



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

CURSO DE ENFERMAGEM

KARINA BRITO DA COSTA

Principais dosagens de papaína utilizadas em tratamentos de feridas em fibroblastos humanos *in vitro* e suas consequências nas MMPS E TIMPS

BRASÍLIA
2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

CURSO DE ENFERMAGEM

KARINA BRITO DA COSTA

Principais dosagens de papaína utilizadas em tratamentos de feridas em fibroblastos humanos *in vitro* e suas consequências nas MMPS E TIMPS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso em Enfermagem 2 da Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Orientação: Prof.^a Dr.^a Michelle Zampieri Ipolito

BRASÍLIA

2016

Ficha catalográfica

Costa, Karina Brito da

Principais dosagens de papaína utilizadas em tratamentos de feridas em fibroblastos humanos in vitro e suas consequências nas MMPS e TIMPS – Brasília, 2016.

Trabalho e conclusão de curso apresentado na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia. Curso de enfermagem.
28p.

Orientadora: Michelle Zampieri Ipolito.

Papaína; Crescimento Celular; Matriz Extracelular; Inibidores Teciduais de Metaloproteinases.

Dedicatória

Aos meus pais e familiares, que de maneira especial e carinhosa me apoiaram em todos os momentos e não mediram esforços para ajudar na conclusão desta etapa da minha vida. Aos meus professores e amigos, pelo apoio e incentivo constantes.

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela vida e por me proporcionar a chance de buscar o crescimento profissional. Acredito que Deus cuida dos seus filhos de maneira muito especial e única, vivenciei esse cuidado durante a graduação e assim sou plenamente grata.

Aos meus pais e futuro esposo pelo cuidado, incentivo e principalmente pelo carinho. Hoje iremos colher os frutos do nosso empenho, pois essa conquista é de vocês também.

A todos os meus amigos de faculdade que tornaram esses anos mais interessantes. Agradeço pela ajuda de cada um nos momentos que foi necessário, pelo compartilhamento de conhecimento e principalmente pela amizade.

À professora orientadora Michelle pelos seus ensinamentos, que por meio deles foi possível chegar à conclusão deste trabalho. Sua inteligência e modo de pensar como profissional são para mim inspiradores.

À professora Tayse e professor Daniel pelo tempo dedicado a avaliação do meu trabalho. É um prazer tê-los na banca examinadora.

A todos os professores do curso de Enfermagem, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento do meu caráter profissional.

Principais dosagens de papaína utilizadas em tratamentos de feridas em fibroblastos humanos *in vitro* e suas consequências nas MMPS E TIMPS

Resumo

Objetivo: Avaliar o efeito da papaína na formação e degradação de componentes da matriz extracelular em cultura de fibroblastos humanos tratados com papaína 1%, 2% e 10%.

Método: Trata-se de uma pesquisa clínica, observacional, prospectiva, analítica, controlada, realizada em centro único, experimental e *in vitro*. A amostra obtida por meio de mamoplastia foi composta por 25 pacientes, divididos em 3 do grupo estudo e 1 controle, foi utilizado o método de ELISA em meio de cultura de fibroblastos dérmicos humanos primários. **Resultados:** O tecido exposto à papaína 1%, 2% e 10% com presença de MMP1 houve crescimento celular. Em MMP3 exposto à papaína 2% apresentou crescimento celular adequado comparado ao grupo controle. Em exposição à papaína 1% e 10% o crescimento foi prejudicado devido à quebra de células. O tecido com MMP-9 em exposição à papaína 2% houve considerável crescimento celular comparado ao grupo controle. Em exposição à papaína 1% e 10% gerou maior quebra celular e crescimento desfavorável. **Conclusão:** Após exposição das MMPs a diferentes concentrações da papaína, as células exposta a papaína 2% obteram crescimento celular favorável sem prejudicar o tecido utilizado. Tal constatação contribui positivamente para prática clínica dos enfermeiros na escolha da concentração de papaína adequada.

Descritores: Papaína; Crescimento Celular; Matriz Extracelular; Inibidores Teciduais de Metaloproteinases.

Descriptors: Papain; Cell Enlargement; Extracellular Matrix; Tissue Inhibitor of Metalloproteinases.

Descriptor: Papaína; Aumento de la Célula; Matriz Extracelular; Inibidores Tisulares de Metaloproteinases.

Introdução

A importância da função da barreira da pele na manutenção da água e eletrólitos impedindo a entrada de micro-organismos é fundamental à sobrevivência. Muitas funções da pele podem ser classificadas como uma forma de proteção do organismo ¹. Esta proteção torna-se ainda mais importante se forem consideradas situações em que ocorre a perda da barreira epidérmica ou descontinuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada por qualquer trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que mobiliza a defesa orgânica contra o ataque resultando em uma ferida ^{2,3}.

O tratamento á ferida é denominado curativo, consiste em prover a limpeza e aplicar cobertura em uma lesão, com o objetivo de instaurar a integridade do tecido lesionado ⁴. Essa intervenção foi modificada durante séculos com a finalidade de obter melhores resultados cicatriciais em menor tempo possível. Em uma revisão de literatura, é descrito que na pré-história vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama eram aplicados sobre as feridas. Na Mesopotâmia, elas eram lavadas com água ou leite e os curativos eram realizados com mel ou resina. Lã de carneiro, folhas e cascas eram utilizadas como cobertura ².

O uso de curativos em uma variedade de lesões é um desafio para os profissionais. A seleção do curativo é complexa e as decisões precisam ser baseadas nas condições da ferida ⁵. O enfermeiro possui uma função importante na avaliação da ferida, tornando-se necessário conhecer as melhores opções de coberturas. A prática clínica baseada em evidências colabora para adotar decisões por meio de evidências científicas que forneçam orientações para o uso adequado das coberturas ⁶.

Diariamente, são produzidas diversas coberturas para o tratamento de feridas, e uma delas é a papaína ⁶. A papaína é usada no Brasil desde 1983, provém do látex do mamoeiro *Caricapapaya*, apresenta enzimas proteolíticas e peroxidases que causam a degradação de proteínas sem alterar o tecido sadio. Possui características bactericida/bacteriostático,

antiinflamatório, desbridante químico e bioestimulante, promovendo alinhamento das fibras colágenas evitando a formação de quelóides ⁷.

Ainda que a papaína seja bastante utilizada, entre os enfermeiros, não há consentimento quanto às recomendações de seu uso. Em um estudo de revisão bibliográfica constatou-se que não foi definido um padrão de apresentação para uso da papaína ⁶. A área de tratamento de feridas pode ser amplamente investigada pelos enfermeiros, visto que atuam na realização dos curativos, porém há poucos estudos que contribuem para essa temática ⁸.

Para obter uma evolução adequada de qualquer tipo de ferida é preciso conhecer o processo cicatricial ³. As metaloproteinases (MMPs) são enzimas essenciais em todos os estágios da cicatrização, degradam os componentes da matriz extracelular (MEC) e possuem capacidade para sintetizar colágeno e alguns elementos da MEC, assim são significativas para o processo de remodelação da ferida ⁹.

