo estranho, hematoma, edema, seroma e tensão na linha de sutura.
-

B. Fatores sistêmicos: má oxigenação e baixo suprimento de sangue, doenças metabólicas, desnutrição, deficiências de vitaminas e de proteínas, uso de drogas citotóxicas, corticóides ou anti-inflamatórios e idade.

### 2.3.3 Relacionados ao tratamento tópico da lesão

- Utilização de sabões para limpeza: estas substâncias possuem grupos hidrofílicos e lipofílicos que diminuem a tensão superficial das células e afetam a permeabilidade da membrana celular.

- Utilização de soluções anti-sépticas: nas concentrações clínicas, estas soluções são tóxicas para as células envolvidas no processo de cicatrização. Sua capacidade bactericida é comprometida na presença de exsudato e está diretamente relacionada a concentração que, quanto mais elevada, maior é a capacidade de citotoxicidade.

- Indicação de coberturas inadequadas;

- Técnica incorreta para execução de curativos;

---

## **2.4 Produtos para o tratamento de feridas**

### 2.4.1 Histórico

As medicações tópicas têm sido usadas através de séculos para uma variedade de razões reais ou imaginárias, de expulsar maus espíritos ou evocar o “pus laudanso” até promover a cicatrização. Na história antiga, o tratamento de feridas mudava a cada teoria em voga.

Em uma revisão de literatura, Andrade<sup>1</sup> descreve que já na pré-história vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama eram aplicados sobre as feridas. Na Mesopotâmia elas eram lavadas com água ou leite e o curativo era realizado com mel ou resina. Lã de carneiro, folhas e cascas de árvores eram utilizadas para suas coberturas. Os egípcios concluíram que uma ferida fechada cicatrizava mais rápido do que aberta, por isso utilizavam tiras de pano para manter unidas as margens da lesão. Hipócrates sugeria que as feridas contusas fossem tratadas com calor e pomadas para promover a supuração, remover material necrótico e reduzir a inflamação. No início da era cristã, Celsus preconizava o fechamento primário das feridas recentes e debridamento das contaminadas para posterior sutura.

A introdução de armas de fogo nas guerras européias no século 14 levou ao surgimento de um novo tipo de ferida, de cura mais difícil, e Ambroise de Paré na renascença reformulou seu tratamento. O avanço da química levou a descoberta de composto de cloro e iodo que foram utilizados para limpeza de material e da pele nos

---

séculos 18 e 19. Mais recentemente, as infecções, tratamento de lesões tem apresentado melhores resultados à medida que as decisões vão sendo cada vez mais baseadas em evidências científicas.

#### 2.4.2 Características dos principais recursos disponíveis para auxiliar na cicatrização de feridas

Dealey<sup>9</sup> refere que as qualidades de um produto eficaz para o tratamento de feridas, ou seja, as características do curativo ideal, são as seguintes:

- Manter a umidade na interface da ferida/curativo- em um ambiente úmido as células epiteliais conseguem deslizar pela superfície da lesão, além disso, o ambiente úmido intensifica os processos autolíticos naturais, decompondo o tecido necrótico e também proporciona redução da dor no local da ferida, porque as terminações nervosas não sofrem ressecamento.

- Permitir troca gasosa - a cobertura deverá ser permeável suficiente para permitir a entrada de oxigênio suficiente para a realização do processo de mitose e excreção de gás carbônico.

- Remover excesso de exsudato - embora a superfície da ferida deva permanecer úmida, a umidade excessiva causa maceração do tecido da pele circundante.

---

- Isenção de partículas tóxicas - pesquisas usando feridas experimentais em modelos animais demonstraram que os anti-sépticos têm efeitos tóxicos, os quais precisam ser ponderados em relação às vantagens obtidas em seu uso.

- Isolamento térmico - para que as células realizem mitose é necessário que o leito da ferida mantenha temperatura entre trinta e seis e trinta e sete graus. Toda vez que o leito for resfriado, ou seja quando ocorre a utilização de soluções geladas na lesão há um retardo no processo de cicatrização desta ferida.

- Ser impermeável à bactérias - todos curativos devem possuir alguma propriedade antibacteriana. Alguns deles têm elementos constituintes que são bactericidas, enquanto outros criam uma barreira entre a ferida e o ambiente.

- Permitir a remoção sem causar trauma - se um curativo for de fácil remoção, ele provavelmente não causará lesão aos tecidos recém-formados na ferida e tampouco será doloroso para o paciente.

#### 2.4.3 Novas tecnologias no tratamento de feridas

Abaixo estão enumeradas as principais categorias de coberturas para feridas disponíveis no Brasil:

- Ácidos Graxos Essenciais (AGE) - encontram-se nesse grupo, três sub-grupos: derivados do ácido linoléico, derivados do ácido linoléico com lanolina e derivados do

---

---

ácido ricinoléico – da mamona. Têm ação sobre a membrana celular, aumentando sua permeabilidade, promovem mitose e proliferação celular, estimulam a neoangiogênese, apresentam quimiotaxia para leucócitos, facilitam a entrada de fatores de crescimento, auxiliam o desbridamento autolítico e possuem ação bactericida para *S. áureos*.

- Alginato de cálcio - são fibras de não tecido, impregnadas de alginato de cálcio e sódio, extraídas de alga marinha *Laminaria*. Indicado para o uso em feridas superficiais, com perda parcial de tecido ou lesões cavitárias, altamente exsudativas. Auxilia o desbridamento autolítico, diminui o exsudato e o odor da ferida.

- Anti-sépticos e degermantes - indicados para remoção de resíduos como fezes, restos de coberturas e desodorização. Agem limpando as áreas próximas da ferida pela ação detergente, desodorizante e mecânica. Mantém o pH natural, controlam a colonização bacteriana e podem auxiliar na redução do odor.

- Carvão ativado e prata - utilizado para feridas infectadas, exsudativas, superficiais ou profundas, fétidas. Remove o excesso de exsudato da ferida por adsorção, bactericida, diminui o odor, pode ser utilizado juntamente com o AGE.

- Filmes semipermeáveis - película de poliuretano utilizada em feridas secas, queimaduras, como cobertura secundária e proteção de áreas de risco lesional. São permeáveis ao oxigênio e vapor úmido.

- Hidropolímeros - almofadas compostas de hidropolímeros. Indicado para feridas exsudativas, limpas. Mantém meio úmido e auxiliam o desbridamento autolítico. Removem o excesso de exsudato e reduzem o odor da ferida.

---

- Hidrogel - são géis transparentes utilizados para a remoção de tecido desvitalizado, queimaduras de primeiro e segundo graus, áreas doadoras e receptoras de enxertos. Mantém o meio úmido ideal, favorece a angiogênese e promovem o desbridamento autolítico.

- Hidrocolóides - são coberturas que contém gelatina e pectina em seu interior. Utilizadas em feridas secas com ou sem necrose. Auxiliam o desbridamento autolítico e estimulam a angiogênese. Podem ser usados com AGE.

- Enzimas Proteolíticas - Apresentam-se sob a forma de pó, pomadas ou cremes, utilizadas em muitos tipos de curativos. Entre as enzimas mais utilizadas podemos citar a colagenase, a fibrinolisina e a papaína.

A colagenase e a fibrinolisina são enzimas que agem de forma seletiva, promovendo o desbridamento enzimático de forma suave, sobre os tecidos desvitalizados.

A papaína é uma enzima proteolítica, constituída por um conjunto de proteases sulfídricas, extraídas da planta carica papaya. Sua utilização em feridas tem sido amplamente estudada por pesquisadores quanto a sua ação e ao estabelecimento de protocolos para sua aplicação em diversos tipos de lesões. Pode ser manipulada ou encontrada comercialmente. Indicado seu uso para todas as fases do processo cicatricial, para uso em feridas secas ou exsudativas, colonizadas ou infectadas, com ou sem necrose. Normalmente são indicadas nas concentrações de 2% (feridas com tecido de

---

---

granulação), 4% a 6% (exsudato purulento) e 10% (tecido necrótico). Promove desbridamento químico, granulação e epitelização, estimula a força tênsil das cicatrizes.

- Curativo com gaze simples- as maiores vantagens dos curativos de gaze são seu baixo custo, a facilidade de uso e o fato de estarem disponíveis na maioria das instituições. Têm pouca capacidade de absorção do exsudato, exigem trocas frequentes, precisam de cobertura secundária e fixação e podem provocar maceração das áreas adjacentes, devido a extravasamento de líquidos.

- Curativos de Gaze não aderente- há dois tipos de gaze não aderente: o impregnado e o não impregnado. As gazes impregnadas podem ser com petrolato, PVPI, com AGE e com aloe Vera. As gazes não impregnadas tem função de absorver exsudato. Evitam aderência do curativo à ferida, evitando a dor durante a troca. Indicadas em queimaduras superficiais, áreas cruentas, pós-traumas, feridas com formação de tecido de granulação.

- Matriz de regeneração dérmica- derivada da polimerização do colágeno e glicosaminoglicanos, promove crescimento celular e síntese de colágeno. É indicada para feridas limpas e queimaduras.

- Colágeno biológico- partículas hidrofílicas de colágeno de origem bovina. Indicado para feridas em qualquer fase do processo de cicatrização, podendo ser usado em feridas infectadas ou colonizadas. Remove o excesso de exsudato, diminui a inflamação local e o edema e acelera o processo cicatricial.

---

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo deste estudo encontra-se em comparar os efeitos da utilização de papaína, AGE e soro fisiológico em lesões cutâneas no dorso de ratos da linhagem EPM-I Wistar.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

Verificar a concentração de colágeno e fibroblastos presentes nas feridas de ratos, no terceiro, sétimo e décimo-quinto dias da cicatrização durante a terapêutica com papaína, AGE e soro fisiológico.

Analisar a concentração de colágeno e fibroblastos presentes nas feridas tratadas com Papaína, AGE e soro fisiológico.

---

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Parecer ético**

Este estudo foi aprovado em vinte e três de março de dois mil e sete, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do sul, protocolo 06/03433.

Todos os procedimentos adotados, durante as técnicas, envolvendo os animais, estão de acordo com o que preconiza o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (CPEA) do Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) do Rio Grande do Sul.

---

## **4.2 Material**

### 4.2.1 Animais utilizados e cuidados dispensados

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados doze ratos heterogênicos da linhagem EPM-I Wistar criados e mantidos, sob condições do biotério convencional, na Coordenação de Produção e Experimentação Animal (CPEA) do Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) do Rio Grande do Sul.

Todos animais utilizados foram machos entre oito e dez semanas de idade. Antes e durante a fase experimental, estes animais receberam como alimentação ração balanceada padrão para roedores, água ad libitum e foram mantidos em gaiolas individuais, devidamente identificadas com fotoperíodo de doze horas claro e doze horas escuro (06:00/18:00), no laboratório de Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, sob condições de biotério convencional.

Os animais foram distribuídos por sorteio em três subgrupos de acordo com o período de observação (3, 7 e 15 dias de pós operatório), com quatro animais em cada subgrupo.

---

### **4.3 Métodos**

#### 4.3.1 Fotografias

As fotografias foram registradas com uma máquina fotográfica digital Sony DSC W5, 5,1 megapixels e utilizou-se flash para todas elas, mesmo diante de luz artificial (lâmpadas fluorescentes 6400K, intensidade de X lux). As fotos foram tiradas a uma distância de cinquenta centímetros com lente de macro, em ângulos variados.

#### 4.3.2 Técnica operatória

Os ratos foram, depois de pesados, pré-medicados com sulfato de atropina, na dose de 0,44mg/100g por via subcutânea, após anestesiados com solução final de Cloridrato de Xilazina 2% (Rompun, Bayer Animal Health) e Cloridrato de Ketamina 10% (Dopalen, Agribrands Brasil Ltda.) diluídos a 2mg/ml e 10mg/ml de solução salina (Alcon, Alcon Labs. do Brasil Ltda.-8ml/0,9%) respectivamente. Houve administração de uma dose única de 0,2ml para cada 100g de peso corporal por via intraperitoneal, suficiente para abolir a dor e realizar o procedimento em tempo hábil.

Após anestesia, os ratos foram posicionados em decúbito ventral horizontal em mesa apropriada e realizada tricotomia em região dorsal com lâmina. Seguida de anti-sepsia com álcool etílico 70%.

---

Para demarcação da pele a ser retirada, utilizou-se caneta hidrográfica de cor azul marinho e após com uso de tesoura cirúrgica foram excisados três fragmentos cutâneos de dois centímetros de diâmetro, no centro da área epilada, até a exposição da fáscia muscular dorsal. A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze esterilizada.



**Figura 1** – Foto confecção das lesões cutâneas



**Figura 2** – Foto das lesões cutâneas

#### 4.3.3 Tratamentos instituídos

As coberturas foram aplicadas sobre as três lesões. Assim as lesões foram denominadas C1, C2 e C3 (seguindo o sentido crânio-caudal, respectivamente) onde:

- C1 recebeu gaze de algodão embebida com Ácidos Graxos Essenciais (VDeclair, Neve LTDA, Brasil) à base de óleo de girassol, composto por ácido linoleico, ácido cáprico, vitamina A, vitamina E .

- C2 recebeu gaze de algodão embebida em solução salina 0,9%, pois representou o grupo controle.

- C3 recebeu gaze de algodão embebida em solução de papaína a 2% (Papaína 6.000 UI/mg, Wall-Indl, Brasil). Para obtenção desta solução diluiu-se um grama de pó de papaína em cinquenta mililitros de água Bidestilada.

---

As coberturas foram ocluídas com gaze de algodão seca e fixadas a pele com cobertura adesiva estéril (IV fix, 3M do Brasil).

Os animais foram mantidos em suas gaiolas e seus curativos trocados a cada vinte e quatro horas. Por ocasião da troca dos curativos, as lesões foram medidas e fotografadas.



**Figura 3** – Foto da mensuração das lesões com paquímetro

#### 4.3.4 obtenção de amostras das feridas

A coleta de amostras das feridas, no primeiro grupo, foi realizada no terceiro dia após a realização das lesões.

Os animais foram posicionados em decúbito ventral, anestesiados com solução final de Cloridrato de Xilazina 2% (Rompun, Bayer Animal Health) e Cloridrato de Ketamina 10% (Dopalen, Agribbrands Brasil Ltda.) diluídos a 2mg/ml e 10mg/ml de

---

solução salina (Alcon, Alcon Labs. do Brasil Ltda.-8ml) 0,9ml administrados respectivamente. Houve administração de uma dose única de 0,2ml para cada 100g de peso corporal por via intraperitoneal, suficiente para abolir a dor e realizar o procedimento em tempo hábil. Foi feita biópsia incisional da ferida, por excisão da área total da lesão e após eutanásia do animal biopsiado, com injeção de 0,2 ml de quetamina no pericárdio. As amostras de feridas foram colocadas em frascos de formol a 10%, identificados e armazenados.

Este processo repetiu-se no sétimo dia após realização das feridas, no segundo grupo e no décimo quinto dia, no terceiro grupo.

#### 4.3.5 Preparo histológico e imunohistoquímico

Os fragmentos biopsiados nos terceiro, sétimo e décimo quinto dia foram fixados em formol a 10% e encaminhados para o processamento histológico convencional constando de desidratação com álcool, diafanização em Xilol e inclusão em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo com cortes de cinco micrômetros de espessura e submetidos à coloração com Hematoxilina e Eosina (HE), Picrosírius (para visualização e quantificação do colágeno sob luz polarizada) e imunohistoquímica para quantificação da expressão de FGFr (Growth Factor fibroblast), permitindo a avaliação da quantidade de colágeno.

---

Para confecção, as lâminas foram incubadas em estufa histológica por uma hora, seguido de desparafinização em Xilol (duas trocas de cinco minutos) álcool absoluto (cinco trocas de dois minutos).

Para a confecção do HE utilizou-se Hematoxilina-trans, por um minuto, e Eosina, por quatro minutos, seguido de desidratação em álcool, clarificação em Xilol e montagem das lâminas em meio sintético (Bálsamo do Canadá).

Para preparo do Picrosírius, após desparafinização, as lâminas foram incubadas por uma hora em Solução de picrosírius, lavadas abundantemente em água corrente, incubadas por dois minutos em Solução Light green 0,5%, para coloração do contraste e secas em estufa histológica, até completa secagem. Após, foram montadas em meio sintético (Bálsamo do Canadá).

