

**Lana Jéssica da Silva Araújo**  
lanadbv@hotmail.com

Acadêmica de enfermagem. Faculdade Adventista da Bahia - FADBA. Correspondência: Loteamento Monteiro Nº 200, Bairro Capoeiruçu, Cachoeira, Bahia, Brasil.

**Juan René Barrientos Nava**  
juan.barrientos@adventista.edu.br

Mestre em materiais dentários – FOP/UNICAMP. Cirurgião dentista – UFRJ. Professor da Faculdade Adventista da Bahia - FADBA.

**Marcia Otto Barrientos**  
mbarrientos22@gmail.com

Mestre em Ciências – CENA/USP, Farmacêutica, FAFABES/UFES, Doutoranda em Imunologia - UFBA, Professora da Faculdade Adventista da Bahia – FADBA.

Faculdade Adventista da Bahia

BR 101, Km 197 – Caixa Postal 18 – Capoeiruçu - CEP:  
44300-000 - Cachoeira, BA

Revista Brasileira de Saúde Funcional  
REBRASF

## ANÁLISE MACRO E MICROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS AGUDAS EM RATOS UTILIZANDO A PAPAÍNA 2%.

*MACRO AND MICROSCOPIC ANALYSIS OF ACUTE  
WOUND HEALING IN RATS USING PAPAINE 2%.*

### RESUMO

A papaína, isolada a partir do látex do mamão verde, é uma proteína globular composta por 212 aminoácidos, têm ação catalítica nas posições Glicina-19, Cisteína-25 e Histidina-159 provocando a quebra de proteínas apenas do tecido desvitalizado. Isto ocorre porque no tecido sadio há uma antiprotease plasmática,  $\alpha$ 1-antitripsina, que inativa a protease da papaína impedindo que esta afete o tecido sadio. Este processo é chamado de debridamento enzimático e sua importância para a cicatrização está em impedir que o tecido necrótico retarde o processo cicatricial. Além do efeito debridante, na ferida por segunda intenção, há a ação anti-inflamatória, bactericida e bacteriostática. O objetivo deste estudo foi observar, comparar e analisar, macro e microscopicamente, a cicatrização de feridas agudas em ratos utilizando a papaína 2%, colagenase 0,6 U/g e soro fisiológico 0,9%. O procedimento aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade Adventista da Bahia com o protocolo nº 31/2016, foram utilizados nove ratos heterogêneos Wistar machos que passaram por procedimento cirúrgico gerando feridas de 1 cm<sup>2</sup> no dorso, sendo aleatorizados e divididos em três grupos. A eutanásia ocorreu aos 7, 14 e 21 dias para a análise histológica. Durante todo o período de experimento foi possível observar que o grupo de papaína manteve a ferida com boa aparência e com o início do processo cicatricial mais avançado do que os outros grupos. A partir das análises macroscópica

### PALAVRAS-CHAVE:

Cicatrização. Papaína. Bioquímica.

e microscópica, e da comparação entre tratamentos conclui-se que a papaína tem propriedades que auxiliam na cicatrização de feridas agudas.

**ABSTRACT:** Papain, isolated from the latex of green papaya, is a globular protein composed of 212 amino acids, has catalytic action at the positions Glycine-19, Cysteine-25 and Histidine-159, causing protein breakdown only in devitalized tissue. This occurs because in healthy tissue there is a plasma antiprotease,  $\alpha$ 1-antitrypsin, which inactivates the papain protease, preventing it affects the healthy tissue. This process is called enzymatic debridement and its importance for healing is in preventing the necrotic tissue from slowing the healing process. In addition to the debridant effect, in the second intention wound, there is the anti-inflammatory, bactericidal and bacteriostatic action. The objective of this study was to observe, compare and analyze, macro and microscopically, the healing of acute wounds in rats using papain 2%, collagenase 0.6 U/g and saline 0.9%. The procedure was approved by the Commission of Ethics in the Use of Animals of the Adventist Faculty of Bahia with the protocol 31/2016. Were used nine male heterogeneous Wistar rats which underwent surgical procedure generating wounds of 1 cm<sup>2</sup> in the back, being randomized and divided in three groups. Euthanasia occurred at 7, 14 and 21 days for histological analysis. Throughout the experiment period it was possible to observe that the papain group maintained the wound with good appearance and the beginning of the cicatricial process more advanced than the other groups. From the macroscopic and microscopic analyzes and from the comparison between treatments it is concluded that papain has properties that aid in the healing of acute wounds.

**KEY WORDS:** Wound Healing. Papain. Biochemistry.

## INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas cutâneas é um processo complexo que envolve o maior e mais extenso órgão que reveste e delimita o corpo humano. Epiderme, sua primeira camada, é avascularizada e formada por várias camadas de células. Sua principal função é a proteção do organismo e a constante regeneração da pele. A derme, a segunda camada, constituída por denso tecido fibroso, fibras de colágeno, reticulares e elásticos. Nela se situam os vasos, os nervos e os anexos cutâneos como as glândulas sebáceas, sudoríparas e os folículos pilosos. A terceira camada é a mais profunda, hipoderme. A principal função é o depósito nutritivo de reserva, funcionando como isolante térmico e proteção mecânica<sup>(1)</sup>.

