



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS**

**EFEITO CICATRIZANTE *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DO BARBATIMÃO
(*STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS*), PAPAÍNA (*CARICA PAPAYA*) E
DEXAMETASONA**

DANIELA DE PAULA NETO

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná
2023

**EFEITO CICATRIZANTE *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DO BARBATIMÃO
(*STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS*), PAPAÍNA (*CARICA PAPAYA*) E
DEXAMETASONA**

DANIELA DE PAULA NETO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luis Maria Ruiz

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná
2023

DANIELA DE PAULA NETO

**EFEITO CICATRIZANTE *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DO BARBATIMÃO
(*STRYPHODENDRON ADSTRINGENS*), PAPAÍNA (*CARICA PAPAYA*) E
DEXAMETASONA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Jorge Luis Maria Ruiz
Orientador(a)
UNILA

Dr. Breno Cherfên Peixoto
UNIPTAN

Dr. Fernando Cezar dos Santos
UniDomBosco

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 29 de junho de 2023.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

N469e

Neto, Daniela de Paula.

Efeito cicatrizante in vitro do extrato aquoso do barbatimão (*stryphnodendron adstringens*), papaína (carica papaya) e dexametasona / Daniela de Paula Neto. - Foz do Iguaçu, 2023.

82 fls.: il.

Universidade Federal da Integração Latino-Americana, CICV (Centro Interdisciplinar de Ciências da Vida), Programa de Pós-Graduação em Biociências.

Orientador: Jorge Luis Maria Ruiz.

1. Barbatimão. 2. Papaína. 3. Cicatrização de ferimentos. I. Ruiz, Jorge Luis Maria. II. Título.

CDU 616-001.4

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, que sempre me sustentou e me conduziu até aqui.

Aos meus amados pais, Eloisa e Sebastião e meu irmão que sempre estiveram ao meu lado me incentivando e me apoiando.

A Universidade Federal da Integração Latino-Americana, todos os professores, servidores e colaboradores do Programa de Pós- Graduação em Biociências pelos ensinamentos compartilhados.

Ao meu orientador, Dr. Jorge Luis Maria Ruiz, por ter compartilhado sua experiência e conhecimento sempre com muita paciência, dedicação e boa vontade de ensinar. Obrigada por aceitar o desafio da minha orientação. Serei sempre grata.

Ao secretário Erwin Becker Marques, pelo seu profissionalismo e comprometimento, sempre disposto a ajudar com atenção e cuidado.

Aos colegas de curso, em especial à Laura, Camila, Karine e Raíssa, que se tornaram amigas no decorrer desta trajetória e foram fundamentais para tornar a caminhada mais leve.

A colaboração da Professora Silvia Heredia, Maria do Carmo Vieira e Orivaldo Benedito da Silva, por todo empenho e ajuda com a coleta e envio das cascas de barbatimão, minha sincera gratidão.

“Quem elegeu a busca não pode recusar a travessia”.

GUIMARAES ROSA

PAULA NETO, Daniela de. 2023. **Efeito cicatrizante *in vitro* do extrato aquoso do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), papaína (*Carica papaya*) e dexametasona.** Orientadores: Jorge Luis Maria Ruiz (orientador). 82 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

O processo de cicatrização de feridas é um importante mecanismo de defesa e recuperação do organismo, que visa a recuperação da homeostasia e reparação de uma área lesionada. A utilização de plantas com fins medicinais é uma prática milenar, o Brasil é um país rico em biodiversidade, e que tem como costume a utilização de plantas medicinais para tratamento de doenças e afecções, portanto esta prática vem sendo reconhecida e incorporada pelo Sistema único de saúde. O extrato da casca do barbatimão, uma árvore do cerrado brasileiro é popularmente utilizada com fins medicinais por seu efeito cicatrizante. Já a papaína uma enzima isolada do látex do mamão, utilizada para o tratamento de feridas por realizar desbridamento da ferida e acelerando o processo de cicatrização. Diversos fármacos presentes no mercado tem o intuito de auxiliar nas diferentes etapas do processo de reparo tecidual, dentre eles podemos destacar a dexametasona, um corticóide amplamente utilizado como anti-inflamatório, apresentando bons efeitos nas etapas iniciais do processo de cicatrização, mas que, de acordo com a literatura, retarda as etapas finais da cicatrização. Diante disso, propomos este estudo para avaliar o efeito cicatrizante do barbatimão, da papaína e dexametasona em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5). Foi realizado a obtenção do extrato do barbatimão, posteriormente foi realizado ensaio de citotoxicidade do barbatimão, papaína e dexametasona e selecionado as melhores concentrações, do extrato aquoso de barbatimão: 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%. Da papaína as seguintes concentrações: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml. E dexametasona a concentração de 0,004 nM. Posteriormente, foi realizada a avaliação da motilidade celular mediante o ensaio de cicatrização, a morfologia foi avaliada por tinção fluorescente, e então realizadas as análises estatísticas para avaliar o efeito cicatrizante. Os resultados nos mostraram que o barbatimão e a papaína não apresentaram efeito citotóxicos em células MRC-5 e que induziram aumento da viabilidade celular, já a dexametasona apresentou citotoxicidade em quase todas as diluições, somente uma diluição apresentou viabilidade em células MRC-5.

Palavras-chave: barbatimão; *Stryphnodendron adstringens*; papaína; dexametasona; cicatrização.

PAULA NETO, Daniela de. 2023. **Efecto curativo in vitro del extracto acuoso de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), papaína (*Carica papaya*) y dexametasona**. Asesores: Jorge Luis María Ruíz (asesor). 82 h. *Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Posgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de Integración Latinoamericana), Foz do Iguaçu.*

RESUMEN

El proceso de cicatrización de heridas es un importante mecanismo de defensa y recuperación del organismo, cuyo objetivo es recuperar la homeostasis y reparar una zona lesionada. El uso de plantas con fines medicinales es una práctica milenaria, ya que Brasil es un país rico en biodiversidad, y es costumbre usar plantas medicinales para tratar enfermedades y lesiones, razón por la cual esta práctica ha sido reconocida e incorporada por el Sistema Único para la Salud. El extracto de corteza de Barbatimão, un árbol del cerrado brasileño, es popularmente utilizado con fines medicinales debido a su efecto curativo. Existe la papaína, una enzima aislada del látex de la madre, utilizada en el tratamiento de heridas para realizar el desbridamiento de heridas, acelerando el proceso de cicatrización. Varios fármacos en el mercado tienen como objetivo ayudar en las diferentes etapas del proceso de reparación de los tejidos, entre los que podemos destacar la dexametasona, un corticoide muy utilizado como antiinflamatorio, mostrando buenos efectos en las etapas iniciales del proceso de cicatrización, más según la literatura, retrasa las etapas finales de la curación. Por lo tanto, proponemos este estudio para evaluar el efecto curativo de barbatimão, papaína y dexametasona en la línea celular de fibroblastos (MRC-5). Se obtuvo el extracto de barbatimão, posteriormente se realizó la prueba de citotoxicidad de barbatimão, papaína y dexametasona y se seleccionaron las mejores concentraciones, se seleccionó el extracto acuoso de barbatimão las concentraciones: de 12,5%; 3,37%; 0,84% y 0,42%. De la papaína se seleccionó las siguientes concentraciones: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml. Y dexametasona a una concentración de 0,004 nM. Posteriormente, se realizó la evaluación de la motilidad celular mediante el ensayo de cicatrización, y la morfología se evaluó mediante tinción fluorescente, para luego realizar análisis estadísticos para evaluar el efecto cicatrizante. Los resultados nos mostrarán que el barbatimão y la papaína no tuvieron efectos citotóxicos sobre las células MRC-5 e indujeron un aumento de la viabilidad celular, mientras que la dexametasona mostró citotoxicidad en casi todas las concentraciones, solamente una concentración presentó viabilidad sobre las células MRC-5.

Palabras clave: *barbatimão; Stryphnodendron adstringens; papaína; dexametasona; cicatrización.*

PAULA NETO, Daniela. 2023. ***In vitro* healing effect of aqueous extract of barbatimão (Stryphnodendron adstringens), papain (Carica papaya) and dexamethasone.** Advisors: Jorge Luis Maria Ruiz (advisor). 82 s. Master's thesis (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

The wound healing process is an important defense and recovery mechanism of the body, which aims to recover homeostasis and repair an injured area. The use of plants for medicinal purposes is an ancient practice, Brazil is a country rich in biodiversity, and it is customary to use medicinal plants to treat diseases and conditions, therefore this practice has been recognized and incorporated by the Unified System of health. Barbatimão bark extract, a tree from the Brazilian cerrado, is popularly used for medicinal purposes due to its healing effect. Papain, an enzyme isolated from papaya latex, is used to treat wounds by debriding the wound and accelerating the healing process. Several drugs on the market are intended to help in the different stages of the tissue repair process, among them we can highlight dexamethasone, a corticoid widely used as an anti-inflammatory, with good effects in the initial stages of the healing process, but which according to the literature, it delays the final stages of healing. Therefore, we propose this study to evaluate the healing effect of barbatimão, papain and dexamethasone in fibroblast cell line (MRC-5). Barbatimão extract was obtained, subsequently a barbatimão, papain and dexamethasone cytotoxicity assay was carried out and the best concentrations of barbatimão aqueous extract were selected: 12,5%; 3,37%; 0,84% and 0,42%. From papain the following concentrations: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml. And dexamethasone the concentration of 0.004 nM. Subsequently, the evaluation of cell motility was carried out through the healing assay, the morphology was evaluated by fluorescent staining, and then statistical analyzes were performed to evaluate the healing effect. The results showed that barbatimão and papain did not have a cytotoxic effect on MRC-5 cells and that they induced an increase in cell viability, while dexamethasone showed cytotoxicity in almost all dilutions, only one dilution showed viability in MRC-5 cells.

Keywords: *barbatimão; Stryphnodendron adstringens; papain, dexamethasone; healing.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina trifosfato
CM	Centímetro
CM ²	Centímetro quadrado
CO ₂	Dióxido de carbono
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DMEN	Meio de Eagle modificado por Dubelco
DMSO	Dimetilsulfoxido
EGF	Epidermal Growth Factor
FGF	Fibroblast Growth Factor
H	Hora
IC ₅₀	Concentração Inibitória 50%
ILACVN	Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza
mg	Miligrama
min	Minutos
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio
nm	Nanómetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PBT	Permeabilizante Pbs mais triton
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
rpm	Rotações por minuto
SFB	Soro fetal bovino
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF-B	Transforming Growth Factor Beta
TNF – ALFA	Tumour Necrosis Factor Alpha
UNEMAT	Universidade do Estado do Mato Grosso
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino Americana
µL	Microlitro
µm	MICRÓMETRO

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Barbatimão na Fazenda Vale do Chapadão, Serra do Mangaval, Município de Cáceres - MT.....	41
Figura 2. Fotos do método de obtenção do extrato aquoso	42
Figura 3. Fotos realizadas durante o ensaio MTT.....	45
Figura 4. Foto das células MRC-5 antes da realização da cicatriz.....	52
Figura 5. Fotos do resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 12,5%.....	53
Figura 6. Fotos resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 3,37%.....	533
Figura 7. Fotos resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 0,84%.....	54
Figura 8. Resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 0,42%	544
Figura 9. Fotos do resultado ensaio cicatriz papaína concentração 125 µg/ml	55
Figura 10. Fotos do resultado Ensaio Cicatriz papaína concentração 31,25 µg/ml.....	555
Figura 11. Fotos do resultado Ensaio Cicatriz papaína concentração 7,81 µg/ml.....	56
Figura 12. Fotos do resultado cicatriz dexametasona concentração 0,004 nm.....	566
Figura 13. Morfometria e Imunofluorescência grupo controle	600
Figura 14. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimão concentração 12,5%.....	61
Figura 15. Morfometria e imunofluorescência barbatimão concentração 3,37%	611
Figura 16. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimão concentração 0,84%.....	62
Figura 17. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimão concentração 0,42%.....	622
Figura 18. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 125 µg/ml	63
Figura 19. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 31,25 µg/ml	633
Figura 20. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 7,81 µg/ml.....	64
Figura 21. Morfometria e Imunofluorescência dexametasona concentração 0,004 Nm ..	644

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análise de viabilidade celular do extrato aquoso de barbatimão pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5).....	499
Gráfico 2. Análise de viabilidade celular da papaína pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5)	50
Gráfico 3. Análise de viabilidade celular da dexametasona pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5)	51
Gráfico 4. Análise e estatística do ensaio de migração celular grupo Barbatimão.	58
Gráfico 5. Análise e estatística do ensaio de migração celular grupo Papaína.	588
Gráfico 6. Análise e estatística do ensaio de migração celular Comparação entre os compostos.....	59

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores de viabilidade celular do extrato aquoso de barbatimão em linhagem de células MRC-5.....	488
Tabela 2. Valores de viabilidade celular da papaína em linhagem de células MRC-5	499
Tabela 3. Valores de viabilidade celular da dexametasona em linhagem de células MRC-5	50
Tabela 4. Áreas do ensaio de cicatrização	57

SUMÁRIO

RESUMO	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
1. INTRODUÇÃO	17
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	19
1.1.1. Cicatrização.....	19
1.1.2. Inflamação.....	20
1.1.3. Fase proliferativa	21
1.1.4. Migração dos fibroblastos	22
1.1.5. Angiogênese	23
1.1.6. Contração das bordas da lesão	25
1.1.7. Epitelização	25
1.1.7.1. <i>Plantas Medicinais</i>	26
1.1.7.2. <i>Barbatimão</i>	28
1.1.7.3. <i>Papaína</i>	33
1.1.7.4. <i>Dexametasona</i>	36
1.2. JUSTIFICATIVA	38
1.3. PERGUNTA NORTEADORA.....	39
1.4. HIPÓTESE	39
2. OBJETIVOS	40
2.1. GERAL	40
2.2. ESPECÍFICOS	40
3. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE BARBATIMÃO	41
3.2. OBTENÇÃO DA PAPAÍNA	42
3.3. OBTENÇÃO DA DEXAMETASONA	42
3.4. CULTURAS CELULARES	43
3.5. ENSAIOS DE PROLIFERAÇÃO CELULAR.....	43
3.6. AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO CELULAR.....	45

3.7. ANÁLISE DE MORFOMETRIA E IMUNOFLUORESCÊNCIA.....	46
3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
4. RESULTADOS.....	48
4.1. RESULTADO DO ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR.....	48
4.2. RESULTADO ENSAIO DE AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO CELULAR	52
4.3. RESULTADO DA ANÁLISE DE MORFOMETRIA E IMUNOFLUORESCÊNCIA	59
5. DISCUSSÃO	65
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS.....	88
Anexo A - Atestado de regularidade de acesso ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen.....	88

1. INTRODUÇÃO

A pele é um órgão que reveste todo organismo humano e é responsável pela proteção de danos externos. Ela é responsável por trazer equilíbrio ao organismo evitando a entrada de microrganismos, regulação da temperatura corpórea, excreção de água e eletrólito, sensibilidade ao meio externo e também pode refletir a saúde do corpo. A pele é um mecanismo de barreira protetora exposto ao ambiente externo, e, portanto, é muito exposta a lesões e agressões. Quando isto ocorre, tem-se uma lesão, que é caracterizada pela interrupção da continuidade da pele, após esta interrupção é dado início a um processo de reparo tecidual. Devido à grande importância deste órgão, a sua pronta restituição ou a reparação e cicatrização de suas feridas é de suma importância. Portanto, conhecer, estudar e entender melhor este processo de reparo de feridas é extremamente importante (TAKEO; LEE; ITO, 2015; PASSARETTI *et al.*, 2016; ABBADE *et al.*, 2021).

O processo de reparo de feridas, inicia-se através de uma solução de continuidade dos tecidos, decorrente da lesão por agentes mecânicos, térmicos, químicos cirúrgicos e bacterianos, é o esforço dos tecidos para restaurar a função e estruturas normais, recuperando a homeostasia. O conhecimento dos complexos eventos fisiológicos da cicatrização de feridas é de grande importância para a saúde (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

Embora a reparação tecidual seja processo fisiológico sistêmico, é necessário favorecer condições locais através de terapia farmacológica tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico (DEALEY, 2008).

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (BORBA; MACEDO, 2006).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais. Comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas medicinais é um problema de saúde pública. Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, são possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) são comuns. As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres,

mercados públicos ou lojas de produtos naturais. Desta forma, dois derivados vegetais utilizados como fitoterápicos são o barbatimão e a papaína (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

O barbatimão ou casca da virgindade é amplamente utilizado na medicina popular, em todo o país como anti-inflamatório e cicatrizante, e a sua casca é rica em taninos. Ele é utilizado para diversas indicações: leucorreia, hemorragias, infecções ginecológicas, para a limpeza de ferimentos, em forma de gota para conjuntivites (SOUZA *et al.*, 2007).

A papaína provém do látex do mamoeiro (*Carica papaya*), encontrado comumente no Brasil. Trata-se de uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases, que causam a proteólise, a degradação de proteínas em aminoácidos, do tecido desvitalizado e da necrose, sem alterar o tecido sadio, devido a uma antiprotease plasmática (MONETTA, 1987).

A proteólise é importante porque a presença de tecido necrótico e de fragmentos celulares na ferida retarda o processo de cicatrização (SANCHEZ NETO *et al.*, 1993).

Além de ser usada como desbridante, a papaína possui ação anti-inflamatória, atuando na contração e junção de bordos de feridas de cicatrização por segunda intenção, podendo ser usada nas diversas fases de cicatrização, com diferentes concentrações de acordo com o tipo de tecido da ferida (SILVA, 2020).

A dexametasona é um fármaco usado rotineiramente para o tratamento de processos inflamatórios, auxiliando a manter a inflamação em níveis controlados. No entanto, o uso prolongado de dexametasona sobre o processo de cicatrização pode levar à diminuição da resistência da cicatriz, baixa densidade do colágeno total em todos os tempos estudados (TENIUS; IOSHII; BIONDO-SIMÕES, 2007).

Partindo desse pressuposto, este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito cicatrizante do barbatimão, papaína e dexametasona em linhagem celular de fibroblastos (MCR-5). Dessa maneira, esperamos a partir deste trabalho abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de um medicamento alternativo eficiente, de baixo custo e acessível a todas as classes sociais.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1. Cicatrização

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico, fisiológico e complexo que inclui vários níveis de organização temporal ou sequencial e funcional, envolvendo a interação entre células e sistemas mensageiros (MENKE *et al.*, 2007)

As lesões de pele são aberturas no tecido cutâneo que podem ocasionar mais facilmente infecções de pele, por conta da exposição de tecidos que deveriam estar protegidos por ela, e pela colonização bacteriana do próprio tecido. Assim, para manter a homeostase e recuperação da lesão ocasionada, a pele inicia o processo de cicatrização (conjunto de fases denominadas: inflamatória, granulação e maturação) que promove o processo de reparo tecidual. A célula de destaque no processo de cicatrização é o fibroblasto e a proteína mais abundante é o colágeno, que garante a sustentação da pele (BORGES FILHO; FELFILI, 2003).

O início da cicatrização ocorre imediatamente após a criação de uma ferida, definida como uma lesão corporal que normalmente envolve laceração ou ruptura de uma membrana e danos aos tecidos subjacentes ou de órgãos e danos ao tecido e sua vascularização. Em seguida, ocorre o sangramento, a lesão de endotélio e o extravasamento de proteínas intravasculares e extravasculares. Este ambiente serve como um estímulo para hemostasia, inflamação e outros eventos (MEDEIROS; MEDEIROS; FILHO, 2016).

A cicatrização de feridas na pele é um processo dinâmico e complexo, coordenada por uma cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que interagem e determinam a reconstituição do tecido. A sequência ordenada de eventos cicatrizais foi descrita há mais de um século, sendo subsequentemente dividida em cinco etapas: inflamação, angiogênese, migração e proliferação de fibroblastos, além de formação da cicatriz e remodelamento (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

O processo de reparo de feridas, inicia-se após uma lesão através de uma solução de continuidade dos tecidos, decorrente da lesão por agentes mecânicos, térmicos, químicos, cirúrgicos e bacterianos, é o esforço dos tecidos para restaurar a função e estruturas normais, recuperando a homeostasia. O conhecimento dos complexos eventos fisiológicos da cicatrização de feridas é de grande importância para a saúde. A regeneração é a restauração perfeita da arquitetura do tecido pré-existente, não ocorrendo a formação

de cicatriz, embora seja o tipo ideal no universo de cicatrização de feridas, ela só é observada no desenvolvimento embrionário, ou em determinados tecidos como ossos e fígado. Na cicatrização de feridas a acurácia da regeneração é trocada pela velocidade de reparo (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

1.1.2. Inflamação

Após o tecido sofrer uma lesão, inicia-se uma sequência de eventos que tem como objetivo promover a hemostasia, com o objetivo de evitar grande perda sanguínea. O tecido lesionado libera endotelina, que promove uma ação local, promovendo uma diminuição do calibre dos vasos sanguíneos de pequeno calibre, ou seja, uma vasoconstrição (STANLEY; CORNELL, 2017).

Apesar da vasoconstrição ser um mecanismo eficiente para vasos sanguíneos de pequeno calibre, ela não consegue conter o sangramento de vasos mais calibrosos, para estes vasos o organismo usa outros mecanismos, com o auxílio das plaquetas e fibrinas o organismo forma o coágulo, também chamado de hemostático plaquetário, que tem como função atuar na contenção sangramento e promover hemostasia (REECE, 2015).

O processo de reparo tecidual inicia-se no exato momento da lesão, dando início à fase inflamatória. O sangramento após a lesão traz consigo plaquetas, hemácias e fibrina, selando as bordas da ferida, ainda sem valor mecânico, mas facilitando as trocas. O coágulo formado estabelece uma barreira impermeabilizante que protege da contaminação. Com a lesão tecidual, há liberação local de histamina, serotonina e bradicinina que causam vasodilatação e aumento de fluxo sanguíneo no local e, conseqüentemente, sinais inflamatórios como calor e rubor. A permeabilidade capilar aumenta causando extravasamento de líquidos para o espaço extracelular, e conseqüente edema. A resposta inflamatória, que perdura cerca de três dias, e na qual ocorre a migração sequencial das células para a ferida é facilitada por mediadores bioquímicos que aumentam a permeabilidade vascular, favorecendo a exsudação plasmática e a passagem de elementos celulares para a área da ferida. Os mediadores bioquímicos de ação curta são a histamina e serotonina e as mais duradouras são a quimiotaxia, bradicinina e prostaglandina. A prostaglandina é um dos mediadores mais importantes no processo de cicatrização, pois, além de favorecer a exsudação vascular, estimula a mitose celular e a quimiotaxia de leucócitos (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

As plaquetas são essenciais na formação do tampão hemostático e também secretam múltiplos mediadores, incluindo fatores de crescimento, liberados na área lesada. Induzidas pela trombina, ainda sofrem a degranulação plaquetária e liberam vários fatores de crescimento, além de glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondina, que são importantes constituintes da matriz extracelular provisória (STREIT *et al.*, 2000).