A partir dos aspectos apresentados, é essencial entender e explorar conceitos sobre o processo de cicatrização em feridas, a fim de compreender a abordagem da conduta terapêutica na prática clínica. Conhecer os fatores que fazem parte da matriz extracelular e tecidual, para apreender as interações mesenquimais que ocorrem após o aparecimento da ferida é importante para o acréscimo de conhecimento e aprimoramento do atendimento as feridas.

Uso da papaína em diferentes concentrações causa impacto direto no tratamento das feridas, pois isso é necessário assegurar sua utilização correta. A combinação de tecidos e substitutos de pele com a papaína podem ser usadas para melhorar a cicatrização das feridas, bem como incorporar o benefício de uma matriz celular adequada para o crescimento dos fibroblastos, responsáveis pela cicatriz inadequada na pele. Isso poderia levar a uma redução de custos e apoiar o uso crescente desse produto específico nos pacientes com feridas.

Há interesse por parte da equipe multiprofissional em conhecer os procedimentos que envolvem o tratamento das feridas, porém são poucos os estudos para a obtenção de

conhecimento suficiente para definir protocolos baseados em evidências fortes, por isso não há consenso sobre o uso da papaína, o que continua a correr no atendimento aos pacientes é a experiência pessoal dos profissionais envolvidos. A pesquisa em feridas é pouco desenvolvida por profissionais enfermeiros com padrão internacional reconhecido.

O estudo tem como objetivo geral avaliar o efeito da papaína na formação e degradação de componentes da matriz extracelular em cultura de fibroblastos humanos tratados com papaína 1%, 2% e 10%. E objetivos específicos avaliar as metaloproteinases MMP-1, MMP-3 e MMP-9 na cultura de fibroblastos tratados com diferentes concentrações de papaína, avaliar os inibidores de metaloproteinases TIMP-1 e TIMP-2 na cultura de fibroblastos tratados com diferentes concentrações de papaína, cultivar fibroblastos dérmicos coletados e realizar o estudo estatístico com as comparações e correlações possíveis entre os resultados obtidos.

Metodologia

O estudo possui um delineamento de pesquisa clínica, observacional, prospectiva, analítica, controlada, realizada em centro único e experimental, *in vitro*. A fase experimental, *in vitro*, foi realizada com 25 pacientes, divididos em 3 do grupo estudo e 1 do grupo controle. As avaliações foram executadas no Laboratório de Cultura de Células utilizando o método de ELISA, por meio de cultura de fibroblastos dérmicos humanos primários.

O número a ser incluído no estudo foi analisado previamente com estatística para assegurar o nível de significância. Os pacientes foram inclusos neste estudo após lerem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice A). O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Brasília, de acordo com a resolução CNS 466/12 (anexo A). Foram inclusos pacientes de ambos os sexos, com faixa etária entre 18 e 65 anos e necessidade de ato operatório. Foram excluídos do estudo pacientes que não concordaram em submeter-se ao ato operatório e que apresentaram doenças de pele (psoríase, pênfigo e outras doenças bolhosas) e doenças clínicas

(colagenoses como lúpus eritematoso, esclerodermia, dermatopolimiosite, doença mista do tecido conjuntivo).

A derme foi obtida por meio do procedimento de mamoplastia, desprezada em centro cirúrgico, com fragmento de pele total de 1cm². Durante o ato operatório, a pele normal ao redor da cicatriz também é retirada parcialmente, por conta do próprio procedimento operatório.

O tecido coletado estéril foi imediatamente imerso em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Gibco, Grand, Island, NY, EUA) suplementado de 100UI/ml de penicilina e de 100µg/ml estreptomicina (Gibco, Grand, Island, NY, EUA) para o transporte até o Laboratório, e mantido à temperatura de 4°C, sendo manipulado imediatamente.

A cultura foi iniciada pelo método enzimático utilizando colagenase. O fragmento de pele foi colocado em placas de Petri estéril e adicionado à solução de colagenase estéril tipo-2 (Gibco, 17101-015) diluída em PBS (3000 unidades / ml) e três mililitros (mL) dessa solução para cada grama de tecido colocado na placa; esta ficou durante a noite em estufa a 37 °C. Após a digestão do tecido, a suspensão foi filtrada através de um filtro de cem micrometros (µm) e centrifugado a quatrocentos gramas (g) por 10 minutos e o precipitado foi ressuspensão em meio de cultura de fibroblastos constituído de meio EAGLE modificado por DULBECCO (DMEM) (alta taxa de glicose [4,5 g/L], L-glutamina [584 mg/L], piruvato de sódio [110 mg/L]), com soro fetal bovino (SFB) (Hyclone, Logan, Utah, EUA) a 20% e 1% da solução de Penicilina/Estreptomicina (100 UI/ml de penicilina e 100µg/ml de estreptomicina) (Gibco, Grand Island, NY, EUA - 21696-035) e tamponado com bicarbonato de sódio (1N), sendo o pH da solução ajustado para 7,2. As células suspensas no meio foram passadas para garrafa de cultura de vinte e cinco centímetros (cm²).

As garrafas foram mantidas em incubadora a 37°C, numa mistura gasosa de 95% de ar e 5% de dióxido de carbono, até as células atingirem a sub-confluência da garrafa. Foram

utilizados dois mililitros (mL) de meio de cultura em cada garrafa, sendo a troca do meio de cultura realizada a cada quarenta e oito horas.

Quando a confluência das células na garrafa atingir 80% foi realizada a passagem ou o sub cultivo dos fibroblastos para novas garrafas maiores setenta e cinco centímetros (cm²) e cento e cinquenta centímetros (cm²). Ao atingir a quarta passagem, as células foram utilizadas nos procedimentos. Após, as células foram marcadas com solução PBS/papaína e semeadas e tratadas com papaína de diferentes concentrações (1%, 2% e 10%). As células do grupo controle não foram tratadas com papaína.

Para avaliação da expressão de MMPs e TIMPS, um mililitro (mL) do meio de cultura foi retirado da garrafa na primeira passagem e mantido à 4°C até o momento das análises.

Os reagentes foram descongelados em temperatura ambiente. Para a avaliação da expressão das moléculas, foram feitos ensaios de ELISA para as moléculas MMP-1, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2 (Biotrakcod. RPN2610, RPN2617, RPN2614, RPN2611 e RPN2618, Amersham Biosciences, Piscataway, EUA) e diluídos em concentrações determinadas pelo fabricante e colocadas na primeira coluna da placa em um volume de cem microlitros (µl). Nas demais fileiras da placa foram adicionadas as amostras no mesmo volume.

A placa permaneceu em câmara escura durante três horas e após esse período foi lavada com solução tampão apropriada. Após, foram adicionados duzentos microlitros (µl) dos MMPs e TIMPS específicos em cada poço e retornaram para a câmara escura durante trinta minutos. A placa foi novamente lavada e recebeu duzentos microlitros (µl) do cromógeno e ficou em uma câmara escura por mais trinta minutos.