Quando lesada, a pele inicia imediatamente o processo de restauração. Um processo dinâmico, contínuo e complexo denominado de cicatrização; uma resposta tecidual a um ferimento. Os ferimentos incisionais e excisionais que danificam a derme cicatrizam através da formação de colágeno. Colágeno é uma proteína que proporciona a estrutura extracelular. Para a sintetização do colágeno, nas lesões agudas, os resíduos da prolina e lisina precisam ser hidroxilados para que as fibras se organizem na forma linear. Quando não hidroxilados, os resíduos, inevitavelmente, geram grandes coágulos de fibrina que preenche o defeito, denominado quelóide. Para que não ocorra a formação de quelóides é importante que os detritos necróticos e exsudato sejam

removidos<sup>(1,2)</sup>.

A boa cicatrização da lesão, seja ela superficial ou profunda, se torna eficaz dependendo do tratamento escolhido pelo cuidador. Para esta escolha é preciso analisar fatores que interferem na cicatrização individual, na avaliação da lesão e relacionar com a escolha das coberturas propostas no mercado<sup>(3)</sup>.

No mercado farmacêutico existem pomadas, géis e soluções líquidas que funcionam de forma eficaz para tratamento de lesões de tecido cutâneo. A grande variedade de coberturas industrializadas possibilita melhor adequação e manejo das diversas condições das feridas. Elas são indicadas tanto na cicatrização, quanto na profilaxia e tratamento de infecções cutâneas bacterianas e fúngicas. Porém, mesmo que todas as coberturas tenham o mesmo objetivo, existem as diferentes indicações. A colagenase, por exemplo, é uma pomada dermatológica que favorece a limpeza enzimática de tecido desvitalizado, no entanto tem contraindicação quando se tratam de lesões que cicatrizam por primeira intenção. Isto porque o processo cicatricial é rapidamente evolutivo. Além da escolha correta de coberturas, existe outro fator para o sucesso da cicatrização que é o acompanhamento adequado por pessoa capacitada. Embora seja uma atividade multidisciplinar a enfermagem ganhou o poder de decisão nas condutas para prevenção e cuidados de feridas<sup>(3,4,5)</sup>.

Há muitos estudos que mostram o poder curativo em algumas propriedades de sementes, plantas, frutos e frutas. Segundo Monetta (1987), a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1977) já se preocupava em investigações sobre coberturas de origem mineral, vegetal e animal. O mamão é uma fruta que possui propriedades nutricionais e curativas que vem sendo estudadas há muito tempo por tribos americanas, africanas e caribenhas que utilizavam o mamão verde para tratamento de ferimentos. O mamão verde possui um látex, estudado por Vison em 1968, que denominou seu princípio ativo de "*caricina*". Mais tarde, em 1876, este princípio ativo foi isolado por Peckolt que o chamou de "*papaiotina*". Mas apenas três anos depois, em 1879, Wurtz e Bouchut divulgaram um trabalho sobre a enzima digestiva que foi denominada até hoje de "*papaína*"<sup>(6)</sup>.

Isolada a partir do látex do mamão verde, a papaína é uma proteína globular explicada como um sistema de duas enzimas entrelaçadas. Composta por 212 aminoácidos, sua funcionalidade é decorrente de uma estrutura única que contém entre 3 - 4 Mol% de cisteína (Cys). Com seus grupos sulfidrilas (-SH), parte das cisteínas compõem sua forma ativa e outra parte é inativa por ser oxidada, formando três pontes de dissulfetos (Cys22-Cys63, Cys56-Cys95, Cys153-Cys200). A molécula é dobrada ao longo destas pontes criando interação entre as cadeias laterais. As posições Glicina-19, Cisteína-25 e Histidina-159 (His) têm ação catalítica. Esta estrutura tridimensional consiste em dois domínios estruturais com uma fenda entre eles, contendo um sítio ativo que realiza um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico das ligações peptídicas, com mais facilidade em resíduos de arginina e lisina, quebrando a proteína. Este mecanismo se dá pela desprotonação de Cys-25 por His-159. Para que ocorra esta desprotonação é necessário que o anel imidazol de His-159 receba ajuda da asparagina-175. O sítio ativo da papaína possui 7 subsítios que participam da ligação ao substrato<sup>(7,8,9)</sup>.

No tecido sadio há uma antiprotease plasmática,  $\alpha$ 1-antitripsina, que inativa a protease da papaína, desta forma, a papaína não altera o tecido sadio. A papaína provoca a quebra de proteínas apenas do tecido desvitalizado. Este processo é chamado de debridamento enzimático, muito importante para a cicatrização, pois o tecido necrótico retarda o processo cicatricial. Além

do efeito debridante na ferida por segunda intenção, a papaína facilita a contração e junção das bordas e também tem a ação anti-inflamatória, ação bactericida e bacteriostática<sup>(6,7,10)</sup>.