Para realização da imunohistoquímica, após desparafinização utilizou-se a técnica de imunoperoxidase. Foi realizada recuperação antigênica em tampão Tris/Edta pH 9,0 por quarenta minutos, seguidos de três lavagens de cinco minutos com solução tampão PBS. Após, fez-se o bloqueio de Peroxidase Endógena utilizando-se Água Oxigenada 3% diluída em metanol e incubado por trinta minutos em temperatura ambiente. Seguido disso, foram realizadas três lavagens de cinco minutos com Solução tampão PBS.

Para o bloqueio de ligações inespecíficas e redução do background (coloração de fundo), utilizou-se leite em pó desnatado a 5% em Solução tampão PBS por trinta minutos, seguidos de três lavagens de cinco minutos com Solução tampão PBS.

---

---

O anti-corpo Anti-FGF (Goat polyclonal Igg, Santa Cruz Biotechnology, SC 1884 ) foi diluído 1:200 UI e incubado overnight a 5C. Como anti-corpo secundário utilizou-se Rabbit (anti-goat Igg HRP Conjugate, Invitrogen, Carls bad, CA) diluído 1:200 e incubado por uma hora em temperatura ambiente, seguido de três lavagens de cinco minutos com Solução tampão PBS.

A reação imunohistoquímica foi revelada com cromógeno DAB (Diaminobenzidina, Dako, Carpinteria, USA) por dez minutos e lavados em água destilada. Foi contracorado com hematoxilina trans por um minuto, incubado por trinta segundos em solução de Hidróxido de Amônia 0,5%, lavado em água corrente, desidratado em álcool etílico e Xilol e montado em meio sintético (Bálsamo do Canadá).

#### 4.3.6 Análise das imagens

Foi utilizado microscópio Zeiss Axioskop 40 com óptica planeofluar e aumento de 400X, acoplado a sistema de captura de imagem e análise Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Silver Springs, MD, EUA). As contagens foram realizadas por método planimétrico (Gundersen, HJ et al.), sendo os resultados expressos em área de fibrose (quantificação de colágeno por coloração de picrossírius sob luz polarizada e proliferação tecidual (FGFR por reação imunistoquímica por micrômetros quadrados e a intensidade de coloração por densidade óptica integrada).

---

Foi realizada também a contagem das reações imunohistoquímicas por técnica de análise de imagem digital (sistema Image Pro Plus 6.0, Media Cybernetics, EUA), permitindo a avaliação estatística dos resultados por métodos paramétricos.

#### 4.3.7 Programas utilizados

Excel- utilizado para digitação dos dados

SPSS 12.0 – Programa utilizado para realizar as análises

#### 4.3.8 Testes Estatísticos Aplicados

Análise de variância com medidas repetidas. Foi considerado significativamente estatístico um valor de  $p < 0.05$ .

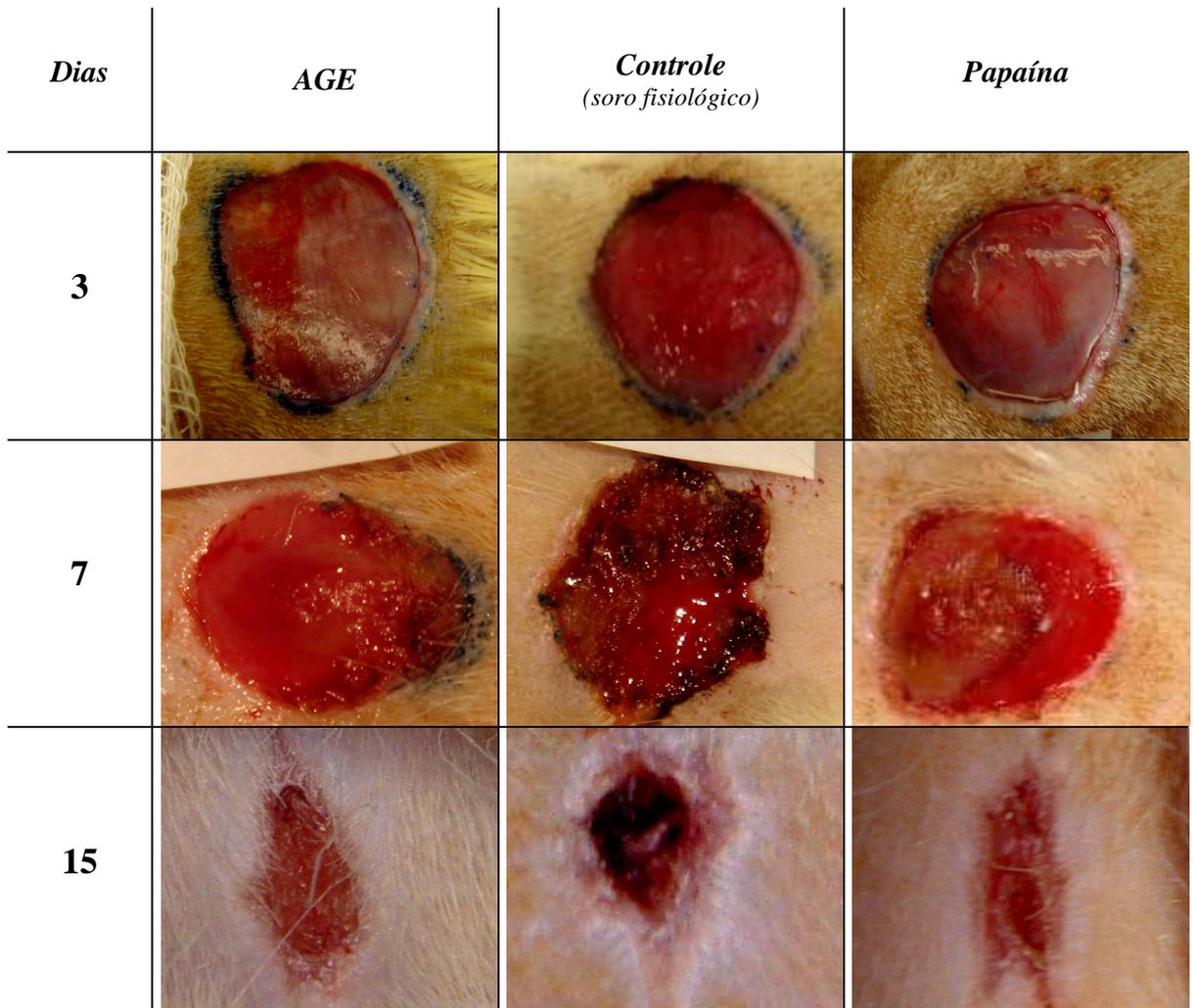
---

## **5 RESULTADOS**

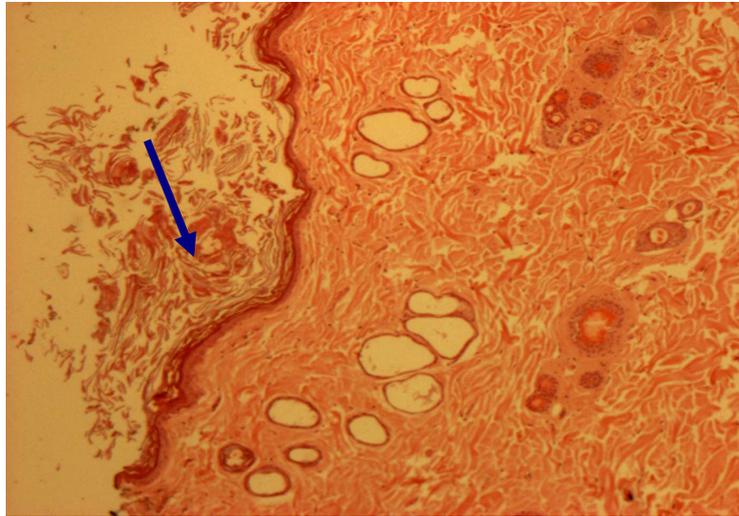
### **5.1 Avaliação macroscópica das feridas cutâneas**

Durante o experimento, as feridas cutâneas de todos os animais não apresentaram sinais de infecção. Os exames macroscópicos e fotográficos diários demonstraram redução do dimensionamento da área lesada, não sendo encontrado diferença significativa entre os tratamentos estabelecidos. As feridas apresentaram bordas arredondadas e bem definidas durante o tratamento ao qual foram expostos, diferindo o grupo controle somente na presença maior de crosta, o que se identifica nas figuras das lesões do sétimo e décimo quinto dia. Também foi identificado aderência da gaze no leito da ferida no grupo AGE ocasionando trauma no tecido cicatricial presente a cada troca de curativos.

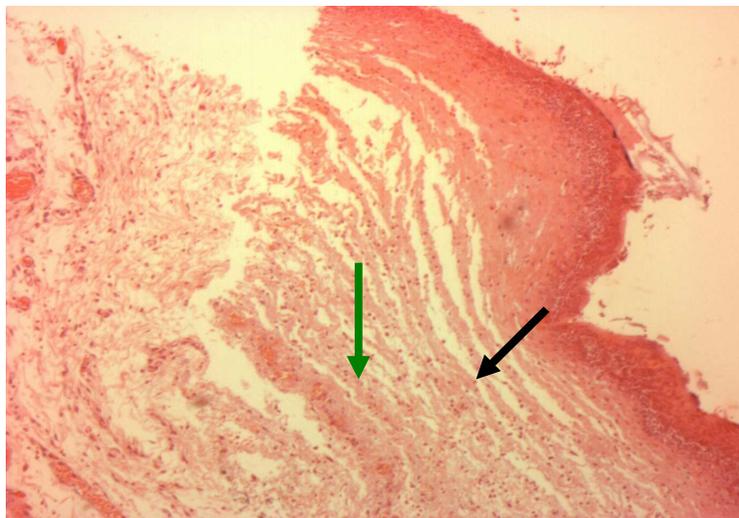
---

**Figura 4** – Foto da evolução das lesões

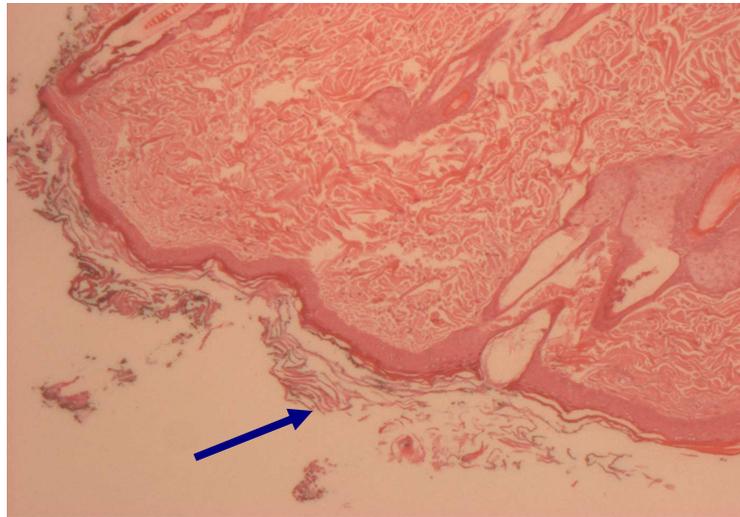
## 5.2 Avaliação histológica



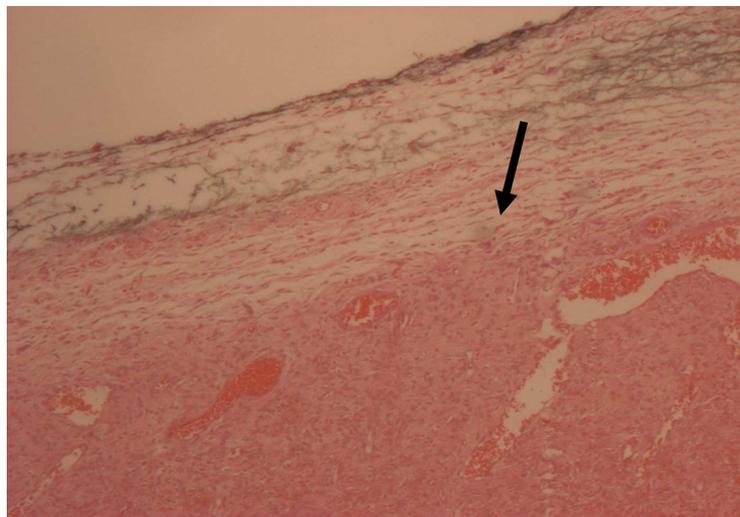
**Figura 5-** Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico. A amostra apresenta-se com tecido de reparo, recoberta por crosta. Coloração HE e aumento de 50x. (seta azul indica crosta)



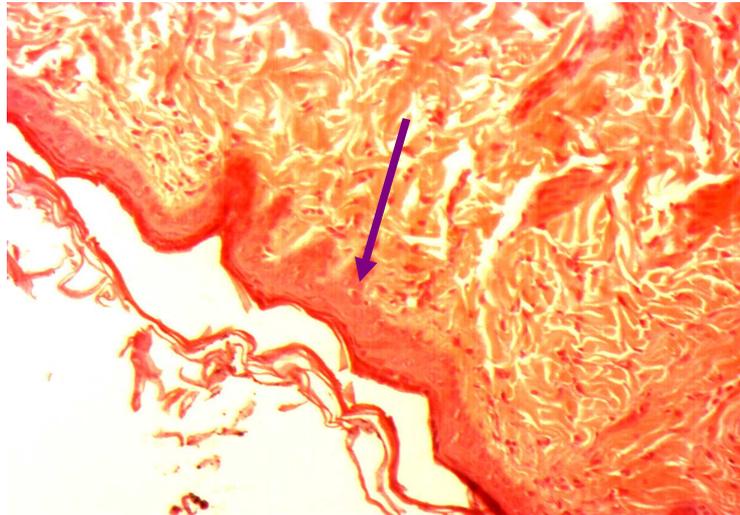
**Figura 6 -** Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico. A amostra apresenta-se com importante infiltrado inflamatório, edema associado e presença de crosta. Coloração HE e aumento de 50x. (seta verde indica infiltrado inflamatório; seta preta indica edema).



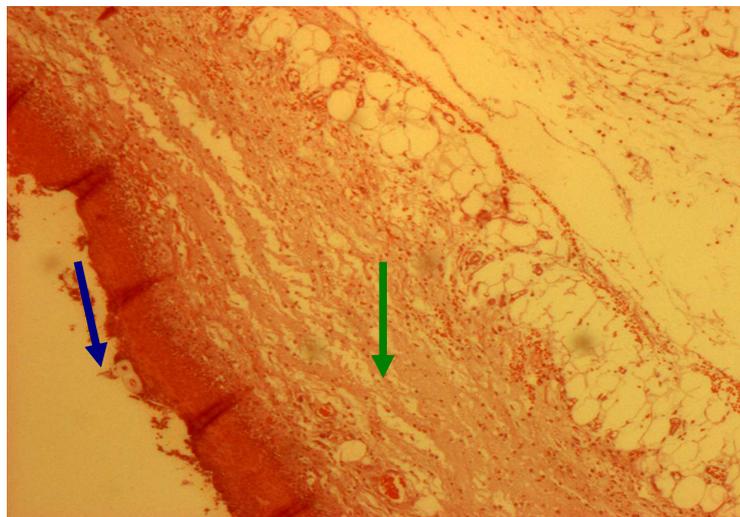
**Figura 7-** Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com soro fisiológico. A amostra apresenta-se com redução do edema e recoberta por crosta. Coloração HE e aumento de 50x. (seta azul indica crosta).