Após esse período acrescentou-se cinquenta microlitros (µl) de *solução stop*, e a placa foi levada para o aparelho de leitura. Foram realizadas duas leituras, a primeira a quatrocentos e cinquenta nanômetros (nm) e a segunda a cinco mil setecentos e dez

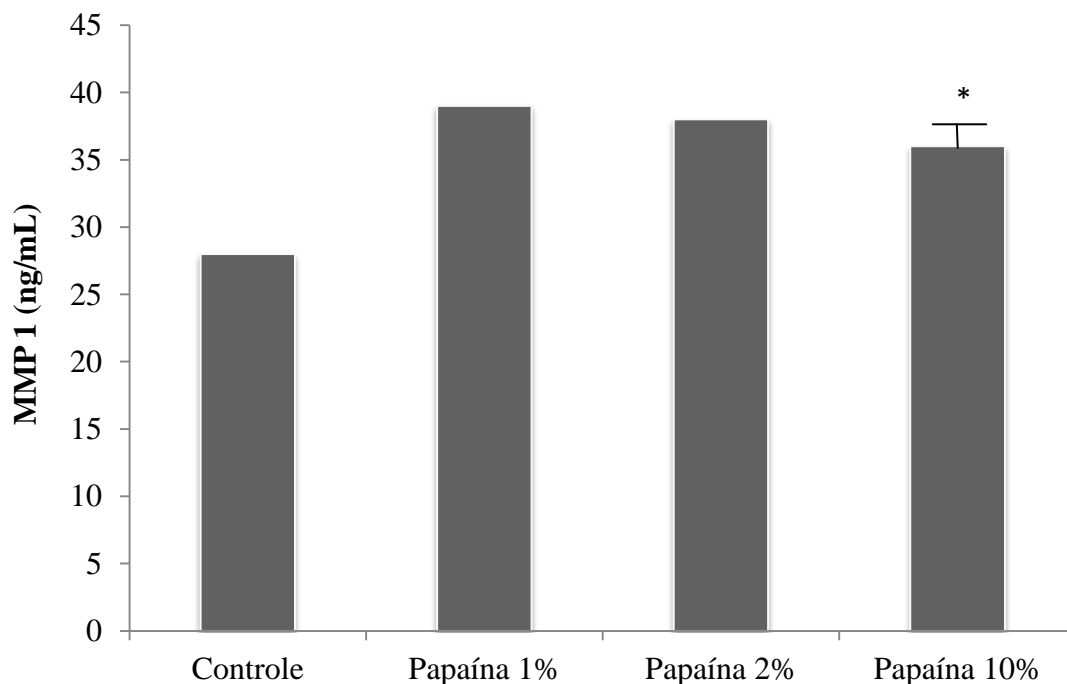
nanômetros (nm), para correção da onda. O resultado da primeira leitura foi subtraído da segunda e calculado a média dos resultados da amostra.

Para análise estatística foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon para análises pareadas e o de Friedman para análises múltiplas. O nível de significância estatística foi fixado em 0,05 e assinalado com asterisco quando os valores apresentarem diferença estatística.

Resultados

Foram analisadas as MMPs – 1, 3 e 9 e as TIMPs – 1 e 2 em exposição às seguintes concentrações de papaína 1%, 2% e 10%, sempre comparadas a um grupo controle (quando não há exposição da papaína).

Gráfico 1 - Metaloproteinase 1 (MMP 1). São Paulo, SP, Brasil, 2015.



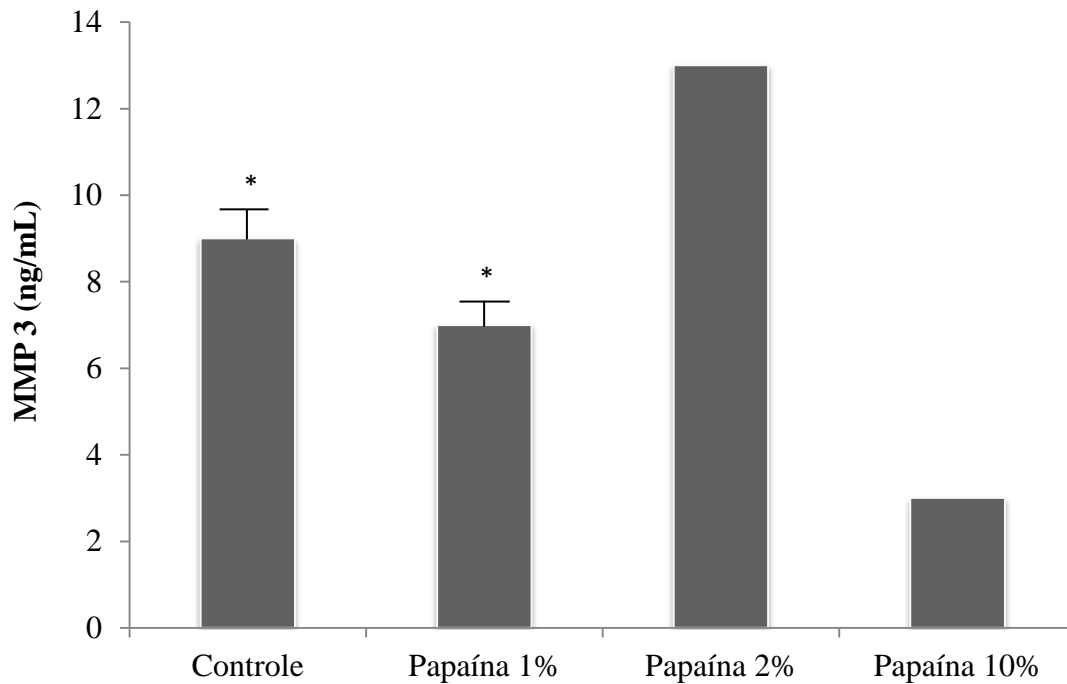
Valor de p: 0,001.[†]

Os resultados obtidos revelam que no tecido exposto à papaína 1% e 2% havia concentração de aproximadamente 40 ng/mL de MMP1 e em papaína 10% aproximadamente

[†] Valor de p: 0,001

4 ng/mL de MMP1. Em todos os casos o crescimento celular não foi prejudicado quando comparado ao grupo controle.

Gráfico 2 - Metaloproteinases 3 (MMP 3). São Paulo, SP, Brasil, 2015.