Apesar do conhecimento sobre a eficácia macroscópica da papaína no processo cicatricial, existem muitas dúvidas sobre sua ação ao nível microscópico e bioquímico. Assim, o objetivo deste estudo foi observar, comparar e analisar, macro e microscopicamente, a evolução da cicatrização de feridas cutâneas agudas em ratos utilizando a papaína 2%, colagenase 0,6 U/g e soro fisiológico 0,9%.

## **METODOLOGIA**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA) com o protocolo 31/2016 realizado no Núcleo de Pesquisa Experimental da FADBA em julho e agosto de 2017. O estudo histológico foi desenvolvido no Laboratório de histologia da FADBA entre agosto e outubro de 2017.

### **Delimitação experimental**

Ratos albinos machos (n=9), três meses de idade, da espécie *rattus norvegicus*, linhagem *Wistar*, clinicamente saudáveis procedentes do Suprimento de Laboratório e Biotério Ltda (SUPRILAB). Os animais ficaram alojados individualmente, em caixas de polipropileno com dimensões de 45 cm x 30 cm x 15 cm, mantidos à temperatura de 22 °C, com fotoperíodo de 12 horas em ambiente com exaustores ficando sob observação até atingirem o peso entre 246 g e 420 g. Foram alimentados com ração sólida e água à vontade, divididos aleatoriamente em três grupos: A (n=3), B (n=3), C (n=3). Cada rato recebeu um código de identificação que foi marcado na gaiola.

### **Protocolo de cirurgia:**

Após pesagem dos animais, realizou-se a indução anestésica com cloridrato de Ketamina 47,5 mg/kg (Ventanacol – 50 mg/2500 mg – Lab. Konig), associado ao cloridrato de Xilazina 12 mg/kg (Coopazine – 10 ml/200 mg - Intervet Schering-Plough), misturados numa mesma seringa e aplicados via intraperitoneal (IP). Após a imobilização das patas, procedeu-se a tricotomia com bisturi nº 21 e a antisepsia com iodopovidona 10% (PVPI), seguidas da demarcação e incisão. Todas as feridas foram realizadas por um mesmo operador na região dorsal com 1cm de diâmetro, comprometendo toda a espessura da pele. Foi utilizado o analgésico paracetamol (Natulab) calculado em 0,4mg/ml. Foram disponibilizados 200 mL de água com o fármaco que foi quantificada após 48 hs. O consumo mediano foi de 42,5 mL ( $\pm$  16,62). Os animais permaneceram acolhidos no Núcleo de Pesquisa Experimental da FADBA sob as mesmas condições pré-cirúrgicas.

### **Protocolo pós-cirúrgico:**

Diariamente todos animais eram limpos com soro fisiológico 0,9%. Após a limpeza os grupos B e C foram tratados com colagenase 0,6 U/g (Kollagenase®/Cristália) e gel de papaína 2% (Farmô), respectivamente. O grupo A recebeu apenas a limpeza com soro fisiológico 0,9%. A rotina diária seguia um ciclo de 24 horas. As feridas permaneciam abertas para cicatrização por segunda intenção. A eutanásia ocorreu aos 7 dias, aos 14 dias e aos 21 dias.

### **Análise Macroscópica:**

Todos os animais foram fotografados imediatamente após a cirurgia e a cada dia, até o 21º dia, tendo as imagens agrupadas em uma tabela. Para a captura das imagens, procurou-se manter

a câmera em uma mesma posição em distância. As imagens da tabela foram selecionadas pelo dia de pós-operatório (7,14 e 21) e os animais selecionados foram um rato de cada grupo que foi sacrificado no 21º dia.

### **Análise Histológica:**

Para a análise histológica utilizou-se aleatoriamente um animal de cada grupo sacrificados em 7, 14 e 21 dias. As peças foram retiradas com margem de tecido sadio em torno da lesão, armazenadas formaldeído 10%, para fixação e encaminhadas para o Laboratório de Histologia da FADBA para inclusão em blocos de parafina. Cada bloco continha um segmento de pele lesionada. Após os cortes histológicos com o micrótomo (Lupe, modelo MRP2016SA), foi realizada a coloração de cada lâmina com Tricrômico de Masson. A análise foi sucedida em microscópio biológico binocular, (modelo 07078), com aumento de 100x as imagens foram capturadas e armazenadas. As imagens micrográficas foram fotografadas, capturando tecido lesionado e tecido sadio, as imagens foram novamente analisadas e agrupadas em tabela.

### **Análise Qualitativa:**

A análise qualitativa macroscópica foi realizada a partir da comparação fotográfica e evolução da cicatrização da ferida identificando a contração da ferida, a presença de escaras, presença de tecido de granulação e cicatrização total, comparando todos os grupos até o 21º dia.

