



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM

Luís Antônio Batista Tonaco

**ENSAIO CLÍNICO DE FASE II DA AÇÃO CICATRIZANTE CUTÂNEA DE
FRAÇÃO PROTEOLÍTICA DO LÁTEX DE *Vasconcellea Cundinamarcensis* EM
ÚLCERAS EM PÉS DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES**

Belo Horizonte

2017

Luís Antônio Batista Tonaco

**ENSAIO CLÍNICO DE FASE II DA AÇÃO CICATRIZANTE CUTÂNEA DE
FRAÇÃO PROTEOLÍTICA DO LÁTEX DE *Vasconcellea Cundinamarcensis* EM
ÚLCERAS EM PÉS DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Linha de pesquisa: Prevenção e controle de agravos à saúde.

Orientador: Prof. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez

Co-orientadora: Profa. Flávia Sampaio Latini Gomes

Belo Horizonte

2017

T663e Tonaco, Luís Antônio Batista.
Ensaio clínico de fase II da ação cicatrizante cutânea de fração
protoelítica do látex de *Vasconcellea Cundinamarcensis* em úlceras em
pés de pacientes portadores de diabetes [manuscrito]. / Luís Antônio
Batista Tonaco. -- Belo Horizonte: 2017.
99f.: il.
Orientador: Jorge Gustavo Velásquez Meléndez.
Coorientador: Flávia Sampaio Latini Gomes.
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola
de Enfermagem.
1. Pé Diabético. 2. Cicatrização. 3. Peptídeo Hidrolases. 4. Caricaceae.
5. Ensaio Clínico Controlado Aleatório. 6. Dissertações Acadêmicas. I.
Velásquez Meléndez, Jorge Gustavo. II. Gomes, Flávia Sampaio Latini. III.
Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WK 835

ATA DE NÚMERO 542 (QUINHENTOS E QUARENTA E DOIS) DA SESSÃO PÚBLICA DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO APRESENTADA PELO CANDIDATO LUÍS ANTÔNIO BATISTA TONACO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENFERMAGEM.

Aos 23 (vinte e três) dias do mês de junho de dois mil e dezessete, às 14:00 horas, realizou-se no Anfiteatro da Pós-Graduação - 432 da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, a sessão pública para apresentação e defesa da dissertação "*ENSAIO CLÍNICO DE FASE II DA AÇÃO CICATRIZANTE CUTÂNEA DE FRAÇÃO PROTEOLÍTICA DO LÁTEX DE *Vasconcellea cundinamarcensis* EM ÚLCERA NEUROPÁTICA*", do aluno **Luís Antônio Batista Tonaco**, candidato ao título de "Mestre em Enfermagem", linha de pesquisa "Promoção da Saúde, Prevenção e Controle de Agravos". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes professores doutores: Jorge Gustavo Velásquez Meléndez (orientador), Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz e Ana Cândida Araújo e Silva, sob a presidência do primeiro. Abrindo a sessão, o Senhor Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

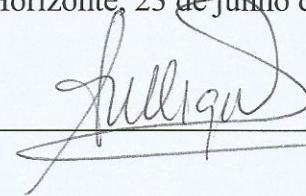
() APROVADA;

(X) APROVADA COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;

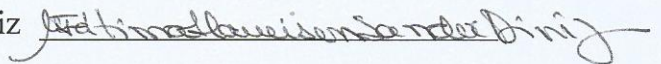
() REPROVADA.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Senhor Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Andréia Nogueira Delfino, Secretária do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 23 de junho de 2017.

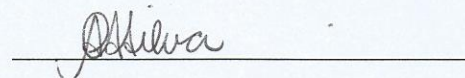
Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez
Orientador (Esc.Enf/UFMG)



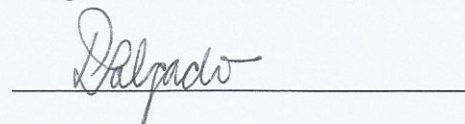
Profª. Drª. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz
(Faculdade de Medicina/UFMG)



Profª. Drª. Ana Cândida Araújo e Silva
(UFVJM)



Patrícia Prata Salgado
Servidora do Colegiado de Pós-Graduação



“Este trabalho é vinculado ao Núcleo Interdisciplinar de Estudos e Pesquisa em Epidemiologia (NIEPE) da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais”.

Á minha mãe **Jalma**, irmã **Ana Luiza** e minha avó **Geralda**.

EPÍGRAFE

“Mas se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor... O melhor vai se instalar em nossa vida. Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura”.

Carlos Drummond de Andrade

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo dom da vida, pela oportunidade de buscar o conhecimento e por permitir mais essa conquista em minha vida.