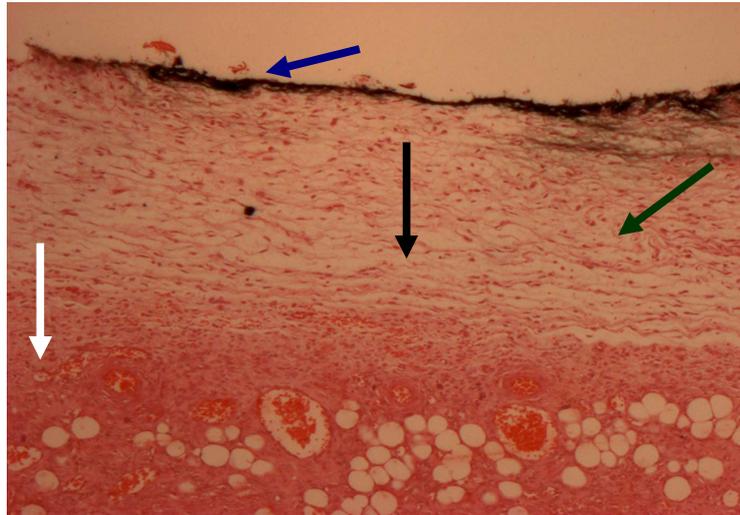
**Figura 8-** Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com soro fisiológico. A amostra apresenta-se com edema. Coloração HE e aumento de 50x. (seta preta indica edema)



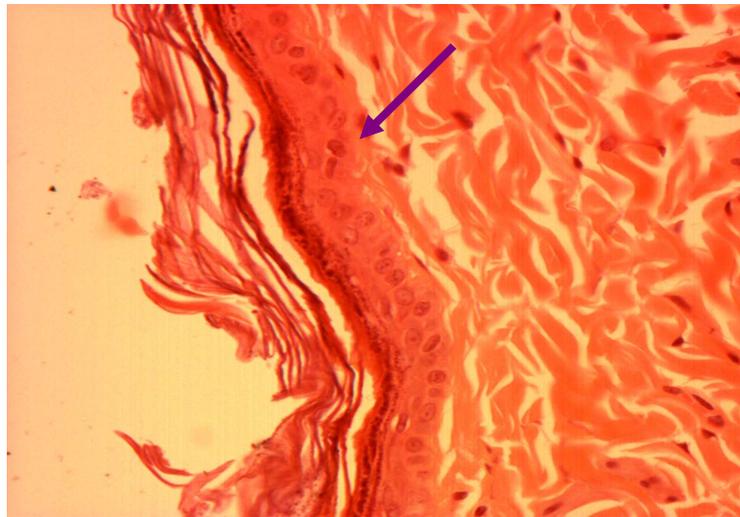
**Figura 9** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com soro fisiológico. A amostra apresenta-se com presença de crostas e epiteliação. Coloração HE e aumento de 100x. (seta roxa indica epiteliação).



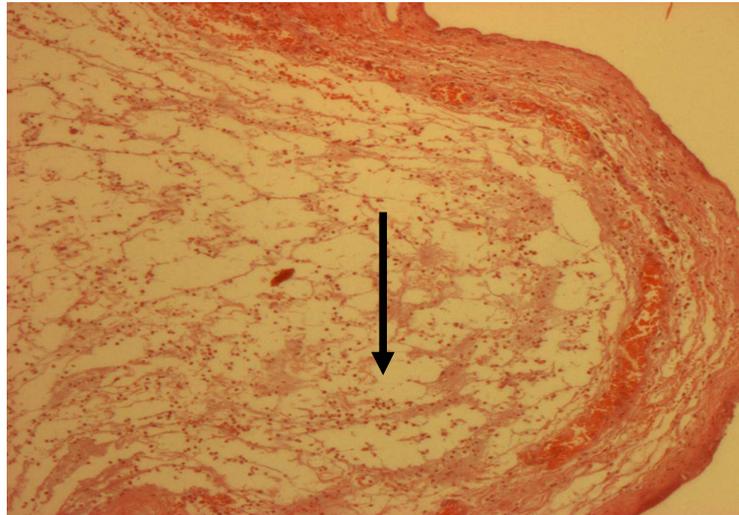
**Figura 10**- Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE. A amostra apresenta-se com importante infiltrado inflamatório, edema associado e presença de crosta. Coloração HE e aumento de 50x. (seta azul indica crosta; a seta verde indica infiltrado inflamatório)



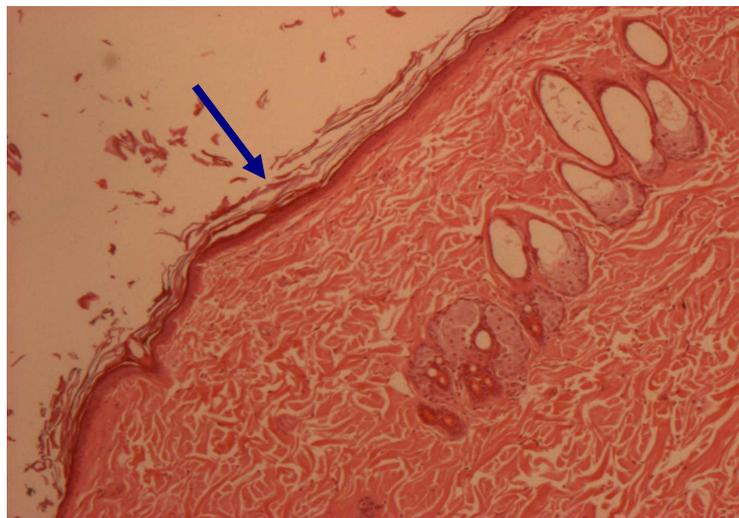
**Figura 11** - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE. A amostra apresenta-se com importante infiltrado inflamatório, edema associado, presença de crosta e angiogênese. Coloração HE e aumento de 50x. (seta branca indica angiogênese; seta preta indica edema; seta azul indica crosta; seta verde indica infiltrado inflamatório).



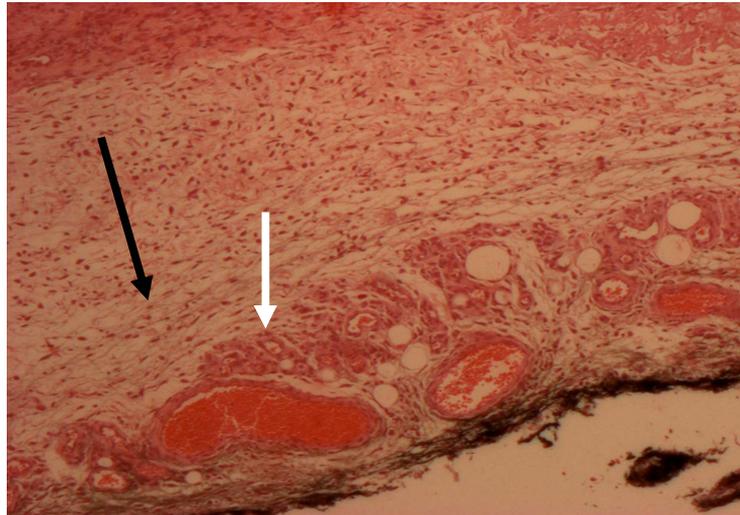
**Figura 12** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE. A amostra apresenta-se com crosta e epitelização. Coloração HE e aumento de 100x. (seta roxa indica epitelização).



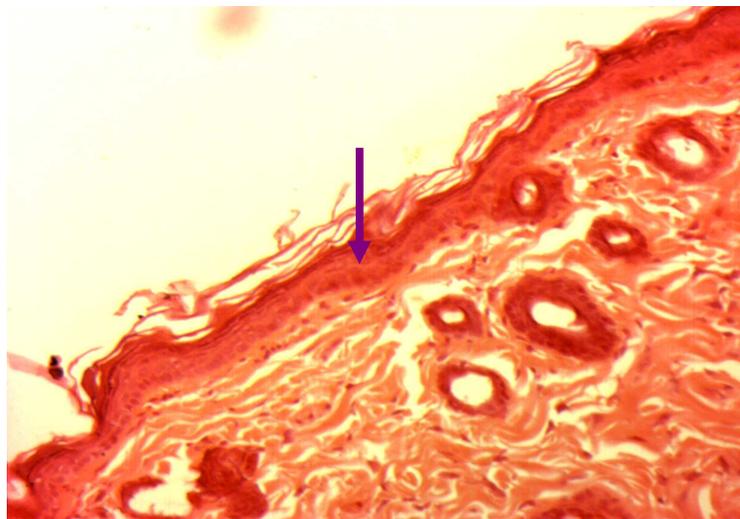
**Figura 13** - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Papaína. A amostra apresenta-se com infiltrado inflamatório, edema intenso associado e angiogênese. Coloração HE e aumento de 50x. (seta preta indica infiltrado inflamatório).



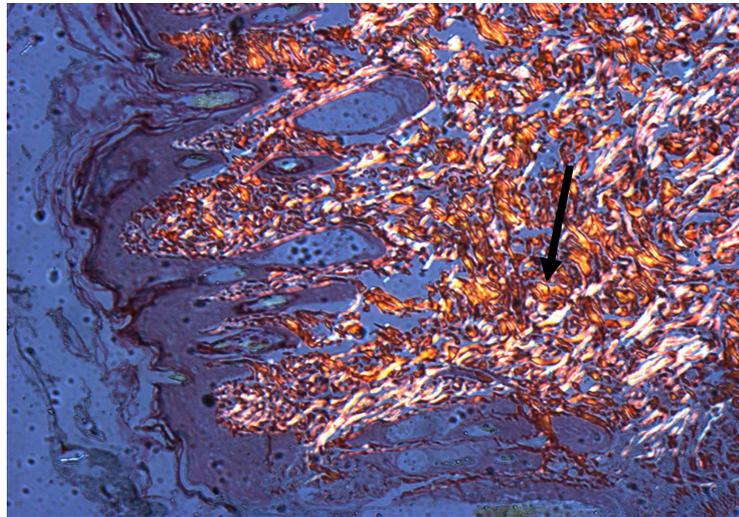
**Figura 14** - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína. A amostra apresenta-se com crosta e angiogênese. Coloração HE e aumento de 50x. (seta azul indica crosta).



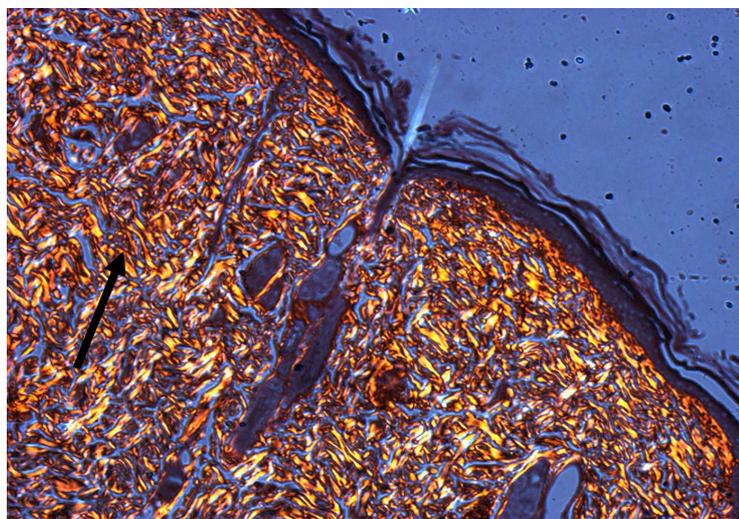
**Figura 15** - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína. A amostra apresenta-se com infiltrado inflamatório, angiogênese, edema associado e epitelização. Coloração HE e aumento de 50x (seta branca indica angiogênese; seta preta indica edema).



**Figura 16** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Papaína. A amostra apresenta-se com evidente epitelização. Coloração HE e aumento de 50x. (seta roxa indica epitelização)

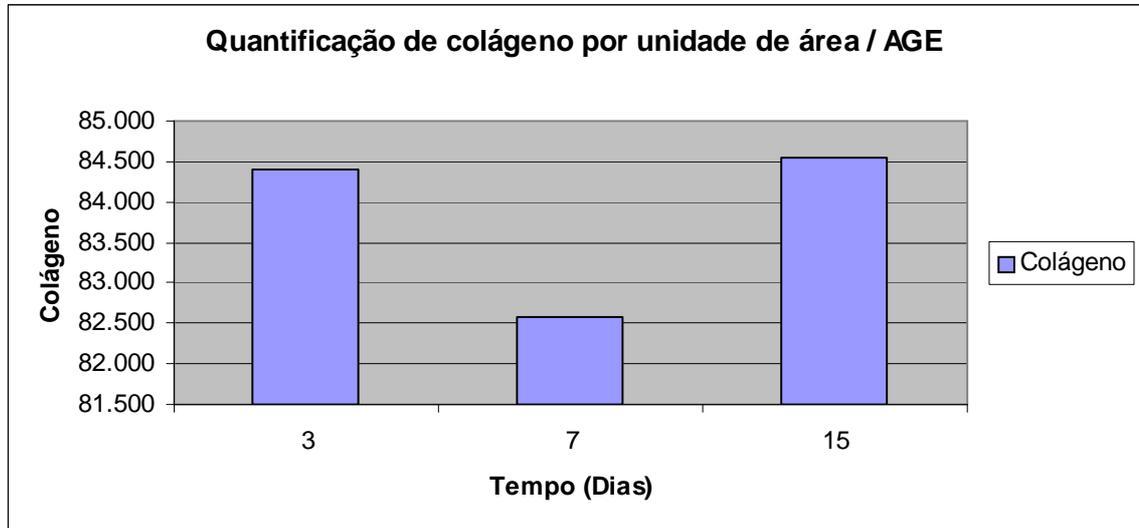


**Figura 17** - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE. Picrosirius 50x. (seta preta indica a expressão de fibras colágenas por unidade de área).

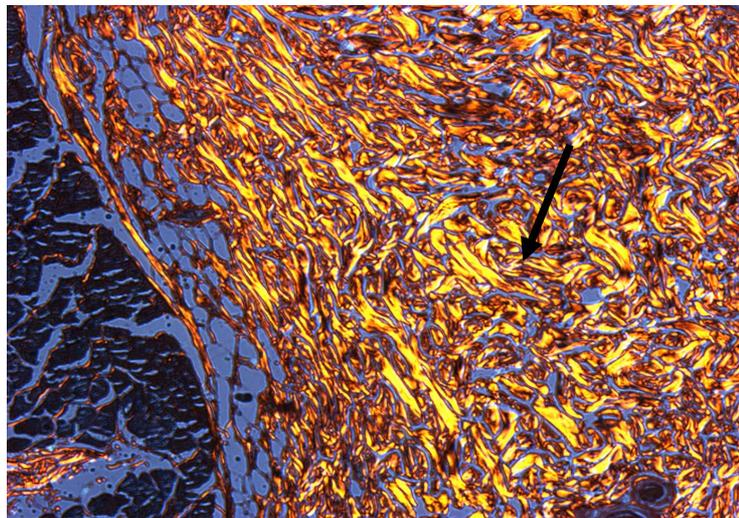


**Figura 18** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE. Picrosirius 50x. (seta preta indica a expressão de fibras colágenas por unidade de área).

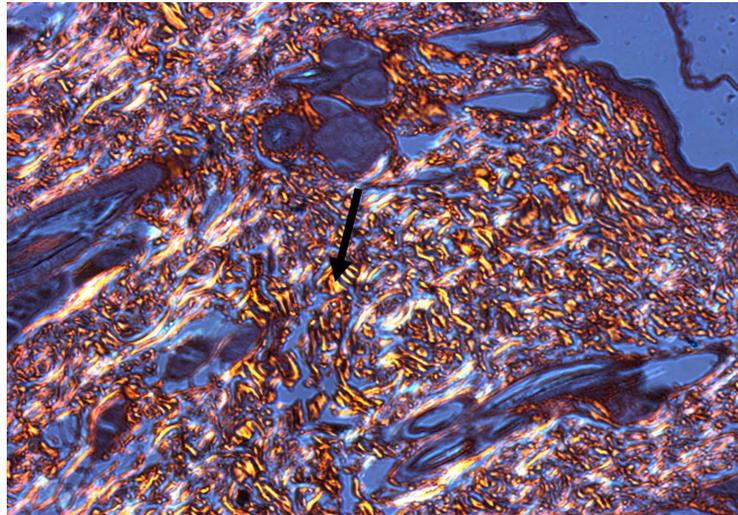
Observa-se nas figuras 17 e 18 um visível aumento nas fibras colágenas, o que irá se comprovar no gráfico abaixo:



**Figura 19** – Quantificação de colágeno por unidade de área / AGE

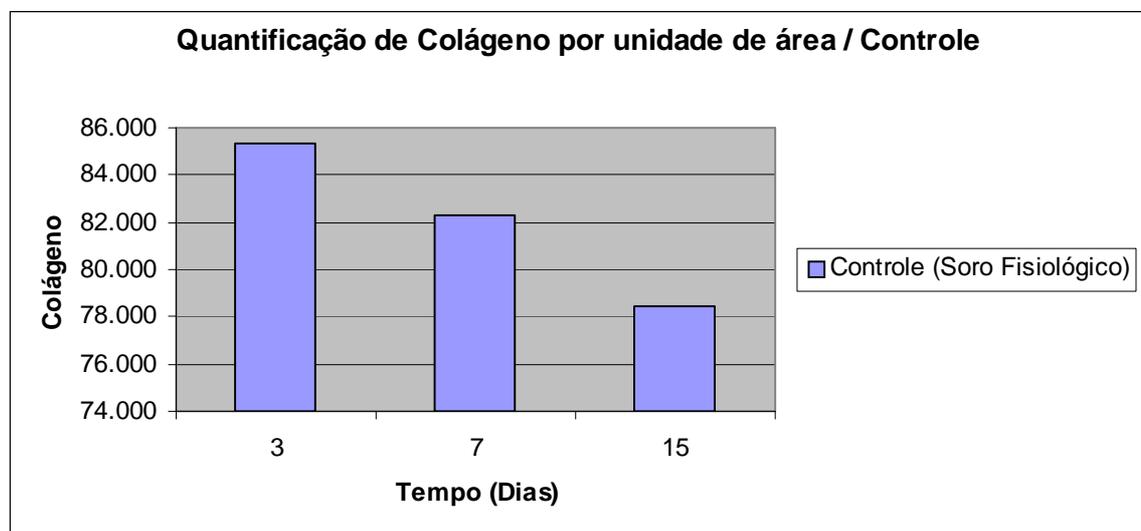


**Figura 20** - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com soro fisiológico. Picrosírius 50x. (seta preta indica a expressão de fibras colágenas por unidade de área).