A análise qualitativa microscópica foi realizada a partir da leitura de laminas, observando os critérios de presença de infiltrado leucocitário, vascularização, anexos epidérmicos, presença de colágeno e reepitelização. Para isto foram dispostos quatro escores: 0 ausente, 1 baixa, 2 moderada e 3 alta. Os resultados foram comparados entre os grupos.

## **RESULTADOS**

A imagem 1 mostra a evolução das feridas *in vivo* fotografadas nos dias 1, 7, 14 e 21. Aparentemente não se percebe diferença significativa nas feridas em todos os grupos. Todos os grupos apresentaram uma crosta no 7º dia, sendo que no grupo C a ferida apresentou-se mais reduzida. No 14º dia os grupos A e C apresentaram tecido de epitelização e no grupo B, tecido de granulação. Aos 21 dias todos os grupos apresentavam apenas a cicatriz da ferida.

**Imagem 1:** Desenvolvimento de cicatrização de feridas do Grupo A, B e C. Brasil, agosto de 2017.

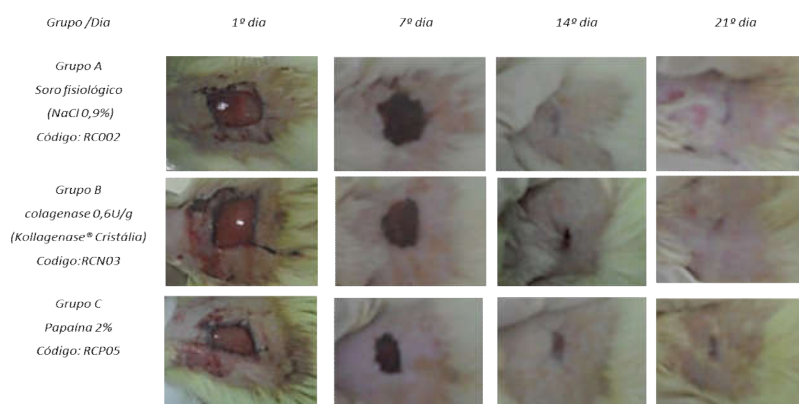
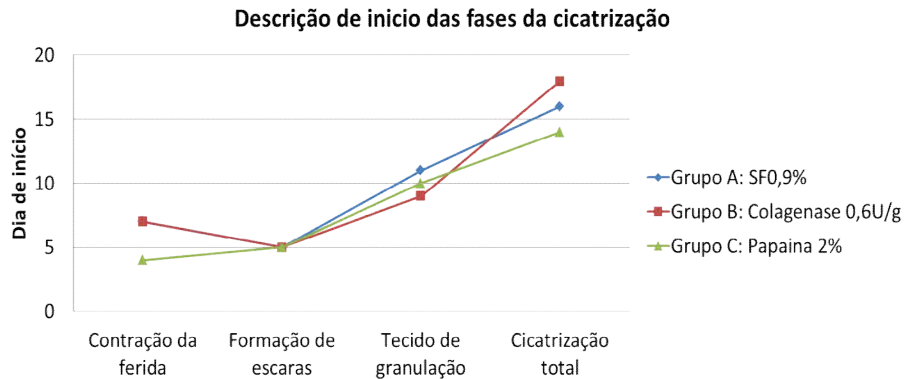


Tabela1: Desenvolvimento de cicatrização de feridas processo do Grupo A, B e C.

Fonte: Autoria própria.

O gráfico 1 indica o dia de início de cada etapa da cicatrização em cada grupo. Observa-se que o início da contração das feridas dos animais do grupo C iniciaram a partir do 4º dia enquanto que os grupos A e B iniciaram após o 7º dia. Quanto a formação da escara, todos os grupos iniciaram no mesmo período, porém, o grupo C apresentava uma espessura mais fina em relação aos grupos A e B. Os animais do grupo B alcançaram a fase de granulação primeiro, porém, o grupo C obteve melhor evolução deste tecido ao longo do tratamento, finalizando esta fase no 10º dia e evoluindo para a cicatrização, tendo ela se completado totalmente aos 21 dias.

**Gráfico 1:** Descrição do dia de início e do desenvolvimento das etapas de cicatrização das feridas cutâneas nos grupos A, B e C. Brasil, outubro de 2018.



Fonte: Autoria própria.

A imagem 2 mostra as imagens micrográficas das lesões. No 7º dia ainda se percebe a diferença entre a pele saudável e a lesão no grupo A, diferentemente dos grupos B e C. Aos 14 dias o grupo B apresentou evolução para a fase de proliferação e os grupos A e C se encontravam na fase inflamatória. No 21º dia o grupo C apresentava uma característica semelhante ao tecido sadio, o grupo B permanecia na fase de proliferação enquanto o grupo A estava iniciando a fase de proliferação.

**Imagem 2:** Fotomicrografias das camadas, cortes transversais corados com Tricrômio de Masson. Brasil, outubro de 2017.