Os primeiros elementos celulares a alcançar o local da ferida são os neutrófilos e os monócitos, com a função de desbridar as superfícies da ferida e fagocitar as partículas antigênicas e corpos estranhos. O pico de atividade dos polimorfonucleares ocorre entre 24 a 48 horas após o trauma, seguido de maior aporte de macrófagos durante os próximos dois ou três dias. O macrófago, também ativa os elementos celulares das fases subsequentes da cicatrização tais como fibroblastos e células endoteliais (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

Com a presença local de macrófagos derivados de monócitos e a produção e liberação dos mediadores químicos produzidos por eles, a migração e ativação de fibroblastos é intensificada. Essas células são os principais componentes do tecido de granulação e após a influência dos fatores de crescimento e demais mediadores, derivados principalmente dos macrófagos, são ativadas e migram das margens da ferida para o centro. Isto se dá pela matriz provisória formada e seguindo a orientação do gradiente químico de substâncias químico atraentes. Com o aumento do número de fibroblastos ativados para a produção de colágeno no local, a matriz extracelular começa a ser substituída por tecido conjuntivo mais forte e elástico. Este processo é denominado de fibroplasia e para a sua eficiência é necessária à formação de novos vasos sanguíneos, ou seja, é necessária a neovascularização da região. Além da ação direta de fatores de crescimento sobre as células da vasculatura, a indução da angiogênese é, em parte, creditada à baixa tensão de oxigênio que ocorre no centro de uma ferida (KNIGHTON, *et al.* 1981).

1.1.3. Fase proliferativa

Todo processo lesivo promove a perda de massa de tecido. O leito de uma ferida aberta necessita ser preenchido e para isto, são operadas duas estratégias diferentes. Na primeira, a própria natureza anatômica da ferida proporciona um estímulo para a migração e proliferação das células (fibroblastos, células epiteliais e queratinócitos) a partir das suas margens. Por um fenômeno denominado “efeitos de vizinhança livre”, as células basais

próximas à região da ferida, ao perderem a interação com as células adjacentes, são ativadas, adquirem propriedades mitóticas e proliferam em direção ao centro da lesão (MONTESANO; ORCI, 1988).

Na segunda, mesmo quando o espaço da lesão está preenchido por tecido de granulação, as margens se movem uma em direção à outra, como se houvesse uma força de tração invisível. Isto ocorre devido à diferenciação de alguns fibroblastos das margens da ferida para miofibroblastos, portanto, para fibroblastos com capacidade contrátil (MONTESANO; ORCI, 1988).

O preenchimento da área lesionada ocorre por volta do 3 a 5 dia, e é realizado pelo tecido de granulação, para formação deste tecido a fibroplasia é muito importante, pois é o estágio de síntese de colágeno, fibronectina, macrófagos, tecido vascular, ácido hialurônico e fibroblastos (MEDEIROS; FILHO, 2016; STANLEY; CORNELL, 2017; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

A ferida sofre um processo de contração, através de um movimento centrípeto de toda a espessura da pele circundante, reduzindo a quantidade e o tamanho da cicatriz desordenada. Este processo é um importante aliado da cicatrização das feridas, principalmente nas abertas. Porém, se ocorrer de forma exagerada e desordenada causa defeitos cicatriciais importantes por causa da diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, estimulados por fatores de crescimento (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

1.1.4. Migração dos fibroblastos

Antes da migração celular ocorre a formação de novos vasos sanguíneos, nesta etapa os fibroblastos que se localizam nas margens da lesão que tem origem a partir das células mesenquimais quiescentes do tecido conjuntivo adjacente da lesão. A migração é estimulada pelos macrófagos através da exocitose e de Fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), a partir daí os fibroblastos começam a produzir fibronectina, que auxilia a promover a ligação e a movimentação celular (MEDEIROS; FILHO, 2016; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

A estimulação da proliferação dos fibroblastos também acontece devido ao fato deste tecido de granulação sofrer hipóxia tecidual, uma leve acidez, e com associação de citocinas, os fibroblastos são estimulados juntamente com a produção de colágeno e ácido hialurônico, elastina, glicosaminoglicanos. A produção de colágeno alcança o ápice neste

período que é aproximadamente entre a 2 e a 4 semana após o trauma, tendo o início da cicatrização. Este colágeno produzido inicialmente é um colágeno imaturo, colágeno tipo III, que gradativamente é substituído por colágeno maduro tipo I. Esta substituição ocorre até que o colágeno maduro ultrapasse o colágeno imaturo, neste momento se observa uma diminuição de fibroblastos e redução na síntese de colágeno (MEDEIROS; FILHO, 2016; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação (GUIDUGLI NETO, 1987), com uma rede capilar atravessando-o e, a rede linfática em franca regeneração, devido a sua reconstrução ter início posterior ao da vasculatura. O tecido de granulação vai sendo enriquecido com mais fibras de colágeno e começa a adquirir a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz. Nesta etapa, surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I (CLARK, 1993). A evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparecem (observa-se a apoptose de fibroblastos e células endoteliais) formando finalmente a cicatriz.

1.1.5. Angiogênese

Antes de descrever a angiogênese, cabe salientar que o aumento da permeabilidade microvascular é o primeiro estágio deste processo, sendo uma etapa importante, que permite, através do extravasamento de proteínas, citocinas e elementos celulares, a formação de matriz extracelular provisória e necessária à migração e proliferação das células endoteliais. A neoangiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, necessário para manter o ambiente de cicatrização da ferida (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

Em todas as feridas, o suprimento sanguíneo dos fibroblastos responsáveis pela síntese de colágeno provém de um intenso crescimento de novos vasos, caracterizando a cicatrização por segunda intenção e o tecido de granulação. Os novos vasos formam-se a partir de brotos endoteliais sólidos, que migram no sentido da periferia para o centro da ferida, sobre a malha de fibrina depositada no leito da ferida. A bradicinina, a prostaglandina e outros mediadores químicos oriundos dos macrófagos ativados, estimulam a migração e a mitose das células endoteliais. A neoangiogênese é responsável não apenas pela nutrição do tecido com uma demanda metabólica maior, como também pelo aumento do aporte de células, como macrófagos e fibroblastos, para o local da ferida (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

A nova vascularização, também denominada como angiogênese, é a formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes adjacentes. Estes novos vasos tem sua formação estimulada pelos macrófagos e plaquetas presentes no tecido de granulação, estes macrófagos liberam citocinas e fatores de crescimento como TGF- β , fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), estas citocinas agem nas células endoteliais dos vasos sanguíneos circundantes estimulando a exocitose e degradação da lâmina basal, com isso permitindo a migração das células endoteliais para o tecido de granulação, e posteriormente irão dar início a uma estrutura cilíndrica, formando o lúmen dos vasos sanguíneos, e posteriormente por meio da liberação de fatores de crescimento liberado pelos queratinócitos, macrófagos, fibroblastos, plaquetas e das células endoteliais, irão estimular o crescimento destes vasos (STANLEY; CORNELL, 2017).

Estes vasos sanguíneos formados inicialmente passam por diferenciações formado vênulas e arteríolas, que necessitam de um maior aporte de pressão parcial oxigênio (PaO₂) adequado para promover a resposta endotelial capilar, esta nova rede vascular formada promove, portanto, um maior aumento de nutrientes e oxigênio no tecido de granulação. Neste período o tecido de granulação passa a ter uma coloração vermelho brilhante, ocorre a redução da produção do exsudato, proporcionando um menor risco de infecção e contaminação por agentes patógenos, atuando como uma barreira (MEDEIROS; FILHO, 2016; STANLEY; CORNELL, 2017).

Em todas as feridas, o suprimento sanguíneo dos fibroblastos responsáveis pela síntese de colágeno provém de um intenso crescimento de novos vasos, caracterizando a cicatrização por segunda intenção e o tecido de granulação. Os novos vasos formam-se a partir de brotos endoteliais sólidos, que migram no sentido da periferia para o centro da ferida, sobre a malha de fibrina depositada no leito da ferida. A bradicinina, a prostaglandina e outros mediadores químicos oriundos dos macrófagos, ativados, estimulam a migração e a mitose das células endoteliais. A neoangiogênese é responsável não apenas pela nutrição do tecido, com uma demanda metabólica maior, como também pelo aumento do aporte de células, como macrófagos e fibroblastos, para o local da ferida (TAZIMA; DE ANDRADE VICENTE; MORIYA, 2008).

1.1.6. Contração das bordas da lesão

A partir do momento em que o tecido de granulação é estabelecido, inicia-se o processo de contração das bordas da ferida. A contração das bordas da ferida tem como objetivo aproximar as bordas das feridas, proporcionando uma menor área de lesão. Por meio da ação dos miofibroblastos, que são fibroblastos que se diferenciam devido a resposta do fator TGF β , que irão se organizar de forma linear ao longo das linhas de Langer. Acredita-se que os fibroblastos possuem filamentos de actina e miosina, e, portanto, possuem a capacidade de contração (STANLEY; CORNELL, 2017; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

1.1.7. Epitelização

Após o período de contração da ferida, estima-se que por volta de 4 a 5 semanas os fibroblastos sofrem apoptose, e são substituídos por células dos tecidos da região adjacente da lesão, dando início a epitelização. Este processo é observado macroscopicamente após vários dias do início da lesão. Esse novo epitélio é formado a partir das respostas das citocinas liberadas no tecido de granulação, já mencionada anteriormente, dentre elas EGF, TGF- α e FGF-2, a FGF-2 é liberada pelos queratinócitos, que se localizam na membrana basal das células adjacentes, estes queratinócitos sofrem dissolução das suas conexões celulares, ou seja, dos hemidesmossomos e desmossomos, proporcionando sua locomoção para o local da ferida, onde expressam receptores de integrina, que importante papel na atuação das proteínas com a matriz celular (STANLEY; CORNELL, 2017; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

Os queratinócitos têm o papel de facilitar a migração celular, por meio da quebra da matriz extracelular devido a sua capacidade de secreção metaloproteinase. Uma ferida apresenta uma melhor cicatrização quando o tecido de granulação se forma de maneira mais suave e organizada, não elevando o nível da pele. Quando os queratinócitos entram em contato com outras células epiteliais ocorre a finalização da sua migração. Lesões muito profundas e extensas podem gerar uma destruição da derme, nestes casos, muitas vezes no processo de reparo não é possível o reaparecimento e formação de estruturas anexas do tegumento com folículos pilosos (MEDEIROS; MEDEIROS FILHO, 2016; STANLEY; CORNELL, 2017; MACPHAIL; FOSSUM, 2018).

É consenso atualmente, que a resolução completa de uma ferida, somente pode ser considerada após concluída a maturação e remodelagem da matriz extracelular. Este processo ocorre lentamente levando muitos meses ou às vezes anos e, mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% da resistência da pele normal. Embora a reparação tecidual seja processo fisiológico sistêmico, é necessário favorecer condições locais através de terapia farmacológica tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico (DEALEY, 2008).

As feridas crônicas fazem parte da vida de muitos indivíduos acometidos com algumas comorbidades, dentre elas as mais comuns são diabetes, feridas compressivas, infecções cutâneas, doenças venosas crônicas e arteriais periféricas, traumas físicos, doenças inflamatórias, neoplasias, neuropatias entre outros fatores. Estas feridas trazem comprometimento para os indivíduos, pois comprometem a vida social a autoestima, além do desconforto ocasionado pela ferida. Para o sistema de saúde são um desafio, pois geram grandes custos para Sistema Único de Saúde (SUS) pelos materiais e medicamentos que são utilizados (OLSSON *et al.*, 2019; DE OLIVEIRA *et al.*, 2019).

1.1.7.1. Plantas Medicinais

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (BORBA; MACEDO, 2006).

As plantas medicinais constituem um importante emprego da biodiversidade, no que se refere à produção de fitomedicamentos ou fitoterápicos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) define que os fitomedicamentos são substâncias ativas presentes na planta como um todo, ou em parte dela, na forma de extrato total ou processado. Os constituintes responsáveis pela atividade farmacológica são, em geral, pouco conhecidos e se acredita que a ação farmacológica desses produtos envolva a interação de inúmeras moléculas presentes no extrato (CALIXTO, 2000).

O mercado brasileiro de fitomedicamentos tem atingido nos últimos anos grande faturamento, e conseqüentemente tem atraído atenção e investimento de grandes empresas (GRUNROLD, 1995).

Segundo Ribeiro (2019) a biodiversidade é também uma forma de sócio diversidade. e que são dependentes e indissociáveis. É fato que a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, de 2006, e o Programa Nacional de Plantas Medicinais e

Fitoterápicos, de 2008, implementados pelo Sistema Único de Saúde, representaram um enorme ganho para as práticas de fitoterapia no SUS, devido ao crescimento expressivo no número de programas em todo o país a partir de 2006. A fitoterapia no SUS nas regiões brasileiras promove uma pluralidade de práticas, saberes e estratégias.

Há registro de diversos procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da evolução da medicina a partir da segunda metade do século XX, ainda existem obstáculos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares até a obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a tradição popular e a disponibilidade de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento. Atualmente, grande parte da comercialização de plantas medicinais é feita em farmácias e lojas de produtos naturais, onde preparações vegetais são comercializadas com rotulagem industrializada. Em geral, essas preparações não possuem certificado de qualidade e são produzidas a partir de plantas cultivadas, o que descaracteriza a medicina tradicional que utiliza, quase sempre, plantas da flora (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

O desenvolvimento de novos fármacos de forma sustentável é necessário para contribuir para a saúde humana e causar menor impacto ambiental, respeitando o conhecimento popular, beneficiando todos os seres vivos. Para isso, é necessário o uso correto das estruturas vegetais, respeitando seu ciclo de vida e colhendo as partes necessárias de acordo com a produção natural da planta. Assim, com as estruturas colhidas, o mais indicado é que ocorra o menor processamento possível, possibilitando o menor uso de aditivos químicos (NASCIMENTO; JESUS; ALVIM, 2021).

Na atenção primária a competência cultural do profissional da área de saúde, e o atendimento integral é de extrema importância. O profissional da atenção primária deve reconhecer e valorizar os saberes culturais. Alguns resultados apontam que muitos profissionais da área da saúde têm conhecimento insuficiente nas práticas integrativas de plantas medicinais. No entanto, a utilização de plantas medicinais faz parte da cultura do povo brasileiro. Por isso, se faz necessário políticas de capacitação destes profissionais, para que eles possam orientar de forma segura e correta a identificação e utilização das plantas medicinais, em vista do custo-benefício e das propriedades benéficas aos pacientes (PATRÍCIO *et al.*, 2022).

O Sistema Único de Saúde tem acompanhado este aumento da utilização de produtos naturais, e incentivado a difusão do conhecimento da fitoterapia, no entanto feita

de maneira correta e consciente. Portanto, criou as Farmácias vivas como uma nova opção terapêutica do Sistema Único de Saúde dos municípios (FURTADO; CAMPOS; ALMEIDA, 2022).

A busca da aproximação da área de saúde com a natureza, e o uso de recursos terapêuticos naturais são valores culturais, tradicionais e populares, que vem cada dia sendo mais difundido, e sendo estruturado na formação da legislação em saúde e pelo sistema único de saúde (MESQUITA; TROVARELLI, 2021).

Além disso, é fundamental a realização de novos estudos sobre as plantas medicinais e que permitam sua utilização de forma segura, como método alternativo para o tratamento de feridas, destacando suas evidências clínicas, sua eficácia, bem como os possíveis e indesejáveis efeitos. Não abordando apenas somente suas vantagens para o sistema de saúde (SILVA *et al.*, 2022).

1.1.7.2. Barbatimão

O Barbatimão cujo nome científico é, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (*Fabaceae*) também conhecido com o nome comum de: uabatimó e paricarana, o barbatimão é pertencente à família das leguminosas. A espécie pode atingir alturas de 4 a 5 metros com tronco de 20-30 cm de diâmetro. A madeira é pesada e dura, resistente, sua madeira é própria para construção civil e obras expostas a lugares úmidos e marcenaria (EURIDES *et al.*, 1996).

O uso do barbatimão no decorrer da história do Brasil vem sendo como adstringente, o seu uso no decorrer de 500 anos de história do Brasil demonstra sua resiliência e eficácia, comprovadas por estudos etnobotânicos (RICARDO *et al.*, 2018).

Os indígenas foram os primeiros que conheceram, identificaram e começaram a utilizar as propriedades medicinais do barbatimão. Com conhecimento tradicional sobre a planta, eles a denominavam de “árvore que aperta” (*Iba timó*) dando característica à propriedade adstringente da casca (BRAGA, 2019).

De acordo com Lima *et al.* (2010) a principal forma de utilização do Barbatimão é a de extrato. Os resultados mostraram que o creme de Barbatimão obteve melhora no processo cicatricial (hemorragia, hiperemia, secreção e reepitelização) mais rapidamente em comparação com outros parâmetros analisados, especialmente na redução de secreção e no processo de reepitelização. As fases de hiperemia e hemorragia ficaram ausentes no mesmo período do creme com quitosana.

Dentre as formas de obtenção do extrato, já existem evidências que o extrato aquoso da planta preserva todas as propriedades, além de não possuir aditivos químicos e atividade genotóxica (PASSARETTI *et al.*, 2016).

De acordo com a farmacopeia, indígenas e cidadãos tem utilizado o barbatimão para cicatrização de feridas, hipertensão, diarreia, queimaduras na pele, inchaço e sangramento, estando, portanto, na lista de plantas com aplicações medicinais do Ministério da Saúde do Brasil (SIMAS PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2020).

O extrato da casca do barbatimão possui alto teor em taninos, sendo que destes já foram isolados e identificados que proporcionam ação antimicrobiana, antiviral, cicatrizante, antiúlcera, anti-inflamatória e antileishmania (LEITE, 2014).

A sua fração rica em taninos, também é uma fonte potencial de antioxidantes e quelantes de ferro, o que lhe confere um potencial para ser usado como droga no contexto de distúrbios de sobrecarga de ferro (SALAZAR *et al.*, 2021).

Com toda a tradição popular, o barbatimão ganhou importância quando foi acrescentado à Lista Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) em 2014. Na qual, foi incluído entre os insumos que o farmacêutico pode realizar a prescrição desde que o problema de saúde seja considerado autolimitado, ou seja, com baixo risco de complicação e período de desenvolvimento curto. Sem contar que partir disso, o uso na forma in natura através de chás e pomadas de barbatimão, foi estimulado pelo próprio SUS (FIGUEREDO *et al.*, 2014).

Desta forma, seu uso para o tratamento de lesões de pele, é considerado insumo farmacêutico de importância por conta do grupo de substâncias fenólicas que estão presentes na sua casca, que eles interagem com as proteínas presentes na derme causando adstringência, ou seja, contribuindo com o fechamento do tecido cutâneo (TREVISAN *et al.*, 2020).

Estudos realizados com a solução aquosa de barbatimão, demonstraram que a solução induziu a formação de novos vasos sanguíneos, contribuindo com a angiogênese e otimizando o processo de reparo tecidual (CHAVES *et al.*, 2016).

A utilização de curativos de biomembrana contendo extratos de barbatimão aceleraram o processo de retração de ferida do primeiro ao último dia, principalmente do terceiro ao sétimo dia, em torno de 60% a 80 %, o fechamento da ferida, redução do tecido de granulação, pode ter sido acelerado devido aos compostos anti-inflamatórios (ERGENE ÖZ *et al.*, 2017).

O barbatimão estimula a produção de fibras colágenas e promove a formação de crostas mais espessas sobre a ferida e, na fase de remodelação, favorece a organização das fibras colágenas, na fase inicial da cicatrização (RODRIGUES *et al.*, 2017).

Biomembrana com extrato de *S. Adstringens* tem demonstrado efeitos promissores para tratamento de feridas nas quais não há possibilidade de coaptação das bordas, melhorando a cicatrização, e que os compostos liberados no início da fase cicatricial, estimularam todo o processo durante todo o período, seu efeito é observado também na qualidade da cicatriz formada. As biomembranas tiveram um efeito positivo tanto histologicamente quanto no processo de reparo que merece um estudo mais aprofundado (ALVES *et al.*, 2022).

A sua associação com o látex para curativos de feridas pode ser uma importante cobertura de feridas crônicas de etiologia vascular, infectadas ou não (SILVA, 2019).

Estudos utilizando a associação de tratamento com fotomodulação de baixa intensidade associada ao uso tópico de barbatimão no tratamento de deiscência de ferida cirúrgica, em condições complexas de pacientes com comorbidades, indicam que a combinação do Barbatimão com fotomodulação pode facilitar a cicatrização (CUNHA BREDER *et al.*, 2021).

A associação do *S. Adstringens* com ácido tânico demonstrou efeitos antibacteriano, atuando na via metabólica para a síntese de ácidos graxos em *Staphylococcus aureus*, afetando sua via metabólica, podendo ser uma alternativa natural e sustentável para controle de *S. Aureus* (TREVISAN *et al.*, 2020).

Em um estudo realizado por Pellenz *et al.* (2018) indicou que o barbatimão nas concentrações de 0,49 e 0,99 mg/mL, que estão próximas aos níveis encontrados em preparações comerciais, exerceu um efeito genoprotetor *in vitro* nas células, diminuindo os níveis de oxidação do DNA, e eventos apoptóticos em comparação com células controle, sugerindo que o barbatimão pode exercer efeitos genoprotetores e antiapoptóticos em queratinócitos e fibroblastos humanos.

Além da função adstringente, antioxidante, o extrato aquoso apresenta potencial antitumoral, diminuindo a viabilidade de células cancerígenas de câncer de mama humano, promovendo alterações morfológicas observadas nas células cancerígenas tratadas foram observados arredondamento celular, encolhimento e redução da condensação nuclear do diâmetro e comprimento da célula. Seu mecanismo de ação parece incluir a indução de apoptose, podendo ser um possível agente quimio preventivo para o desenvolvimento de drogas antineoplásicas (SABINO *et al.*, 2018).

Devido à presença de flavonóides, taninos e saponinas, o extrato bruto de *S. Adstringens*, pode ter efeito de inibição para o veneno de animais, como o jararacussu, onde demonstrou inibir as atividades proteolítica, coagulante, hemorrágica, edematogênica e miotóxica do veneno de *B. jararacussu*. O que pode representar uma promissora fonte natural de moléculas para tratar os efeitos tóxicos associados ao envenenamento por picadas de serpentes *B. Jararacussu* (SIMAS PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2020).

Além do extrato aquoso o barbatimão pode ser utilizado de outras formas, o óleo obtido através de arraste a vapor de água também apresenta efeito adstringente em ferimentos, porém pode possuir efeito citotóxico causando danos celular sendo necessário o uso da sua diluição em uma forma farmacêutica de pomada (NASCIMENTO; JESUS; ALVIM, 2021).

A pomada base de barbatimão na concentração de 10 % testada em animais apresentou resultados satisfatórios, reduzindo satisfatoriamente a incisão da ferida, mantendo o local sem conteúdo purulento, formando uma barreira local contra agentes patógenos e microrganismos (PESSOA, 2021).

Um estudo realizado em animal, foi aplicado por 40 dias o extrato aquoso de *Stryphnodendron Adstringens* em ferida de uma égua fêmea adulta de 7 anos de idade, com feridas na face, onde a ferimento apresentou características próprias do tratamento com este fitoterápico que incluem crostas espessas no centro da ferida. O barbatimão beneficiou de forma desejável a cicatrização da pele do animal estudado, que ocorreu completamente em seis semanas de tratamento (BORGES, 2019).