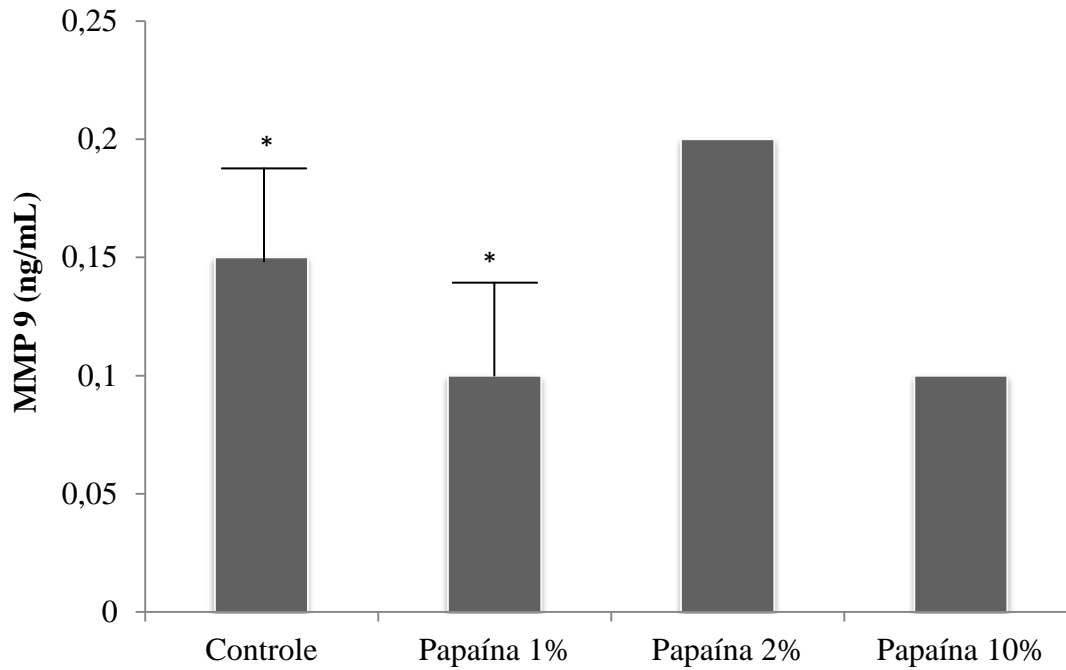
Fator de diluição = 2; Valor de p: 0,001. ‡

O tecido com presença de MMP3 em exposição á papaína 2% apresentou aproximadamente 14ng/mL de MMP3, onde houve crescimento celular adequado comparado ao grupo controle. Em exposição à papaína 1% aproximadamente 7ng/mL gerando pouco efeito considerável e papaína 10% aproximadamente 3ng/mL, com crescimento celular prejudicado devido à quebra de células.

Abaixo, o gráfico 3 mostra que o tecido com presença de MMP-9 obteve os seguintes resultados. Em exposição à papaína 2% havia aproximadamente 0,2ng/mL de MMP9 gerando maior crescimento celular comparado ao grupo controle. Em exposição à papaína 1% e 10% aproximadamente 0,1ng/mL de MMP9 conferindo maior quebra celular e crescimento desfavorável.

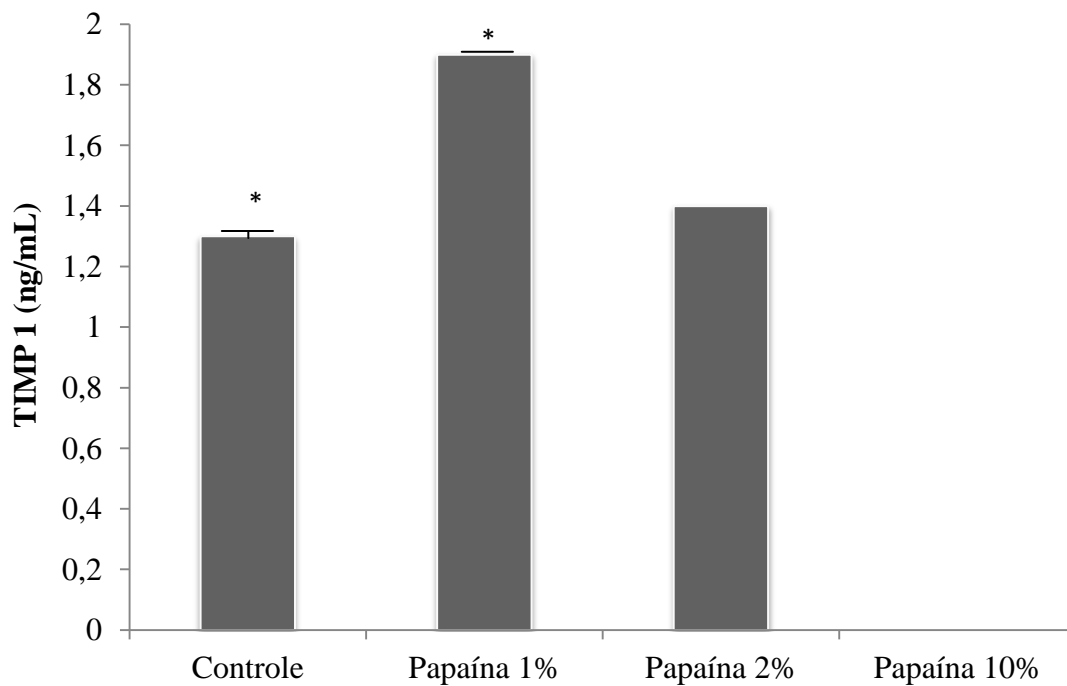
‡ Fator de diluição = 2; Valor de p: 0,001.

Gráfico 3 - Metaloproteínase 9 (MMP 9). São Paulo, SP, Brasil, 2015.



Fator de diluição = 100; Valor de p: 0,001.[§]

Gráfico 4 – Inibidores Teciduais de Metaloproteínases 1 (TIMP 1). São Paulo, SP, Brasil, 2015.

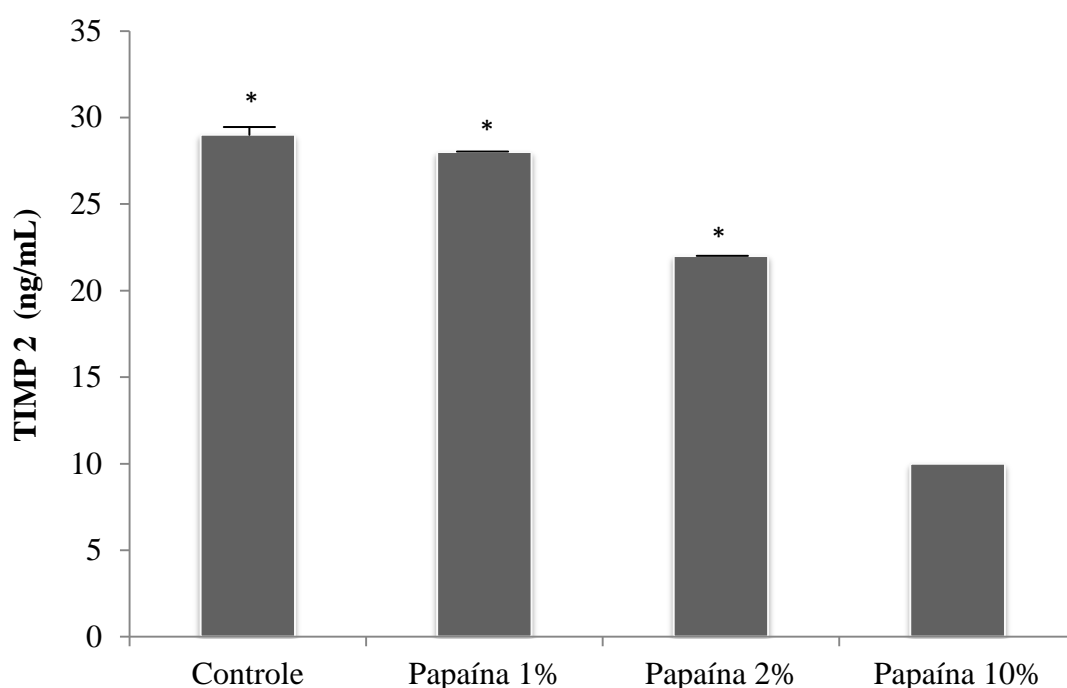


Fator de diluição = 100; Valor de p: 0,001. ||

[§]|| Fator de diluição = 100; Valor de p: 0,001.