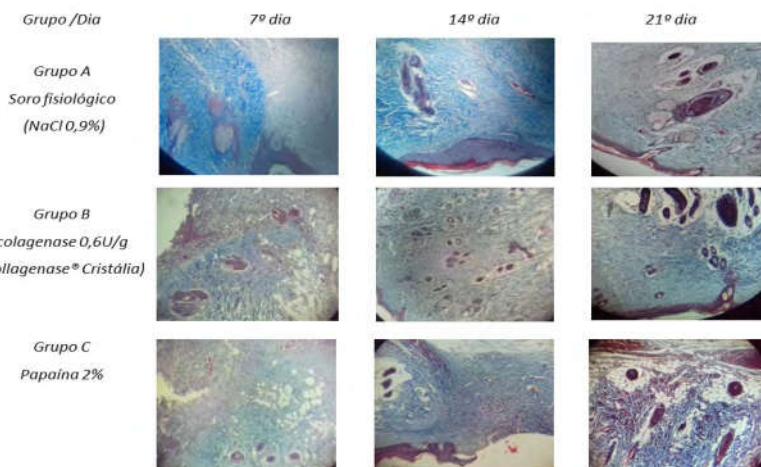


Tabela 2: Fotomicrografias das camadas cortes transversais corados com Tricrômico de Masson.

Fonte: Autoria própria.

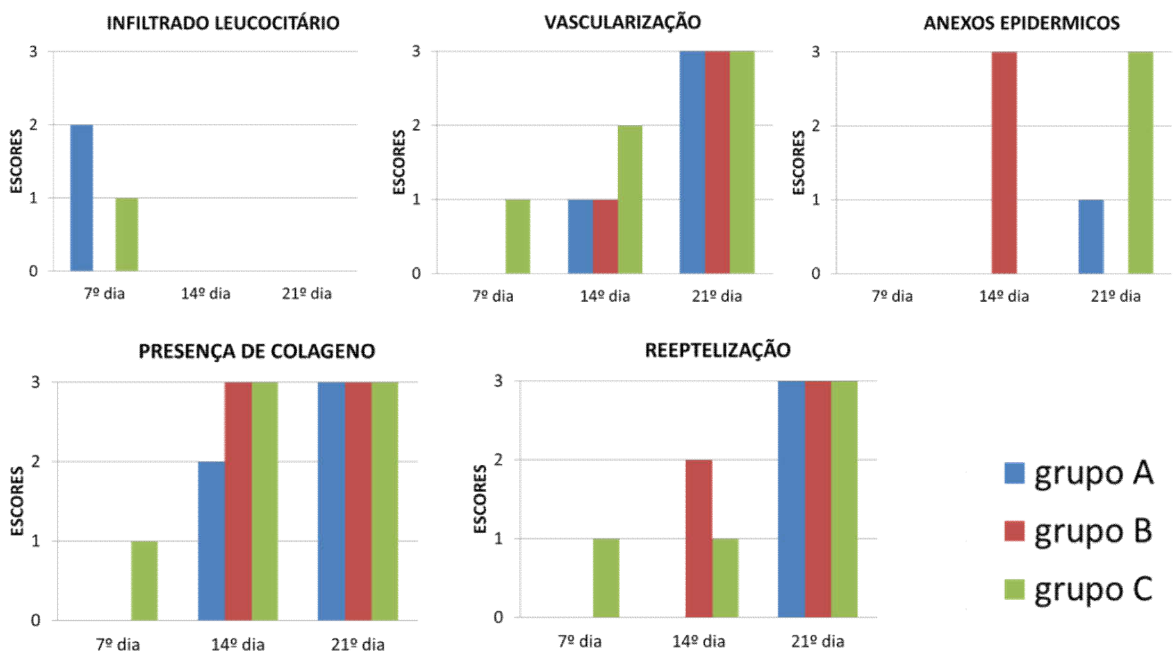


A imagem 3 apresenta os gráficos da análise qualitativa microscópica em que foram observados os critérios de presença de infiltrado leucocitário, vascularização, anexos epidérmicos, presença de colágeno e reepitelização em todos os grupos. O primeiro gráfico representa que o infiltrado leucocitário ficou evidente no grupo A ao 7º dia em quantidade aproximada ao dobro do que o infiltrado leucocitário no grupo C. No mesmo período, o grupo B não apresentou infiltrado leucocitário.

O gráfico vascularização demonstra que, no 7º dia, apenas os animais do grupo C a desenvolveram. Os grupos A e B só apresentaram vascularização a partir do 14º dia, momento em que o grupo C apresentava o dobro de vascularização. Ao 21º dia, todos os grupos se equiparam neste critério. O próximo gráfico à direita, representa a presença de grande quantidade de anexos epidérmicos no 14º dia apenas para o grupo B. Os grupos A e C apresentam anexos epidérmicos somente a partir do 21º dia.

No gráfico demonstrativo da presença de colágeno, nota-se que o grupo C foi o primeiro a apresentar colágeno, a partir do 7º dia de pós-operatório. Os grupos A e B apresentaram colágeno no 14º dia, sendo que o grupo B em quantidade equiparável ao grupo C, tendo o grupo A desenvolvido menor quantidade que ambos. Aos 21 dias as quantidades de colágeno estavam iguais para todos os grupos. No gráfico representativo da reepitelização microscópica observa-se que o grupo C iniciou a reepitelização no 7º dia e se manteve sem evolução até 14º dia, enquanto que o grupo B evoluiu rapidamente nesse período. Aos 21 dias, a reepitelização ao nível microscópico estava desenvolvida em todos os grupos de formas iguais.