No processo de reparo as fibras colágenas desempenham um importante papel. O barbatimão utilizado associado com biomembrana de colágenase pode agir nas fibras colágenas acelerando a o processo de cicatrização e qualidade do reparo tecidual, sua ação estimulante na formação de colágeno jovem reduz o tempo do reparo tecidual e favorecendo a formação de uma cicatriz menor. A colagenase também contribuiu nesse processo já que esta apresenta uma ação estimuladora para o tecido de granulação, com aceleração do seu crescimento e enchimento do vazio da lesão, bem como sua epitelização, além de ter promovido qualidade no reparo tecidual do processo de cicatrização de uma ferida extensa e contaminada (SANTOS *et al.*, 2022).

No tratamento clínico de úlcera hipertensiva a utilização do barbatimão na fase de cicatrização da lesão auxiliou no desenvolvimento de tecidos de reepitelização. Evidências científicas sugerem que o barbatimão pode ser uma solução efetiva no tratamento de lesões

exsudativas dolorosas de diversas etiologias, frente ao seu efeito proliferativo e anti-inflamatório (SILVA, 2019).

O seu mecanismo de ação é devido a presença de metabólitos secundários, os taninos condensados, que auxiliam na produção de uma barreira protetora sobre o tecido lesado, pois, o metabólito tem a capacidade de se ligar às proteínas e polissacarídeos, promovendo uma espécie de camada protetora (NAUMANN DE; FERRARI LIMA SCARANELLO; CAMPOLIM, 2021).

Os taninos têm a capacidade de atuar no processo cicatricial formando pontes de hidrogênio ou ligações de hidrogênio ou hidrofóbicas duradouras com as proteínas e polissacarídeos. Estas ligações proporcionam a formação de um complexo taninoproteína ou tanino-polissarídeo, que são insolúveis em água, proporcionando uma camada protetora, macroscopicamente, esta camada é denominada crosta, que vai proteger o leito da ferida, proporcionando hemostasia e possibilitando que abaixo da camada a o processo de cicatrização venha ocorrer de forma natural (HASLAM, 1996; LIMA *et al.*, 2010).

O barbatimão também atua estimulando a proliferação de queratinócitos circundantes na região da ferida, facilitando e induzindo uma melhor epitelização, esta propriedade se dá pelos altos níveis de taninos condensados presentes em seu extrato. Os taninos também podem aumentar o número de ligações cruzadas entre as fibras colágenas presentes na matriz extracelular, auxiliando na orientação das fibras, esta organização das fibras resulta em uma cicatrização mais plana e com melhor aparência (HERNANDES *et al.*, 2010).

Os taninos presentes no barbatimão apresentam efeitos antimicrobianos, e este efeito se dá por 3 mecanismos de ação. O primeiro é a inibição das enzimas microbianas extracelulares, comprometendo o desenvolvimento e multiplicação do microrganismo. O segundo mecanismo é a privação de substratos e íons metálicos, como ferro, cobre, cálcio, manganês e alumínio, que são íons necessários para a respiração microbiana. O terceiro mecanismo de ação antimicrobiana é a inibição de fosforilação oxidativa, induzindo a morte do microrganismo por inibir a formação de (ATP) *adesinosina trifosfato* (HASLAN, 1996; LIMA *et al.*, 2010).

O extrato da casca do barbatimão tem ação anti-inflamatória conferida por sua capacidade de inibir a formação de mediadores químicos da inflamação como a histamina, bradicinina, prostaglandina, além de promover a redução da permeabilidade vascular por vasoconstrição (LIMA *et al.*, 2010; HERNANDES *et al.*, 2010).

Apesar das propriedades descritas sobre o barbatimão na literatura, por ser amplamente utilizado na medicina popular, ainda há muito o que ser estudado sobre sua aplicabilidade, interações e reações adversas (ALVES *et al.*, 2021).

1.1.7.3. Papaína

A papaína é uma enzima proteolítica complexa de origem vegetal extraída do látex do mamão (*Carica papaya*), pode ser usada como desbridante, pois, promove a proteólise, ou seja, a remoção de tecido necrótico e de fragmentos celulares na ferida, que retardam o processo de cicatrização. A papaína possui ação anti-inflamatória, atuando na contração e junção de bordas de feridas de cicatrização por segunda intenção, podendo ser usada nas diversas fases de cicatrização, com diferentes concentrações de acordo com o tipo de tecido da ferida. Reduz o pH do leito da ferida, estimulando a produção de citocinas que promovem a reprodução celular e tornam o meio desfavorável ao crescimento de microrganismos patogênicos (LEITE *et al.*, 2012).

Conhecida também como um remédio tradicional para problemas gastrointestinais nos países onde cresce. A papaína é uma cisteína protease, que possui muitas aplicações devido sua especificidade, extraída predominantemente em seu látex e frutos verdes (MUSS; MOSGOELLER; ENDLER, 2013; TACIAS-PASCACIO *et al.*, 2021).

Várias observações do tratamento com preparações de mamão facilitaram as respostas de cicatrização de feridas em diferentes etiologias, como queimaduras profundas, úlceras em diabéticos, deiscência de sutura e úlceras de pressão (LEITE *et al.*, 2012).

A proteólise é um mecanismo importante que acelera a cicatrização, porque a presença de tecido necrótico e de fragmentos celulares na ferida retardam o processo de cicatrização (SANCHEZ NETO *et al.*, 1993).

Além de possuir ação como desbridante, a papaína possui ação anti-inflamatória, atuando na contração e junção de bordos de feridas de cicatrização por segunda intenção, contribuindo para uma cicatrização mais rápida (MONETTA, 1987).

A papaína pode ser usada nas diversas fases de cicatrização, apresentando efeitos benéficos, com diferentes concentrações de acordo com o tipo de tecido da ferida, ela também possui ação bacteriostática, pois, reduz a carga bacteriana na lesão e, conseqüentemente, diminui a produção de exsudato amenizando o processo inflamatório (ROCHA, *et al.*, 2005). Devido a esse mecanismo, a papaína apresenta propriedades anti-inflamatórias, levando à regressão do edema (LIMA *et al.*, 2011).

A enzima digere o tecido necrótico e infectado através de sua ação proteolítica e facilita a migração das células viáveis da borda da ferida para o interior, acelerando a reparação tecidual (tecido de granulação e reepitelização) (CARVALHO *et al.*, 2010). A papaína também promove uma cicatriz mais plana, por meio de estímulos no alinhamento das fibras colágenas e contração dos bordos da ferida (SANCHEZ NETO *et al.*, 1993).

Seu efeito anti-inflamatório descrito se dá devido sua ação de melhora das respostas inflamatórias mediadas pela formação de agregados de monócitos e plaquetas em monócitos (JIANG *et al.*, 2022).

A papaína é uma enzima proteolítica que tem ação digestiva. Um estudo comparando a ação da papaína com outra enzima proteolítica a tripsina em células vivas da massa de glioma, a papaína produziu 5,1 vezes, enquanto a tripsina produziu 1,7 vezes mais digestão de células vivas da massa do glioma (XU *et al.*, 2022).

A indústria farmacêutica tem buscado cada vez mais produtos realizados a base de polímeros naturais, pois tem um melhor desempenho comparado a polímeros sintéticos. Devido a isso, a papaína tem sido proposta como agente de desbridamento químico de origem natural para feridas de tecidos desvitalizados (MOREIRA FILHO *et al.*, 2020). Um dos benefícios da papaína é a vantagem de ter um bom custo (SANTIS *et al.*, 2019).

Tradicionalmente o mamão é utilizado para melhora de inchaço e irregularidades nas fezes. Estudos recentes demonstraram que a papaína é capaz de reduzir o índice de úlcera gástrica, melhorando a proteção contra úlceras induzidas por idometazina em modelo experimental animal, inibição da motilidade intestinal, não ocasionando sinais de toxicidade, nem letalidade (EZIKE *et al.*, 2009).

O uso sistêmico da papaína em ratos proporcionou uma redução nos acúmulos de gordura e peso corporal, redução de gotículas lipídicas no fígado, resultando em efeito benéfico frente a esteatose hepática, não havendo efeitos tóxicos significativos, e reduzindo a diferenciação de adipócitos (KANG *et al.*, 2021).

Na superfície da pele podem existir bactérias, as mais comuns são *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, quando ocorre um ferimento, ou seja, perde-se a pele, a barreira de proteção, estas bactérias podem colonizar o ferimento formar biofilmes, sendo, portanto, agentes patógenos. Estudos realizados com a papaína solúvel indicaram que ela pode ser um importante agente antibacteriano, pois, ela foi capaz de inibir e destruir o biofilme formado por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Assim, a papaína pode ser um agente benéfico para o tratamento de feridas externas para destruição

de biofilmes, aumentando a eficácia do tratamento antimicrobiano (BAIDAMSHINA *et al.*, 2021).

Além de sua aplicação no tratamento de feridas, a papaína é amplamente utilizada na odontologia, como agente de remoção automática de cárie, devido a sua ação proteolítica permite uma fácil remoção do tecido cariado (MANCINI *et al.*, 2021).

A prescrição e o uso correto da papaína, pode ser uma alternativa segura, eficaz e de baixo custo para o tratamento de feridas crônicas (LIMA *et al.*, 2022).

A papaína é uma enzima isolada e comercializada, sua composição é uma mistura de enzimas proteolíticas e peroxidases, responsáveis por degradar as proteínas de microrganismos e de tecidos necrosados, não afetando o tecido saudável e bem irrigado, devido a ação da antiprotease plasmática, inibidor de enzimas que digerem proteínas (α 1-antitripsina), que é capaz de inativar a ação enzimática. O desbridamento de uma ferida é necessário muitas vezes, com o objetivo de acelerar o processo de cicatrização e função antimicrobiana. A utilização do desbridamento com a papaína proporciona um maior conforto ao paciente, pois, pode evitar a realização de um procedimento cirúrgico para realização do desbridamento da ferida (CARDOSO DE BRITO JÚNIOR *et al.*, 2015).

No entanto é sempre importante atentar para o fato de que o uso da papaína em alguns indivíduos pode não apresentar efeitos benéficos. No caso de pessoas portadoras de deficiência de alfa1 antitripsina, podem ter sensibilidade de forma negativa ao contato com a papaína, uma vez que sua ação desbridante deixa de estar contida apenas no tecido necrosado e proteínas dos alimentos em digestão, para ter ação proteolítica também no tecido sadio aumentando a extensão da lesão, ou causando novas (FELISBINO *et al.*, 2018).

Pacientes portadores de diabetes podem ser acometidos com feridas crônicas, o uso de pomadas à base de fitoterápicos vem sendo utilizado como um mecanismo alternativo para o tratamento. Pomada a base de papaína tem demonstrado um desfecho satisfatório no processo de cicatrização, não demonstrando nenhuma reação alérgica, irritabilidade, reforçando a importância do estudo e desenvolvimento do emprego de produtos naturais no tratamento de feridas (REGO TEIXEIRA, 2022).

Em estudos de modelo experimental, por meio de análises macroscópica e microscópica, a papaína conseguiu manter a ferida com uma boa aparência, com um processo cicatricial avançado (ARAÚJO; BARRIENTOS; BARRIENTOS, 2019).

Além da ação antibacteriana, a papaína pode ter efeito antileishmania. Estudos corroboram que nanopartículas carregadas de papaína são capazes de inibir promastigotas

de leishmaniasis amazônica, por meio da interação com sua membrana. Em experimento de avaliação da atividade contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, a utilização do sistema nanopartículas carregadas de papaína aumentou a atividade antileishmaniasis em 20% (PESSOA, 2021).

Ainda há na literatura poucos estudos, portanto uma insegurança sobre seu uso e desconhecimento sobre a terapia realizada com a papaína como agente curativo de feridas, sendo necessário mais estudos e conhecimento mais aprofundados no que diz respeito às suas características e concentrações (SILVA *et al.*, 2020).

1.1.7.4. Dexametasona

Os anti-inflamatórios esteróides são denominados “corticóides” ou “corticosteróides”, sendo a dexametasona, betametasona, hidrocortisona e prednisolona, os principais representantes do grupo empregados normalmente no período pré e pós-operatório. Estes medicamentos são amplamente utilizados em virtude da sua efetiva capacidade anti-inflamatória e imunodepressora. A utilidade deste grupo de hormônios esteróides se deve ao fato de serem potentes agentes anti-inflamatórios conhecidos e há casos em que os efeitos verdadeiramente “milagrosos” dos corticóides foram observados. Além disso, os corticóides são utilizados em circunstâncias variadas, como diferentes doses, vias de administração, tempo de uso, o que torna possíveis vários efeitos colaterais (DAMIANI, *et al.*, 2001).

A dexametasona é um potente anti-inflamatório, é um corticosteroide adrenal sintético, que possui a capacidade de atuar nas vias apoptóticas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2023).

Apesar da sua frequente utilização, ressalta-se que os corticóides são contra indicados nos casos de doenças fúngicas sistêmicas, herpes simples ocular, histórico de doenças psicóticas, utilização intrarticular, de tuberculose ativa ou histórico dessa doença e em situações de hipersensibilidade à droga. Em alguns casos, a contra indicação é relativa, como em gestantes, diabéticos, cardiopatas, hipertensos, pacientes imunodeprimidos, portadores de úlcera péptica, entre outros, sendo o uso em tais pacientes realizado com precaução e após ser avaliada a relação risco/benefício do emprego desses medicamentos (SANTOS *et al.*, 2011).

A dexametasona apresenta uma significativa redução da reação inflamatória, efeito já classicamente descrito na literatura. Por isso, os corticóides são também conhecidos como anti-inflamatórios hormonais (NGUYEN, *et al.*, 1998).

Estudos realizados em animais mostraram o efeito dos corticóides sobre a função inflamatória em feridas cirúrgicas de ratos, com redução de pelo menos 50% da circulação de células inflamatórias no sítio pós-operatório no primeiro dia, seguido de queda da redução no terceiro e quinto dia, demonstrando diminuição das células inflamatórias em todos os momentos da avaliação e significativamente no terceiro e sétimo dia, caracterizando a ação da dexametasona na fase inflamatória da cicatrização (TENIUS, *et al.* 2007).

Acredita-se que os glicocorticóides prejudiquem a cicatrização, provavelmente causando decréscimo da proliferação celular, da neovascularização e da produção de matriz. Desta forma, admite-se que os corticosteróides suprimem a fase inflamatória da cicatrização (LEIBOVICH; ROSS, 1975).

Os corticóides são bastante utilizados na prática médica, pois possuem excelente efeito anti-inflamatório. No entanto, alguns efeitos adversos na cicatrização de feridas vêm sendo descritos, tais como, retardo na formação do tecido de granulação, redução da formação de tecido colágeno e aparecimento tardio de fibrose (EHRlich; HUNT, 1968). E apesar de haver poucos trabalhos descrevendo e focando este assunto, a maioria afirma que ocorre má cicatrização (MARTINS JUNIOR, *et al.*, 1992).

Alguns medicamentos retardam o processo de cicatrização, como os corticosteróides, que podem inibir as manifestações mais precoces do processo inflamatório e, ainda mais tardiamente, o reparo e a proliferação tecidual, além de apresentar atividade imunossupressora (YU, *et al.*, 2019).

A dexametasona (Decadron®) é um medicamento utilizado diariamente. Linenber (1965) e Dionne *et al.*, (2003) realizaram vários testes sobre a eficácia da dexametasona em pacientes submetidos a cirurgias bucais, relatando a diminuição de edema e trismo, após mensuração de prostaglandina ou tromboxana no sítio cirúrgico por meio de sonda de microdiálise, concluíram que os corticóides (dexametasona), na dose de 4 mg, não suprimem em quantidade suficiente para atenuar a sensibilização de nociceptores periféricos antes da injúria tecidual.

Foi demonstrado que os corticóides causam diminuição na transcrição do RNAm para o colágeno tipo I. Foi relatada importante diminuição da concentração de hidroxiprolina com o uso da hidrocortisona em ratos. É possível que o uso crônico de corticóides possa

influenciar a reepitelização, a neovascularização e a síntese do colágeno (GUPTA *et al.*, 1999).

A dexametasona é um fármaco usado rotineiramente para o tratamento de processos inflamatórios, auxiliando a manter a inflamação em níveis controlados. No entanto, o uso prolongado de dexametasona sobre o processo de cicatrização pode levar à diminuição da resistência da cicatriz, baixa densidade do colágeno total em todos os tempos estudados, sendo no início do processo pela baixa densidade do colágeno tipo III e mais tarde pela baixa densidade do colágeno tipo I, e à redução do número de células inflamatórias nos tempos iniciais (TENIUS; IOSHII; BIONDO-SIMÕES, 2007).

Um estudo realizado com o intuito de esclarecer sobre a correlação dos glicocorticóides no processo de cicatrização e comprometimento da gênese celular, neovascularização e a síntese de matriz celular, demonstrou que os glicocorticoides provocam um certo grau de comprometimento da regeneração tecidual (TENIUS *et al.*, 2007).

Durante o processo de reparo a organização espacial do colágeno auxilia na resistência da ferida, na área lesionada a recuperação da resistência é apenas 80% em relação a área original. Um estudo realizado com ratos demonstrou que ratos que receberam administração de dexametasona durante o processo de recuperação de feridas apresentaram uma menor resistência da ferida no 10^o dia de recuperação. Outro estudo também avaliou a administração de dexametasona para o tratamento de feridas realizadas no dorso de ratos, no entanto avaliaram a ferida após 14 dias, e observaram que o tecido de reparo apresentava uma diminuição na capacidade de tracionamento (TENIUS *et al.*, 2007).

De acordo com Anvisa (2021) dentre as reações adversas da dexametasona estão: retardo na cicatrização de feridas, adelgaçamento e fragilidade da pele, acne, petéquias e equimoses, eritema, hipersudorese, possível supressão das reações aos testes cutâneos, reações cutâneas outras, tais como: dermatite alérgica, urticária e edema angioneurótico.

1.2. JUSTIFICATIVA

A utilização de plantas medicinais é uma prática milenar que ainda é base para o desenvolvimento de fármacos. Nos últimos anos houve um aumento do consumo de fármacos fitoterápicos, com isso, a medicina tem buscado entender e estudar uso de plantas medicinais e fitoterápicos com intuito de uma utilização segura e de novos

medicamentos obtido por meio de recursos naturais. Muitas plantas já foram descritas e catalogadas, dentre elas podemos destacar a Papaína (*Carica papaya*), proveniente do látex mamoeiro, que já vem sendo utilizada no tratamento de feridas de animais auxiliando na limpeza debridamento e cicatrização. Podemos destacar também o Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), uma árvore muito comum no cerrado brasileiro, onde através do extrato obtido principalmente de sua casca, vem sendo utilizado para o tratamento diversas patologias, dentre elas patologias ginecológicas, oftalmológicas, para o tratamento de feridas entre outras afecções.

Existem inúmeros fármacos utilizados para o tratamento de feridas e cicatrização. Dentre eles, podemos destacar a dexametasona, um importante fármaco pertencente à classe dos corticóides, amplamente empregado para o tratamento de feridas, pois atua de forma efetiva na fase inflamatória. Porém, estudos demonstram que apesar de sua eficiência na fase inicial do processo de reparo tecidual, a dexametasona pode retardar ou atrapalhar no processo de cicatrização. Diante disso, é muito importante que sejam realizados novos estudos, buscando melhor entendimento e segurança do uso de plantas medicinais, bem como para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de atuar em todas as fases do processo de reparo tecidual de forma mais efetiva, segura e de baixo custo, fabricados a partir de recursos naturais já utilizados em muitas regiões do país.

1.3. PERGUNTA NORTEADORA

O extrato aquoso de Barbatimão a Papaína e a dexametasona possuem efeito cicatrizante?

1.4. HIPÓTESE

H0: o extrato aquoso de Barbatimão, a Papaína e a dexametasona não apresentam efeito cicatrizante;

H1: o extrato de Barbatimão, a Papaína e a dexametasona apresentam efeito cicatrizante.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Analisar *in vitro* o potencial cicatrizante do extrato aquoso de Barbatimão, da papaína e dexametasona.

2.2. ESPECÍFICOS

- avaliar *in vitro* a citotoxicidade e a viabilidade celular do extrato aquoso de Barbatimão, da papaína e dexametasona;
- avaliar *in vitro* a migração celular da linhagem celular MRC-5 ao receber tratamento com extrato aquoso de Barbatimão, da papaína e dexametasona;
- avaliar *in vitro* alterações morfológicas da linhagem celular MRC-5 ao receber tratamento com extrato aquoso de Barbatimão, da papaína e dexametasona.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE BARBATIMÃO

As cascas de barbatimão utilizadas para os testes foram coletadas na Fazenda Vale do Chapadão, BR 070, Serra do Mangaval, Município de Cáceres - MT. Coordenadas: 16°14'44"S 57°29'46"W, elevação de 450 m. A coleta do material foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), com o número de cadastro A9DBDFE. Após a coleta, as cascas foram secas em meio ambiente e posteriormente enviadas cuidadosamente para Universidade Internacional da Integração Latino Americana.

Figura 1. Barbatimão na Fazenda Vale do Chapadão, Serra do Mangaval, Município de Cáceres - MT



Fonte: SILVA, O. B / UNIAMAT, 2022.

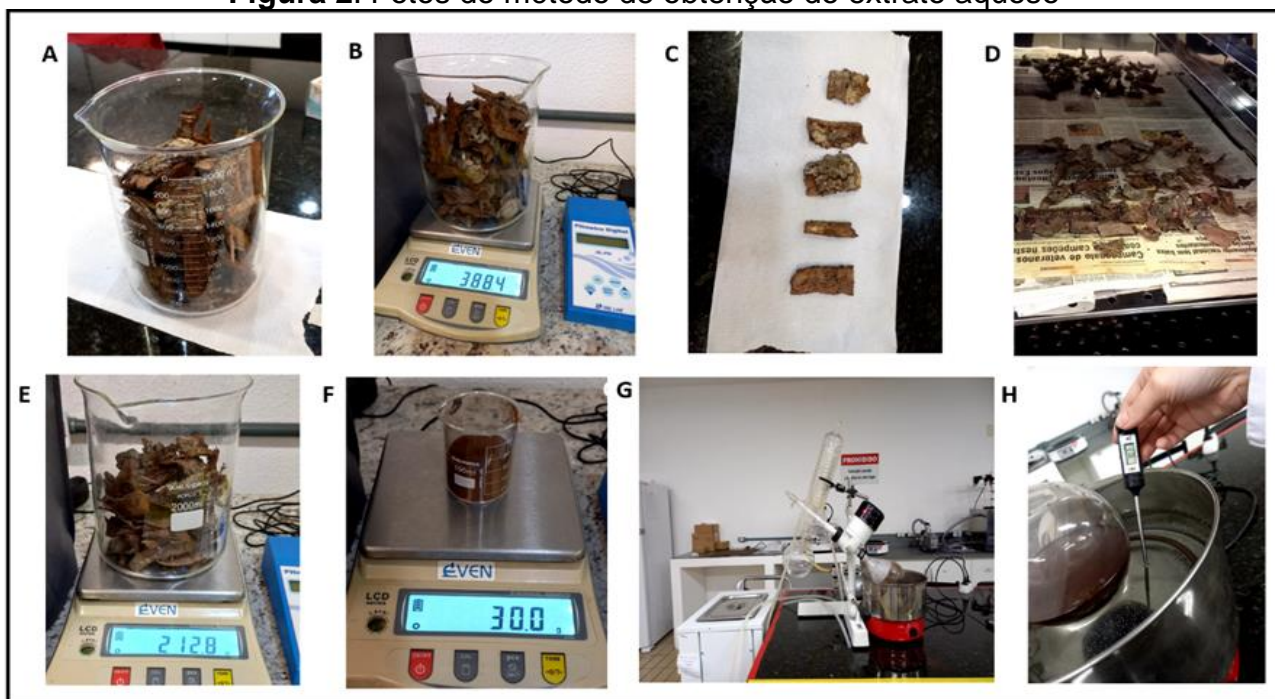
Nota: Fotos retiradas na fazenda Vale do Chapadão, Serra do Mangaval, Município de Cáceres -MT, no momento da extração das cascas do barbatimão; (A) tronco da árvore do barbatimão no momento da retirada das cascas; (B) cascas de barbatimão coletadas.