Sobre a TIMP-1 exposta a papaína 1% houve concentração de aproximadamente 2.0 ng/mL, isso refere que houve maior presença de TIMP para controlar a MMP, esse efeito é benéfico pois a regeneração tecidual precisa ser contida para evitar a formação de cicatriz hipertrófica . Na exposição a papaína 2% apresenta em média 1.4 ng/mL da enzima, nesse caso a quantidade de TIMP para regulação é menor e isso pode gerar a formação de hipertrofia do tecido sadio. Quando exposto a papaína de maior concentração (10%) o crescimento celular foi nulo comparado as outras concentrações e ao grupo controle, nesse caso as proteínas da papaína 10% quebraram as TIMP 1 resultando na ausência do crescimento celular.

Gráfico 5 – Inibidores Teciduais de Metaloproteinases 2 (TIMP 2). São Paulo, SP, Brasil, 2015.



Valor de p: 0,0001. ¶

Na TIMP 2 o crescimento celular foi decrescente, partindo da menor para a maior (1%, 2% e 10%) concentração de papaína. Os valores de TIMP-2 presentes são de aproximadamente 30 ng/mL, 20 ng/mL e 10 ng/mL, respectivamente. O grupo controle

¶ Valor de p: 0,0001.

mostra-se com maior taxa de desenvolvimento celular comparado aos outros grupos, e a quantidade de TIMP vai diminuindo à medida que aumenta a concentração de papaína, sendo um efeito negativo para o tecido de granulação, pois sem a TIMP seu crescimento torna-se desordenado.

Discussão

As metaloproteinases (MMPs), do inglês “matrix metalloproteinases” podendo ser chamadas de matrixinas. Formam uma família de endopeptidases metaldependentes secretadas na forma inativa com zinco no sítio ativo. As MMPs desempenham um importante papel em muitos processos biológicos, tais como a remodelação do tecido normal e a cicatrização de feridas, além de degradar a matriz extracelular¹⁰.

A participação das MMPs nesses processos ocorre devido ao seu potencial de influenciar o comportamento celular por meio de algumas ações, tais como, como clivagem de proteínas que fazem a adesão célula–célula, liberação ou clivagem de moléculas bioativas na superfície celular as quais transmitem sinais para o ambiente extracelular¹¹.

Atualmente, existem em média 25 tipos de MMPs humanas agrupadas conforme sua estrutura e substrato específico como: colagenases (MMP-1,8 e 13), gelatinases (MMP-2 e 9), estromelisinases (MMP-3, 7 e 10), matrilisinas (MMP-7 e 26), MMPs tipo membrana (MMP-14, 15, 16, 17 e 24) e outras MMPs, sendo secretados como proenzima, e liberadas por neutrófilos, monócitos, macrófagos e fibroblastos. As Gelatinase B (MMP-9) e gelatinase A (MMP-2) estão relacionadas à família MMP que degrada colágeno desnaturado ou gelatinas^{12,13}.

As MMPs são componentes fundamentais para a modulação da MEC normal. A alteração desse processo pode resultar no desenvolvimento de algumas doenças. Por isso, a funcionalidade dos inibidores proteicos teciduais (TIMPs) deve estar íntegra, pois alguns

estudos revelam que a ausência desses inibidores leva a complicações orgânicas. Os TIMPs são moléculas endógenas que regulam a atividade das MMPs¹⁴.

As MMPs estudadas possuem os seguintes sinônimos e substratos, respectivamente. MMP-1: colagenase 1; colágeno tipo 1. MMP-3: estromelina 1; proteoglicanos, procolágeno, colágeno X e XI. MMP-9: gelatinase B; plasminogênio e colágeno IV¹¹.

O processo de cicatrização envolve eventos celulares e bioquímicos a fim de promover a reparação tecidual após a lesão. As MMPs são enzimas fundamentais que participam desses eventos. Uma falha na regulação do processo de cicatrização pode ocasionar em sua produção exagerada, como por exemplo, formação de quelóide e cicatrizes hipertróficas^{15, 16}.

Durante a fase inflamatória ocorre extravasamento de vários componentes do plasma sanguíneo para o meio extracelular, incluindo a MMP-9. Nesse momento a MMP-9 presente nos grânulos de macrófagos e neutrófilos é liberada no local da injúria. A limpeza do leito da ferida favorece a constituição do tecido de granulação, que é formado pela angiogênese e a migração de fibroblastos, dando início a fase proliferativa depositando colágeno para formação da MEC. Assim, é essencial que nessa fase ocorra o controle entre a ação de inibição da MMP¹⁷.

A fase de remodelação é caracterizada por uma nova matriz colagenosa. As MMPs contribuem na migração de fibroblastos na MEC e no leito da ferida. Além disso, estudos mostram que o aumento da produção de MMPs favorece a contração do colágeno mediada por fibroblastos, levando ao fechamento da ferida⁹.

Em feridas crônicas, as MMPs podem ser encontradas em grande quantidade e isso resulta numa falha na cicatrização. Esses elevados níveis podem gerar uma degradação descontrolada levando a formação de novos componentes da MEC e prejudicar a formação de elementos proteicos essenciais para a cicatrização. O comportamento adequado das MMPs seria um pico durante a fase de cicatrização e um declínio durante o aparecimento do tecido

de granulação. Por essa razão a atividade enzimática das MMPs deve ser devidamente controlada através de TIMPs¹⁸.

O desbridamento enzimático, efeito gerado pela papaína, consiste em degradar o tecido necrosado e favorecer o crescimento do tecido de granulação. A papaína possui ação proteolítica (protease), ou seja, possui a capacidade de quebrar ligações peptídicas entre aminoácidos. As proteases são classificadas de acordo com o mecanismo usado para clivar uma ligação peptídica, entre elas, está a MMP que tem a capacidade de degradar o grupo carbonil da ligação peptídica¹⁹.