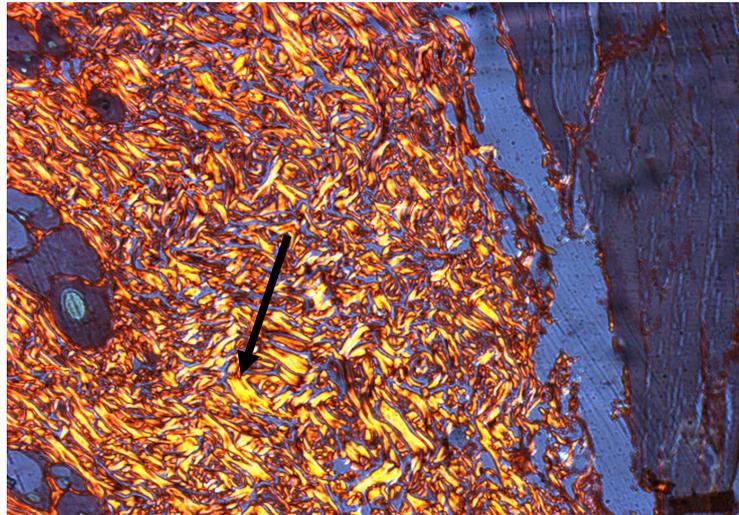


**Figura 21** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com soro fisiológico. Picrosirius 50x.

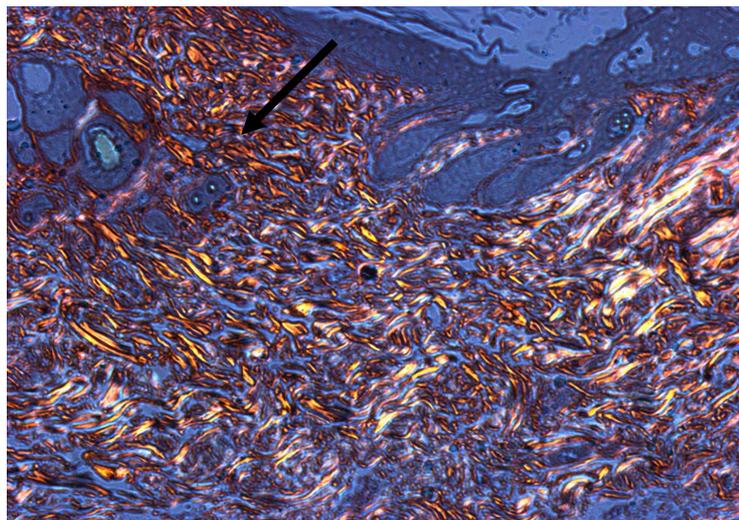
Observa-se nas figuras 20 e 21 um decréscimo da área de fibras colágenas sob luz polarizada.



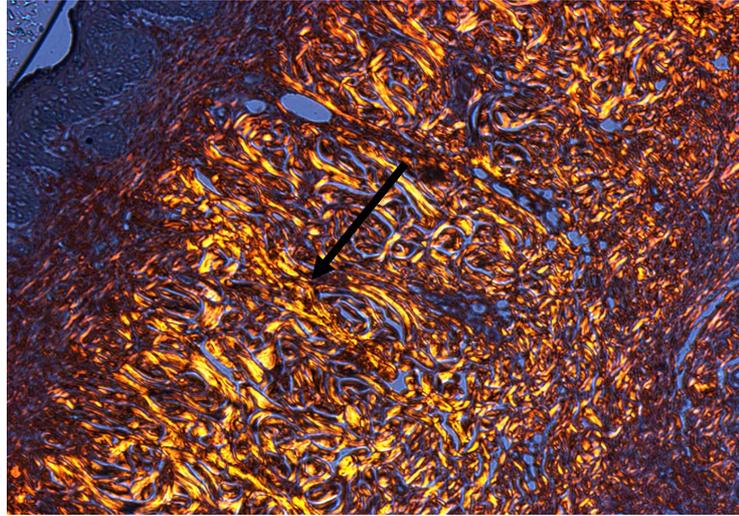
**Figura 22** – Quantificação de Colágeno por unidade de área / Controle



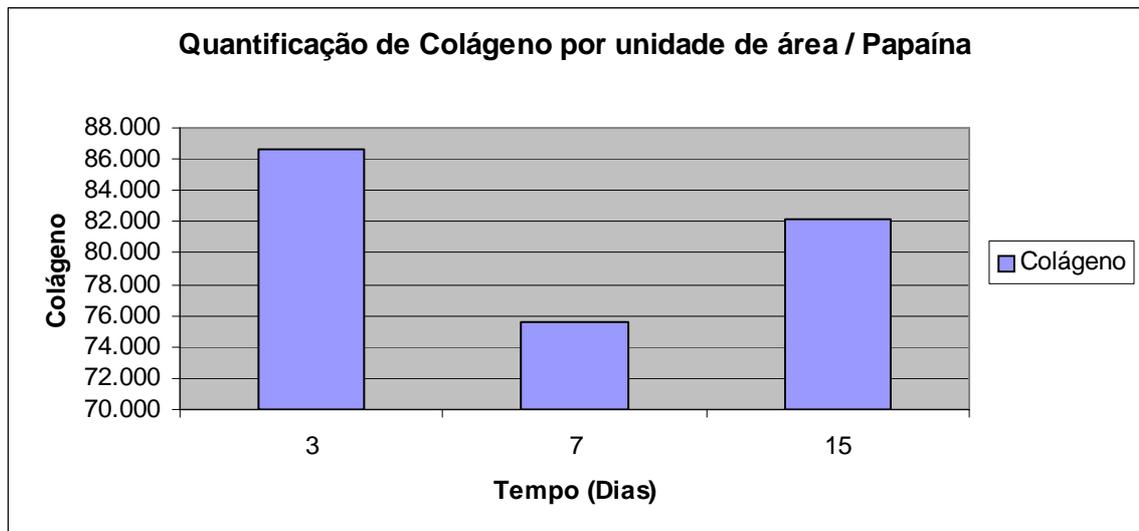
**Figura 23** - Microscopia da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com papaína 2%. Picrosirius. Aumento de 50x.



**Figura 24** - Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com papaína 2% Picrosirius. Aumento de 50x.

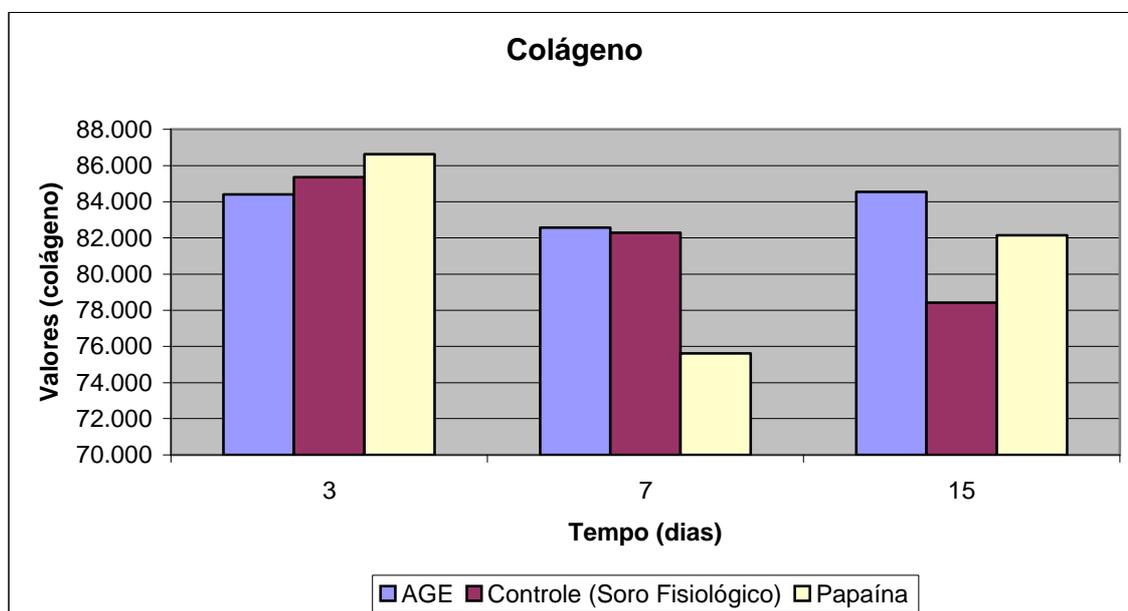


**Figura 25** - Microscopia da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com papaína 2%. Picrosirius. Aumento de 50x.



**Figura 26** – Quantificação de Colágeno por unidade de área / Papaína

Na tabela acima observa-se um decréscimo de fibras colágenas na fase inflamatória(7 dias) e um aumento na fase de maturação(15 dias).

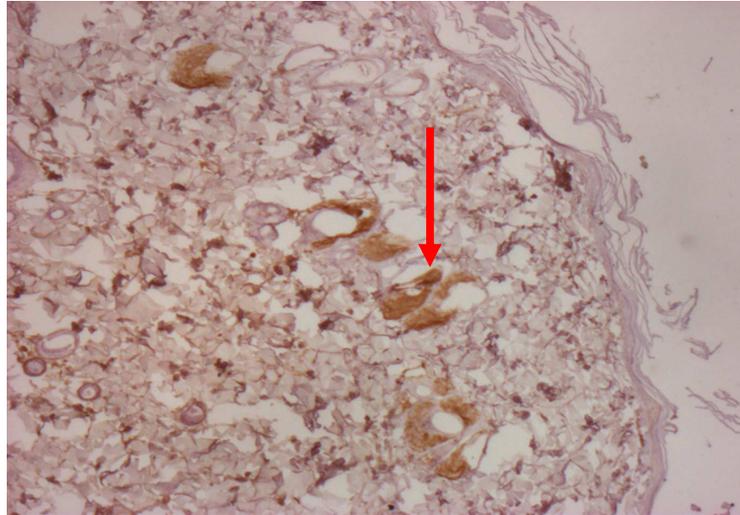


**Figura 27** - Quantificação de Colágeno por unidade de área na utilização dos três tratamentos

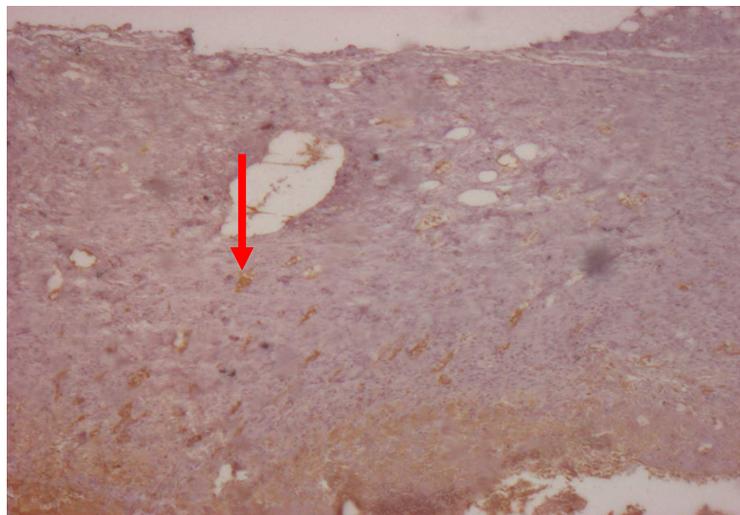
**Tabela 1-** – Quantificação de Colágeno por unidade de área na utilização dos três tratamentos

| COLÁGENO   |              |        |               |                               |        |
|------------|--------------|--------|---------------|-------------------------------|--------|
| Tratamento | Tempo (dias) | Média  | Desvio Padrão | 95% Intervalo de Configuração |        |
|            |              |        |               | Mínimo                        | Máximo |
| AGE        | 3            | 84.403 | 3.364         | 76.794                        | 92.013 |
|            |              | 82.570 | 7.127         | 66.449                        | 98.692 |
|            |              | 84.545 | 2.417         | 79.077                        | 90.012 |
| Controle   | 7            | 85.371 | 3.364         | 77.761                        | 92.981 |
|            |              | 82.286 | 7.127         | 66.164                        | 98.408 |
|            |              | 78.424 | 2.417         | 72.956                        | 83.891 |
| Papaína    | 15           | 86.624 | 3.364         | 79.014                        | 94.233 |
|            |              | 75.614 | 7.127         | 59.492                        | 91.736 |
|            |              | 82.142 | 2.417         | 76.674                        | 87.609 |

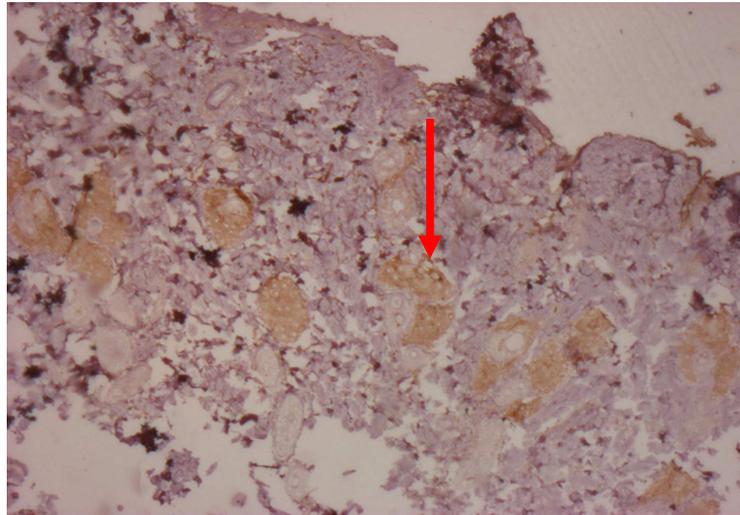
### 5.3 Avaliação Imunoistoquímica



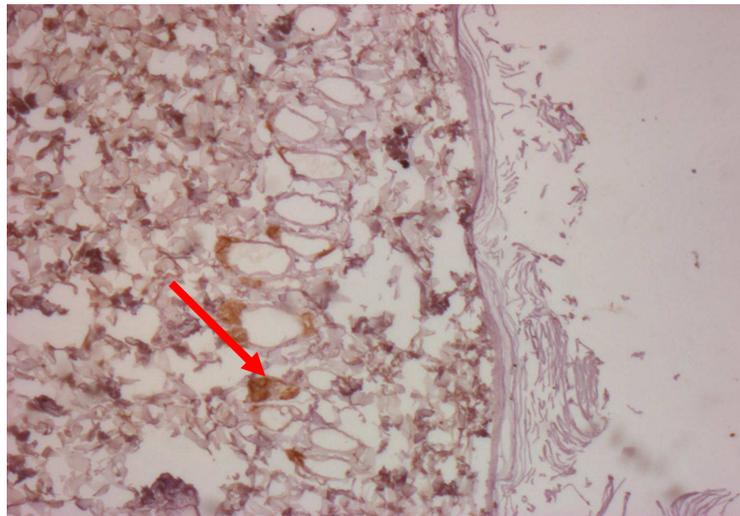
**Figura 28** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com AGE (seta vermelha indica citoplasma do fibroblasto).