Para a realização da extração do extrato aquoso, as cascas do barbatimão foram desidratadas em estufa por 24 horas em uma temperatura de 70°C. Após a desidratação as cascas foram trituradas e processadas formando um pó, deste pó foi utilizado 30g homogeneizados em 900ml de água destilada em um béquer, e levado para a decocção por um período de 4 horas aproximadamente por uma temperatura de 70 °C (LIMA, 2010).

Após a decocção, o líquido obtido foi coado com papel filtro e centrifugado para sedimentação de detritos, e logo depois foi filtrado com auxílio de uma seringa e filtro para seringa membrana, estéril individual.

O líquido resultado deste processo então foi a primeira concentração, e a partir dela foram realizadas 8 diluições seriadas. Sendo utilizada, portanto, as seguintes concentrações: 50%; 25%; 12,5%; 6,75%; 3,37%; 1,68%; 0,84%; 0,42%.

Figura 2. Fotos do método de obtenção do extrato aquoso



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2022.

Nota: Imagens retiradas durante o procedimento de extração do extrato aquoso de barbatimão. A e B. pesagem das cascas. C e D. Preparação das cascas para desidratação. E. Pesagem das cascas após a desidratação. F. pesagem do pó das cascas após trituradas. G. Processo de decocção. H. Aferição da temperatura durante o processo de decocção.

3.2. OBTENÇÃO DA PAPAÍNA

A enzima papaína derivada da *Carica papaya* foi adquirida na forma de pó, na concentração de 29,6 mg (Sigma-Aldrich, EUA), diluída em tubos do tipo Falcon estéreis contendo 50 ml de água destilada deionizada. (ROCHA; GURJÃO; WAGNER SARMENTO; BRITO JUNIOR, 2005).

3.3. OBTENÇÃO DA DEXAMETASONA

A Dexametasona foi adquirida na forma de pó, na concentração de 25 mg (Sigma-Aldrich, EUA), e diluída em 10 mL de etanol (HONÓRIO, 2022).

3.4. CULTURAS CELULARES

No presente estudo foi utilizada uma linhagem de célula de fibroblasto humano (MRC-5, -ATCC CCL-171). As células foram cultivadas em meio de cultura DMEN (Meio de Eagle modificado por Dubelco), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; Gibco, Brasil) e 1% de penicilina/estreptomicina (100 U/mL de penicilina e 100 µg de estreptomicina) (Sigma-Aldrich, EUA). Posteriormente o frasco foi armazenado na estufa sob condições de cultura padrão (37 °C, 5% CO₂ e 95% ar umidificado), (Thermo Fischer, EUA). O crescimento da cultura foi monitorado a cada 2 ou 3 dias.

3.5. ENSAIOS DE PROLIFERAÇÃO CELULAR

Neste ensaio foi avaliado a citotoxicidade e a diminuição da viabilidade celular do Barbatimão, papaína e dexametasona em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5). Para determinar a viabilidade celular foi realizada a contagem celular, para determinar sua densidade por mililitro de meio. As garrafas com as células (MRC-5), foram levadas para fluxo laminar e o meio foi descartado, as garrafas foram lavadas duas vezes com 3 ml de PBS por 3 minutos e, posteriormente, o PBS foi descartado. Após a lavagem foi adicionado 4 mL de tripsina e as garrafas foram lavadas por 5 min na estufa até o desprendimento das células do frasco, em seguida, 5 mL de meio foram colocados para suspender as células novamente.

Após a suspensão das células, elas foram transferidas para um tubo falcon de 15 mL, e centrifugadas por 10 minutos a 1.200 rpm, então o líquido foi descartado e o precipitado foi ressuspenso em 1 mL de meio. Imediatamente com uma pipeta, 10 µL foi transferido para um microtubo e misturado com 10 µL de azul de tripano.

Esta análise foi realizada com o corante azul de tripano usando a câmara de Neubauer, a fim de diferenciar de células viáveis, que não são permeáveis ao corante, a partir de células inviáveis, que sofrem ação do corante, tornando-se azuis. A estimativa do número total de células foi feita usando a seguinte equação:

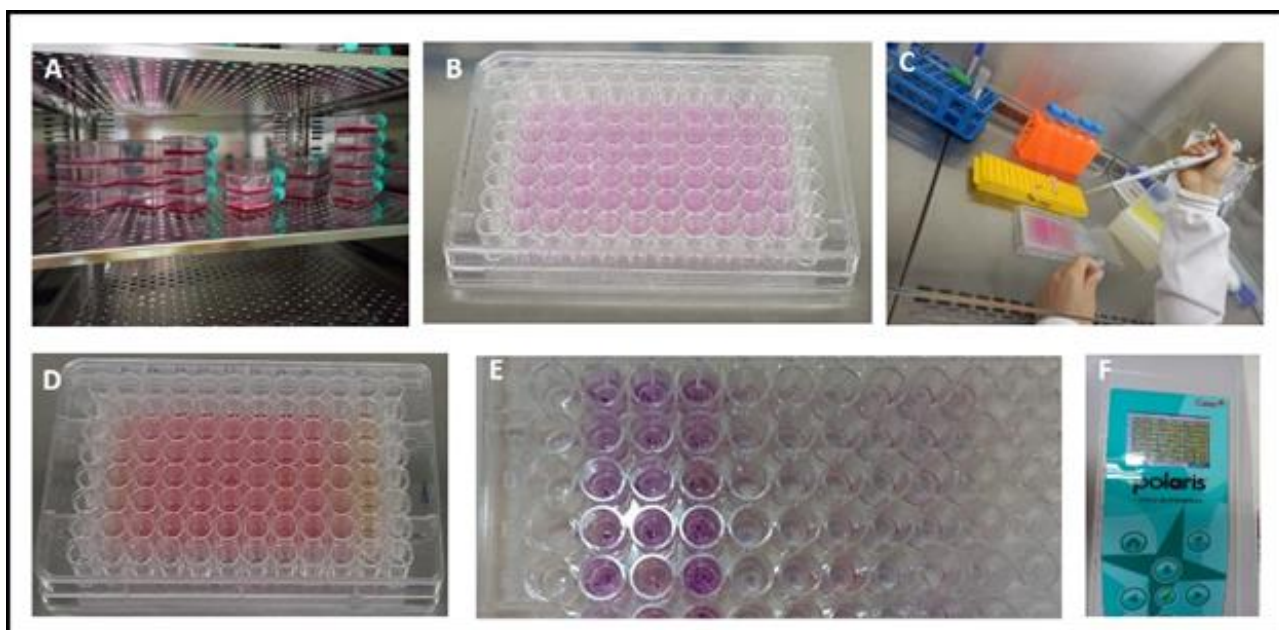
$$\text{N. total de células/mL} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ de células contadas} \times \text{fator de diluição} \times 10^4}{\text{n}^{\circ} \text{ de quadrantes contados}}$$

Após a realização do ensaio de viabilidade celular, as células foram semeadas em placas de 96 poços com uma concentração de 1×10^4 células/poço e 50 μL de meio DMEM suplementado com 0,5% de FBS. A placa foi incubada a 37 °C por 24 h para que ocorresse adesão celular. Posteriormente, as células foram tratadas com concentrações de extrato aquoso de barbatimão nas seguintes concentrações: 50%; 25%; 12,5%; 6,75%; 3,37%; 1,68%; 0,84%; 0,42%. Papaína nas seguintes concentrações: 500 $\mu\text{g/ml}$; 250 $\mu\text{g/ml}$; 125 $\mu\text{g/ml}$; 62,5 $\mu\text{g/ml}$; 31,25 $\mu\text{g/ml}$; 15,6 $\mu\text{g/ml}$; 7,81 $\mu\text{g/ml}$ e 3,9 $\mu\text{g/ml}$. E Dexametasona na concentração de 0,512 nM; 0,256 nM; 0,128 nM; 0,64 nM; 0,32 nM; 0,16 nM; 0,008 nM; 0,004 nM. Cada tratamento foi realizado em hexaplicata.

Após 24 horas das células serem plaqueadas, foi acrescentado 10 μL de MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio) em cada poço e a placa foi levada para estufa e incubada a 37°C por 4 horas. Ao final da incubação o meio foi removido com MTT e 100 μL de DMSO (Dimetilsulfoxido) foram adicionados em cada poço para solubilizar os cristais de formazan, e em seguida a placa foi incubada por 15 min na temperatura ambiente. O valor de absorvância por poço foi determinado através do espectrofotômetro em 570 nm e 630 nm em espectrofotômetro com Leitora de Microplacas e Tiras Polaris® (Celer Biotecnologia S/A).

Os grupos controle, ou seja, os poços sem tratamento foram colocados 50 μL de meio sendo o controle positivo, e o controle negativo recebeu 20% de DMSO para obter a morte celular. Os dados de absorvância obtidos foram transformados em porcentagem utilizando como referência o controle positivo que foram considerados viáveis, para fazer a curva de viabilidade celular em função da concentração. Os resultados de viabilidade celular obtidos nos ensaios MTT foram usados para calcular o IC_{50} das células tratadas, que expressaram citotoxicidade pela concentração da amostra que induziu inibição celular em 50% das células. O IC_{50} foi calculado a partir de uma curva de regressão não linear onde o eixo X consistia em concentrações de tratamento em uma escala logarítmica e no eixo Y porcentagens de viabilidade celular.

Figura 3. Fotos realizadas durante o ensaio MTT



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Imagens retiradas durante o ensaio de proliferação. A. Garrafas de cultivo celular na estufa. B. Placa 96 poços após ser plaqueada com células da linhagem (MRC-5). B. Plaqueamento dos compostos na placa de 96 poços. D. Placa 96 poços 24 horas após aplicação dos compostos. E. Placa 96 poços após a aplicação de MTT e remoção do meio, sendo possível observar precipitação de cristais. F. Processo de leitura da placa de 96 poços pela leitora de Microplacas e Tiras Polaris® (Celer Biotecnologia S/A).

3.6. AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO CELULAR

Foi utilizado ensaio de cicatrização de feridas in vitro para avaliar o efeito do extrato do barbatimão, papaína e dexametasona, na migração das células de fibroblasto humano MRC-5.

Neste ensaio foram utilizadas células MRC-5 ($2,5 \times 10^4$ células) as células foram cultivadas até confluência em uma placa de 24 poços, com meio DMEM contendo 1% SFB por 24h a 37°C em incubadora de 5% de CO₂. Ao chegar à confluência, a camada de células foi raspada com uma ponta de plástico estéril de 10 µL em linha reta e apenas uma vez realizando uma cicatriz (1 cm de comprimento) para remoção de células em linha no meio da placa, posteriormente o meio de cultura foi removido e lavado duas vezes com PBS para remover detritos celulares. Imediatamente depois foram aplicados 500 µL do tratamento correspondente usando duas concentrações selecionadas de extrato aquoso de barbatimão nas seguintes concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%. Papaína nas seguintes concentrações: 125 µg /ml; 31,25 µg /ml; 7,81 µg /ml. E Dexametasona na concentração de 0,004 nM. Imediatamente foram tiradas fotografias em ampliação de 5X

da ferida em microscópio invertido (Carl Zeiss, Thornwood, NY, EUA) no tempo 0 h e 24 h depois, foram tiradas fotos da ferida (LIANG *et al.*, 2007).

Para registrar a migração celular foi utilizado o sistema microscópico invertido Nikon (Nikon Instrument, Japão). A área da ferida foi calculada usando o software de imagem J. Fiji, e posteriormente por meio da seguinte equação:

$$\text{Diminuição da área da ferida \%} = \frac{\text{Medida do tempo 0h} - \text{Medida do tempo de 24h}}{\text{Medida do tempo 0h}} \times 100$$

3.7. ANÁLISE DE MORFOMETRIA E IMUNOFLUORESCÊNCIA

Este experimento teve como objetivo determinar possíveis alterações na morfologia da linhagem celular (MRC-5) causadas pelo Barbatimão, papaína e dexametasona.

As células (MRC-5) foram plaqueadas a uma concentração de 2×10^5 células por poço em uma placa de 12. poços (placa de cultura de células de 12 poços, Biofil®) contendo lâmina que foi cultivada por um tempo de 24 horas a 37 °C. Em seguida, o meio de cultura foi removido e as células foram expostas aos seguintes tratamentos: extrato aquoso de barbatimão nas seguintes concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%. Papaína nas seguintes concentrações: 125 µg /ml; 31,25 µg /ml; 7,81 µg /ml. E Dexametasona na concentração de 0,004 nM. Após 24 horas, o meio foi removido novamente e as células foram fixadas com 1,5 mL de solução de fixação formaldeído a 4%, por um período de 40 min, em seguida foi retirada a solução fixadora e imediatamente foi aplicado Triton X-100 foi adicionado em PBS, esta etapa foi repetida três vezes a cada 5 minutos com o objetivo de lavado.

As etapas a seguir foram realizadas sob a proteção da luz forte. Posteriormente, as células foram marcadas com 1 mL por poço da solução marcado DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), onde foi deixado na geladeira em temperatura de 4°C a noite toda. No dia seguinte, o DAPI foi removido e lavado com uma solução de lavagem (PBT) três vezes por poço a cada 5 min, a solução foi removida e adicionado PBS para enxaguar os poços. Foi realizada a montagem das lâminas, e finalmente observou-se na microscopia de fluorescência. As imagens foram processadas através do *software* ImagenJ.JS.

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A verificação de diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros das células (MRC-5) foi realizada pela análise da variância amostral, *ANOVA* uma via e *ANOVA* duas vias, com comparação múltipla de Bonferroni, utilizando o *software* GraphPad Prism 5®. Os resultados foram expressos como média acompanhada do desvio padrão (\pm DP) dos três experimentos realizados em hexaplicata, considerando um valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADO DO ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR

Neste ensaio foi avaliado a citotoxicidade e a diminuição da viabilidade celular do Barbatimão, papaína e dexametasona em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5).

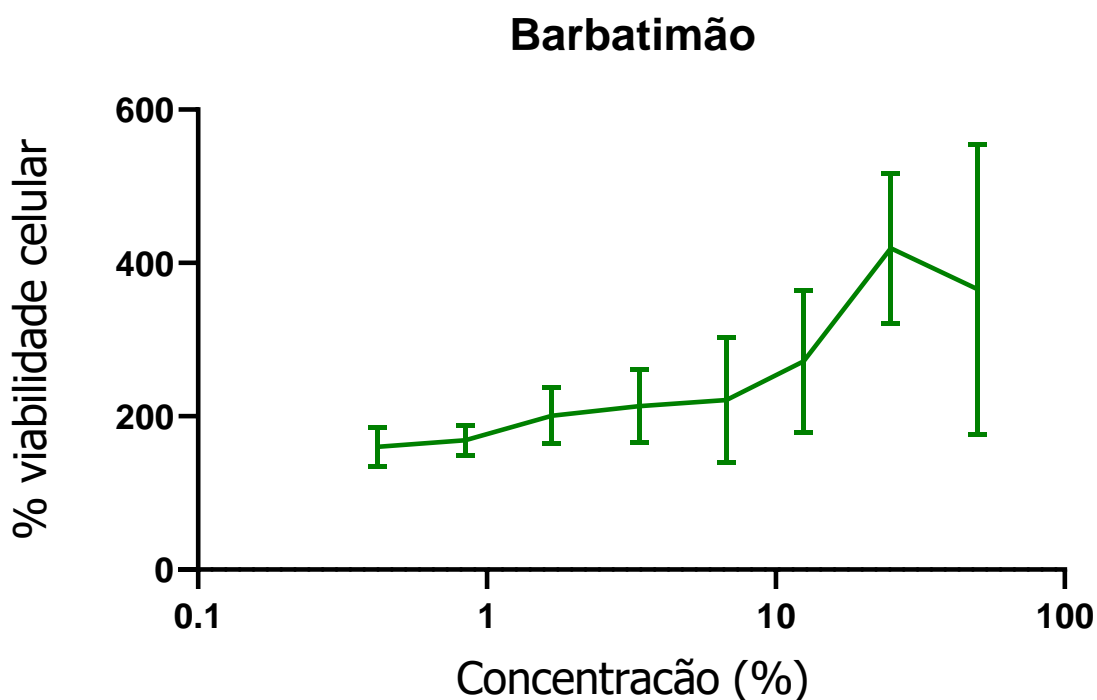
Foi obtida uma curva de viabilidade, por meio da qual pode-se afirmar que o barbatimão não apresentou capacidade citotóxica e não foi possível estabelecer um valor de IC₅₀ entre as concentrações administradas. Com base nos resultados de viabilidade celular, foram escolhidas quatro concentrações: 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%, para o teste de cicatrização e análise de morfometria e Imunofluorescência. A razão para escolher essas quatro concentrações para o ensaio de cicatrização de feridas foi que essas concentrações, apresentam uma boa viabilidade celular.

Tabela 1. Valores de viabilidade celular do extrato aquoso de barbatimão em linhagem de células MRC-5

Concentrações %	Média	Desvio Padrão
50%	42,514	383,449
25%	51,977	408,686
12%	271,893	93,293
6,75%	211,864	77,159
3,37%	213,136	48,055
1,68%	183,898	38,674
0,84%	164,972	16,910
0,42%	159,322	23,155
Sem tratamento	100,000	41,941

Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Gráfico 1. Análise de viabilidade celular do extrato aquoso de barbatimão pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5)



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: A imagem mostra o efeito citotóxico do barbatimão em células da linhagem MRC-5, avaliado por ensaio MTT. Cada ponto representa a média \pm do desvio padrão dos grupos experimentais com as concentrações realizadas em hexaplicata, usando o ensaio colorimétrico MTT.

Tabela 2. Valores de viabilidade celular da papaína em linhagem de células MRC-5

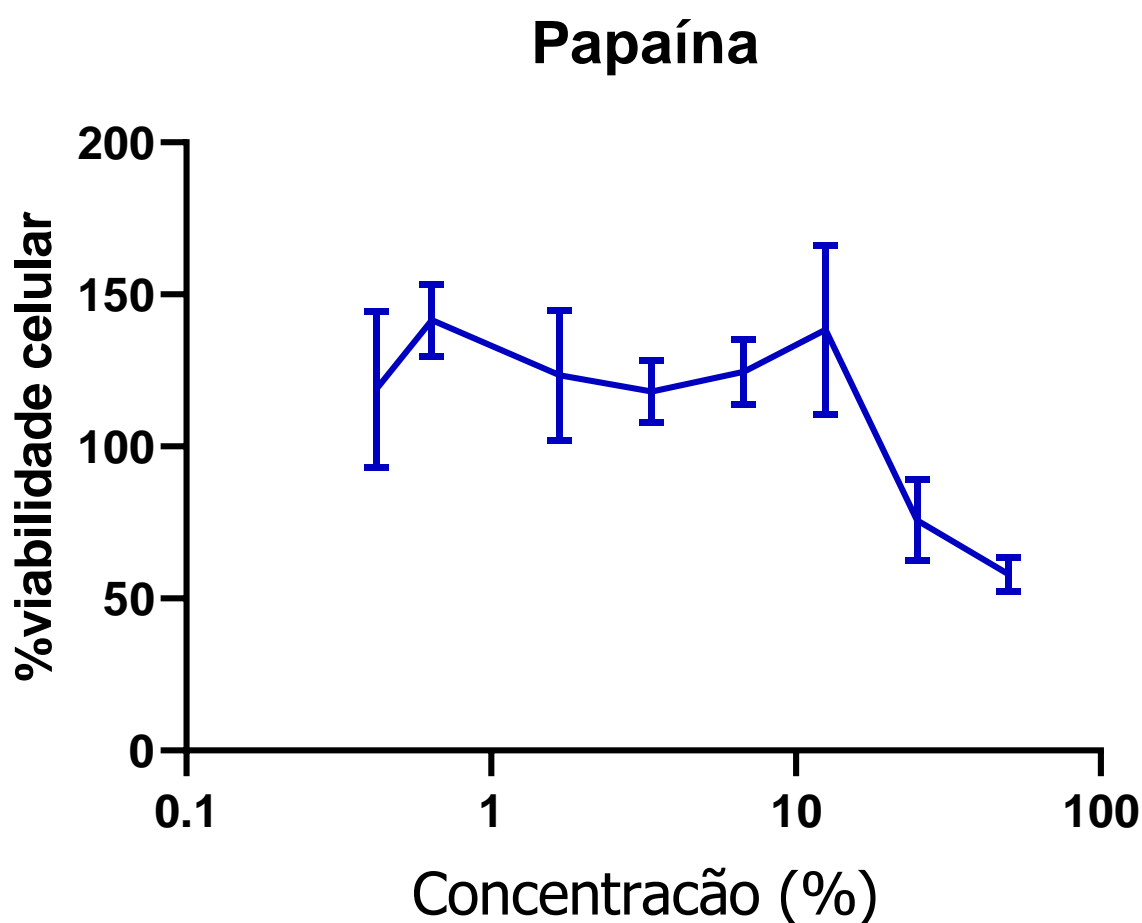
Concentrações μg /ml	Média	Desvio Padrão
500 μg /ml	54,312	10,086
250 μg /ml	68,381	21,507
125 μg /ml	130,711	31,341
62,5 μg /ml	124,508	10,786
31,25 μg /ml	118,154	10,318
15,65 μg /ml	123,449	21,291
7,81 μg /ml	141,604	11,869
3,90 μg /ml	110,590	30,441
Sem tratamento	100,000	17,750

Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Obtida uma curva de viabilidade, pode-se afirmar que a papaína não apresentou capacidade citotóxica e não foi possível estabelecer um valor de IC_{50} entre as concentrações administradas. Com base nos resultados de viabilidade celular, foram

escolhidas três concentrações: 125 $\mu\text{g/ml}$; 31,25 $\mu\text{g/ml}$; 7,81 $\mu\text{g/ml}$, para o teste de cicatrização e análise de morfometria e Imunofluorescência. A razão para escolher essas quatro concentrações para o ensaio de cicatrização de feridas foi que essas concentrações, têm uma viabilidade celular média.

Gráfico 2. Análise de viabilidade celular da papaína pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5)



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: A imagem mostra o efeito citotóxico da papaína em células da linhagem MRC-5, avaliado por ensaio MTT. Cada ponto representa a média \pm o desvio padrão dos grupos experimentais com as concentrações realizadas em hexaplicata, usando o ensaio colorimétrico MTT.