Conclusão

As MMPs fazem parte de vários processos do organismo, inclusive na cicatrização de feridas. Para isso é necessário ocorrer um adequado controle entre as MMPs e os TIMPs, pois a atividade desregulada das MMPs provoca uma excessiva degradação ou acúmulo de elementos que constituem a MEC prejudicando a evolução do processo cicatricial das feridas.

Assim, a atividade das MMPs foi regulada de maneira adequada pela TIMP 1 quando exposta a papaína 1%, porém as proteínas da papaína 10% degradaram a TIMP 1 levando a ausência do crescimento celular.

Como mostra o estudo, a atividade das MMPs apresentaram resultados variados após sua exposição a diferentes concentrações da papaína, as células exposta a papaína 2% resultaram em maior desenvolvimento celular minimizando a possibilidade de quebra das células viáveis. Os achados obtidos contribuem positivamente para a prática clínica dos enfermeiros para basear a escolha das diferentes concentrações de papaína de acordo com os tecidos encontrados nas feridas.

Várias informações a respeito das MMPs e TIMPS podem ser encontradas, entretanto a função dessas enzimas ainda pode ser investigada, pois suas ações são bastante complexas e diversificadas.

Referências bibliográficas

- 1 - OLIVEIRA, R. A. A Pele nos Diferentes Ciclos da Vida. In: **Manual para prevenção de lesões de pele: recomendações baseadas em evidências**. Rio de Janeiro: Rubio, 2012.
- 2 - ANDRADE, M. N. B; SEWARD, R; MELO, J. R. C. Curativos. **Rev. de Medicina Minas Gerais**, v. 2, p. 228-236. 1992.
- 3 – LACERDA, L. A. do; CARNEIRO, A. C; OLIVEIRA, A. F. de; GRAGNANI, A. F, MASAKO, L. Estudo epidemiológico da Unidade de Tratamento de Queimaduras da Universidade Federal de São Paulo. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 9, n. 3, p. 82-8. 2010.
- 4 - DECLAIR, V. Tratamento de úlceras crônicas de difícil cicatrização com ácido linoléico. **Rev. Bras. Med.** v. 82, n.6, p. 3-7.jun. 2002.
- 5 - FAN, K; TANG, J; ESCANDON, J; KIRSNER, R.S. State of the art in topical wound-healing products. **Plast. Reconstr. Surg**, v. 127, n.1, p. 44-59.2011.
- 6 - LEITE, A. P; OLIVEIRA, B. G. R. B; SOARES, M. F; DESIRÉE, L. R. B. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Rev. Gaúcha Enferm.** v. 33, n. 3, p. 198-207. 2012.
- 7 - MONETTA L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. **Rev. Bras. Enferm.** v. 40, p. 66-73.1987.
- 8 - PEREIRA, L. A; BACHION, M. M. Tratamento de feridas: análise da produção científica publicada na revista brasileira de enfermagem de 1970-2003. **Rev. Bras. Enferm.** v. 58, n. 2, p. 208-13, mar.-abr. 2005.
- 9 - WANG, W. et al. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. **Circulation Dallas**, v. 106, n. 12, p. 1543-1549. 2002.
- 10 - CURRAN, S. MURRAY, G. I. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumor invasion and metastasis. **Europ J. of Cancer**. v. 36. p. 1261-630. 2000.

- 11 - ARAÚJO, R. V. S. de; SILVA, F. O; JÚNIOR, M. R. M; PORTO, A. L. F. Metaloproteinases: aspectos fisiopatológicos sistêmicos e sua importância na cicatrização. **Rev. de Ciências Médicas e Biológicas**. v. 10, n. 1, p. 82-88.jan./abr. Salvador, 2011.
- 12 - THOMAS, G. T. LEWIS, M. P. SPEIGHT, P. M. Matrix metalloproteinases and oral cancer. **Oral Oncol.**v. 35, p. 227-33. 1999.
- 13 - WOESSNER, J. F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. **FASEB J.**, Bethesda, v. 5, n. 8, p.2145-2154, 1991.
- 14 - SIEREVOGEL, M. J. et al. Matrix metalloproteinases: a therapeutic target in cardiovascular disease. **Curr. Pharm. Des.**, Schiphol, v. 9, n. 13, p. 1033-1040, 2003.
- 15 - KAPOOR, M.; APPLETON, I. Wound healing: Abnormalities and future therapeutic targets. **Curr Anaesth Crit Care**. Edinburgh, v.16, n. 2, p. 88-93, 2005.
- 16 - ROBLES, D. T.; BERG, D. Abnormal Wound Healing: Keloids. **Clin. Dermatol.** Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 26-32, 2007.
- 17 - DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Front. Biosci.**, Tampa, v. 9, n. 1,p. 283-289, 2004.
- 18 - OVINGTON, L. The art and science of wound dressings in the twenty-first century. In: FALABELLA, A. F; KIRSNER, R.S. **Wound Healing Boca Raton, Fla:** Taylor & Francis Group, 2005.
- 19 - RAMUNDO, J. GRAY, M. Enzymatic wound debridement. **J. Wound Ostomy Continence Nurse**. v. 35, n.3, p. 273-80, 2008.

DECLARAÇÃO

À Biblioteca da Universidade de Brasília - Faculdade de Ceilândia Eu, professora Michelle Zampieri Ipolito, matrícula FUB nº1063839, na qualidade de orientador do Trabalho de Conclusão de Curso de Enfermagem (TCCE) do(a) acadêmica Karina Brito da Costa, matrícula nº 10/0109004, intitulado "Principais dosagens de papaína utilizadas em tratamentos de feridas em fibroblastos humanos *in vitro* e suas consequências nas MMPS e TIMPS", declaro que não autorizo a publicação impressa ou digital do referido trabalho, visto se tratar de um artigo científico ainda não publicado.
Ceilândia, 21 de junho de 2016.



(Assinatura Professor Orientador)

Revista Latino-Americana de Enfermagem Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto.
Universidade de São Paulo Av. dos Bandeirantes, 3900. Bairro Monte Alegre. CEP:
14.040-902 Ribeirão Preto, SP, Brasil. Fone: 55 (16) 3315-4407/3315-3451 Suporte
submissão: author@eerp.usp.br

Instruções aos autores	
Preparo do artigo	
Formato de arquivo.....	1
Estrutura.....	1
Papel	1
Quantidade de páginas	1
Formatação	1
Título	1
Resumo	1
Descritores	2
Nome das Seções Introdução, Método, Resultados, Discussão e Conclusão	2
Introdução	2
Método	2
Resultados	2
Discussão	2
Conclusão	2
Tabelas	2
Figuras	3
Citações no texto	4
Siglas	4
Falas de sujeitos	4
Notas de Rodapé	4
Referências	4
Ensaio clínico randomizado, Revisões sistemáticas, Metanálises, Estudos observacionais em epidemiologia e Estudos qualitativos	5
Estudos de tradução e validação de instrumentos	5

Preparo do artigo

Formato de arquivo

- . doc ou docx (MS Word)

New!