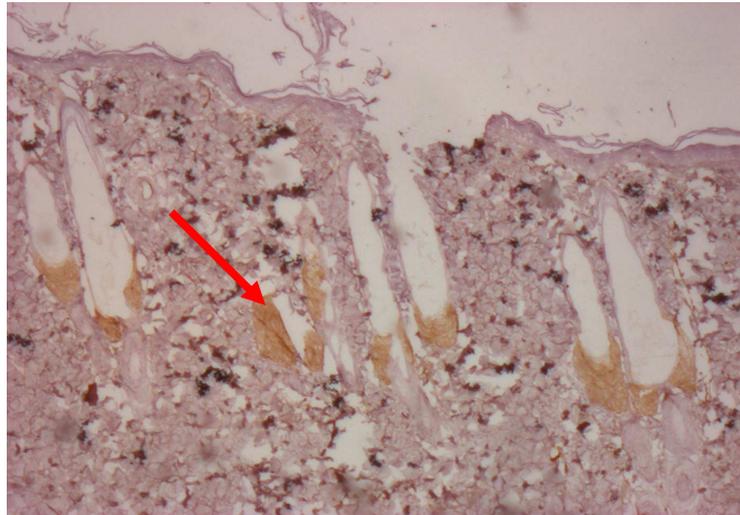
**Figura 29** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE (seta vermelha indica citoplasma do fibroblasto).



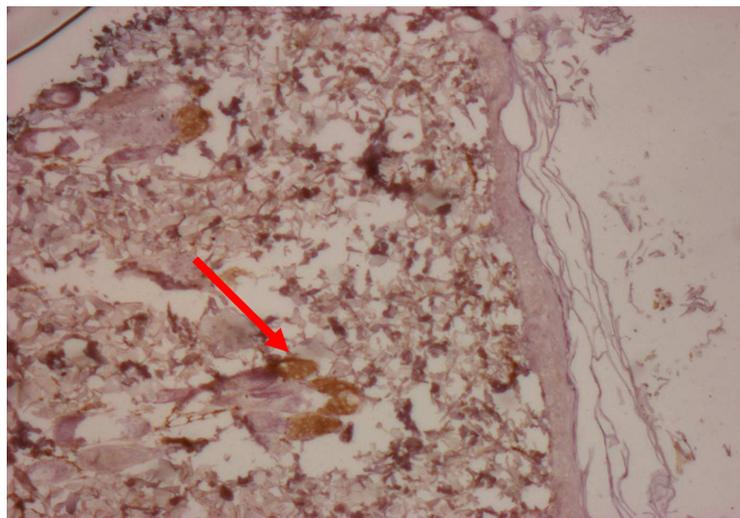
**Figura 30** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com AGE (seta vermelha indica citoplasma do fibroblasto).



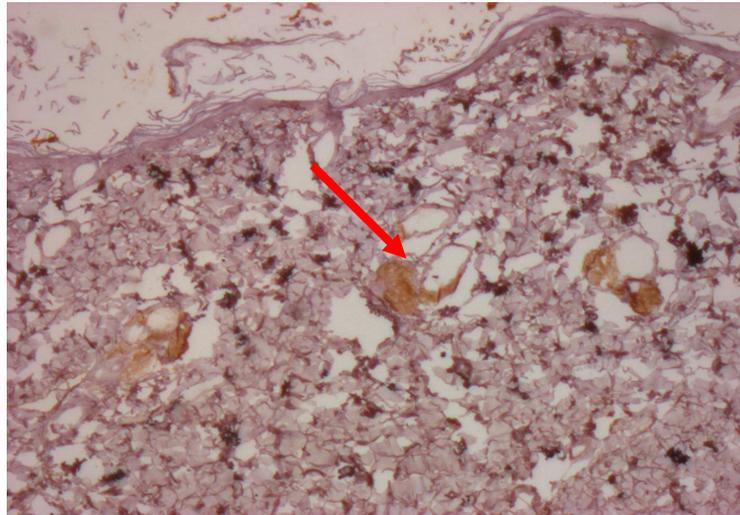
**Figura 31** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Soro Fisiológico (seta vermelha indica expressão do citoplasma do fibroblasto por unidade de área).



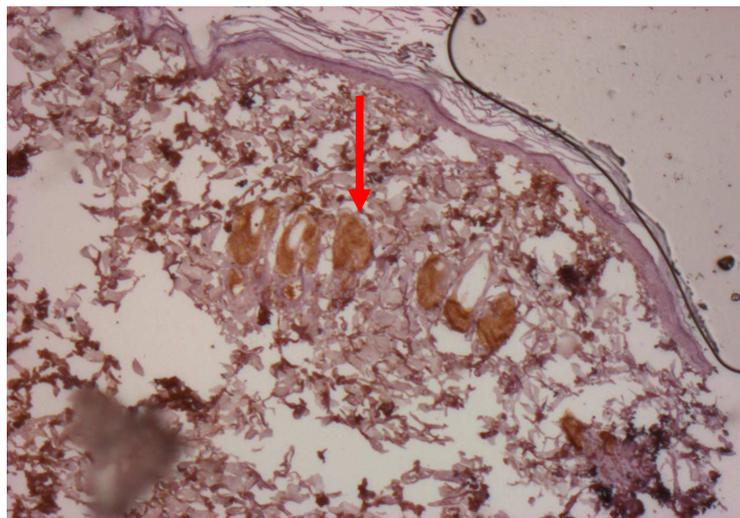
**Figura 32** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Soro Fisiológico (seta vermelha indica expressão de citoplasma do fibroblasto por unidade e área).



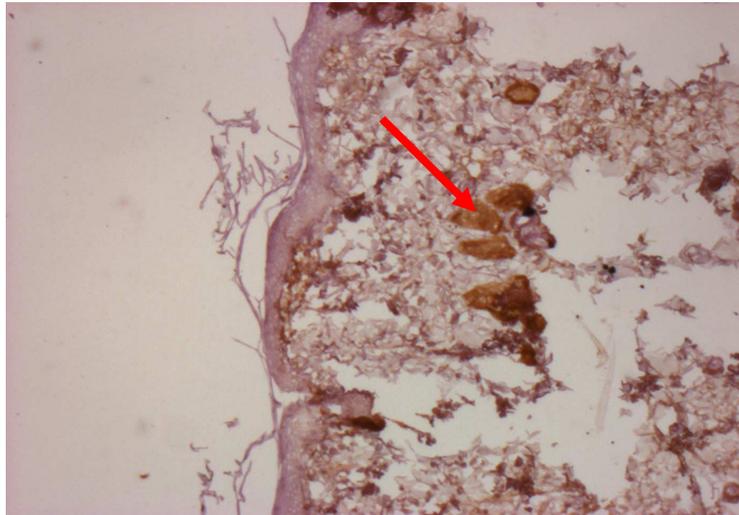
**Figura 33** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Soro Fisiológico (seta vermelha indica expressão de citoplasma do fibroblasto por unidade de área).



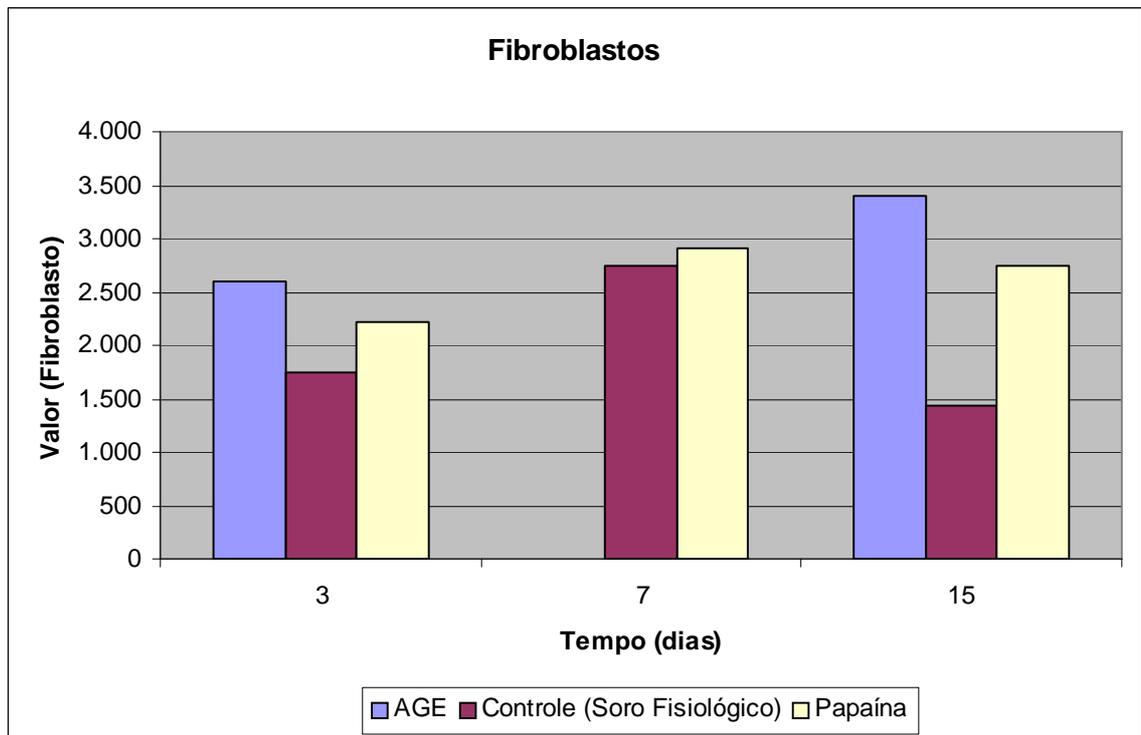
**Figura 34** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no terceiro dia de tratamento com Papaína (seta vermelha indica expressão de citoplasma do fibroblasto por unidade de área).



**Figura 35** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína (seta vermelha indica expressão de citoplasma do fibroblasto por unidade de área).



**Figura 36** - Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no décimo quinto dia de tratamento com Papaína (seta vermelha indica expressão de citoplasma do fibroblasto por unidade de área).



**Figura 37-** Quantificação de fibroblasto por unidade de área na utilização dos três tratamentos

**Tabela 2** - Quantificação de fibroblasto por unidade de área na utilização dos três tratamentos

| <b>FIBROBLASTOS</b> |                     |              |                      |                                      |               |
|---------------------|---------------------|--------------|----------------------|--------------------------------------|---------------|
| <b>Tratamento</b>   | <b>Tempo (dias)</b> | <b>Média</b> | <b>Desvio Padrão</b> | <b>95% Intervalo de Configuração</b> |               |
|                     |                     |              |                      | <b>Mínimo</b>                        | <b>Máximo</b> |
| <b>AGE</b>          | 3                   | 2.607        | 0.497                | 1.484                                | 3.371         |
|                     |                     | 0.901        | 0.718                | -0.722                               | 2.525         |
|                     |                     | 3.393        | 0.680                | 1.854                                | 4.932         |
| <b>Controle</b>     | 7                   | 1.737        | 0.497                | 0.613                                | 2.860         |
|                     |                     | 2.752        | 0.718                | 1.128                                | 4.375         |
|                     |                     | 1.437        | 0.680                | -0.102                               | 2.975         |
| <b>Papaína</b>      | 15                  | 2.211        | 0.497                | 1.087                                | 3.334         |
|                     |                     | 2.905        | 0.718                | 1.281                                | 4.528         |
|                     |                     | 2.741        | 0.680                | 1.202                                | 4.280         |

## 6 DISCUSSÃO

Qualquer perda de continuidade das partes moles, com ou sem comprometimento das funções locais, seja recente ou não, com cicatrização imediata ou crônica, é uma ferida e o corpo inicia sua reparação imediatamente após o dano.<sup>2</sup>

A cicatrização constitui fenômeno químico, físico e biológico, possuidora de várias fases que se superpõem e se relacionam reciprocamente, constituindo um processo harmônico, único e contínuo.<sup>11</sup>

Das fases de cicatrização destaca-se a de fibroplasia notada quarenta e oito horas após a execução da lesão, caracterizada pela invasão de fibroblastos que se multiplicam, proliferam e passam a secretar as proteínas características do tecido em reparação.<sup>12</sup>

O fibroblasto produz a substância fundamental amorfa-mucopolissacarídeos envolvidos com a produção e orientação das fibras colágenas bem como o tamanho.

Este estudo se propôs a comparar o uso de papaína e AGE na cicatrização de feridas, tendo como base do estudo a proliferação de fibroblastos, sendo estes as células

---

---

responsáveis pela formação de colágeno e da matriz extracelular presente no tecido conjuntivo.

A opção em se usar o soro fisiológico (C2) como controle do processo cicatricial foi para ter-se um grupo sem qualquer interferência medicamentosa. O rato foi o modelo experimental mais conveniente, devido ao seu tamanho e fácil disponibilidade.

Skottner e cols,<sup>13</sup> em modelo experimental, estudando a cicatrização de feridas, observaram que em ratos normais a cicatrização se completava com dezesseis dias.

Com relação a avaliação histológica e imunoistoquímica foram observados no terceiro dia de processo cicatricial grande infiltrado inflamatório associado a edema importante na aplicação dos tratamentos propostos. Presença de crosta evidenciada no uso de AGE e soro fisiológico. Com o uso do produto papaína 2% encontramos uma maior quantificação de colágeno conforme gráfico 3.

Sétimo dia: foi observado no local da lesão redução do edema, angiogênese, presença de crosta e discreta epitelização apresentando uma queda na concentração de colágeno, o que desfavoreceu a ação dos três tratamentos, sendo que o tratamento com papaína 2% apresentou menor concentração de colágeno nesta fase. Conseqüentemente observou-se um aumento na expressão de fibroblastos com os tratamentos papaína 2% e soro fisiológico, sendo identificado o pico máximo nesta fase. Verificando então que o tratamento com papaína 2% apresentou maior concentração de fibroblastos, diferindo do tratamento com AGE onde evidenciou-se um decréscimo importante dos mesmos. Acredita-se que esse achado esteja relacionado a intensa aderência da gaze de algodão

---

---

com AGE no leito da lesão, pois durante o processo de trocas diárias de curativos observou-se retiradas da crosta e inúmeros traumas em tecido viável, prejudicando o processo de reparação tecidual.,

Estes resultados coincidem com os achados de Neto et al,<sup>14</sup> no qual, em relação aos fibroblastos, a análise estatística (ANOVA) mostrou, para os tratamentos com soro fisiológico e papaína, que os valores sofreram a partir do terceiro dia um aumento, com pico no sétimo dia de pós-operatório. A partir de então um decréscimo significativo no décimo quarto dia. Logo ao sétimo dia, ele atingiu o máximo em quantidade e após esse período de reparação tecidual a ferida foi preenchida por fibras colágenas quando o número de fibroblastos concomitantemente diminuiu.

Conforme Álvares,<sup>15</sup> citado por Neto,<sup>14</sup> foi encontrado resultados semelhantes a essa relação inversamente proporcional entre fibroblastos e fibras colágenas.

Décimo quinto dia: Foi observado nesta fase que ocorreu um aumento da epitelização e conseqüentemente de fibras colágenas, conforme apresentado no gráfico 4, e beneficiando os tratamentos com AGE e papaína 2% e que pode ser comparado a avaliação macroscópica no quadro de fotos da figura 3 (presença da fase de maturação). No grupo controle podemos observar a presença de crosta e redução da concentração de colágeno em relação aos outros tratamentos, principalmente com a fase anterior, pois o seu pico foi no terceiro dia e a partir daí apresentou um decréscimo contínuo. Com relação ao fibroblasto, ainda no grupo controle, observamos que os valores sofreram um decréscimo apresentando pico máximo no sétimo dia e voltando a cair no décimo quinto dia. Comparando aos outros produtos, também apresentou uma concentração menor, o

---

que acaba contrariando a relação inversamente proporcional entre fibroblastos e colágeno.

Analisando os gráficos 4 e 5, com relação entre a proporção de fibras colágenas e fibroblastos, observamos nos tratamentos com soro fisiológico e AGE que os resultados encontrados, não coincidem com os achados presentes na literatura já citados anteriormente.