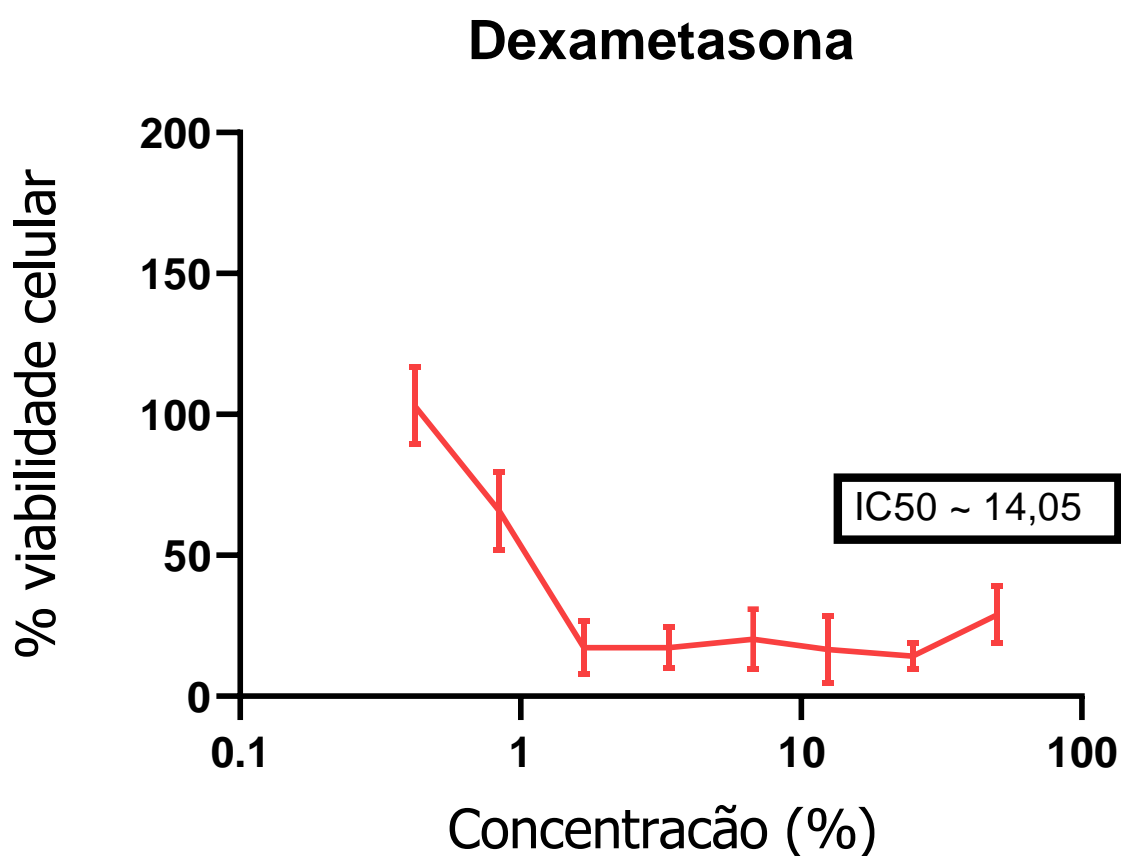
Tabela 3. Valores de viabilidade celular da dexametasona em linhagem de células MRC-5

Concentrações nM	Média	Desvio Padrão
0,625 nM	28,988	10,176
0,312 nM	13,813	13,988
0,156 nM	9,728	10,667
0,078 nM	9,728	9,980
0,039 nM	9,339	10,214

0,019 nM	14,397	11,019
0,009 nM	73,346	18,633
0,004 nM	103,113	13,628
Sem tratamento	100,000	20,743

Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Gráfico 3. Análise de viabilidade celular da dexametasona pelo teste MTT em linhagem celular de fibroblastos (MRC-5)



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: A imagem mostra o efeito citotóxico da dexametasona em células da linhagem MRC-5, avaliado por ensaio MTT. Cada ponto representa a média \pm o desvio padrão dos grupos experimentais com as concentrações realizadas em hexaplicata, usando o ensaio colorimétrico MTT

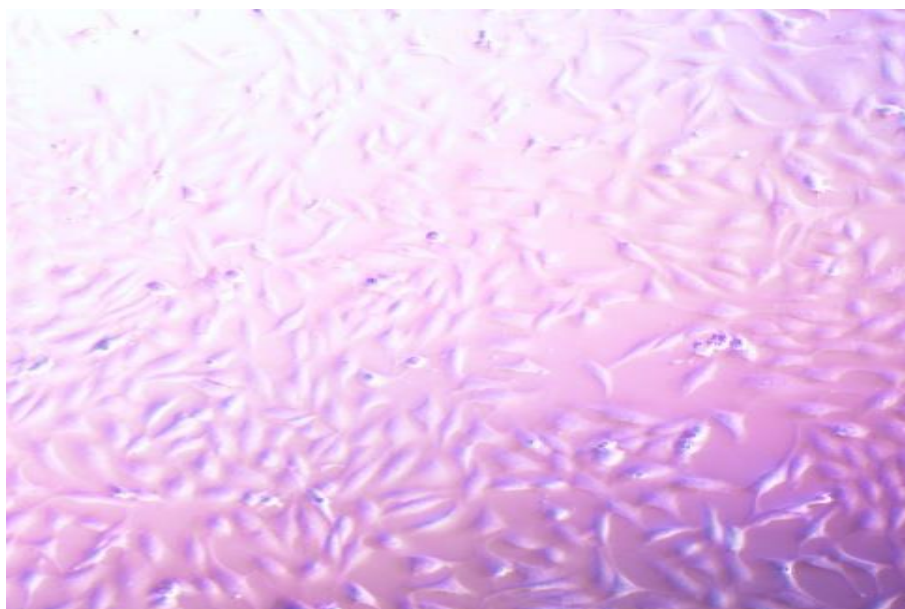
Obtida uma curva de viabilidade, pode-se afirmar que a dexametasona apresentou capacidade citotóxica, foi possível estabelecer um valor de IC_{50} entre as concentrações administradas, sendo encontrado um valor de IC_{50} 14,05 nM. Com base nos resultados de viabilidade celular, foi escolhida apenas uma concentração: 0,004 nM, para o teste de cicatrização e análise de morfometria e Imunofluorescência. A razão para escolher esta concentração para o ensaio de cicatrização de feridas foi pelo fato de que, esta

concentração apresenta uma viabilidade celular média, e quanto as outras concentrações não apresentaram uma boa viabilidade celular ou apresentaram toxicidade.

4.2. RESULTADO ENSAIO DE AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO CELULAR

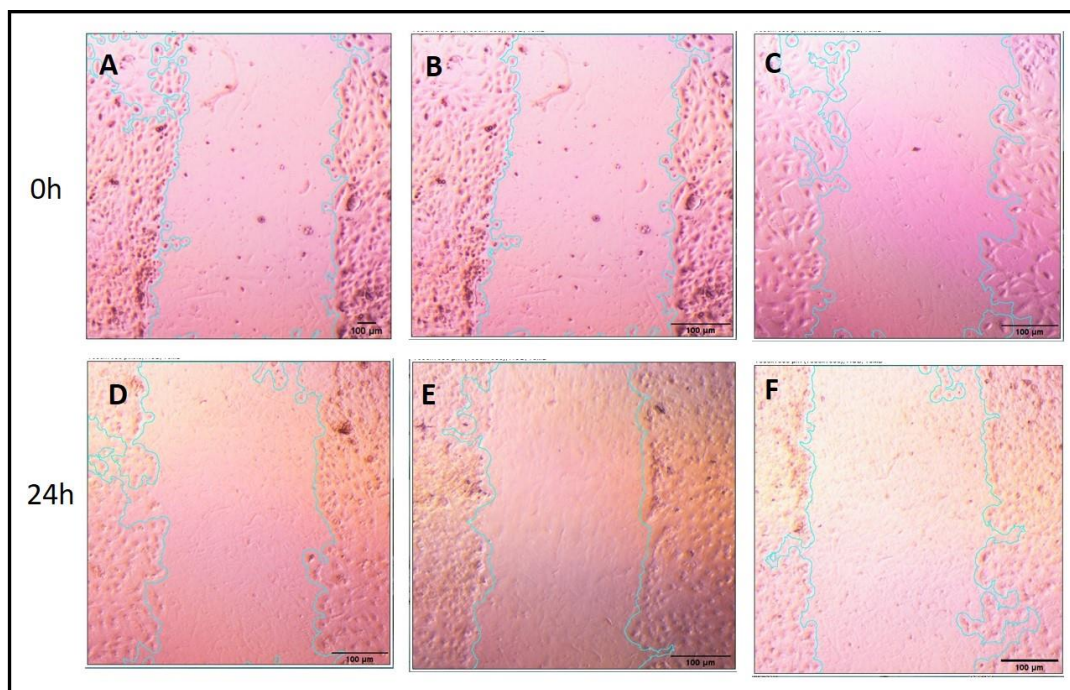
Durante o processo de reparo celular os fibroblastos desempenham um papel importante na atividade de cicatrização de feridas, pois, migram da região adjacente da área lesionada para a região da lesão auxiliando no processo de epitelização da ferida. Por isso, foi realizado o teste de migração celular para observar o processo de migração celular e cicatrização de ferida em modelo in vitro com extrato aquoso de barbatimão nas seguintes concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%, observados nas Figuras 5, 6, 7 e 8. Papaína nas seguintes concentrações: 125 $\mu\text{g/ml}$; 31,25 $\mu\text{g/ml}$; 7,81 $\mu\text{g/ml}$, observadas nas Figuras 9, 10 e 11. E Dexametasona na concentração de 0,004 nM, observada na Figura 12.

Figura 4. Foto das células MRC-5 antes da realização da cicatriz



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

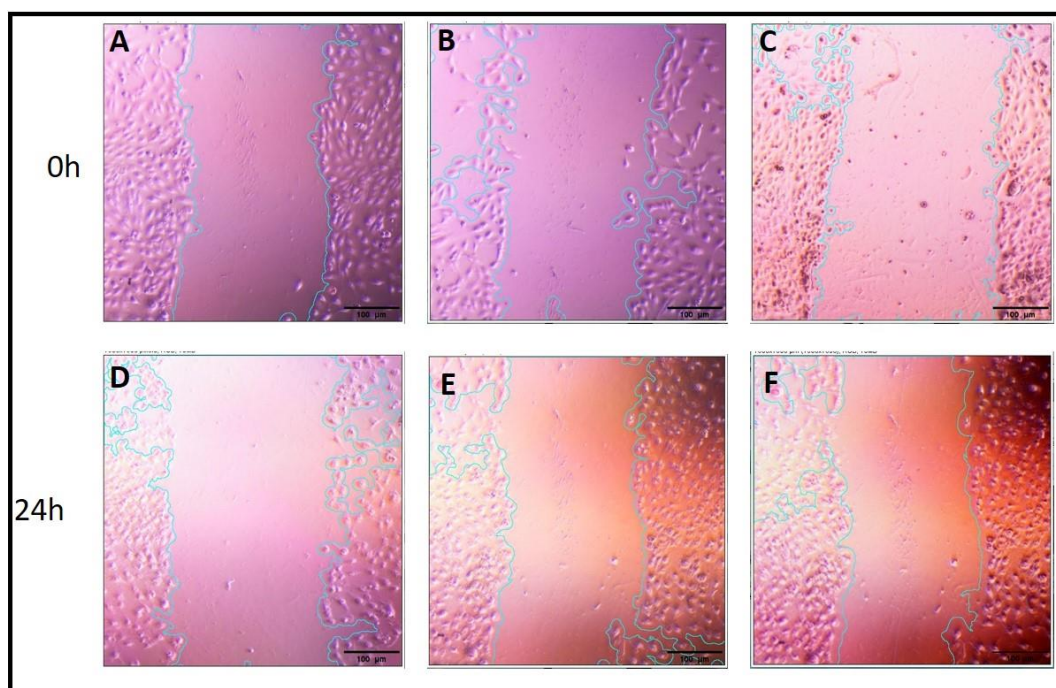
Figura 5. Fotos do resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 12,5%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do extrato aquoso de barbatimão na concentração 12,5%.

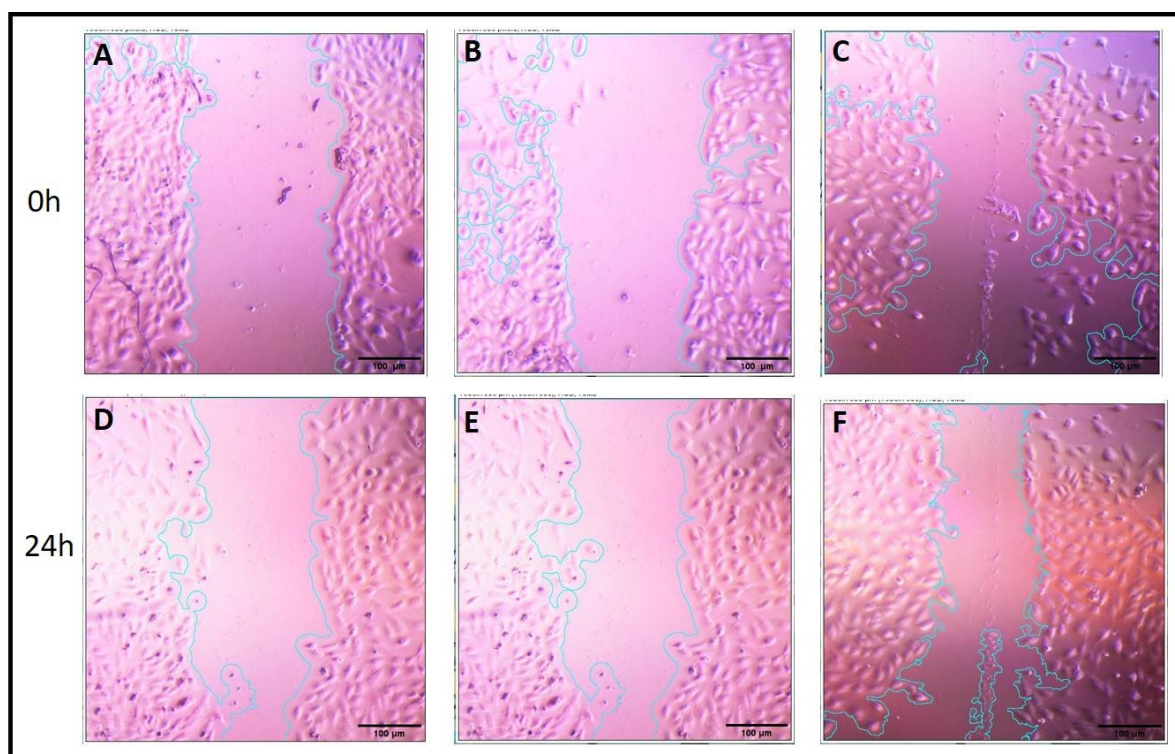
Figura 6. Fotos resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 3,37%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do extrato aquoso de barbatimão concentração 3,37%.

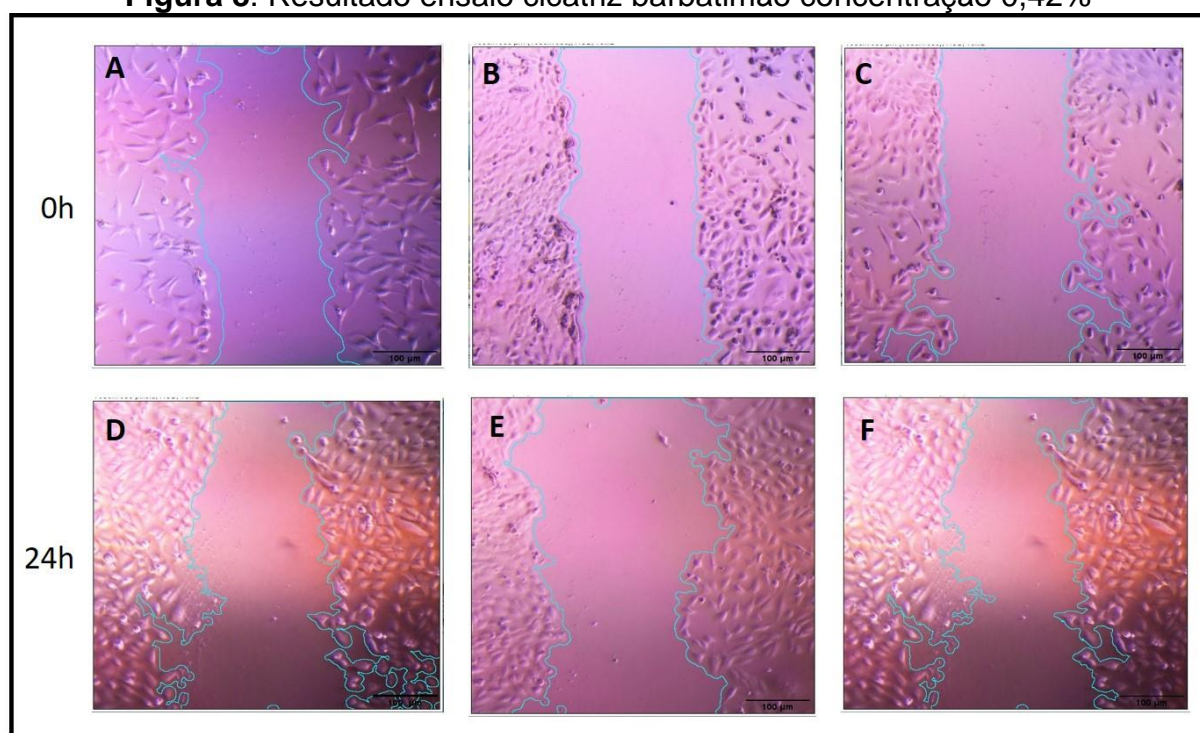
Figura 7. Fotos resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 0,84%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do extrato aquoso de barbatimão na concentração 0,84%.

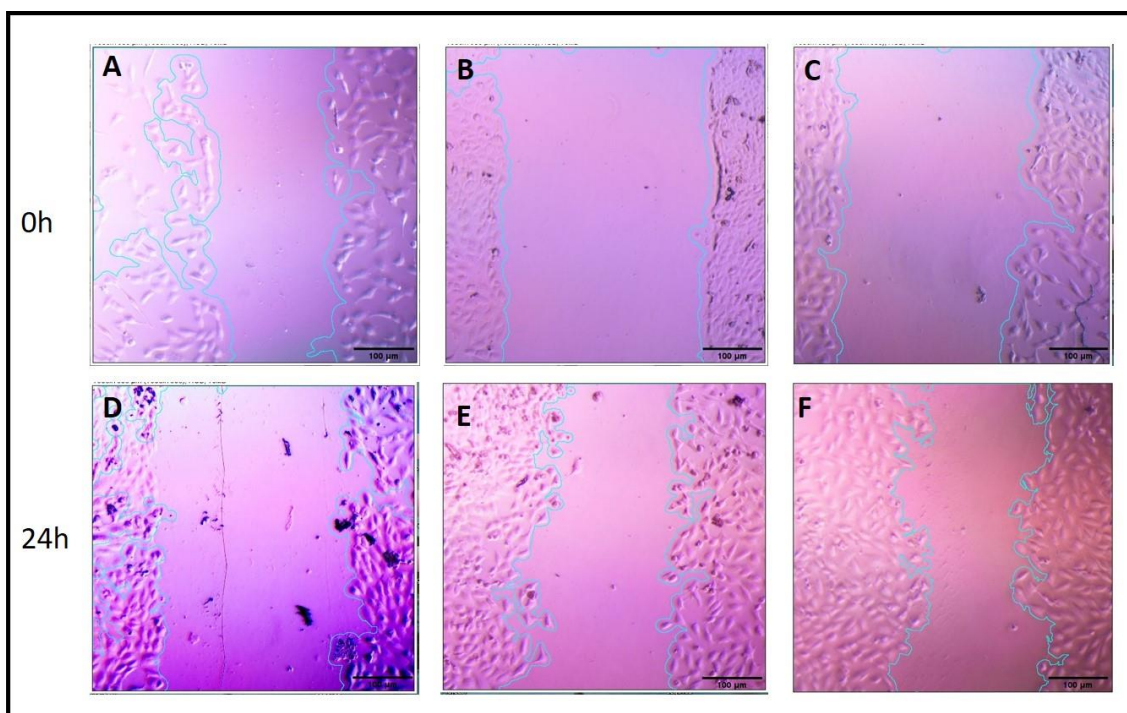
Figura 8. Resultado ensaio cicatriz barbatimão concentração 0,42%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do extrato aquoso de barbatimão na concentração 0,42%.

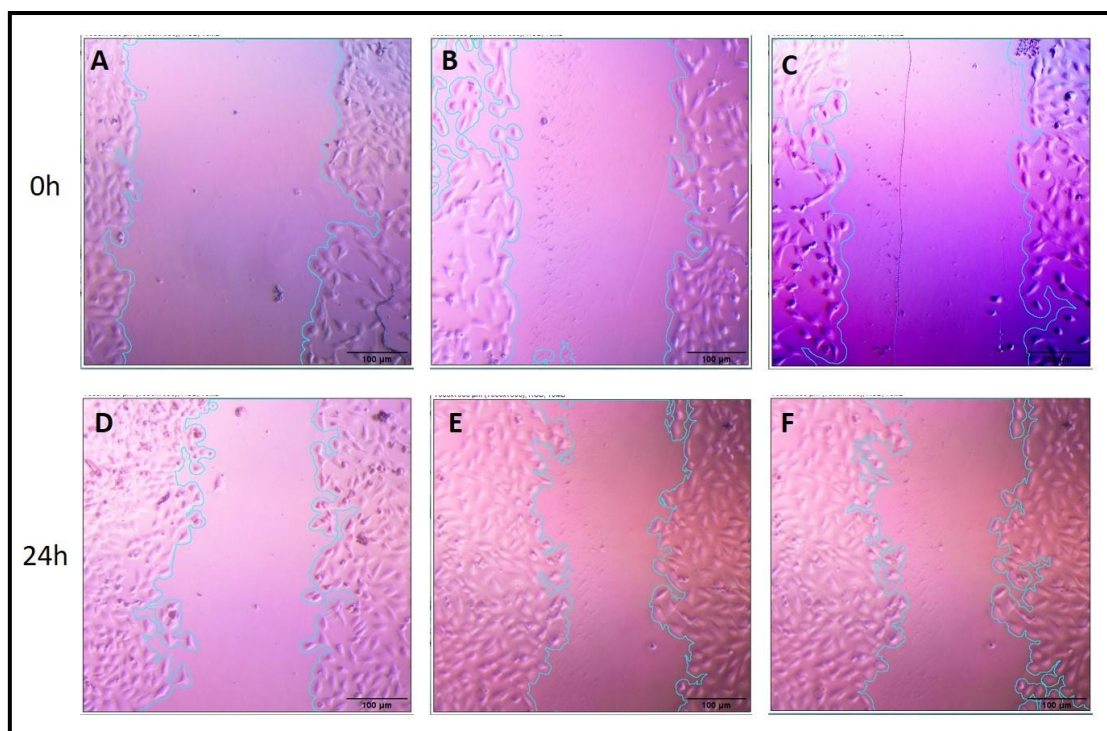
Figura 9. Fotos do resultado ensaio cicatriz papaína concentração 125 $\mu\text{g/ml}$



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B, E, C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do tratamento com papaína na concentração 125 mg/ml.