Estrutura

- . Título somente no idioma do artigo
- . Resumo somente no idioma do artigo
- . Descritores em português
- . Descritores em inglês
- . Descritores em espanhol
- . Introdução
- . Método
- . Resultados
- . Discussão
- . Conclusão
- . Referências

Os Agradecimentos deverão constar apenas na Title Page.

Embora se respeite a criatividade e estilo dos autores a revista sugere o uso das seções convencionais Introdução, Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão.

Papel

- . A4
- . Margens superiores, inferiores e laterais de 2,5cm.

Quantidade de páginas

- . Artigos Originais: 17 págs. (incluindo resumo, tabelas, figuras e referências).
- . Artigos de Revisão: 25 págs. (incluindo resumo, tabelas, figuras e referências).
- . Numeração de páginas não é permitida.

New!

Formatação

- . Fonte Times New Roman 12 (em todo o texto, inclusive nas tabelas).
- . Espaçamento duplo entre linhas desde o título até as referências, com exceção das tabelas.
- . Formatação não permitida no meio do texto: negrito, sublinhado, caixa alta, lista numeradas ou lista com marcadores do MS Word. Para destaques utilizar itálico. Obs: entende-se por meio do texto os parágrafos e não o título do artigo, seções e subseções.

New!

Título

- . Conciso e informativo com até 15 palavras. Excepcionalmente poderão conter até 25 palavras.
- . Somente no idioma do artigo e não mais em três idiomas.
- . Negrito
- . Itens não permitidos: caixa alta, siglas e localização geográfica da pesquisa.

New!

Resumo

O resumo é um item de apresentação do artigo e de fundamental importância na decisão do leitor em acessar o texto completo e o referenciar, por isso, especial atenção deve ser direcionada à sua apresentação.

O resumo deve ser a versão condensada do texto completo e suas informações devem assegurar a clareza do texto e a fidedignidade dos dados, jamais apresentando dados divergentes do texto.

O *Objetivo* deve ser claro, conciso e descrito no tempo verbal infinitivo. Exemplos: analisar, relacionar, comparar, conhecer.

O *Método* deve conter informações suficientes para que o leitor possa entender a pesquisa. Os estudos descritivos devem apresentar o tipo de estudo, amostra, instrumento e o tipo de análise. Os estudos analíticos também devem acrescentar o número de sujeitos em diferentes grupos, desfecho primário, tipo de intervenção e o tempo do estudo.

Os *Resultados* devem ser concisos, informativos e apresentar principais resultados descritos e quantificados, inclusive às características dos sujeitos e análise final dos dados.

As *Conclusões* devem responder estritamente aos objetivos, expressar as considerações sobre as implicações teóricas ou práticas dos resultados e

conter três elementos: o resultado principal, os 2 resultados adicionais relevantes e a contribuição do estudo para o avanço do conhecimento científico.

Os *Ensaio clínico* devem apresentar o número do registro de ensaio clínico ao final do resumo.

Itens não permitidos: siglas, exceto as reconhecidas internacionalmente, citações de autores, local do estudo e ano da coleta de dados.

. Somente no idioma do artigo e não mais em três idiomas

. Estruturado em Objetivos, Método, Resultados e Conclusão.

. Redigido em um único parágrafo

. Fonte Times New Roman 12, espaçamento duplo entre linhas.

. Até 200 palavras

Descritores

. Descritores em português

. Descritores em inglês

. Descritores em espanhol

. Selecionados da lista de Descritores em Ciências da Saúde ou Mesh.

. Mínimo de 3 e máximo de 6.

. Separados entre si por ponto e vírgula.

. Primeiras letras de cada palavra do descritor em caixa alta, exceto artigos e preposições.

Nome das Seções Introdução, Método, Resultados, Discussão e Conclusão

New!

. Negrito

. Caixa alta somente na primeira letra

. Itens não permitidos: itálico, caixa alta, excessivas subseções, subseções com nomes extensos, listas numeradas e listas com marcadores do MS Word.

Introdução

Deve ser breve, definir claramente o problema estudado, destacando sua importância e as lacunas do conhecimento. Incluir referências atualizadas e de abrangência nacional e internacional.

Método

Deve informar o método empregado, a população estudada, a fonte de dados e os critérios de seleção devem ser descritos de forma objetiva e completa.

Resultados

Devem estar limitados somente a descrever os resultados encontrados sem incluir interpretações ou comparações. O texto complementa e não repete o que está descrito em tabelas e figuras. Para artigos quantitativos é necessário apresentar os resultados separados da discussão.

Discussão

A Discussão deve enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões que advêm deles. Não repetir em detalhes os dados ou outras informações inseridos nas seções: Introdução ou Resultados. Para os estudos experimentais, é útil começar a discussão com breve resumo dos principais achados, depois explorar possíveis mecanismos ou explicações para esses resultados, comparar e contrastar os resultados com outros estudos relevantes.

Conclusão

A Conclusão deve responder aos objetivos do estudo, restringindo-se aos dados encontrados. Evitar afirmações sobre benefícios econômicos e custos, a não ser que o artigo contenha os dados e análise econômica apropriada. Estabelecer novas hipóteses quando for o caso, mas deixar claro que são hipóteses. Não citar referências bibliográficas.

New!

Tabelas

Título

Informativo, claro e completo indicando o que se pretende representar na tabela.

Conter:

. a distribuição “do que / de quem”

. de acordo com “o que” ela foi realizada
. cidade, sigla do Estado, país, ano da coleta de dados.

Exemplo: Tabela 1 - Distribuição das mulheres submetidas à quimioterapia para câncer de mama, segundo idade, cor, estado civil e escolaridade. Fortaleza, CE, Brasil, 2010.

. Localizado acima da tabela

Formatação

. Elaboradas com a ferramenta de tabelas do MS Word

. Dados separados corretamente por linhas e colunas de forma que cada dado esteja em uma célula

. Traços internos somente abaixo e acima do cabeçalho e na parte inferior tabela

. Fonte Times New Roman 12, espaçamento simples entre linhas.

Formatação não permitida

. Quebras de linhas utilizando a tecla Enter

. Recuos utilizando a tecla Tab

. Espaços para separar os dados

. Caixa alta

. Sublinhado

. Marcadores do MS Word

. Cores nas células

Cabeçalho

. Negrito

. Sem células vazias

Tamanho

. Evitar tabelas com mais de uma página

. Tabelas de apenas uma ou duas linhas devem ser convertidas em texto

Quantidade

. Até 5 itens entre tabelas e figuras

Menção no texto

. Obrigatória. Ex: conforme a Tabela 1

Inserção no texto

. Logo após a primeira menção no texto e não no final do artigo ou em arquivos separados

Notas de rodapé

. Restritas ao mínimo necessário

. Indicadas pelos símbolos sequenciais *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, apresentando-os tanto no interior da tabela quanto na nota de rodapé da mesma, e não somente em um dos dois lugares.