Conforme Magalhães et al<sup>16</sup> em estudo semelhante realizado em ratos, utilizando AGE, foi observado que este composto não acelerou de forma significativa o processo de reparação tecidual por segunda intenção quando comparado com soro fisiológico e sulfato de Neomicina. Concordando com estes achados, Araújo et al<sup>17</sup> comprovou microscopicamente em estudo experimental em ratos que os tratamentos com Agarol e Triglicerídeos de cadeia média (produto constituinte do AGE) não influenciaram o processo cicatricial no terceiro e décimo quarto dia de pós operatório e ainda demonstrou uma diminuição da neo vascularização, comparado aos grupos soro e Agarol (composto de óleo mineral, fenolftaleína e ágar-ágar), levando a acreditar que o mesmo retardou o processo de cicatrização. Sendo esta constatação bastante contraditória no que diz respeito ao conceito literário deste produto, uma vez que o mesmo é indicado com o objetivo de acelerar a mitose celular, estimular a angiogênese e ser quimiotático para as células envolvidas em todo o processo de reparo tecidual. Então fazemos a pergunta: será que em estudos em humanos esta resposta tem sido significativamente satisfatória? Deixa-se em aberto este questionamento já que em

---

---

modelos experimentais não encontramos diferenças estatisticamente significativas quando comparados com outros produtos.

Seguindo esta linha de raciocínio iremos agora, com base nas pesquisas existentes, discutir a ação da papaína encontrada em nosso estudo. Temos a papaína como uma enzima bastante estudada e utilizada como desbridante químico<sup>18,19,20,21,22</sup> ou seja um potente efeito sulfídrico que garante sua ação efetiva quando utilizada em material desvitalizado ou necrótico, porém poucos são os estudos que visam comprovar seu efeito estimulador da cicatrização, tanto no período inflamatório quanto proliferativo.<sup>5,23</sup> Então surge o questionamento, sendo esta enzima amplamente utilizada com propósito desbridante e apresentando respostas significativas, deverá ela ser usada em tecidos saudáveis, sem a presença de necrose? Já que no trabalho de Flindt,<sup>24</sup> citado por Monetta,<sup>23</sup> fez referência da existência de uma antiprotease plasmática e alfa-um-antitripsina, identificando que a existência desta substância no tecido sadio justifica a ação da papaína nos tecidos que não possuem esta antiprotease, tais como no tecido necrosado e nos microorganismos.

Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos em nosso estudo, houve uma busca nos sites de pesquisa, tais como SCIELO, MEDLINE, LILACS, sobre pesquisas comparativas entre papaína e AGE, para que pudéssemos enriquecer nossa discussão, porém nenhum resultado foi encontrado.

Quando avaliado estatisticamente pelo método paramétrico, Análise de Variância com medidas repetidas, tendo como teste de esfericidade um  $p < 0,05$ , temos na presente pesquisa que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. Este

---

resultado pode estar relacionado ao tamanho da amostra, pois conforme Freiman et al<sup>25</sup> citado por Paes<sup>26</sup> em uma revisão de setenta e um artigos com resultados sem significância estatística, concluíram que mais do que ausência de significância, havia incapacidade em detectar diferenças. Esta incapacidade é o baixo poder que está diretamente relacionado com o tamanho da amostra. Deste modo, mostra-se importante que seja dada continuidade a esta pesquisa.

---

## 7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos verificamos que o produto AGE, durante o período de sete dias não favoreceu a expressão de fibroblastos, o que pode ser explicado pela intensa aderência da gaze de algodão no leito da lesão, assim prejudicando o material histológico analisado por imunohistoquímica.

Nesta mesma fase, em relação ao colágeno observamos que o tratamento com papaína 2% apresentou seu menor pico quando comparado aos outros tratamentos, o que pode ser atribuído a seu efeito potencialmente sulfídrico, realizando assim um desgaste nas fibras colágenas.

Conforme o método estatístico utilizado, ANOVA com medidas repetidas, constatou-se não haver diferença significativa entre os tratamentos propostos nesta pesquisa, não podendo ser indicado com segurança qual dos três tratamentos apresenta melhor eficácia.

---

## **8 REFERÊNCIAS**

1. Andrade MNB, Seward R, Melo JRC. Curativos. Rev Med Minas Gerais. 1992;2:228-36.
  2. Blanes L. Tratamento de feridas. [acesso 2009 jul.13] Disponível em [www.bapbaptista.com/feridas\\_leila](http://www.bapbaptista.com/feridas_leila)
  3. Cesaretti I. Processo fisiológico de cicatrização de feridas. Pelle Sana. 1998;2:10-2.
  4. Mandelbaum SH, Santis EPD, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares:parte I. Anais Bras Dermatol. 2003;78:393-408.
  5. Rogenski NMB, Baptista CMC, Sofia MH. O uso da papaína a 2% nas lesões provocadas pela Síndrome de Fournier: a propósito de 14 casos. Revista Paulista de enfermagem, v.17, n.1/3, p.39-45,1998.
  6. Candido LC. Nova abordagem no tratamento de feridas, São Paulo: Senac; 2001.
  7. Gogia P. Feridas: tratamento e cicatrização. Rio de Janeiro: Revinter; 2000.
  8. Declair V. Tratamento de úlceras crônicas de difícil cicatrização com ácido linoléico. JBM. 2002;82:36-41.
  9. Dealey C. Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras. São Paulo: Atheneu;1996.
  10. Simões MJ, Uzunian A, Mora OA, Sasso WS. Aspectos ultra-estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. Rev Paul Med. 1985; 103:123-6.
-

- 
11. Hunt TK, Goodson WH. Cicatrização das feridas. In: WAY LW. Cirurgia, diagnóstico e tratamento. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993.65-87.
  12. Bevilacqua RG, Modolin MLA. Cicatrização. In: Aun F, Bevilacqua RG. Manual de cirurgia. São Paulo: EPU;1995.1-19.
  13. Skottner A, Arrhenius-Nyberg V, Kanj M, Fryklund L. Anabolic and tissue repair functions of recombinants insuline-like growth factors I. Acta Pediatr Scand. 1990;367(suppl):63-6.
  14. Sanches Neto R, Barone B, Teves DC, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. Acta Cir Bras. 1993;8:18-23.
  15. Alvares S. Contribuição para o estudo histométrico e histoquímico do processo de reeparação de lesões obtidas experimentalmente na pele de ratos albinos. São Paulo 1972. [tese] São Paulo(SP);USP;1972.
  16. Magalhães MSF, Fachine FV, Macedo RN, Monteiro DLS, Oliveira CC, Brito, GAC, et al. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. Acta Cir Bras [Internet].2008 jun[citado 2009 maio 22];23(3):262-9. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci@arttext&pid=s0102-8650200800030000&ing=en.doi:10.1590/s0102-86502008000300009>
  17. Araújo CFR, Souza Fº ZA, Greca FH, Guerreiro MH, CPM, Leite AL, Mansur AEC, et al. Efeitos do Agarol e do Trigliceril sobre a cicatrização de pele: estudo experimental em ratos. Acta Cir Bras. 1998;13:232-7.
  18. Starkov GL, Osna AI, Rossinskii VI, Savinykh VI, Andreiuk VI. Papain as a therapeutic enzyme in medicine. Klin Med(Mosk). 1978;56:119-22.
-

- 
19. Udod VM, Storozhuk VT. Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complication and diseases. *Khirurgiia(Mosk)*, 1981;5:99-101.
  20. Wiseman A. *Topics in enzyme and fermentation biotechnology*. Chichester: Ellis Horwood; 1980.
  21. Masini E, De Calamo MA. Uma forma de tratamento de lesões cutâneas com papaína e sacarose. *Rev Bras Clin. Ter.* 1986; 15:245-8.
  22. Hebda PA, LO C. The effects of active ingredients of standard debriding agents – papain and collagenase – on digestion of native and denatured collagenous substrates, fibrin and elastin. *Wounds*. 2001;13(5): 190-194.
  23. Monetta L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. *Rev Bras Enferm.* 1987;40: 66-73.
  24. Flindt M. Health and safety aspects of working with enzymes. *Process Biochem.* 1978;13: 3-7.
  25. Freinman JA, Chalmers TC, Smith H, Kuebler RR. The importance of beta, the type II error, and sample size in the design and interpretation of the randomized controlled trial: survey of 71 negative trials. *N Engl J Med.* 1978;299:690-4.
  26. Paes AT. *Einstein. Educ Contin Saúde.* 2008; 6:153-4.
-

---

---

# **ANEXOS**

---

---

Anexo 1 -

| Within-Subjects Factors |       |                    | Between-Subjects Factors |             |                             |
|-------------------------|-------|--------------------|--------------------------|-------------|-----------------------------|
| Measure                 | Tempo | Dependent Variable |                          | Value Label | N                           |
| Colágeno                | 1     | t3diasc            | trat                     | 1           | AGE                         |
|                         | 2     | t7diasc            |                          | 2           | Controle (soro fisiológico) |
|                         | 3     | t15diasc           |                          | 3           | Papaína                     |
| Fibroblasto             | 1     | t3diasf            |                          |             | 4                           |
|                         | 2     | t7diasf            |                          |             | 4                           |
|                         | 3     | t15diasf           |                          |             | 4                           |

Mauchly's Test of Sphericity<sup>b</sup>

| Within Subjects Effect | Measure     | Mauchly's W | Approx. Chi-Square | df | Sig. | Epsilon <sup>a</sup> |             |             |
|------------------------|-------------|-------------|--------------------|----|------|----------------------|-------------|-------------|
|                        |             |             |                    |    |      | Greenhouse-Geisser   | Huynh-Feldt | Lower-bound |
| Tempo                  | Colágeno    | .737        | 2.439              | 2  | .295 | .792                 | 1.000       | .500        |
|                        | Fibroblasto | .989        | .088               | 2  | .957 | .989                 | 1.000       | .500        |

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to a matrix.

a. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b. Design: Intercept+trat  
Within Subjects Design: Tempo

Multivariate Tests<sup>d</sup>

| Effect           |              |                    | Value   | F                     | Hypothesis df | Error df | Sig. | Noncent. Parameter | Observed Power <sup>a</sup> |
|------------------|--------------|--------------------|---------|-----------------------|---------------|----------|------|--------------------|-----------------------------|
| Between Subjects | Intercept    | Pillai's Trace     | .998    | 2123.211 <sup>b</sup> | 2.000         | 8.000    | .000 | 4246.422           | 1.000                       |
|                  |              | Wilk's Lambda      | .002    | 2123.211 <sup>b</sup> | 2.000         | 8.000    | .000 | 4246.422           | 1.000                       |
|                  |              | Hotelling's Trace  | 530.803 | 2123.211 <sup>b</sup> | 2.000         | 8.000    | .000 | 4246.422           | 1.000                       |
|                  |              | Roy's Largest Root | 530.803 | 2123.211 <sup>b</sup> | 2.000         | 8.000    | .000 | 4246.422           | 1.000                       |
|                  | trat         | Pillai's Trace     | .199    | .496                  | 4.000         | 18.000   | .739 | 1.985              | .141                        |
|                  |              | Wilk's Lambda      | .808    | .440 <sup>b</sup>     | 4.000         | 16.000   | .772 | 1.795              | .128                        |
|                  |              | Hotelling's Trace  | .228    | .399                  | 4.000         | 14.000   | .806 | 1.596              | .116                        |
|                  |              | Roy's Largest Root | .178    | .803 <sup>c</sup>     | 2.000         | 9.000    | .478 | 1.606              | .147                        |
| Within Subjects  | Tempo        | Pillai's Trace     | .281    | .587 <sup>b</sup>     | 4.000         | 6.000    | .684 | 2.349              | .119                        |
|                  |              | Wilk's Lambda      | .719    | .587 <sup>b</sup>     | 4.000         | 6.000    | .684 | 2.349              | .119                        |
|                  |              | Hotelling's Trace  | .391    | .587 <sup>b</sup>     | 4.000         | 6.000    | .684 | 2.349              | .119                        |
|                  |              | Roy's Largest Root | .391    | .587 <sup>b</sup>     | 4.000         | 6.000    | .684 | 2.349              | .119                        |
|                  | Tempo * trat | Pillai's Trace     | .715    | .974                  | 8.000         | 14.000   | .493 | 7.791              | .289                        |
|                  |              | Wilk's Lambda      | .343    | 1.062 <sup>b</sup>    | 8.000         | 12.000   | .447 | 8.492              | .295                        |
|                  |              | Hotelling's Trace  | 1.747   | 1.092                 | 8.000         | 10.000   | .439 | 8.736              | .278                        |
|                  |              | Roy's Largest Root | 1.645   | 2.878 <sup>c</sup>    | 4.000         | 7.000    | .106 | 11.512             | .481                        |

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+trat  
Within Subjects Design: Tempo

## Tests of Between-Subjects Effects

Transformed Variable: Average

| Source    | Measure     | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. | Noncent. Parameter | Observed Power <sup>a</sup> |
|-----------|-------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|--------------------|-----------------------------|
| Intercept | Colágeno    | 244680.283              | 1  | 244680.283  | 2970.265 | .000 | 2970.265           | 1.000                       |
|           | Fibroblasto | 190.125                 | 1  | 190.125     | 96.518   | .000 | 96.518             | 1.000                       |
| trat      | Colágeno    | 37.082                  | 2  | 18.541      | .225     | .803 | .450               | .075                        |
|           | Fibroblasto | 2.486                   | 2  | 1.243       | .631     | .554 | 1.262              | .125                        |
| Error     | Colágeno    | 741.389                 | 9  | 82.377      |          |      |                    |                             |
|           | Fibroblasto | 17.729                  | 9  | 1.970       |          |      |                    |                             |

a. Computed using alpha = .05

## Anexo 2 – Banco de Dados

| <b>BANCO DE DADOS - Pesquisa comparativa entre <u>Papaína</u> e <u>AGE</u></b> |              |                            |                 |                |                          |                 |                |
|--|--------------|----------------------------|-----------------|----------------|--------------------------|-----------------|----------------|
| <b>Variáveis</b>   |              | <b>Colágeno-Picosírius</b> |                 |                | <b>Fibroblastos-FGFr</b> |                 |                |
| <b>Tempo</b>   | <b>Grupo</b> | <b>AGE</b>                 | <b>Controle</b> | <b>Papaína</b> | <b>AGE</b>               | <b>Controle</b> | <b>Papaína</b> |
| <b>3 dias</b>  | 1º Rato      | 83,767782                  | 91,462633       | 93,702609      | 1,580179                 | 2,2699895       | 0,3710508      |
|  | 2º Rato      | 93,270501                  | 79,341129       | 84,0028        | 3,2098395                | 1,8206953       | 2,6787435      |
|  | 3º Rato      | 88,990895                  | 86,15562        | 85,17867       | 3,0444648                | 0,4215986       | 2,568432       |
|  | 4º Rato      | 71,583815                  | 84,524132       | 83,610198      | 2,5944785                | 2,4352493       | 3,2250147      |
| <b>7 dias</b>  | 1º Rato      | 84,243873                  | 74,463361       | 93,298232      | 0,0789781                | 4,4836916       | 0,1355567      |
|  | 2º Rato      | 83,578701                  | 86,06334        | 80,292397      | 0,4839333                | 2,15104         | 0,1124829      |
|  | 3º Rato      | 83,739049                  | 83,198705       | 40,582143      | 0,442349                 | 0,7623378       | 2,5999063      |
|  | 4º Rato      | 78,719741                  | 85,417528       | 88,282652      | 2,5999063                | 3,6094169       | 2,8987686      |
| <b>15 dias</b>   | 1º Rato      | 90,28733                   | 82,35758        | 84,425365      | 2,400446                 | 4,290084        | 2,7453753      |
|  | 2º Rato      | 80,020853                  | 76,34104        | 81,172548      | 3,7482947                | 1,7851563       | 2,4278053      |
|  | 3º Rato      | 76,208259                  | 76,835376       | 83,392005      | 2,4650782                | 4,0638116       | 4,5000697      |
|  | 4º Rato      | 91,662234                  | 78,160187       | 79,576788      | 4,9581168                | 1,4792912       | 1,2898644      |

## Anexo 3 – Ofício de aprovação do Comitê de Ética



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 0296/07-CEP

Porto Alegre, 29 de março de 2007.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, apreciou seu protocolo de pesquisa registro CEP 07/03433, intitulado: **"Comparando os efeitos da utilização da papaina e do AGE em lesões cutâneas: Estudo experimental em ratos da linhagem Wistar"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente

Prof. Dr. José Roberto Goldim  
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)  
Dr(a) Jefferson Luis Braga da Silva  
N/Universidade

**PUCRS** Campus Central  
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [cep@pucrs.br](mailto:cep@pucrs.br)  
[www.pucrs.br/prppg/cep](http://www.pucrs.br/prppg/cep)

## Anexo 4 – Comprovante do envio do artigo original

Web Mail PUCRS

20085311@pop3.pucrs.br

---

::: Checar E-Mails ::: Sair do Webmail ::: Escrever Mensagem :::

---

::: Anterior ::: Responder ::: Responder a Todos ::: Encaminhar ::: Apagar ::: Próxima :::

---

**Mensagem Nº:** 166 de 166  
**De:** <sgp@revistadaamrigns.org.br>  
**Para:** <graziela.hax@pucrs.br>  
**CC:**  
**Data:** Sat, 20 Jun 2009 22:27:36 -0300  
**Assunto:** Artigo Submetido SGP/ AMRIGS

Mensagem do SGP da Revista da AMRIGS



**Revista da AMRIGS**

Associação Médica do Rio Grande do Sul  
Av. Ipiranga, 5311  
CEP 90610-001 – Porto Alegre – RS – Brasil  
Fone: (51) 3014-2016 - Email:  
uniamrigns2@vidasolidaria.org.br

Porto Alegre, sábado, 20 de junho de 2009

Ilmo(a) Sr.(a)  
Prof(a), Dr(a) Graziela Hax

Referente ao código de fluxo: **435**  
Classificação: **Artigo Original**

Informamos que recebemos o manuscrito **Comparando os efeitos da utilização da papaína e do AGE em lesões cutâneas: estudo experimental em ratos da linhagem Wistar** será enviado para apreciação dos revisores para possível publicação/participação na(o) Revista da AMRIGS. Por favor, para qualquer comunicação futura sobre o referido manuscrito cite o número de referência apresentado acima.