**Imagem 3:** Gráficos de escores de presença de infiltrado leucocitário (gráfico 2), vascularização (gráfico 3), anexos epidérmicos (gráfico 4), presença de colágeno (gráfico 5) e reepitelização (gráfico 6) na cicatrização de feridas cutâneas dos grupos A B e C. Brasil, novembro de 2018.



Fonte: Autoria própria.

## DISCUSSÃO

A papaína e a colagenase, além possuírem ação enzimática, possuem a ação de estimular a formação do tecido de granulação, acelerando o enchimento vazio da lesão, e sua epitelização [3,5]. Neste estudo, utilizamos a colagenase 0,6 U/g com um controle enzimático positivo (grupo B) para avaliar a ação da papaína 2% (grupo C) como enzima cicatrizante comparando a um grupo controle negativo (grupo A).

A ação enzimática da papaína está diretamente relacionada à sua concentração. Ela pode ser manipulada em diferentes concentrações, sendo que 2, 4, 6 e 10% m/v possuem indicações específicas. Em feridas com presença de tecido necrótico abundante, recomenda-se a utilização de papaína na concentração de 10% m/v. Quando há presença de exsudato purulento ou infecções, a concentração indicada é de 6% m/v. Em feridas secas ou com tecido de granulação, a indicação é o uso de soluções de 2% m/v. (BRITO, 2015 et al apud BORELLA, 2016 et al)<sup>(13)</sup>. Neste estudo, utilizamos a papaína na concentração de 2% m/v, pois as feridas eram secas e não apresentavam exsudato, sendo que até o dia da eutanásia nenhum animal apresentou sinais de infecção.

Ajlia et al. (2010) compararam tratamento de feridas agudas em três grupo de ratos *Sprague Dawley*. O grupo controle (A) foi tratado apenas com água destilada, o grupo B recebeu a cobertura de papaína 5% e o grupo C, um tratamento comercial contendo 10% de iodopovidona (Betadine®). Pela inspeção visual, foi observado que as feridas tratadas com papaína não diferiram muito nos períodos de início e fim da fase de epitelização<sup>(11)</sup>. Em outro estudo que utilizou colagenase 0,6 U/g (Kollagenase®), foi observado que a cicatrização parcial se iniciou no 7º dia em 10% dos ratos<sup>(12)</sup>. Neste estudo, a análise física das lesões aparentemente não apresentou diferenças, embora que no 7º dia, o grupo tratado com papaína 2% apresentou uma camada de escara mais fina e com contração mais eficaz das bordas que os grupos tratados com soro fisiológico 0,9% e colagenase 0,6U/g. Em relação às escaras, todos os grupos tiveram a formação em dias semelhantes. Quanto à contração de bordas, percebe-se que, o grupo tratado com papaína 2% apresentou redução de bordas antes mesmo de apresentar a escara formada, diferentemente dos grupos A e B que só contraíram as bordas após a formação das escaras.

No presente estudo, os ratos tratados com colagenase 0,6U/g iniciaram o processo de granulação no 9º dia e no 14º dia ainda havia tecido de granulação. O grupo controle (A) deu início ao processo de granulação no 11º dia e o grupo tratado com papaína 2% iniciou a granulação entre os dias 10 e 12, sendo que no 14º dia estes últimos já apresentavam cicatrização. Nesse período, a continuação da contração e redução das feridas foram semelhantes em todos os grupos, mas o que mostrou melhor regularidade de bordas foi o grupo tratado com papaína 2%. O estudo qualitativo de Alves (2011) durou 9 dias, neste período, 60% dos ratos tratados com colagenase 0,6 U/g não apresentaram cicatrização total<sup>(12)</sup>.

No 21º dia deste experimento, foi observado que todos os grupos alcançaram a cicatrização total da ferida. Comparando este estudo com o estudo de Ajlia et al. (2010), foi encontrado que a cicatrização dos grupos controle negativo tratados com soro fisiológico 0,9% e água destilada, respectivamente, ocorreu no 16º dia em ambos os estudos. O mesmo ocorreu com a cicatrização das feridas nos ratos do grupo tratado com colagenase 0,6 U/g e Betadine®, respectivamente, em ambos os estudos foi observada a cicatrização total das feridas após o 18º dia da incisão. A cicatrização dos ratos tratados com a papaína também se manteve equiparada nos dois estudos.



No estudo de Ajlia et al. (2010), o grupo tratado com papaína atingiu reepitelização total no 14º dia assim como neste estudo<sup>(11)</sup>.