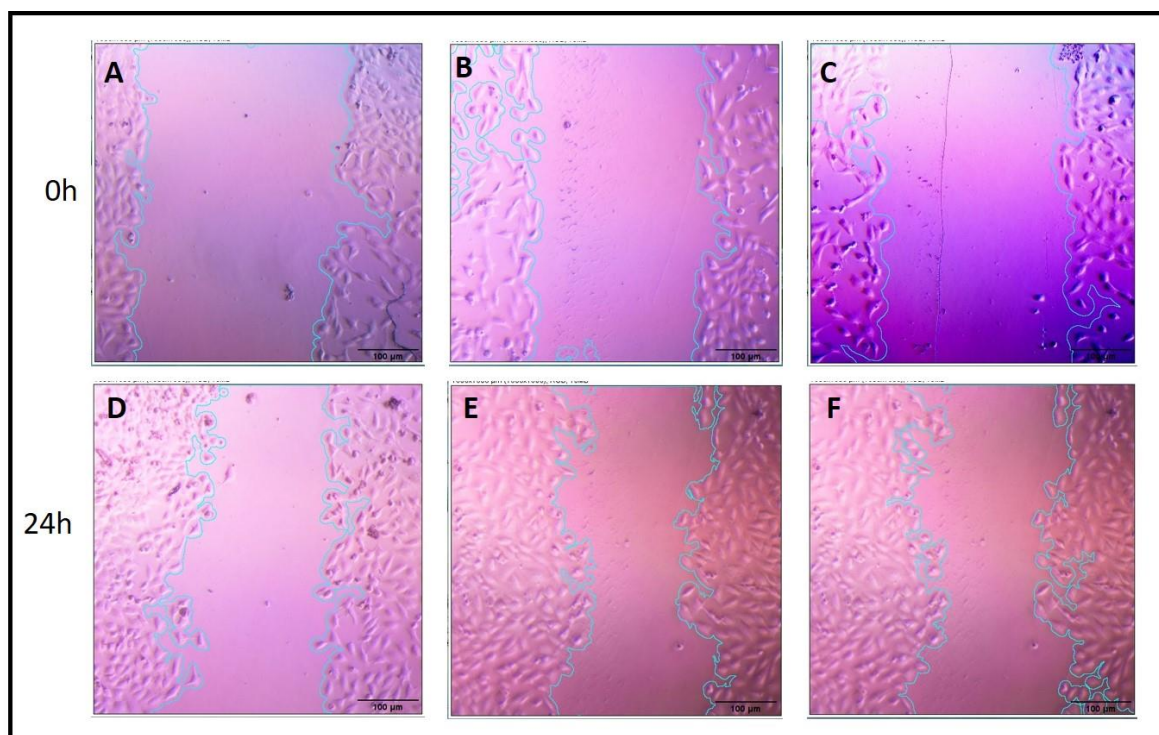
Figura 10. Fotos do resultado Ensaio Cicatriz papaína concentração 31,25 $\mu\text{g/ml}$



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B, E, C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do tratamento com papaína concentração 31,25 mg/ml.

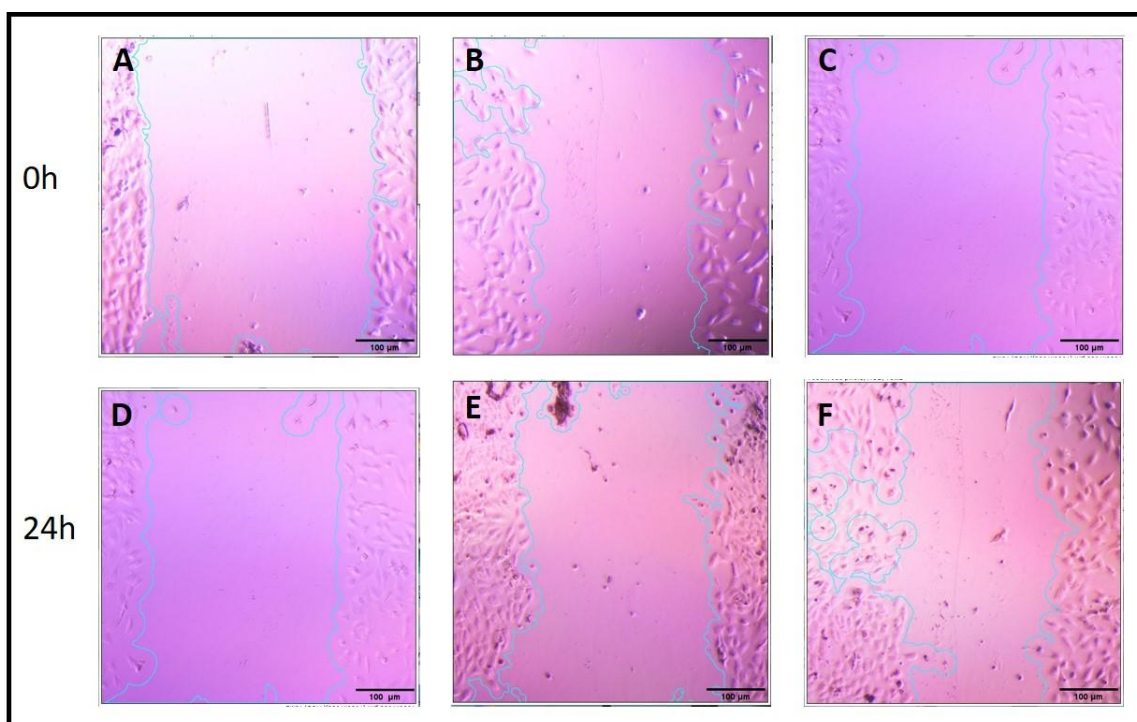
Figura 11. Fotos do resultado Ensaio Cicatriz papaína concentração 7,81 $\mu\text{g/ml}$



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do tratamento com papaína concentração 7,81 mg/ml.

Figura 12. Fotos do resultado cicatriz dexametasona concentração 0,004 nm



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: O grupo A, B e C correspondem a três repetições no tempo 0 sem tratamento, e o grupo B, C e D corresponde a três repetições após 24 horas de aplicação do tratamento com dexametasona na concentração 0,004 nm.

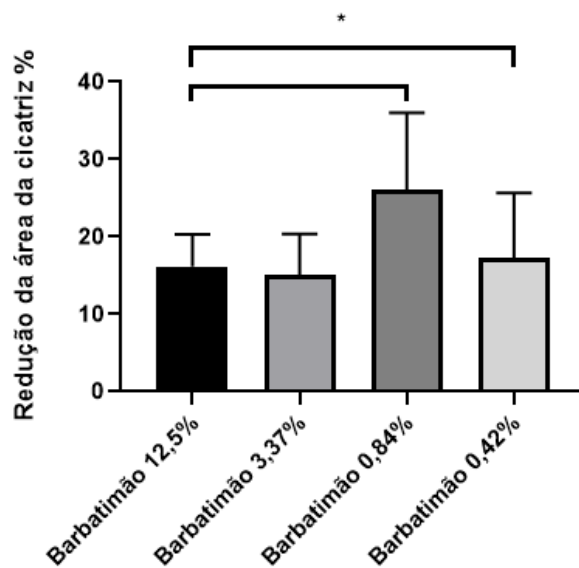
Pode-se observar por meio da tabela 4 que a redução da área da cicatriz foi maior no grupo que papaína (31,25 $\mu\text{g/ml}$), alcançando 29,8%, seguido do grupo que recebeu barbatimão (0,84%), que alcançou 26,1%. Já o grupo que apresentou uma menor redução da área estatística foi a papaína (125 $\mu\text{g/ml}$).

Tabela 4. Áreas do ensaio de cicatrização

Grupos	Área (mm ²) 0h	Área (mm ²) 24h	Redução da área %
Barbatimão (12,5%)	0,127974	0,104712	18,10%
	0,110218	0,106458	11,40%
	0,139454	0,112827	19%
Média			16,17%
Barbatimão (3,37%)	0,136769	0,10768	21,2%
	0,108635	0,095215	12,3%
	0,122586	0,10805	11,8%
Média			15,1%
Barbatimão (0,84%)	0,099262	0,084458	14,9%
	0,109138	0,076667	29,7%
	0,107289	0,071113	33,7%
Média			26,1%
Barbatimão (0,42%)	0,18908	0,141285	25,2%
	0,176714	0,162562	8,5%
	0,165712	0,135465	18,2%
Média			17,3%
Papaína (125 $\mu\text{g/ml}$)	0,141923	0,133108	6,2%
	0,156465	0,149693	4,3%
	0,137943	0,128991	6,4%
Média			5,6%
Papaína (31,25 $\mu\text{g/ml}$)	0,128276	0,129227	33,9%
	0,106223	0,081074	19,6%
	0,129227	0,082748	35,9%
Média			29,8%
Papaína (7,81 $\mu\text{g/ml}$)	0,122918	0,102098	16,9%
	0,092362	0,074682	14,3%
	0,091316	0,06408	29,8%
Média			20,3%
Dexametasona (0,004 nM)	0,112636	0,080473	28,5%
	1,098632	0,102358	6,6%
	1098632	0,075206	19,4%
Média			18,1%

Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

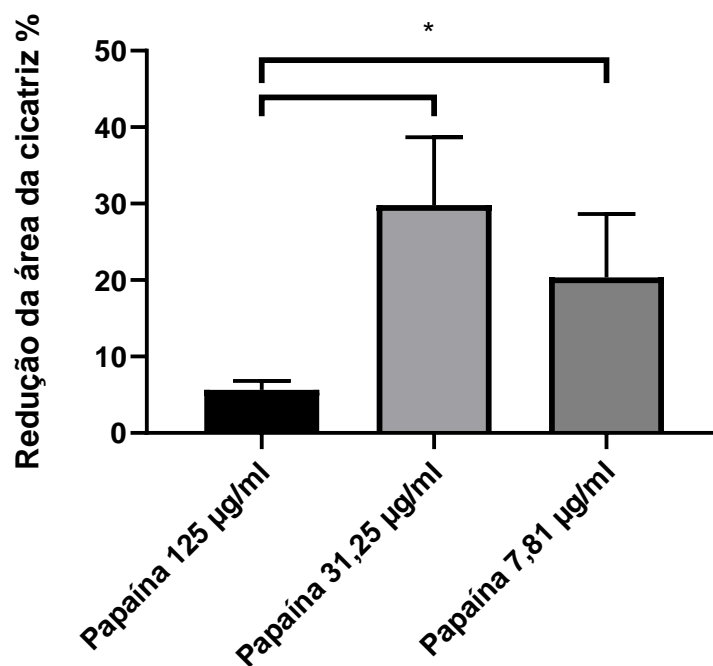
Gráfico 4. Análise e estatística do ensaio de migração celular grupo Barbatimão.



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Comparação da redução percentual média na área de migração celular da linhagem MRC-5 após tratamento com barbatimão nas diluições 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%.

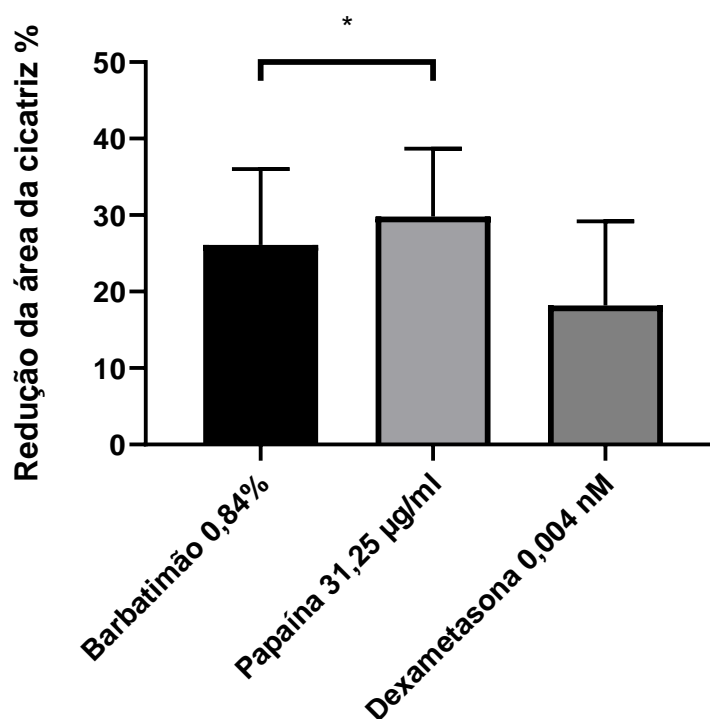
Gráfico 5. Análise e estatística do ensaio de migração celular grupo Papaína.



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Comparação da redução percentual média na área de migração celular da linhagem MRC-5 após tratamento com papaína nas concentrações.

Gráfico 6. Análise e estatística do ensaio de migração celular Comparação entre os compostos



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Comparação da redução percentual média na área de migração celular da linhagem MRC-5 após tratamento com papaína nas concentrações.

4.3. RESULTADO DA ANÁLISE DE MORFOMETRIA E IMUNOFLUORESCÊNCIA

Para avaliar o estado da morfologia das células MRC-5 dos grupos tratados com extrato aquoso de barbatimão nas seguintes concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42%, observadas nas Figuras 14, 15, 16 e 17. Papaína nas seguintes concentrações: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml, observadas pelas Figuras 18, 19 e 20. E Dexametasona na concentração de 0,004 nM, observada na Figura 21. Foi realizada uma análise por marcação com fluoróforos específicos, DAPI e faloidina, que permitiram a distinção do núcleo e dos filamentos de actina, respectivamente.

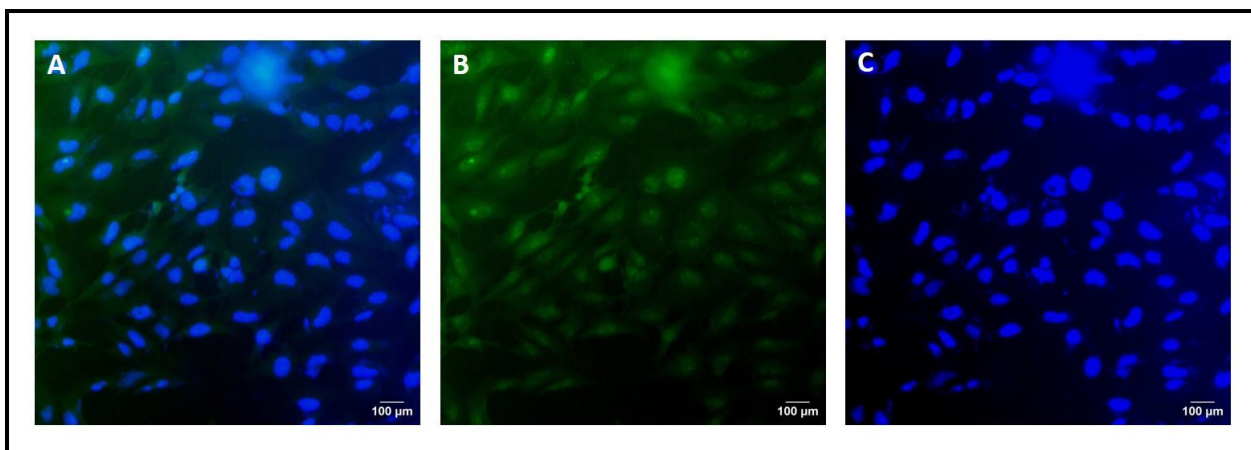
Avaliando a morfologia das células MRC-5 de controle positivo pode-se observar que as células nos grupos que receberam tratamento com barbatimão não houve diferenças estruturais entre os núcleos celulares e o citoplasma comparado ao grupo

controle. Sendo observado apenas um maior número celular no grupo que recebeu tratamento com a concentração barbatimão 0,42%, observada na Figura 17.

O grupo que recebeu tratamento com papaína apresentou uma característica peculiar. As células apresentaram um núcleo pequeno e o citoplasma apresentou prolongações características, as células apresentaram um formato "estrelar", e a organização entre as células apresentou um formato de aspecto de "rede" como um padrão de organização. Nestes grupos de tratamento, o citoesqueleto apresenta um maior número de prolongações e prolongações mais longas.

O grupo que recebeu tratamento com dexametasona na concentração 0,004 nM observado na Figura 21, apresentou um número satisfatório de células comparado ao grupo controle, pode-se observar não haver alterações significativas a nível de núcleo e citoplasma. Sendo apenas observado que com relação aos grupos de tratamento anteriores este grupo não apresenta um padrão de organização característico.

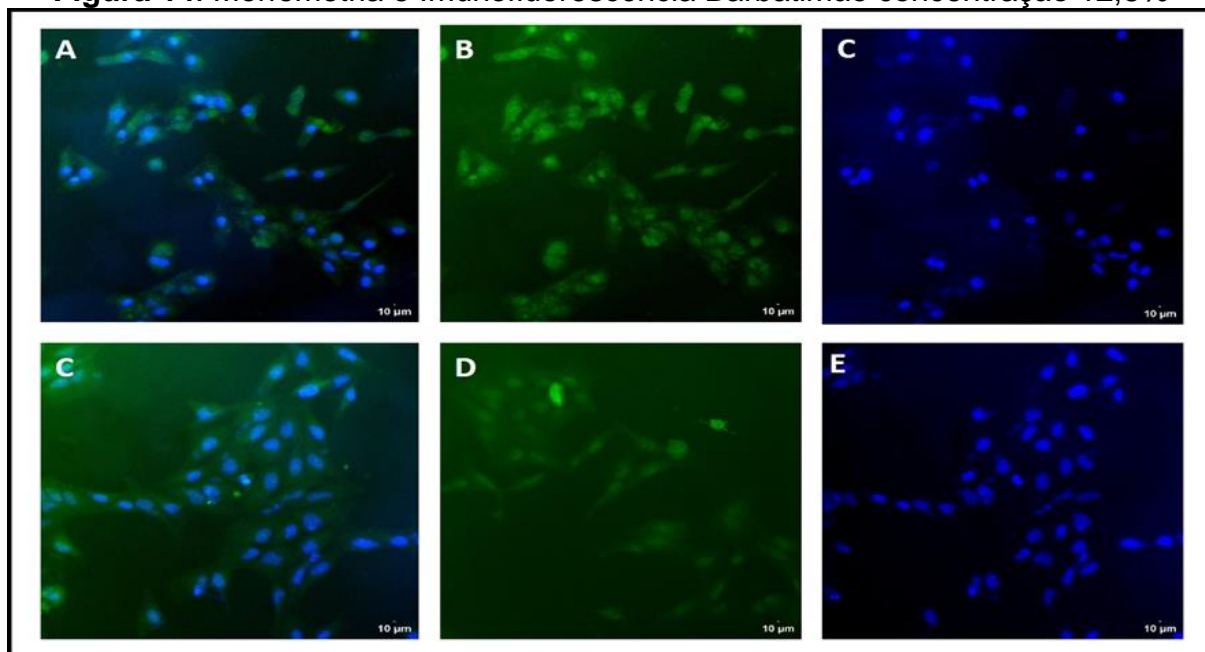
Figura 13. Morfometria e Imunofluorescência grupo controle



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C) e coloração Faloidina (B) e A mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

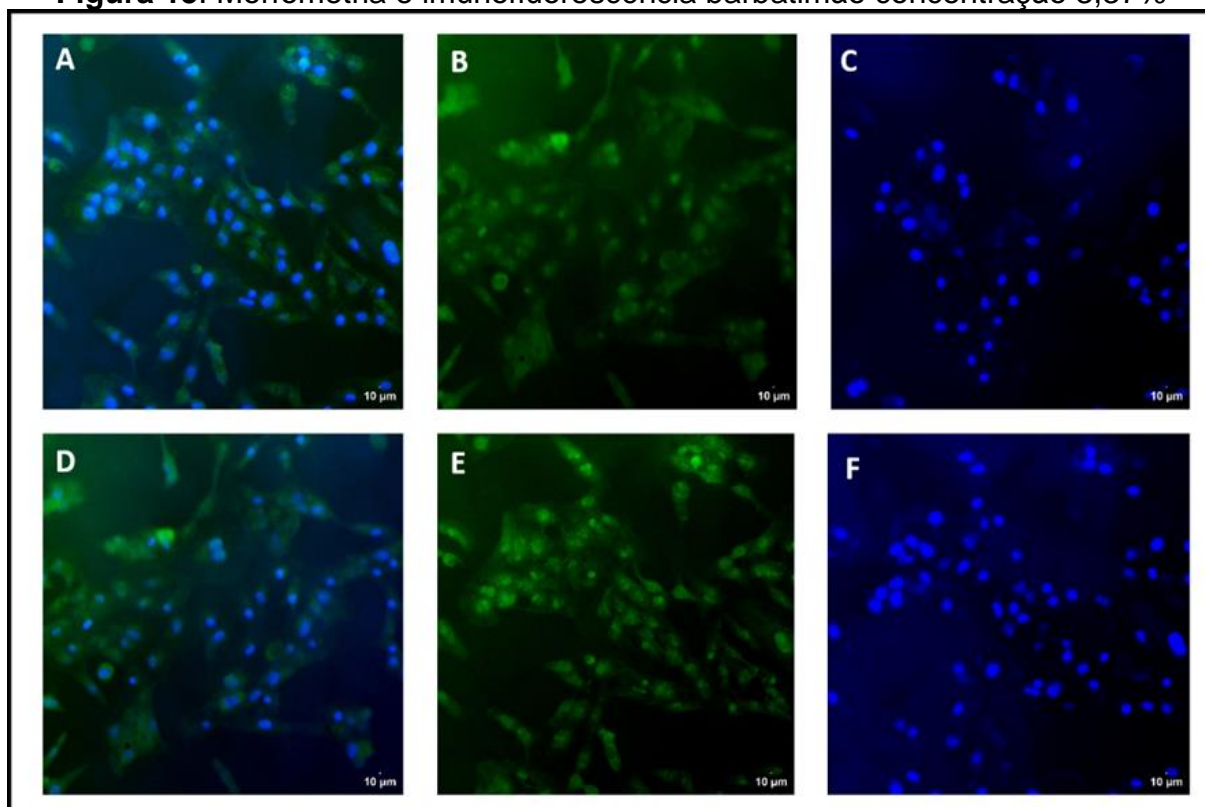
Figura 14. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimão concentração 12,5%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