Siglas

. Restritas ao mínimo necessário

. Descritas por extenso em nota de rodapé da tabela utilizando os símbolos sequenciais

*, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡

Valores monetários

Podem ser apresentados em dólares ou em salários mínimos da época e do país da pesquisa. Se apresentados em dólares deve-se informar a cotação e a data da cotação em nota de rodapé da tabela, se apresentados em salários mínimos deve-se informar o valor do salário mínimo, a data e o país também em nota de rodapé.

Figuras

New!

São figuras:

Quadros, gráficos, desenhos, esquemas, fluxogramas e fotos.

Título

. Localizado abaixo da figura

Quadros

. São semelhantes às tabelas, porém contém dados textuais e não numéricos, são fechados nas laterais e contém linhas internas.

. Quando construídos com a ferramenta de tabelas do MS Word poderão ter o tamanho máximo de uma página, e não somente 16x10cm como as demais figuras.

. Fonte Times New Roman 12, espaçamento simples entre linhas.

. Autorização da fonte quando extraídos de outros trabalhos, indicando-a em nota de rodapé da figura.

Gráficos

. Não devem repetir os dados representados nas tabelas

. Plenamente legíveis e nítidos

. Tamanho máximo de 16x10cm

. Em tons de cinza e não em cores

. Vários gráficos em uma só figura só serão aceitos se a apresentação conjunta for indispensável à interpretação da figura

Desenhos, esquemas e fluxogramas.

. Construídos com ferramentas adequadas, de preferência com a

intervenção de um profissional de artes gráficas

- . Lógicos e de fácil compreensão
- . Plenamente legíveis e nítidos
- . Em tons de cinza e não em cores
- . Tamanho máximo de 16x10cm
- . Autorização da fonte quando extraídos de outros trabalhos, indicando-a em nota de rodapé da figura.

Fotos

- . Em alta resolução (mínimo de 900 dpi)
- . Plenamente legíveis e nítidas
- . Tamanho máximo de 16x10cm
- . Em preto e branco e não em cores
- . Fotos contendo pessoas devem ser tratadas para que as mesmas não sejam identificadas

Quantidade

- . Até 5 itens entre tabelas e figuras

Menção no texto

- . Obrigatória. Ex: conforme a Figura 1

Inserção no texto

- . Logo após a primeira menção no texto e não no final do artigo ou em arquivos separados

Siglas

- . Restritas ao mínimo necessário
- . Descritas por extenso em nota de rodapé da figura utilizando os símbolos sequenciais *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡

Notas de rodapé

- . Apresentadas entre a figura e o seu título
- . Indicadas pelos símbolos sequenciais *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, apresentando-os tanto no interior da figura quanto na nota de rodapé da mesma, e não somente em um dos dois lugares.

Formato e resolução para publicação

Poderá ser solicitado pela revista o reenvio da figura em alta resolução (mínimo de 900 dpi) e em formato de arquivo TIFF (sugere-se a intervenção de um profissional de artes gráficas).

Citações no texto

Formatação

- . Números arábicos, sobrescritos, entre parênteses e em ordem crescente iniciando na citação 1. Ex: (1)
- . Ordenadas consecutivamente, sem pular referência

Citações de referências sequenciais

- . Separadas por traço e não por vírgula, sem espaço entre elas. Ex: (5-9)

Citações de referências intercaladas

- . Separadas por vírgula, sem espaço entre elas. Ex: (8,14)

Local de inserção

- . Quando inseridas ao final do parágrafo ou frase devem estar antes do ponto final e quando inseridas ao lado de uma vírgula devem estar antes da mesma

Citações “ipsis literes”

- . Entre aspas, sem itálico, tamanho 12, na seqüência do texto.

Itens não permitidos

- . Espaço entre a citação numérica e a palavra que a antecede
- . Indicação da página consultada
- . Nomes de autores, exceto os que constituem referencial teórico
- . Citações nas Conclusões

Siglas

New!

- . No texto: descritas por extenso na primeira vez em que aparecem
- . Nas tabelas e nas figuras: o mínimo necessário, descritas por extenso em nota de rodapé utilizando os símbolos sequenciais *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡
- . Não são permitidas no título do artigo e no resumo

Falas de sujeitos

- . Itálico, fonte Times New Roman tamanho 10, sem aspas, na seqüência do texto
- . Identificação da fala: obrigatória, codificada, apresentada ao final de cada fala entre parênteses e sem itálico

New!

Notas de Rodapé

- . No texto: indicadas por asterisco, iniciadas a cada página, restritas ao mínimo necessário
- . Nas tabelas e figuras: indicadas pelos símbolos sequenciais

*,†,‡,§,||,¶,**,††,‡‡ apresentando-os tanto no interior da tabela quanto na nota de rodapé, e não somente em um dos dois lugares.

. Nas figuras que são imagens deverão estar em formato de texto e não no interior da imagem

Referências

. Estilo Vancouver

. Artigos Originais: até 25 referências

. Artigos de Revisão: sem limite máximo

. Referências com mais de 6 autores: seis primeiros seguidos de et al.

. Referências da RLAE citadas em inglês.

Ensaio clínico randomizado, Revisões sistemáticas, Metanálises, Estudos observacionais em epidemiologia e Estudos qualitativos

New!

A RLAE apoia a iniciativa do ICMJE e da Rede EQUATOR destinadas ao aperfeiçoamento da apresentação dos resultados de pesquisa e, portanto, adota a utilização de guias internacionais que orientam os autores na preparação dos artigos de ensaios clínicos randomizados, revisões sistemáticas, metanálises, estudos observacionais em epidemiologia e estudos qualitativos. Os guias internacionais são compostos por checklists e fluxogramas publicados nas declarações internacionais CONSORT (ensaio clínico randomizado), PRISMA (revisões sistemáticas e metanálises), STROBE (estudos observacionais em epidemiologia) e COREQ (estudos qualitativos) e seu uso na preparação do artigo pode aumentar o potencial de publicação e, uma vez publicado, aumentar a utilização da referência em pesquisas posteriores.

Ensaio clínico randomizado, Revisões sistemáticas e Metanálises

.Utilizar os checklists e fluxogramas na preparação do artigo, preenchê-los e enviá-los à revista no momento da submissão.

Estudos observacionais em epidemiologia e Estudos qualitativos

.Utilizar os checklists e fluxogramas na preparação do artigo, não preenchê-los e nem enviá-los no momento da submissão.

Links para download dos checklists e fluxogramas

.Ensaio clínico randomizado: checklist e fluxograma CONSORT em MS Word

.Revisões sistemáticas e metanálises: checklist e fluxograma PRISMA em MS Word

.Estudos observacionais em epidemiologia: checklist STROBE em pdf

.Estudos qualitativos: checklist COREQ publicado Int. Journal for Quality in Health Care em 2007 em formato de tabela no estudo *Consolidated criteria for reporting qualitative research (COREQ): a 32-item checklist for interviews and focus groups*.

New!

Estudos de tradução e validação de instrumentos

Nas versões inglesa e espanhola, os estudos de tradução e validação de instrumentos devem preservar os itens do instrumento em português, idioma em que o estudo foi realizado.