A cicatrização é um processo microscópico que inicia da camada interna da pele para a superfície. E para analisar melhor este processo utilizamos a histologia, que permite uma observação das camadas da pele e da composição da mesma. O Tricrômio de Masson é uma coloração muito utilizada na histologia para a coloração do colágeno, que é um componente fundamental na cicatrização. Esta coloração mancha o colágeno na cor azul ou verde facilitando a diferenciação entre músculo, colágeno e eritrócitos<sup>(11)</sup>.

Usando este corante, Ajlia et al. (2010) realizaram avaliação histológica e observaram na ferida tratada com papaína 5% que houve o desenvolvimento de maior número de novos vasos sanguíneos e aumento na deposição de colágeno. Eles utilizaram um software para analisar as fotomicrografias medindo a intensidade da cor que por sua vez representa a densidade de colágeno. A densidade de colágeno no 7º dia foi maior no grupo com tratamento comercial (77,49%) e no 14º dia no grupo tratado com papaína (86,88%), permanecendo no 21º dia o grupo de papaína com maior densidade (97,39%). No mesmo estudo, no 7º dia após o ferimento as feridas do grupo B já haviam sido submetidas à fase de proliferação, enquanto que os grupos A e C ainda estavam em fase inflamatória.<sup>[11]</sup> Neste estudo, os critérios de observação microscópica foram a infiltração leucocitária, vascularização, anexos epidérmicos, presença de colágeno e reepitelização. A escolha destes critérios seguiu as ponderações de Kumar et al (2005), que afirmam que a inflamação aguda inicia rapidamente e tem como característica principal a migração leucocitária<sup>(2)</sup>.

Na análise microscópica deste estudo foi observada que, no 7º dia o grupo B, tratado com colagenase 0,6 U/g, não apresentava presença nenhum desenvolvimento nos critérios estabelecidos. O grupo controle (A) apresentou apenas infiltrado leucocitário, enquanto que o grupo C, tratado com papaína 2%, apesar da baixa infiltração leucocitária iniciou a formação de fibras de colágeno, de novos vasos sanguíneos, de folículo piloso e a reepitelização, confirmando o resultado de Ajlia et al. (2010), porém com uma concentração menor de cobertura de papaína<sup>(11)</sup>.

Os melhores resultados com a papaína, em ambos os estudos, ocorreram porque ela catalisa a quebra de proteína do tecido desvitalizado, facilitando a formação de colágeno que está diretamente ligado à oxidação de resíduos de lisina e hidroxilizina<sup>(2, 6, 11)</sup>. Relacionando estes resultados à observação feita na inspeção macroscópica no 7º dia, constata-se que a camada de escara mais fina no grupo C se dá pela ação de oxidação de resíduos, facilitando a formação do colágeno.

Ao decorrerem 14 dias do estudo, Ajlia et al. (2010) afirmaram que a pele do grupo tratado com papaína 5% mostrou completo estabelecimento de uma nova camada de epiderme com presença de novo folículo piloso e glândulas sebáceas, secreção contínua de novas fibras de colágeno e que, durante esta fase, exibia avançada cicatrização de feridas em comparação aos demais grupos. Resultado similar foi alcançado neste estudo utilizando papaína 2%. Aos 14 dias, o grupo C apresentou formação de fibras de colágeno bem mais densas e mais fechadas, presença de novo folículo piloso, vasos sanguíneos em pouca quantidade e reepitelização moderada. O grupo B, tratado com colagenase 0,6 U/g, também alcançou boa evolução cicatricial, pois se observou formação de fibras de colágeno densas, presença de novo folículo piloso, formação de epiderme com pouca queratina, pouca vascularização e grande quantidade de anexos epidérmicos, enquanto que, o grupo A tratado com SF0,9% apresentou baixa vascularização no local da ferida,

e uma densa camada de colágeno desorganizado. Isto indica que o processo cicatricial do grupo A está retardado em relação aos grupos B e C, pois a maturação do colágeno é definida através da organização de suas fibras. A arquitetura do tecido normal é caracterizada pela deposição de fibras de colágenos organizadas (LORENZE, 2003 et al apud AJLIA, 2010 et al)<sup>(11)</sup>.

Comparando os grupo B e C deste estudo, aos 14 dias, foi observado que ambos os grupos apresentaram fibras de colágeno densas, porém no grupo C, tratado com papaína 2%, estas fibras estão mais densas e mais fechadas indicando uma melhor organização das fibras de colágeno, indicando uma cicatrização mais eficaz, pois, segundo Kumar et al (2005), os ferimentos cutâneos, sejam eles incisionais ou excisionais cicatrizam através da formação de colágeno. Relacionando estas constatações microscópicas cicatriciais à observação macroscópica do mesmo período, o grupo C (papaína 2%) apresentou melhor regularidade de bordas devido ao colágeno mais organizado e mais denso indicando uma maior maturação destas fibras, sugestivo de que este grupo iniciou a cicatrização bem antes que os demais grupos.