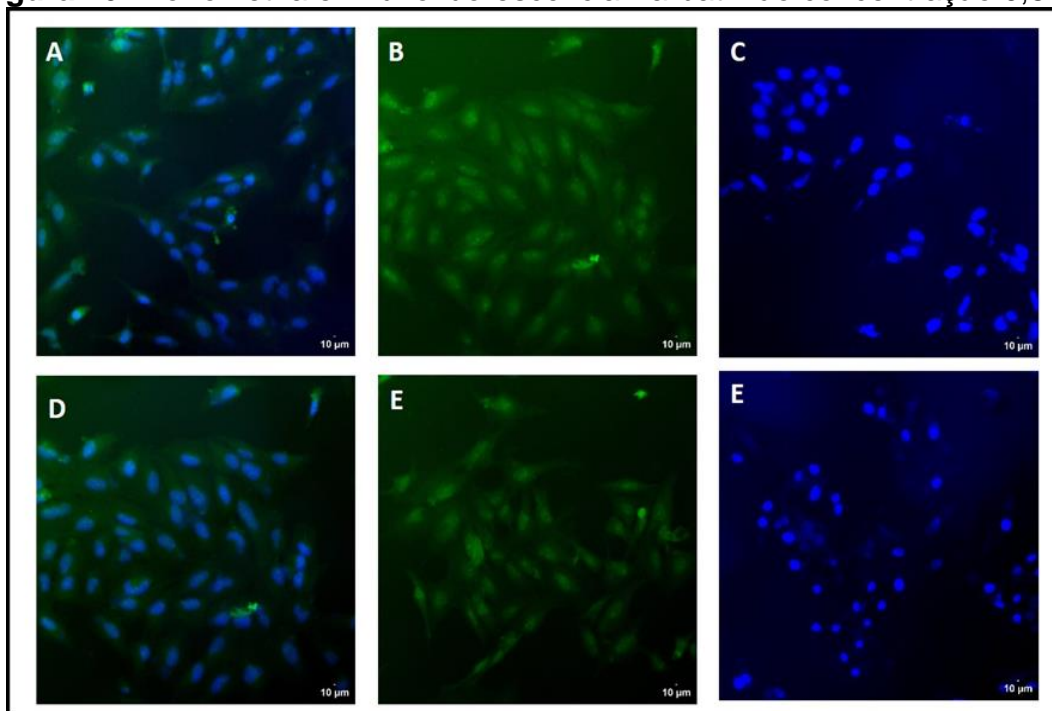
Figura 15. Morfometria e imunofluorescência barbatimão concentração 3,37%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

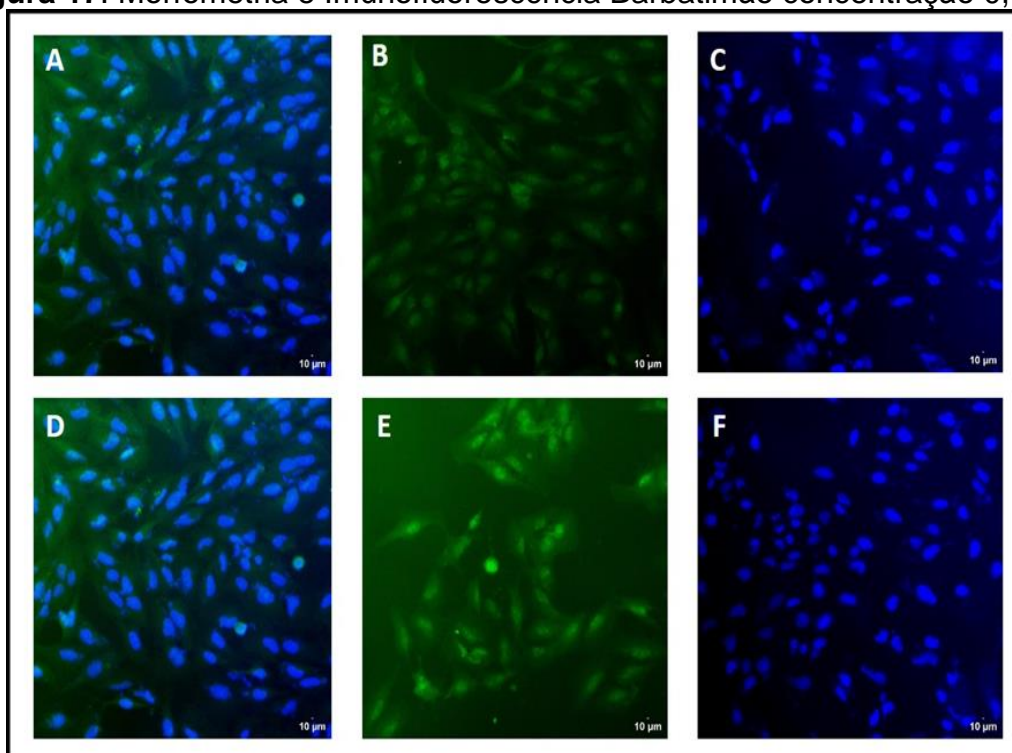
Figura 16. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimã concentração 0,84%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes l. 4x e 10x.

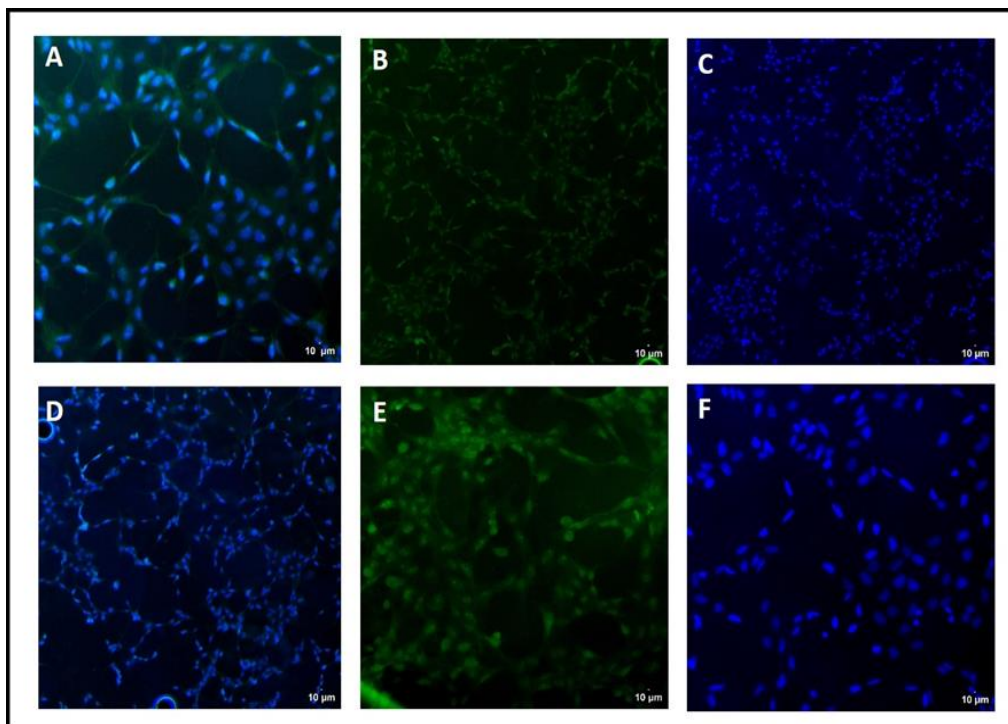
Figura 17. Morfometria e Imunofluorescência Barbatimã concentração 0,42%



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

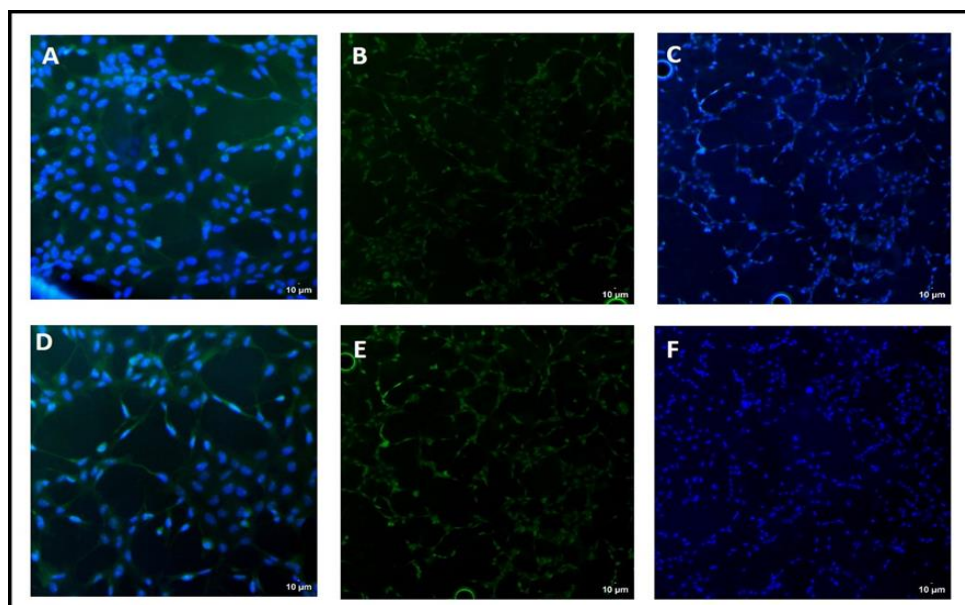
Figura 18. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 125 µg/ml



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

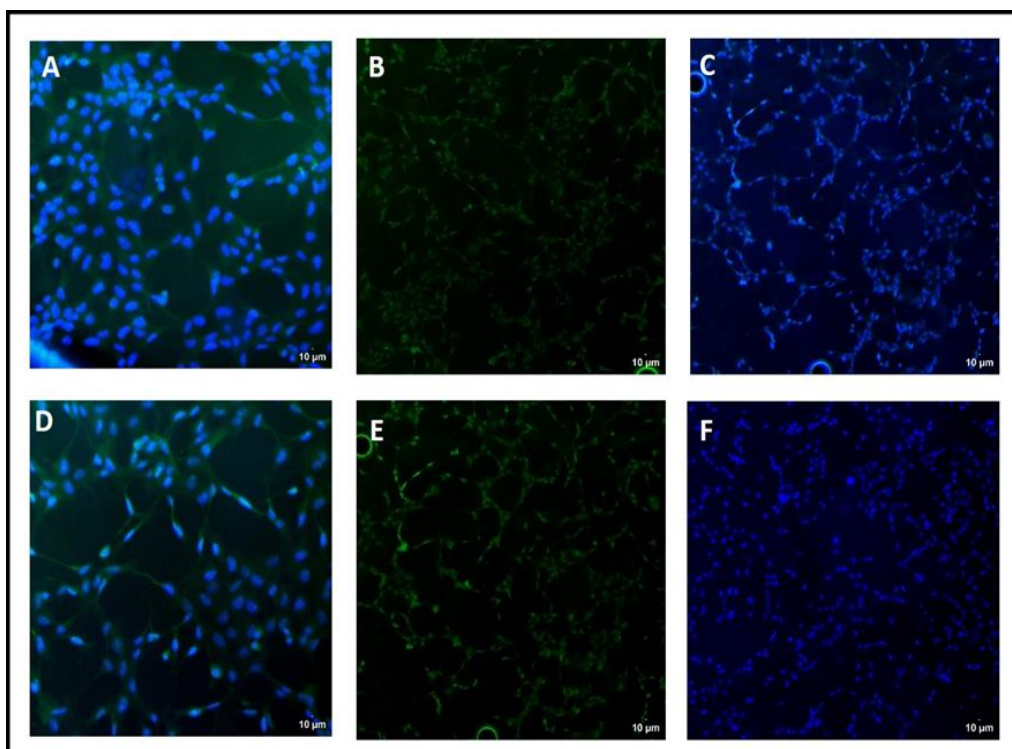
Figura 19. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 31,25 µg/ml



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

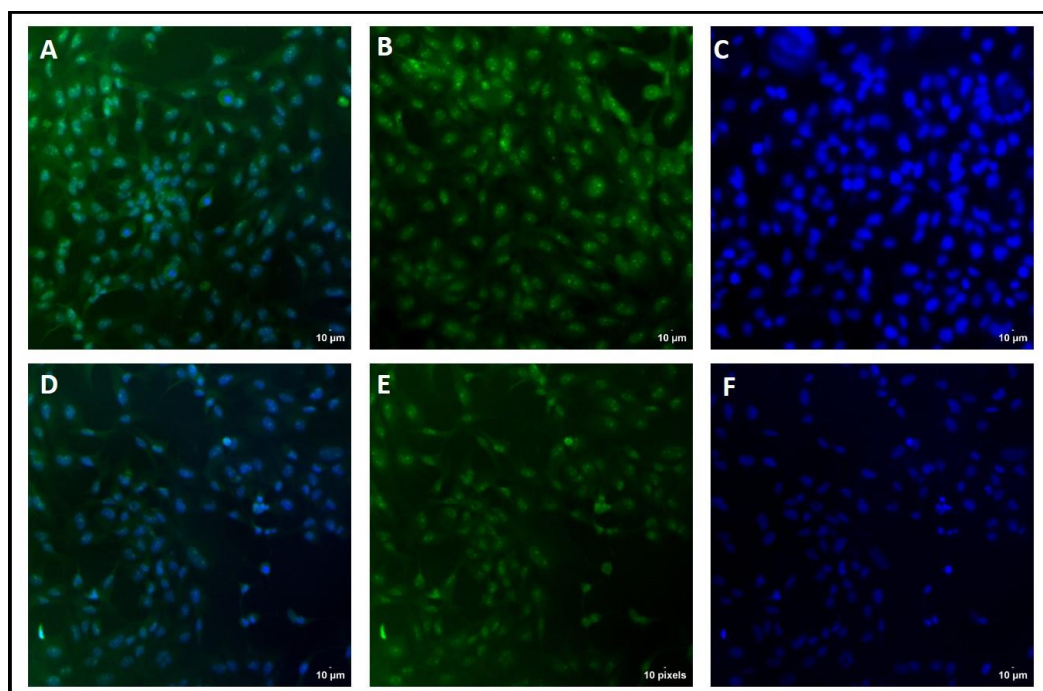
Figura 20. Morfometria e Imunofluorescência papaína concentração 7,81 $\mu\text{g/ml}$



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

Figura 21. Morfometria e Imunofluorescência dexametasona concentração 0,004 Nm



Fonte: PAULA NETO, Daniela de, 2023.

Nota: Morfologia celular e nuclear avaliada por microscopia de fluorescência. O citoplasma celular foi identificado com o núcleo, com DAPI (C e E) e coloração Faloidina (B e D) e (A e C) mostram imagens sobrepostas. Imagens capturadas com lentes 4x e 10x.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo o objetivo foi avaliar o efeito cicatrizante do barbatimão, papaína e dexametasona em linhagem celular MRC-5, linhagem de célula de fibroblastos humano normal (MRC-5), que são células fundamentais no processo inflamatório.

Os resultados com o grupo que recebeu tratamento com extrato aquoso de barbatimão no ensaio de viabilidade celular com a linhagem de células MRC-5, demonstraram que o extrato aquoso de barbatimão aumenta a viabilidade celular, especialmente nas concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42. No ensaio de migração celular foi possível observar uma diferença significativa no tamanho da cicatriz, principalmente no grupo 0,84% alcançando 26,1% de redução no tamanho da cicatriz. Já no ensaio de morfometria e imunofluorescência celular, demonstrou que não houve alterações da morfologia do citoesqueleto e do núcleo.

Os resultados obtidos neste estudo coincidem com outros trabalhos avaliando o efeito extrato de barbatimão em fibroblastos. Um estudo realizado com o extrato hidroalcoólico de barbatimão demonstrou que o barbatimão afeta positivamente a taxa de proliferação celular de fibroblastos, influenciando positivamente na produção de fatores de diferenciação celular, reduzindo o número de marcadores apoptóticos de fibroblastos. E quanto a morfologia, as células apresentaram um maior afinamento e prolongamento, que é característico em fibroblastos jovens, possibilitando uma maior interação tecidual (MASTELLA, 2018).

Com relação a citotoxicidade do barbatimão um estudo realizado por Melo *et al.* (2023) demonstrou que o barbatimão apresenta baixo efeito citotóxico. Já outro estudo realizado (PELLENZ *et al.*, 2018) apresentaram resultados indicando que o barbatimão além de não apresentar efeito citotóxico, foi capaz de induzir a viabilidade celular de fibroblastos e queratinócitos. Além de demonstrar um efeito antioxidante e genoprotetor.

Os resultados obtidos com o grupo que recebeu tratamento com a papaína no ensaio de viabilidade celular com células MRC-5, demonstraram que a papaína aumenta a viabilidade celular nas concentrações: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml. No ensaio de migração celular foi possível observar uma diferença significativa no tamanho da cicatriz, principalmente na concentração 31,25 µg/ml alcançando 29,8%, de redução no tamanho da cicatriz. Já no ensaio de morfometria e imunofluorescência, foi possível observar que, neste grupo as células apresentaram um núcleo menor comparado a outros tratamentos e o citoplasma com mais prolongações e em maior tamanho, dando as células um formato

“estrelar”, e os tecidos celulares formado por estas células apresentaram um padrão de organização semelhante a uma “rede”.

Estas características morfológicas são mencionadas por Montarine (2016), que descreve os fibroblastos como células muito presentes no tecido conjuntivo, apresentando uma morfologia alongada ou estrelar, com longos prolongamentos, núcleo eucromatócico e nucleólo proeminente quando estão ativos, e quando estão inativos, também chamados de fibrócitos apresentando uma morfologia com um menor tamanho, o núcleo mais heterocromático, e menor quantidade de retículo endoplasmático.

Apesar da papaína ser muito utilizada popularmente, ainda é necessário muito estudo, pois ainda tem muitas lacunas e divergências sobre suas concentrações, doses de segurança e efeito.

Diante disso Medeiros (2022) tentou estabelecer o IC₅₀ da papaína na cultura de fibroblastos, e concluiu que com doses inferiores ao IC₅₀ que foi aproximadamente de 57µM a papaína não demonstrou ser tóxica, porém sem efeito proliferativo celular. Concluindo que não existe correlação direta entre doses de utilização clínica da papaína e doses in vitro. Efeitos pró-cicatrizantes observados clinicamente não ocorrem à custa de estímulo direto sobre fibroblastos.

Já estudos clínicos indicam que a papaína é um importante agente cicatrizante. Muitos destes estudos clínicos são realizados utilizando a aplicação tópica da papaína em forma de pomada ou gel. Nogueira (2016) realizou um estudo utilizando gel de papaína a 2%, ele descreveu que as feridas tratadas com este tratamento apresentaram um maior grau de resistência a tração, que esta concentração foi capaz de promover a cicatrização da pele, além de ter apresentado resultados positivos como desbridamento, sendo capaz de atuar em dois momentos do processo de cicatrização, de maneira eficiente e segura.

Outro estudo clínico realizado utilizando gel de papaína, no entanto, na concentração de 3% aplicado topicamente, demonstrou que a papaína é capaz de promover cicatrização de feridas com menor infiltrado inflamatório, estimulando a formação de novos capilares e a proliferação celular e auxiliando na melhor organização de fibras colágenas (SANTANNA, 2015).

Os resultados obtidos com o grupo que recebeu tratamento com dexametasona no ensaio de viabilidade celular com a linhagem de células MRC-5, demonstraram que a dexametasona apresentou citotoxicidade nas diluições mais concentradas, e somente a 0,004 nM apresentou viabilidade celular e, portanto, somente esta concentração foi utilizada para os demais estudos. O valor de IC₅₀ encontrado entre as concentrações administradas

foi de IC₅₀ 14,05 nM. No ensaio de migração celular foi possível observar a diminuição da área da cicatriz. No entanto, a migração celular e a organização celular na região ferida não apresentaram um padrão de organização celular comparado aos grupos anteriores. Já no ensaio de morfometria e imunofluorescência foi possível observar que não houve alterações na morfologia do núcleo e do citoesqueleto celular.

Estudos realizados avaliando o efeito da dexametasona no processo de cicatrização demonstram que ela apesar de ser um bom anti-inflamatório atuando com efetividade nos estágios iniciais do processo de reparo, nos estágios finais do processo de reparo, como por exemplo no processo de epitelização, ela pode retardar o processo. De acordo com Bruton *et al.* (2012) descrevem que os corticóides inibem os processos iniciais do processo inflamatório, tais edema, migração de leucócitos, mas também inibem manifestações tardias do processo como neovascularização, proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno, e posteriormente a cicatrização.

Durmus *et al.* (2003) avaliou o efeito da dose única de 1 mg/kg preventiva de dexametasona na cicatrização de feridas em dorso de ratos, e verificou após 14 dias que, ratos tratados com dexametasona apresentaram um menor índice de reepitelização, de colagenização e de fibroblastos.

Outro estudo realizado 2 mg/kg de dexametasona como dose preventiva uma hora antes de lesão de pele na região dorsal de ratos demonstrou que, no quinto dia após a lesão houve uma escassez de leucócitos e fibroblastos no tecido de reparação. Concluindo que a dexametasona interfere a dexametasona interfere negativamente no processo de cicatrização Nguyen *et al.* (1998).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos neste trabalho nossas conclusões são que:

O extrato aquoso de barbatimão nas concentrações 12,5%; 3,37%; 0,84% e 0,42 é capaz de induzir viabilidade celular e migração celular em linhagem de células MRC-5, principalmente a concentração 0,84%, não alterando a morfologia do citoesqueleto e do núcleo celular.

A papaína nas concentrações: 125 µg/ml; 31,25 µg/ml; 7,81 µg/ml é capaz de induzir viabilidade celular e migração celular em linhagem de células MRC-5, principalmente a concentração 31,25 µg/ml, proporcionando uma diminuição no tamanho da cicatriz. Quanto a morfologia celular, foi observada que as células apresentaram um núcleo menor comparado a outros tratamentos e o citoplasma com mais prolongações e em maior tamanho, dando as células um formato "estrelar", e os tecidos celulares formado por estas células apresentaram um padrão de organização semelhante a uma "rede".

Já a dexametasona apresentou viabilidade celular em células MRC-5, somente na concentração 0,004 nM. O valor de IC₅₀ encontrado entre as concentrações administradas foi de IC₅₀ 14,05 nM. No ensaio de migração celular foi possível observar a diminuição da área da cicatriz. No entanto, a migração celular e a organização celular na região da ferida não apresentaram um padrão de organização celular comparado aos grupos anteriores. Já no ensaio de morfometria e imunofluorescência foi possível observar que não houve alterações na morfologia do núcleo e do citoesqueleto celular.

Ao avaliar estatisticamente a comparação entre os grupos de tratamento, pode-se observar que não houve diferença estatística entre os grupos.

Pode-se concluir também que, na literatura ainda há lacunas a serem preenchidas, tais como, concentrações, dosagens, IC₅₀, mecanismo de ação. E, portanto, são necessários mais estudos que busquem elucidar sobre os efeitos do barbatimão, papaína e dexametasona no processo de cicatrização, afim de que possa se encontrar na literatura mais informações, proporcionando maior segurança sobre suas aplicações, e fornecendo caminhos para a buscas de novos fármacos que auxiliem de maneira mais eficiente e eficaz no processo de reparo de feridas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, L. P. F.. *et al.*. *Consensus on the diagnosis and management of chronic leg ulcers - Brazilian Society of Dermatology*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 95, n. S1, p. 01-18, 24 mar. 2021.

ALVES, D. DE A. *et al.*. *Use of the plant Stryphnodendron adstringens (mart.) Coville in wound cicration: an ethnobotanical study*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e394101522688-e394101522688, 28 nov. 2021.

ALVES, M. C. M. A. *et al.*. *Hydrophilic Scaffolds Containing Extracts of Stryphnodendron adstringens and Abarema cochliacarpa for Wound Healing: in Vivo Proofs of Concept*. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 10, 01 out. 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Consultas** - Anvisa, [20-?]. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/1149376?numeroRegistro=105830879>. Acesso em: 15 de maio de 2023.