Ao meu orientador e interlocutor, **Prof. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez**, que me convidou em diversos momentos ao exercício do deslocamento, do abrir as janelas para o novo, para outras possibilidades e, principalmente, por compreender meu tempo e meus limites.

À minha co-orientadora **Profa. Flávia Sampaio Latini Gomes**, pelo aceite, empenho e desafio de co-orientar-me. Obrigado pelos ensinamentos, exemplo de competência, cooperação e carinho.

À **Profa. Miriam Teresa Paz Lopes**, minha “co-orientadora”, pela confiança que depositou em mim para desenvolver este trabalho e toda sua equipe do Laboratório de Substâncias Antitumorais (LSAT).

Ao meu tripé de existência: minha mãe **Jalma**, minha irmã **Ana Luiza** e minha avó **Geralda**, por sempre acreditarem nos meus sonhos, abrindo mão dos seus próprios para que eu pudesse realizar os meus. Obrigado pelo amor incondicional, pelo incentivo e torcida e por me apoiarem em todos os momentos de minha vida.

Ao **Oswaldo** (*in memoriam*), quem considero como Pai, por sempre ter lutado para concretização dos meus sonhos.

Ao **Marco**, pelo companheirismo e companhia durante esse processo. Obrigado pela paciência, cuidado, pelos convites para sentir a brisa lá fora e pelas gostosas risadas e delicadezas que permeiam esse nosso encontro!

Aos **pacientes** e todos os **profissionais** do Ambulatório do Pé Diabético (APD), por acreditarem na pesquisa e em suas potencialidades e por nos terem recebido de coração aberto.

Aos colegas do grupo de pesquisa, **Alexandra, Bruna, Crizian, Danielle, Fabiana, Fernanda, Hanrieti, Jackeline, Máira, Mariana, Mayara, Renzo, Sabrina e Tatiana** pelos ensinamentos, disponibilidade, carinho e torcida.

Às minhas amigas e braço direito ao longo deste trabalho, **Alanna Gomes, Alexandra Dias, Crizian Saar, Elizabeth Rosa, Fernanda Penido, Jacqueline Sales, Nathália, Raquel Bonisson e Sabrina Daros**. Obrigado por estarem sempre disponíveis em me auxiliar nessa jornada.

Aos meus parceiros de luta por uma sociedade mais justa e humana, a todos os Rondonistas, em especial à **Mônica Abranches, Hélia Leomara, Rodrigo Vieira, Demerson Gama, Pablo Oliveira, Luana Carola e Luciana Priscila**, que estiveram comigo durante todo esse processo.

Aos colegas Versusianos que acreditam no Sistema Único de Saúde de todos e para todos, em especial à **Gabriela Reis e Camila Dornelas**.

Aos meus eternos mestres e grandes responsáveis pela concretização deste sonho e por terem sido grandes inspirações nesse trajeto, **Júlia Amorin, Juliana Ladeira, Raíssa Souza, William Régis, Roberto Lautner, André Luiz, Yara Mendes, Ana Saviolli, Maria Carolina, Marilene, Vanessa, Renta Nativo**.

Aos meus eternos amigos, **Bianca, Candy, Fernanda, Fernando, Lorena, Michele**, por estarem sempre ao meu lado no decorrer deste trabalho. Obrigado pela amizade e por me apoiarem na concretização desse meu sonho. O caminho foi mais feliz com vocês.

Aos meus professores de mestrado, pelos valiosos conhecimentos adquiridos.

RESUMO

As úlceras neuropáticas ou pé diabético compreendem ulcerações que são definidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como infecções destruições dos tecidos moles, que ocorrem concomitantemente com alterações neurológicas de diversos graus, devido à doença arterial periférica (DAP) localizada nos membros inferiores. O estudo objetivou avaliar a capacidade cicatrizante de uma formulação tópica contendo a fração proteolítica (P1G10) de látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*, quando administrada em úlceras neuropáticas de pacientes diabéticos. Trata-se de um ensaio clínico, randomizado, controlado, duplo-mascarado. A população deste estudo foi composta por adultos (idade ≥ 18 anos), de ambos os sexos, usuárias de um serviço de referência em tratamento de feridas do município de Belo Horizonte – Minas Gerais. A aplicação de fina camada da formulação sobre o leito da ferida, recobrando toda a sua extensão, foi realizada em cada paciente, totalizando 48 aplicações. As feridas foram avaliadas por meio de medidas das suas dimensões: comprimento, largura, profundidade e área. O efeito da intervenção foi estimado pela incidência acumulativa de cicatrização (até 80 e 100% da ferida) usando o método de Kaplan-Meier. As técnicas estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Stata. A população estudada foi composta de 50 indivíduos. A taxa de incidência de cicatrização total em indivíduos tratados com a fração proteolítica P1G10 foi de 5,15/ 1000 pessoas-dia (IC 95% = 2,85 – 9,3). Pacientes que foram submetidos ao tratamento com P1G10 apresentaram uma taxa de incidência de cicatrização 2,95 (IC 95% = 1,0257- 8,51) vezes maior que os do grupo tratado com Hidrogel. Os resultados contribuem para ampliar o potencial de indicações terapêuticas das enzimas proteolítica de *Vasconcelles Cundinamarcensis*. Sugere-se a continuidade do ensaio clínico de fase III com estudo multicêntrico com maior número de participantes.