Obrigado por submeter seu trabalho a(o) Revista da AMRIGS.

Atenciosamente,

**Renato Borges Fagundes**  
Editor

---

**Anexo 5 – Artigo original enviado a revista AMRIGS****Comparando os efeitos da utilização da Papaína e do AGE em lesões cutâneas:  
Estudo experimental <sup>1</sup>**

Jefferson Braga Silva<sup>2</sup>, Graziela Hax<sup>3</sup>, Janete de Souza Urbanetto<sup>4</sup>, Aline Custódio<sup>5</sup>,  
Vinícius Duval da Silva<sup>6</sup>, Patrícia Sesterheim<sup>7</sup>

**Resumo:** A cicatrização envolve muitos eventos e situações, exigindo conhecimento básico de diversas áreas, portanto uma atuação multidisciplinar se faz necessária para uma boa evolução da lesão. Esta pesquisa trata-se de um estudo experimental tendo por finalidade comparar os efeitos da papaína 2%, AGE e soro fisiológico quando utilizados em lesões cutâneas com dimensionamento de 2 cm de diâmetro e espessura total no dorso de ratos da linhagem EPM-I Wistar. Utilizou-se 12 ratos machos divididos em três grupos: C1 (grupo AGE), C2 (grupo controle) e C3 (grupo papaína), todos submetidos a trocas diárias de curativos. Com base nos resultados obtidos verificamos que o produto AGE, durante o período de sete dias não favoreceu a expressão de fibroblastos, o que pode ser explicado pela aderência da gaze de algodão no leito da lesão, assim prejudicando o material histológico analisado. Nesta mesma fase, em relação ao colágeno, observamos que o tratamento com papaína 2% apresentou seu menor pico quando comparado aos outros tratamentos, o que pode ser atribuído a seu efeito sulfídrico, realizando assim um desgaste nas fibras colágenas. Conforme o método estatístico utilizado, ANOVA com medidas repetidas, constatou-se não haver diferença significativa entre os tratamentos propostos. DESCRITORES: modelo experimental; cicatrização; papaína; AGE; colágeno; fibroblastos

**Abstract:** The healing involves many events and situations, requiring basic knowledge of different fields. Thus, multidisciplinary action is needed for the lesion to heal well. Tissue repair occurs in two ways: by the regeneration of functional activity of the tissue or by healing. This research is an experimental study aiming at comparing the effects of 2% papain, AGE and saline solution when used in circular skin lesions 2cm in diameter, with full thickness on the dorsum of EPM-I Wistar rats. Twelve male rats were used,

---

<sup>1</sup> Estudo realizado no laboratório de habilidades médicas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Professor do Pós graduação em Ciências da saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>3</sup> Mestranda do Pós graduação em ciências da saúde

<sup>4</sup> Professora da graduação em enfermagem da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>5</sup> Enfermeira da unidade de internação do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>6</sup> Professor do Pós graduação em Ciências da saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>7</sup> Bióloga e doutoranda do Pós graduação em ciências da saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

---

divided into three groups: C1 (AGE group), C2 (control group) and C3 (papain group), all of them submitted to daily dressing changes after cleaning with bidistilled water solution. Based on the results obtained, we found that the product AGE, during the seven-day period, did not favor fibroblast expression, which can be explained by the intense adherence of cotton gauze to the lesion bed, thus impairing the histological material analyzed by immunohistochemistry. During the same phase, as regards collagen, we observed that treatment with 2% papain was at its lowest peak when compared to the other treatments, which can be attributed to its potentially sulfidric effect, thus wearing down the collagen fibers. According to the statistical method used, ANOVA, it was found that there was no significant difference between the treatments proposed in this research.

**KEY WORDS:** Experimental model; healing; Wistar rats; collagen; fibroblasts

**Introdução:** O tratamento de feridas variou durante séculos com o objetivo de melhores resultados cicatriciais em menor tempo possível. Em uma revisão de literatura, Andrade(1992) descreve que já na pré-história vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama eram aplicados sobre as feridas. Na Mesopotâmia, elas eram lavadas com água ou leite e o curativo era realizado com mel ou resina. Lã de carneiro, folhas, cascas eram utilizadas para sua cobertura. Os egípcios concluíram que as feridas fechadas cicatrizavam mais rápido, por isso utilizavam tiras de pano para sua cobertura. A introdução das armas de fogo nas guerras européias no século 14 levou ao surgimento de um novo tipo de ferida de cura mais difícil. O avanço da química levou a descoberta de compostos de cloro e iodo que foram utilizados para a limpeza do material e da pele nos séculos 18 e 19<sup>2</sup>.

A cicatrização envolve muitos eventos e situações, exigindo conhecimento básico de diversas áreas, portanto uma atuação multidisciplinar se faz necessária para uma boa evolução da lesão. O reparo do tecido se dá através de duas formas: pela regeneração da atividade funcional do tecido ou pela cicatrização<sup>3</sup>.

O tratamento e o uso de curativos em uma variedade de lesões apresenta grande desafio para os profissionais envolvidos. A seleção do curativo é complexa, e as decisões frequentemente precisam ser modificadas, baseadas nas condições das lesões.

Segundo Rogenski, 1998 existe Atualmente em todo mundo, grande tendência para o aproveitamento de recursos naturais na terapêutica, por apresentarem vantagens econômicas, serem eficientes e apresentarem poucos efeitos nocivos a saúde. A papaína e o AGE são uma dessas alternativas naturais e vêm sendo utilizados com grande êxito em várias instituições hospitalares para o tratamento dos mais diversos tipos de feridas.

A papaína é uma enzima derivada do vegetal *Carica papaya*, que tem a propriedade de decompor substâncias protéicas. Como efeito terapêutico apresenta características bactericida/bacteriostático, antiinflamatório, debridante químico e bioestimulante promovendo alinhamento das fibras colágenas evitando a formação de quelóides<sup>5</sup>.

Ácidos graxos essenciais(AGE) são lipídios insaturados ricos em ácido linoléico. Apresentam poder quimiotático para leucócitos, promovem proliferação e mitose celular e tem ação estimulante para desbridamento autolítico.

Através deste conhecimento e por utilizar estes dois produtos na prática diária do tratamento de lesões cutâneas de pacientes internados no HSL – PUCRS foi que surgiu por parte da autora o interesse em comparar a eficácia de cada um desses produtos

quando utilizados em lesões semelhantes, realizadas no dorso de ratos da linhagem Wistar EPM – 1 com peso e idade iguais, para que após a conclusão do experimento possamos indicar com segurança qual produto apresenta melhor resultado cicatricial quando utilizado em lesões com características semelhantes às aquelas aplicadas nos animais deste estudo.

**Métodos:** Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados 12 ratos heterogênicos da linhagem EPM-I Wistar criados e mantidos, sob condições do biotério convencional, na Coordenação de Produção e Experimentação Animal (CPEA) do Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) do Rio Grande do Sul.

Todos animais utilizados foram machos entre 8 e 10 semanas de idade. Antes e durante a fase experimental, estes animais receberam como alimentação ração balanceada padrão para roedores, água ad libitum e foram mantidos em gaiolas individuais, devidamente identificadas com fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro (06:00/18:00), no laboratório de Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, sob condições de biotério convencional.

Os animais foram distribuídos por sorteio em três subgrupos de acordo com o período de observação (3, 7 e 15 dias de pós operatório), com quatro animais em cada subgrupo.

#### Fotografias-

As fotografias foram registradas com uma máquina fotográfica digital Sony DSC W5, 5,1 megapixels e utilizou-se flash para todas elas, mesmo diante de luz artificial (lâmpadas fluorescentes 6400K, intensidade de X lux). As fotos foram tiradas a uma distância de 50 centímetros com lente de macro, em ângulos variados.

#### Técnica operatória-

Os ratos foram, depois de pesados, pré-medicados com sulfato de atropina, na dose de 0,44mg/100g por via subcutânea, após anestesiados com solução final de Cloridrato de Xilazina 2% (Rompun, Bayer Animal Health) e Cloridrato de Ketamina 10% (Dopalen, Agribrands Brasil Ltda.) diluídos a 2mg/ml e 10mg/ml de solução salina (Alcon, Alcon Labs. Do Brasil Ltda.-8ml/0,9) respectivamente. Houve administração de uma dose única de 0,2ml para cada 100g de peso corporal por via intraperitoneal, suficiente para abolir a dor e realizar o procedimento em tempo hábil.

Após anestesia, os ratos foram posicionados em decúbito ventral horizontal em mesa apropriada e realizada tricotomia em região dorsal com lâmina. Seguida de anti-sepsia com álcool etílico 70%.

Para demarcação da pele a ser retirada, utilizou-se caneta hidrográfica de cor azul marinho e após com uso de tesoura cirúrgica foram excisados três fragmentos cutâneos de dois centímetros de diâmetro, no centro da área epilada, até a exposição da fáscia muscular dorsal. A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze esterilizada.

#### Tratamentos instituídos-

As coberturas foram aplicadas sobre as três lesões. Assim as lesões foram denominadas C1, C2 e C3 (seguindo o sentido crânio-caudal, respectivamente) onde:

- C1 recebeu gaze de algodão embebida com Ácidos Graxos Essenciais (VDeclair, Neve LTDA, Brasil) à base de óleo de girassol, composto por ácido linoleico, ácido cáprico, vitamina A, vitamina E.

- C2 recebeu gaze de algodão embebida em solução salina 0,9%, pois representou o grupo controle.

- C3 recebeu gaze de algodão embebida em solução de papaína a 2% (Papaína 6.000 UI/mg, Wall-Indl, Brasil). Para obtenção desta solução diluiu-se um grama de pó de papaína em cinquenta mililitros de água Bidestilada.

Os animais foram mantidos em suas gaiolas e seus curativos trocados a cada 24 horas. Por ocasião da troca dos curativos, as lesões foram medidas e fotografadas.

Obtenção de amostras das feridas-

A coleta de amostras das feridas, no primeiro grupo, foi realizada no terceiro dia após a realização das lesões.

Os animais foram posicionados em decúbito ventral, anestesiados com solução final de Cloridrato de Xilazina 2% (Rompun, Bayer Animal Health) e Cloridrato de Ketamina 10% (Dopalen, Agribands Brasil Ltda.) diluídos a 2mg/ml e 10mg/ml de solução salina (Alcon, Alcon Labs. Do Brasil Ltda.-8ml/0,9) respectivamente. Houve administração de uma dose única de 0,2ml para cada 100g de peso corporal por via intraperitoneal, suficiente para abolir a dor e realizar o procedimento em tempo hábil. Foi feita biópsia incisional da ferida, por excisão da área total da lesão e após eutanásia do animal biopsiado, com injeção de 0,2 ml de quetamina no pericárdio.

Este processo repetiu-se no sétimo dia após realização das feridas, no segundo grupo e no décimo quinto dia, no terceiro grupo.

Preparo histológico e imunohistoquímico-

Os fragmentos biopsiados nos terceiro, sétimo e décimo quinto dia foram fixados em formol a 10% e encaminhados para o processamento histológico convencional constando de desidratação com álcool, diafanização em Xilol e inclusão em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo com cortes de 5 micrômetros de espessura e submetidos à coloração com Hematoxilina e Eosina ( HE ), Picrosírius ( para visualização e quantificação do colágeno sob luz polarizada ) e imunohistoquímica para quantificação da expressão de FGFR ( Growth Factor fibroblast), permitindo a avaliação da quantidade de colágeno.

Análise das imagens-

Foi utilizado microscópio Zeiss Axioskop 40 com óptica planeofluar e aumento de 400X, acoplado a sistema de captura de imagem e análise Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Silver Springs, MD, EUA). As contagens foram realizadas por método planimétrico ( Gundersen, HJ et al.), sendo os resultados expressos em área de fibrose (quantificação de colágeno por coloração de picrosírius sob luz polarizada e proliferação tecidual (FGFR por reação imunohistoquímica por micrômetros quadrados e a intensidade de coloração por densidade óptica integrada).

Foi realizada também a contagem das reações imunohistoquímicas por técnica de análise de imagem digital ( sistema Image Pro Plus 6.0, Media Cybernetics, EUA), permitindo a avaliação estatística dos resultados por métodos paramétricos.

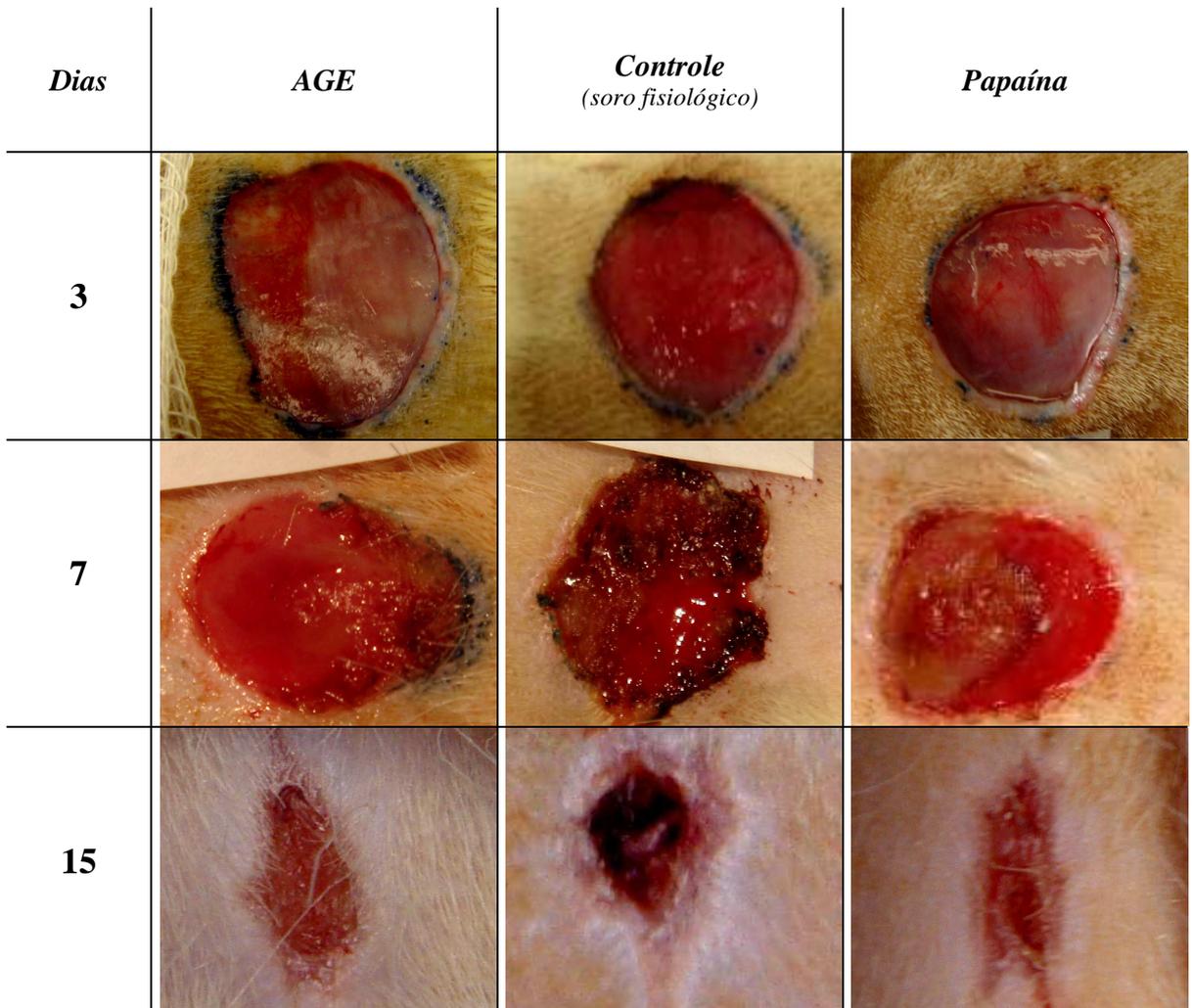
Testes Estatísticos Aplicados-

Análise de variância com medidas repetidas . Foi considerado significativamente estatístico um valor de  $p < 0.05$ .