ARAÚJO, L. J.; BARRIENTOS, J. R.; BARRIENTOS, M. O.. Análise macro e microscópica da cicatrização de feridas agudas em ratos utilizando a papaína 2%. **Revista Brasileira de Saúde Funcional**, v. 07, n. 01, p. 42-42, 02 maio 2019.

BAIDAMSHINA, D. R. *et al.*. *Biochemical Properties and Anti-Biofilm Activity of Chitosan-Immobilized Papain*. **Marine Drugs** 2021, v. 19, n. 04, p. 197, mar. 2021.

BRAGA, D.. **Compostos fenólicos em pedúnculos de clones de cajueiro e a relação com a adstringência e suas subqualidades**. 92 f. Dissertação (Pós-graduação). Fortaleza/CE: Universidade Estadual do Ceará (UECE), 2019. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1106803>>. Acesso em: 20 maio 2023.

BORBA, A. M.; MACEDO, M.. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n.0 4, p. 771-782, out. 2006.

BORGES, L. C.. Uso de solução aquosa de barbatimão na cicatrização de ferida por segunda intenção em equino: relato de caso. *In*: Congresso de Iniciação Científica da Fundação Educacional de Ituverava, 7, **Anais ...**, Ituverava, out. 2018.

BORGES FILHO, H. C.; FELFILI, J. M.. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. **Revista Árvore**, v. 27, n. 05, p. 735-745, out. 2003.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E.. *The basic science of wound healing. Plastic and reconstructive surgery*, v. 117, n. 07, jun. 2006.

BRUTON, LAURENCE I; CHABNER, B. A; KNOLLMANN, BJORN C.. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12. Ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CALIXTO, J. B.. *Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents)*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 02, p. 179-189, 2000.

CARDOSO DE BRITO JUNIOR, L. *et al.*. Cicatrização de feridas contaminadas tratadas com papaína*. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 48, n. 02, p. 168-174, 26 abr. 2015.

CARVALHO, F. I. C. *et al.*. Uso de papaina no tratamento de lesões ulcerativas de pacientes portadores de pé diabético: relato de cinco casos. **Rev. Para. med**, v. 24, n. 02, p. 65-70, 2010.

CHAVES, D. A. *et al.*. Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 02, p. 524-530, jun. 2016.

CLARK, R. A. F.. *Regulation of Fibroplasia in Cutaneous Wound Repair*. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 306, n. 01, p. 42-48, 01 jul. 1993.

CUNHA BREDER, J. S. *et al.*. *Surgical Wound Dehiscence Treatment With Low-Level Laser Therapy and Barbatimão: a Case Report*. **Wound management & prevention**, v. 67, n. 10, p. 18-22, 2021.

DAMIANI, LEIBOVICH, S. J.; ROSS, R.. *The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum*. **American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 78, n. 01, p. 71-100, Jan. 1975D.

DE OLIVEIRA, A. C. *et al.*. *Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas*. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, n. 02, p. 194-201, 10 jun. 2019.

DEADLEY, C. **Cuidado de feridas**: um guia para as enfermeiras. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sus-33346>>. Acesso em: 20 de abril de 2022.

DIONNE, R. A.; Gordon S. M.; ROWAN, J.; KENT A.; BRAHIM, J. S.. *Dexamethasone suppresses peripheral prostanoid levels without analgesia in a clinical model of acute inflammation*. **J Oral Maxillofac Surg.**, v. 61, n. 09, p. 997-1003, 2003.

DURMUS, Mahmut; KARAASLAN, Erol; OZTURK, Erdogan; GULEC, Mukaddes; IRAZ, Mustafa; EDALI, Naci; ERSOY, M. Ozcan. *The Effects of Single-Dose Dexamethasone on Wound Healing in Rats*. **Anesthesia & Analgesia**, [S.L.], p. 1377-1380, nov. 2003.

EHRlich, H. Paul; HUNT, Thomas K.. *Effects of cortisone and vitamin A on wound healing*. **Annals of surgery**, v. 167, n. 03, p. 324-328, 1968.

EURIDES, D. *et al.*. *Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (Stryphnodendron Barbatiman Martius)*. **Revista FZVA**, v. 23, n. 01, p. 30-40, 1996.

ERGENE ÖZ, Burçin Ergene; İŞCAN, Gülçin Saltan; AKKOL, Esra Küpeli; SÜNTAR, İpek; KELEŞ, Hikmet; AÇKARA, Özlem Bahadır. *Wound healing and anti-inflammatory activity of some Ononis taxons*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 91, p. 1096-1105, jul. 2017.

EZIKE, A. C. *et al.*. *Carica papaya (Paw-Paw) Unripe Fruit May Be Beneficial in Ulcer*. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 06, p. 1268-1273, 30 dez. 2009. Disponível em: <<https://home.liebertpub.com/jmf>>. Acesso em: 04 de maio de 2023.

FELISBINO, M. B. *et al.*. Perfil dos pacientes com mutação no gene da alfa-1 antitripsina em um centro de referência no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, n. 05, p. 383-389, 01 set. 2018.

FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D.. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 02, p. 381-400, 2014.

FURTADO, M. E. R; CAMPOS, A. A. de O; ALMEIDA, C. P. B. de; CAVALCANTI, A. C. Fluxograma de processos como ferramenta tecnológica para a implantação do programa farmácia viva. **Revista Científica saúde e tecnologia**, v. 02, n. 01, 2022. Disponível em: <<https://recisatec.com.br/index.php/recisatec/article/view/84>>. Acesso em: 04 de maio de 2023.

GONÇALVES, J. C. R; SOBRAL, M. V; LOPES, A. L; FARIAS, A. P; ANDRADE, C; FRADE, D; DONATO, M; FERREIRA, R; GOUVEIA, R; DUARTE, S; LISBOA, T; SOUSA, V. **Cultivo de células**: da teoria à bancada. Paraíba: UFPB, 2020.

GUIDUGLI NETO, J.. *The effect of roentgen radiation on the capillary sprouts and superficial loops of granulation tissue: I. Quantitative study of the vascular volume*. **Rev. Odontol. USP**, v. 01, n. 04 p. 06-08, 1987.

GRUNUROL, J; GmbH; P.; BERLIM, G.. *The European phytomedicines market: figures, trends, analyses*. Roma, Itália: FAO, 1995. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9559610>>. Acesso em: 05 abr. 2023.

GUPTA, A.; JAIN, G. K.; RAGHUBIR, R.. *A time course study for the development of an immunocompromised wound model, using hydrocortisone. Journal of pharmacological and toxicological methods*, v. 41, n. 04, p. 183-187, 1999.

HASLAM, Edwin.. *Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: possible modes of action. Journal Of Natural Products*, [S.L.], v. 59, n. 02, p. 205-215, 01 jan. 1996.

HERNANDES, L.; PEREIRA, L. M. S.; PALAZZO, F.; MELLO, J. C. P.. *Woundhealing evaluation of ointment from Stryphnodendron adstringens (barbatimão) in rat skin. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 46, n. 03, jul./set. 2010.

HONORIO, Mariana da Silva. **Efeito imunomodulador da geoprópolis associada à dexametasona sobre células mononucleares do sangue periférico humano**. 46 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/217762/honorio_ms_me_bot_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2022.

JIANG, Lei; XU, Chan; ZHAO, Yan; HUANG, Qinghua; YUAN, Wufeng; WU, Yan; FEI, Xianming. *Papain ameliorates monocyte-platelet aggregate formation-mediated inflammatory responses in monocytes by upregulating miRNA-146a transcription. Plos One*, [S.I.], v. 17, n. 11, p. 0278059, 21 nov. 2022.

KANG, Y. M. *et al.* *Papain ameliorates lipid accumulation and inflammation in high-fat diet-induced obesity mice and 3t3-L1 adipocytes via ampk activation. International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 18, p. 9885, 01 set. 2021.

KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; DELLA MANNA, T.; SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo–benefício. *Pediatria*, São Paulo, v. 01, p. 71-82, 2001.

KNIGHTON, D. R.; SILVER, I. A.; HUNT, T. K.. *Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. Surgery*, v. 90, n. 02, p. 262-270, 1981.

LEIBOVICH, S. J.; ROSS, R.. *The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. American Journal of Pathology*, Bethesda, v. 78, n. 01, p. 71-100, jan. 1975.

LEITE, A. P. *et al.* Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 33, n. 03, p. 198-207, set. 2012.

LIANG, C. C; PARK; A. GUAN, J. L.. Ensaio de raspagem *in vitro*: um método conveniente e barato para análise de migração celular *in vitro*. **Nat. Protoc.**, v. 02, n. 02, p. 329-333, 2007.

LIMA, C. R. de O.. **Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com Barbatimão e quitosana**. 104 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciência Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2010. Disponível em: <https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Dissertacao2010_Caroline_Rocha.pdf>. Acesso em: 20 maio 2023.

LIMA, A. P. G. *et al.* O uso terapêutico da papaína em úlceras por pressão. **Rev. Núcleo Interdiscipl. Pesqui. Ext.**, v. 08, p. 12-31, 2011.

LIMA, Salatiel Henrique Pereira de; LEMOS, Dayana Gouveia de; OLIVEIRA, Sulamita Ivonete de Andrade; CIRILO, Adjair de Melo; SILVA, Tércia Vitorino da; CRUZ, Hysllanny Evellynn da; SILVA, Lourival Amâncio da; SANTOS, Márcia Virginia Rodrigues dos.. O uso da papaína no tratamento de feridas ulceradas e sua toxicidade. **Brazilian Journal of Development**, [S.l.], v. 08, n. 01, p. 6501-6507, 24 jan. 2022.

LINENBERG, W. B.. *The clinical evaluation of dexamethasone in oral surgery. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, v. 20, n. 01, p. 06-28, 1965. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90259-8](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90259-8)>. Acesso em: 22 set. 2022.

MACPHAIL, C.; FOSSUM, T. W.. *Surgery of the Integumentary System. In: FOSSUM, T. W. Small Animal Surgery*. 5 ed. Filadélfia: Elsevier, p. 179-265, 2018.

MANCINI, Leonardo; PISANESCHI, Alessia; MANCINI, Vincenzo; GINOBLE, Marino; QUINZI, Vincenzo; MARCHETTI, Enrico; MARZO, Giuseppe. *BRIX3000® Papain Gel for Cavity Treatment in the Adult Patient. Case Reports In Dentistry*, [S.l.], v. 2021, p. 01-06, 12 jun. 2021.

MASTELLA, M. H.. **Efeito modulatório do Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) em marcadores citofuncionais de fibroblastos humanos senescentes: estudo *in vitro***. 83 f. Tese (Doutorado em Gerontologia). Universidade Federal da Cruz Maria, RS, 2018.

MARTINS JUNIOR, Aiodair; GUIMARÃES, Aníbal Sudário; FERREIRA, Affonso Luiz. Efeito dos corticosteroides na cicatrização de anastomoses intestinais. **Acta Cir. Bras**, v. 07, n. 01 p. 28-30, 1992.

MEDEIROS, A. C.; MEDEIROS, A.; FILHO, D.. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research**, v. 07, n. 02, p. 87-102, 02 mar. 2016.

MEDEIROS, M. M. M. de. **Efeitos *in vitro* da papaína em fibroblastos humanos oriundos de pele**. 81 f.. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, 2021.

MELO, Raquel N; GOES, Vivian F F; CANELLI, Amanda P; A DE ARO, Andrea; MOREIRA, Bruno O; CORREIA, Jennifer R; CATIRSE, Alma B C e B; DOS REIS, Andréa C; COSTA, Sérgio Marques; DE GODOI, Ana P T.. *Antibacterial activity of barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) against periodontopathogens and cytotoxic effects on fibroblasts. Letters In Applied Microbiology*, [S.l.], v. 76, n. 06, p. 01-02, 01 jun. 2023.

MENKE, N. B. *et al.*. *Impaired wound healing. Clinics in Dermatology*, v. 25, n. 01, p. 19-25, 01 jan. 2007.

MESQUITA, A. P.; TROVARELLI, R. A.. Pesquisa em Educação Ambiental. **Pesquisa em Educação Ambiental**, v. 16, n. 02, p. 95-115, 17 jan. 2021.

MONETTA, L.. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 40, n. 01, p. 66-73, jan. 1987.

Montarine, Tatiana. **Atlas digital de biologia celular e tecidual**. Porto Alegre: Edição do autor, 2016. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/157069/001020057.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2023.

MONTESANO, R.; ORCI, L.. *Transforming growth factor beta stimulates collagen-matrix contraction by fibroblasts: implications for wound healing*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 13, p. 4894-4897, 01 jul. 1988.

MOREIRA FILHO, R. N. F; VASCONCELOS, N. F; ANDRADE, F. K.; ROSA, M. de F VIEIRA, R. S.. *Papain immobilized on alginate membrane for wound dressing application*. **Colloids and surfaces b: biointerfaces**, [s.l.], v. 194, p. 111222, out. 2020.

MUSS, C.; MOSGOELLER, W.; E. T.. *Papaya preparation (carico®) in digestive disorders*. **Neuroendocrinology Letters**, v. 34, n. 01, p. 01-17, 2013.

MOSMANN, T.. *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. **Journal of Immunological methods**, v. 65, n. 01, p. 55-63, 1983.

NASCIMENTO, I. J. R. DO; JESUS, H. S. DE; ALVIM, H. G. DE O.. Uso dos taninos provenientes do barbatimão para cicatrização de ferimentos. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 04, n. 08, p. 201-212, 23 mar. 2021.

NAUMANN DE, C.; FERRARI L. S. V.; CAMPOLIM, F.. Atividade cicatrizante do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em feridas crônicas. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAIT**, n. 01. maio, 2021.

NATIONAL CANCER INSTITUTE (Estados Unidos). Dexametasona (código C422). **NCIthesaurus**, maio 2023. Disponível em: <https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C422>. Acesso em: 02 de junho de 2023.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (US). *Compound Summary* – *Dexamethasone*. **PubChem.**, 2023. Disponível em: < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexamethasone> >. Acesso em: 20 maio 2023.

NGUYEN H, LIM J, DRESNER ML, NIXON B.. *Effect of local corticosteroids on early inflammatory function in surgical wound of rats*. **J. Foot Ankle Surg.** v. 37, n. 04, p. 313-318, 1998.

NOGUEIRA, Thaísa Amorim. **Estudo do efeito do gel de papaína como agente cicatrizante em lesões cutâneas de camundongos diabéticos**. 116 f. Tese (Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.

OLSSON, M. *et al.*. *The humanistic and economic burden of chronic wounds: a systematic review*. **Wound Repair and Regeneration**, v. 27, n. 01, p. 114-125, 01 jan. 2019.

PASSARETTI, T. *et al.*. *Eficácia do uso do Barbatimão (*Stryfhnodendron barbatiman*) no processo de cicatrização em lesões: uma revisão de literatura*. **ABCS Health Sciences**, v. 41, n. 01, 06 maio 2016.

PATRÍCIO, K. P. *et al.*. *Medicinal plant use in primary health care: an integrative review*. **Ciencia & Saude Coletiva**, v. 27, n. 02, p. 677-686, 2022.

PELLENZ, N. L., BARBISAN, F., AZZOLIN, V. F., DUARTE, T., BOLIGNON, A., MASTELLA, M. H., TEIXEIRA, C. F., RIBEIRO, E. E., DA CRUZ, I. B. M., & DUARTE, M. M. F.. *Analysis of In Vitro Cyto- and Genotoxicity of Barbatimão Extract on Human Keratinocytes and Fibroblasts*. **BioMed Research International**, [S.l.], v. 2018, p. 01-11, 08 out. 2018.

PESSOA, Lannyta Clara Santos Tavares. **Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas lipídicas sólidas contendo papaína em modelos *in vitro* de leishmaniose cutânea**. 70 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

REECE, W. O.. *The composition and functions of blood*. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. **Dukes' physiology of domestic animals**. 13 ed.. Nova Jersey: *Wiley-Blackwell*, p. 114-136, 2015.

REIS, Sílvia R.A.; MEDRADO, Alena P.; MARCHIONNI, Antônio Márcio T.; FIGUEIRA, Cláudio; FRACASSI, Larissa D.; KNOP, Luégia A.H.. *Effect of 670-nm Laser Therapy and Dexamethasone on Tissue Repair: a histological and ultrastructural study*. **Photomedicine And Laser Surgery**, [S.l.], v. 26, n. 04, p. 307-313, ago. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/pho.2007.2151>>. 09 março de 2022.

REGO TEIXEIRA, A.; BLANCK, M; SOUZA ALMEIDA LIMA , J. de; SANTOS CRUZ , C. L. dos; FERREIRA DE OLIVEIRA , E. M.. A utilização de fitoterápicos no tratamento de feridas diabéticas: relato de caso. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, [S.l.], v. 96, n. 40, p. e-021319, 2022. Disponível em: <<https://revistaenfermagematual.com/index.php/revista/article/view/1542>>. Acesso em: 09 de março de 2022.

RIBEIRO, L. H. L.. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 05, p. 1733-1742, 30 maio 2019.

RICARDO, L. M. *et al.*. *Evidence of traditionality of brazilian medicinal plants: the case studies of Stryphnodendron adstringens (mart.) Coville (barbatimão) barks and Copaifera spp. (copaíba) oleoresin in wound healing*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 219, p. 319-336, 12 jun. 2018.

ROCHA, R. P de A.; GURJÃO, W. S; BRITO JUNIOR, L. C.. Avaliação morfológica da cicatrização de lesões ulcerativas assépticas tratadas com soluções de papaína. In: Congresso Virtual Hispanoamericano de Anatomia Patológica, v. 7, **Anais ...**, Pará, 2005.

RODRIGUES, D. F. *et al.*. Tratamento de feridas excisionais de coelhos com extrato de barbatimão associado a células mononucleares autólogas da medula óssea. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 05, p. 1243-1250, out. 2017.

SABINO, A. P. L. *et al.*. *Stryphnodendron adstringens* ("Barbatimão") Leaf Fraction: Chemical Characterization, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity Towards Human Breast Cancer Cell Lines. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 184, n. 04, p. 1375-1389, 01 abr. 2018.

SALAZAR, G. J. T. *et al.* Antioxidant Activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Stem Bark Fraction in an Iron Overload Model. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 11, 01 nov. 2021.

SANCHEZ NETO, R. *et al.*. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2 por cento. **Acta Cir. Bras.**, v. 08, n. 01, p. 18-23, 1993.

SANTANNA, L. P. GOMES. **Avaliação do reparo tecidual durante o tratamento tópico com solução de papaína em feridas de camundongos black**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Universidade Estadual de Campinas, 2015.

SANTIS, L. P. DE *et al.* Applicability of papain solutions in immunohematology. **Einstein**, v. 17, n. 02, p. eAO4328, 02 maio 2019.

SANTOS, V. R. F. DE M. *et al.*. Utilização de biomembranas à base de extrato de barbatimão e colágeno em tratamento de ferida em um cão com loxocelismo: relato de caso. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 05, n. 01, p. 696-710, 17 fev. 2022.

SANTOS, P. L. *et al.*. Surgical care dentistry immunosuppressed patients and the use of corticosteroid. **RFO**, Passo Fundo, v. 16, n. 02, p. 224-228, maio/ago. 2011.

SIMAS PEREIRA JUNIOR, L. C. *et al.*. The plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville as a neutralizing source against some toxic activities of *Bothrops jararacussu* snake

venom. **Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology**, v. 186, p. 182-190, 30 out. 2020.

STANLEY, B. J.; CORNELL, K.. *Wound healing*. In: JOHNSTON, S. P.; TOBIAS, K. M.. **Veterinary surgery small animal**. 2. ed.. Missouri: Elsevier, 2017. p. 486-529.

SILVA, C. de S. E. *et al.*. Atualização sobre o uso de papaína em feridas. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, v. 02, n. 01, p. 55-63, 10 jan. 2020.

SILVA, J. F. T. *et al.*. *The utilization of medicine plants as alternative for wound healing: a bibliographic analysis*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e468111033037-e468111033037, 07 ago. 2022.

SILVA, R. G. da.. **Avaliação do potencial cicatrizante de curativos a base de látex natural reforçados com extrato de *Stryphnodendron bartiman Mart.* na cicatrização de úlceras cutâneas**. 55 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Estadual Paulista, 2019. Disponível em: < <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/191164> >. Acesso em: 19 de abril de 2022.

SOUZA, T. M. SOUZA, TATIANA M.; MOREIRA, RAQUEL R.D.; PIETRO, ROSEMEIRE C.L.R.; ISAAC, VERA L. B.. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (mart.) coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 17, n. 01, p. 71-75, 01 mar. 2007.

STREIT, M. *et al.*. *Thrombospondin-1 suppresses wound healing and granulation tissue formation in the skin of transgenic mice*. **The Embo Journal**, v. 19, n. 13, p. 3272, 07 jul. 2000.

TACIAS-PASCACIO, V. G. *et al.*. *Immobilization of papain: a review*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 188, p. 94-113, 01 out. 2021.

TAKEO, M.; LEE, W.; ITO, M.. *Wound healing and skin regeneration*. **Cold spring harbor perspectives in medicine**, v. 05, n. 01, p. a023267, 01 jan. 2015.

TAZIMA, M. D. F. G. S.; DE ANDRADE VICENTE, Y. A. M. V.; MORIYA, T.. Biologia da ferida e cicatrização. **Biblioteca Escolar em Revista**, v. 41, n. 03, p. 259-264, 30 set. 2008.

TENIUS, F. P., IOSHII, S. O., & BIONDO-SIMÕES, M. D. L. P.. Efeitos do uso crônico da dexametasona na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 02, p. 141-149, 2007.

TREVISAN, D. A. C. *et al.*. *Antibacterial activity of Barbatimão (Stryphnodendron adstringens) against Staphylococcus aureus: in vitro and in silico studies.* **Letters in Applied Microbiology**, v. 71, n. 03, p. 259-271, 01 set. 2020.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M.. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 03, p. 519-528, 2005.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Drug information for the health care professional. 27. ed. [S. l]: Thomson Micromedex, Greenwood Village, CO., 2007. v. 1, p. 911.

YU, Gun Hee *et al.*. *A comparison of single-dose and multiple divided daily-dose oral steroids for sudden sensorineural hearing loss.* **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 85, n. 06, p. 733-738, 2019.

ANEXOS

Anexo A - Atestado de regularidade de acesso ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Atestado de Regularidade de Acesso

Cadastro nº A9DBDFE

O Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, no exercício da competência conferida pelo inciso IV do §1º do art. 6º da Lei nº 13.123/2015, atesta que o acesso ao Patrimônio Genético, referente ao cadastro abaixo identificado e resumido, cumpriu os requisitos da Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos até a data de emissão deste atestado.

Número do cadastro: **A9DBDFE**
 Usuário: **Daniela de Paula Neto**
 CPF/CNPJ: **121.125.546-89**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Título da Atividade: **Avaliação do efeito cicatrizante do barbatimão**

Equipe

Daniela de Paula Neto **Universidade Federal da Integração Latino-Americana (U**

Parceiras Nacionais

07.775.847/0001-97 / FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDER

01.367.770/0001-30 / Universidade do Estado de Mato Gr

Data do Cadastro: **26/04/2023 00:36:12**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **15:34** de **27/07/2023**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**