No 21º dia, o grupo controle negativo (A) apresentou reepitelização, presença de colágeno maduro, denso e com fibras fechadas, foi observado presença de novos vasos, folículos pilosos, pouca quantidade de anexos epidérmicos e alta reepitelização. O grupo tratado com colagenase 0,6 U/g, apresentou alta quantidade de anexos epidérmicos, folículos epidérmicos e vasos sanguíneos, fibras de colágeno bem densas com reorganização similar ao tecido sadio. No grupo com cobertura de papaína 2%, observou-se alta presença de folículos pilosos, queratina, glândulas sebáceas e reepitelização total com organização epidérmica completa com aparência igual a tecido sadio. Segundo o estudo de Ajlia et al. (2010), no 21º dia, o grupo tratado à base de papaína 5% apresentou um aumento da deposição de colágeno e uma melhor organização das fibras colágenas quando comparado aos outros grupos. Neste estudo, aos 21 dias, as cicatrizações macroscópicas das feridas apresentavam-se iguais em todos os grupos, porém, pela confirmação microscópica, apenas os grupos que tiveram as feridas cobertas com papaína 2% e colagenase 0,6 U/g apresentaram uma estrutura epidérmica semelhante ao tecido não lesionado.

## **CONCLUSÃO**

As lesões agudas tratadas com papaína 2% apresentaram melhor aparência física, durante o processo cicatricial, do que as lesões tratadas com colagenase 0,6 U/g e soro fisiológico 0,9%, pois houveram contrações de bordas antes da formação de escaras, apresentaram escaras mais finas e melhor regularidade de bordas durante todo o experimento.

Microscopicamente, apesar da baixa infiltração leucocitária, que foi comum a todos os grupos, a papaína 2% acelerou o crescimento vascular, o desenvolvimento de colágeno e a reepitelização a partir do 7º dia, tendo resultados similares aos da colagenase 0,6 U/g em todos os critérios analisados, no 21º dia.

Com base nos resultados alcançados neste estudo a papaína 2% foi eficiente na reorganização de estruturas dérmicas, no entanto, é necessário que ainda sejam feitos estudos para detalhar os processos bioquímicos da cicatrização.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao técnico de laboratório de histologia Fábio Luis Meneses de Souza, agradeço pela fabricação das laminas histológicas que foi a base deste artigo. Sou grata pela atenção e por nunca medir esforços para transmitir seu conhecimento e técnicas.

Ao vereador, enfermeiro e técnico do Núcleo de Pesquisas Cosme Carlos dos Santos, agradeço pelo manejo de animais durante todo o período da pesquisa. Sou grata pelo apoio e pelas dicas na iniciação do projeto.

## **REFERÊNCIAS**

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Política de Saúde. Manual de Condutas para Úlceras Neurotrópicas e Traumáticas. Brasília: (DAB, ATDS); 2002.
2. Kumar, V, Abbas, AK, Fausto, N. Inflamação aguda e crônica. In: Robbins e Cotran. Bases patológicas das doenças. Edição (7). Rio de Janeiro. Elsevier; 2005. p.49-88.
3. Franco, D, Gonçalves, LF. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. Rev. Col. Bras. Cir. 23 de out. de 2007; (0100-6991): 203-206.
4. Souza, DLS, Silva VCL, Souza, M, Coelho, MCOC, Rios, TMM, Rodrigues, UV. Atividade cicatrizante da colagenase e cloranfenicol em ferida cutânea em cão: relato de caso. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1146-1.pdf>. Acessado em: 27 de setembro de 2018.
5. Ferreira, TMC et al. Conhecimento de enfermeiros sobre o uso da colagenase em lesões por pressão. Rev. Enferm UFPE On line. 2018; 12 (1): 128-136.
6. Monetta, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. Rev. Bra. Enfer.1987. 40 (1): 66-73.
7. Mamboya, EAF. Papain a plant enzyme of biological importance: a review. Americ. Journ. Bioch. Biotec. 2012; 8 (2): 99-104.
8. Ganapathy, CV, Sastri, BN. CXLII. The nature of papain. 1939; 1175-1179.
9. Otto, HH, Schirmeister, T. Cysteine Proteases and Their Inhibitors. Chem. Rev. 1997; 133-171.
10. Leite, AP, Oliveira, BGRB, Soares, MF, Barrocas, DLR. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. Rev. Gaúcha Enferm. 2012; 33 (3): 198-207.
11. Ajlia, SASH, Majid, FAA, Suvik, A, Effendy, MAW, Nouri, HS. Efficacy of papain-based cound cleanser in promoting wound regeneration. Pak. J. Biol. Sci. 2010; 13 (12): 596-603.
12. Alves, H, Machado, MT, Noronha, AMNW. Análise qualitativa do processo de reparo em cicatriz cirúrgica de ratos tratados com extrato de *musa sapientum*, *aloe vera*, colagenase e placebo. Rev. Cienc. Saúd. 2011; 1.
13. Borella, JC, Simões, RF. Avaliação da estabilidade e da atividade enzimática de soluções de papaína utilizadas no desbridamento e cicatrização de feridas. Infarma.Cien. Farmac.2016; 28 (3): 179-184.