**Resultados:** Avaliação macroscópica das feridas cutâneas:

Durante o experimento, as feridas cutâneas de todos os animais não apresentaram sinais de infecção. Os exames macroscópicos e fotográficos diários demonstraram

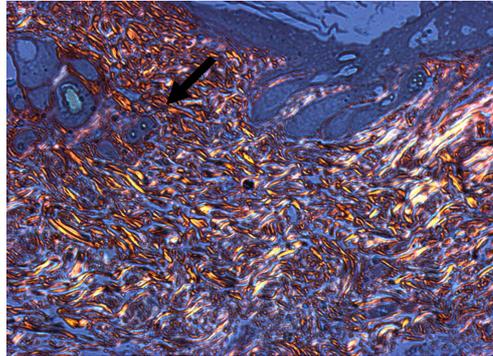
redução do dimensionamento da área lesada, não sendo encontrado diferença significativa entre os tratamentos estabelecidos.



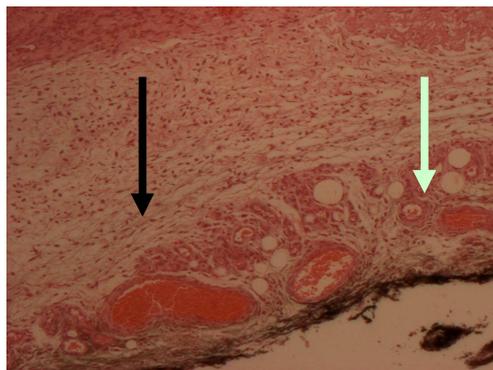
**Figura 3**



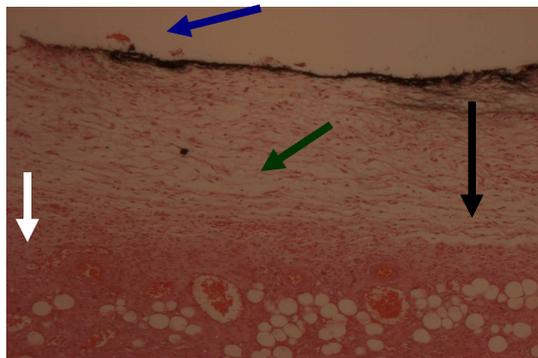
**Figura 4: Imunoistoquímica com marcador FGFr da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE (seta vermelha indica citoplasma do fibroblasto)**



**Figura 5: Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com papaína 2%.Picosírius. Aumento de 50x.**

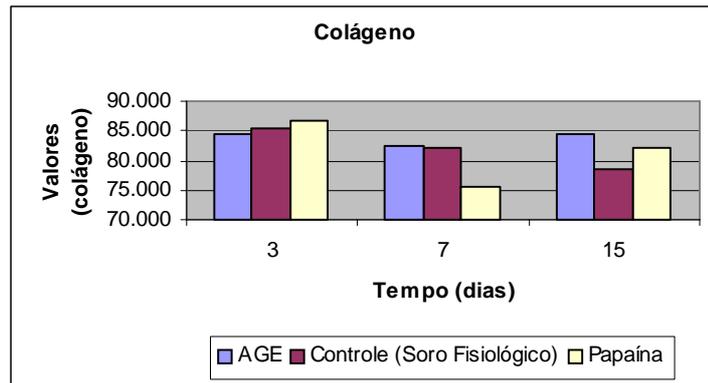


**Figura 6: Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com Papaína. A amostra apresenta-se com infiltrado inflamatório, angiogênese, edema associado e epitelização. Coloração HE e aumento de 50x(seta branca indica angiogênese ; seta preta indica edema).**

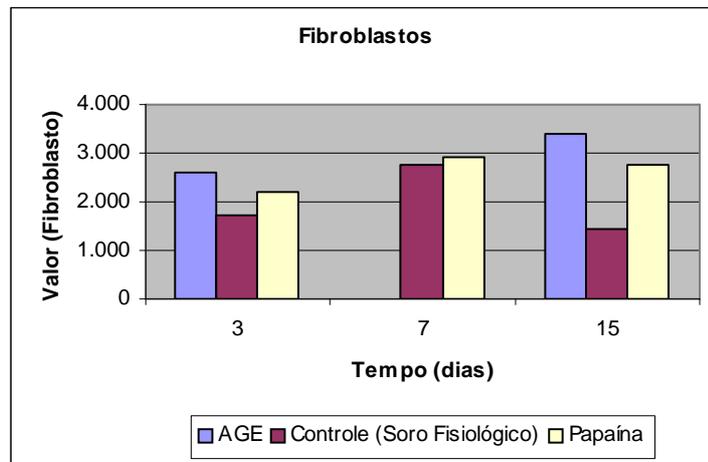


**Figura 7: Microscopia da pele de um dos animais no sétimo dia de tratamento com AGE. A amostra apresenta-se com importante infiltrado inflamatório, edema associado, presença de crosta e angiogênese. Coloração HE e aumento de 50x. (seta branca indica angiogênese; seta preta indica edema; seta azul indica crosta; seta verde indica infiltrado inflamatório)**

**Gráfico 1 – Quantificação de Colágeno por unidade de área**



**Gráfico 2: Quantificação de fibroblasto por unidade de área**



**Discussão:** Com relação à avaliação histológica e imunoistoquímica foram observados no terceiro dia de processo cicatricial grande infiltrado inflamatório associado a edema importante na aplicação dos tratamentos propostos. Presença de crosta evidenciada no uso de AGE e soro fisiológico. Com o uso do produto papaína 2% encontramos uma maior quantificação de colágeno conforme gráfico 3.

Sétimo dia: foi observado no local da lesão redução do edema, angiogênese, presença e crosta e discreta epitelização apresentando uma queda na concentração de colágeno, o que desfavoreceu a ação dos três tratamentos, sendo que o tratamento com papaína 2%

apresentou a menor concentração de colágeno nesta fase. Conseqüentemente observou-se um aumento na expressão de fibroblastos com os tratamentos papaína 2% e soro fisiológico, sendo identificado o pico máximo nesta fase. Verificando então que o tratamento com papaína 2% apresentou maior concentração de fibroblastos, diferindo do tratamento com AGE onde evidenciou-se um decréscimo importante dos mesmos. Acredita-se que esse achado esteja relacionado a intensa aderência da gaze de algodão com AGE no leito da lesão, pois durante o processo de trocas diárias de curativos observou-se retiradas da crosta e inúmeros traumas em tecido viável, prejudicando o processo de reparação tecidual. Estes resultados coincidem com os achados de Sanches Neto et al (1993), no qual em relação aos fibroblastos, a análise estatística (ANOVA), mostrou, para os tratamentos com soro fisiológico e papaína, que os valores sofreram a partir do terceiro dia um aumento, com pico no sétimo dia de pós-operatório. A partir de então um decréscimo significativo no décimo quarto dia. Logo ao sétimo dia, ele atingiu o máximo em quantidade e após esse período de reparação tecidual a ferida foi preenchida por fibras colágenas quando o número de fibroblastos concomitantemente diminuiu. Conforme Alvares (1972) citado por Sanches Neto (1993), foi encontrado resultados semelhantes a essa relação inversamente proporcional entre fibroblastos e fibras colágenas. No décimo quinto dia foi observado nesta fase que ocorreu um aumento da epitelização e conseqüentemente de fibras colágenas conforme apresentado no gráfico 4 e beneficiando os tratamentos com AGE e papaína 2% e que pode ser comparado a avaliação macroscópica no quadro de fotos da figura 3 (presença da fase de maturação). No grupo controle podemos observar a presença de crosta e redução da concentração de colágeno em relação aos outros tratamentos, principalmente com a fase anterior, pois o seu pico foi no terceiro dia e a partir daí apresentou um decréscimo contínuo. Com relação ao fibroblasto, ainda no grupo controle, observamos que os valores sofreram um decréscimo apresentando pico máximo no sétimo dia e voltando a cair no décimo quinto dia. Comparando aos outros produtos também apresentou uma concentração menor, o que acaba contrariando a relação inversamente proporcional entre fibroblastos e colágeno. Analisando os gráficos 4 e 5, com relação entre a proporção de fibras colágenas e fibroblastos, observamos nos tratamentos com soro fisiológico e AGE que os resultados encontrados, não coincidem com os achados presentes na literatura já citados anteriormente. Conforme Magalhães et al (2008) em estudo semelhante realizado em ratos, utilizando AGE foi observado que este composto não acelerou de forma significativa o processo de reparação tecidual por segunda intenção quando comparado com soro fisiológico e sulfato de Neomicina. Concordando com estes achados, ARAÚJO et al (1999) comprovou microscopicamente em estudo experimental em ratos que os tratamentos com Agarol e Triglicerídeos de cadeia média (produto constituinte do AGE) não influenciaram o processo cicatricial no terceiro e décimo quarto dia de pós operatório e ainda demonstrou uma diminuição da neo vascularização comparado aos grupos soro e Agarol (composto de óleo mineral, fenolftaleína e ágar-ágar), levando a acreditar que o mesmo retardou o processo de cicatrização. Sendo esta constatação bastante contraditória no que diz respeito ao conceito literário deste produto, uma vez que o mesmo é indicado com o objetivo de acelerar a mitose celular, estimular a angiogênese e ser quimiotático para as células envolvidas em todo o processo de reparo tecidual. Então fazemos a pergunta, será que em estudos em humanos esta resposta têm sido significativamente satisfatória? Deixa-se em aberto este

questionamento já que em modelos experimentais não encontramos diferenças estatisticamente significativas quando comparados com outros produtos. Seguindo esta linha de raciocínio iremos agora, com base nas pesquisas existentes, discutir a ação da papaína encontrada em nosso estudo. Temos a papaína como uma enzima bastante estudada e utilizada como desbridante químico (Starkov, 1978; Udod, 1981; Wiseman, 1980; Masini, 1986; Hebda, 2001) ou seja um potente efeito sulfídrico que garante sua ação efetiva quando utilizada em material desvitalizado ou necrótico, porém poucos são os estudos que visam comprovar seu efeito estimulador da cicatrização, tanto no período inflamatório quanto proliferativo (Rogenski, 1998; Monetta, 1987). Então surge o questionamento, sendo esta enzima amplamente utilizada com propósito desbridante e apresentando respostas significativas, deverá ela ser usada em tecidos saudáveis, sem a presença de necrose? Já que no trabalho de Flindt (1978), citado por Monetta (1987), fez referência da existência de uma antiprotease plasmática e alfa-um-antitripsina, identificando que a existência desta substância no tecido sadio justifica a ação da papaína nos tecidos que não possuem esta antiprotease, tais como no tecido necrosado e nos microorganismos. Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos em nosso estudo, houve uma busca nos sites de pesquisa, tais como SCIELO, MEDLINE, LILACS, sobre pesquisas comparativas entre papaína e AGE, para que pudéssemos enriquecer nossa discussão, porém nenhum resultado foi encontrado. Quando avaliado estatisticamente pelo método paramétrico, Análise de Variância com medidas repetidas, tendo como teste de esfericidade um  $p < 0,05$ , temos na presente pesquisa que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. Este resultado pode estar relacionado ao tamanho da amostra, pois conforme Freiman et al (1978) citado por Paes (1998) em uma revisão de 71 artigos com resultados sem significância estatística, concluíram que mais do que ausência de significância, havia incapacidade em detectar diferenças. Esta incapacidade é o baixo poder que está diretamente relacionado com o tamanho da amostra. Deste modo mostra-se importante que seja dada continuidade a esta pesquisa.

**Conclusão :** Com base nos resultados obtidos verificamos que o produto AGE, durante o período de sete dias não favoreceu a expressão de fibroblastos. Nesta mesma fase, em relação ao colágeno observamos que o tratamento com papaína 2% apresentou seu menor pico quando comparado aos outros tratamentos. Conforme o método estatístico utilizado, ANOVA com medidas repetidas, constatou-se não haver diferença significativa entre os tratamentos propostos nesta pesquisa.

### Referências:

- 1 Andrade MNB, Seward R, Melo JRC. Curativos. Rev Med Minas Gerais. 1992;2:228-36.
2. Blanes L. Tratamento de feridas. [acesso 2009 jul.13] Disponível em [www.bapbaptista.com/feridas\\_leila](http://www.bapbaptista.com/feridas_leila)

3. Mandelbaum SH, Santis EPD, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares: parte I. *Anais Brás Dermatol.* 2003;78:393-408.
  4. Rogenski NMB, Baptista CMC, Sofia MH. O uso da papaína a 2% nas lesões provocadas pela síndrome de fournier: a propósito de 14 casos. *Revista Paulista de enfermagem*, v.17, n.1/3, p.39-45, 1998.
  5. Candido LC. Nova abordagem no tratamento de feridas, São Paulo: Senac; 2001.
  6. Sanches Neto R, Barone B, Teves DC, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. *Acta Cir Bras.* 1993;8:18-23.
  7. Alvares S. Contribuição para o estudo histométrico e histoquímico do processo de reprovação de lesões obtidas experimentalmente na pele de ratos albinos. São Paulo 1972. [tese] São Paulo(SP);USP;1972.
  8. Magalhães MSF, Fachine FV, Macedo RN, Monteiro DLS, Oliveira CC, Brito, GAC, et al. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. *Acta Cir Bras* [Internet].2008 jun[citado 2009 maio 22];23(3):262-9. Disponível em: <http://wwwi.scielo.br/scielo.php?script=sci@arttext&pid=s0102-8650200800030000&ing=en.doi:10.1590/s0102-86502008000300009>.
  9. Araújo CFR, Souza Fº ZA, Greca FH, Guerreiro MH, CPM, Leite AL, Mansur AEC, et al. Efeitos do Agarol e do Trigliceril sobre a cicatrização de pele: estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras.* 1998;13:232-7.
  10. Starkov GL, Osna AI, Rossinskii VI, Savinykh VI, Andreiuk VI. Papain as a therapeutic enzyme in medicine. *Klin Med(Mosk).* 1978;56:119-22.
  11. Udod VM, Storozhuk VT. Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complication and diseases. *Khirurgiia(Mosk)*, 1981;5:99-101.
  12. Wiseman A. Topics in enzyme and fermentation biotechnology. Chichester: Ellis Horwood; 1980.
-

13. Masini E, De Calamo MA. Uma forma de tratamento de lesões cutâneas com papaína e sacarose. *Rev Bras Clin. Ter.* 1986; 15:245-8
  14. Hebda PA, LO C. The effects of active ingredients of standard debriding agents – papain and collagenase – on digestion of native and denatured collagenous substrates, fibrin and elastin. *Wounds.* 2001;13(5): 190-194.
  15. Monetta L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. *Rev Bras Enferm.* 1987;40: 66-73.
  16. Flindt M. Health and safety aspects of working with enzymes. *Process Biochem.* 1978;13: 3-7.
  17. Freinman JA, Chalmers TC, Smith H, Kuebler RR. The importance of beta, the type II error, and sample size in the design and interpretation of the randomized controlled trial: survey of 71 negative trials. *N Engl J Med.* 1978;299:690-4.
  18. Paes AT. *Einstein. Educ Contin Saúde.* 2008; 6:153-4.
-