Descritores: pesquisa clínica, cicatrização de feridas, pé diabético, proteases, *Caricaceae*.

ABSTRACT

Neuropathic ulcers or diabetic foot ulcers are defined by the World Health Organization (WHO) as soft tissue infections and destruction, occurring concomitantly with neurological disorders of varying degrees due to peripheral arterial disease (PAD) located in lower members. The study aimed to evaluate the healing capacity of a topical formulation containing the proteolytic fraction (PIG10) of latex of *Vasconcellea cundinamarcensis*, when administered in neuropathic ulcers of diabetic patients. It is a double-masked, randomized, controlled, clinical trial. The population of this study was composed of adults (age ≥ 18 years) of both sexes, users of a referral service in the treatment of wounds in the city of Belo Horizonte - Minas Gerais. The application of a thin layer of the formulation over the wound bed, covering all its extension, was performed in each patient, totalizing 48 applications. The wounds were evaluated by means of measures of their dimensions: length, width, depth and area. The effect of the intervention was estimated by the cumulative incidence of healing (up to 80 and 100% of the wound) using the Kaplan-Meier method. Statistical techniques were performed with the help of the Stata program. The study population consisted of 50 individuals. The incidence rate of total healing in subjects treated with the proteolytic fraction PIG10 was 5.15 / 1000 person-days (95% CI = 2.85-9.3). Patients who underwent PIG10 treatment had an incidence rate of 2.95 (95% CI: 1.0257-8.51) greater than that of the group treated with Hydrogel. The results contribute to increase the potential of therapeutic indications of proteolytic enzymes of *Vasconcelles Cundinamarcensis*. We suggest the continuity of the phase III clinical trial with a multicenter study with a larger number of participants for its use in the this pathology.

Key-words: biomedical research, wound healing, proteases, *Caricaceae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Vias para ulceração no processo da Ulceração.....	22
Figura 2 - Deformidades neuropática.....	24
Figura 3 - Evolução do quantitativo relativo de células sanguíneas e fibroblastos nas fases do processo de Cicatrização.....	27
Figura 4 - Frutos de Vasconcellea Cundinamarcensis imaturos e maduros, respectivamente.	34
Figura 5 - Fluxograma dos participantes do Ensaio Clínico.....	41
Figura 6 - Mensuração da ferida.....	46
Figura 7 - Imagem padrão secundário comparativo.....	47
Figura 8 - Proporção de risco acumulado de Cicatrização a 100%. Belo Horizonte, julho de 2017.....	65
Figura 9 - Probabilidade de Cicatrização a 80%. Belo Horizonte, março de 2017.....	65
Figura 10 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com P1G10 - 0,1% do paciente VLN.....	88
Figura 11 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com P1G10 - 0,1% da paciente MPS.....	89
Figura 12 - Ferida neuropática ao início e no final do tratamento com P1G10 - 0,1% do paciente RAR.....	90
Figura 13 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com P1G10 - 0,1% do paciente DA.....	91
Figura 14 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel da paciente SMRH.....	92
Figura 15 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel do paciente LRR.....	93
Figura 16 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel da paciente VGSS.....	94
Figura 17 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel do paciente JEA.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de referência.....	42
Tabela 2 - Composição do creme contendo a fração P1G10.....	43
Tabela 3 - Composição do Hidrogel Purilon® Gel Comfell® Coloplast.....	44
Tabela 4 - Características sócio-demográficas dos participantes do Ensaio Clínico (n=50)...	50
Tabela 5 - Dados Clínicos dos participantes do Ensaio Clínico (n=50).....	52
Tabela 6 - Sinais e sintomas locais dos membros inferiores dos participantes do Ensaio Clínico (n=50).	55
Tabela 7 - Resultado de Hemograma dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50).	59
Tabela 8 - Resultado dos testes bioquímicos de sangue dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50).	60
Tabela 9 - Resultado da urinálise dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50)..	62
Tabela 10 - Caracterização das feridas durante a primeira avaliação do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50).	62
Tabela 11 - Taxas de Incidências.	64

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

^{99m}Tc - tecnécio metaestável

AGE - ácidos graxos essenciais

APD - Ambulatório do Pé Diabético

AUC - área sob a curva

BHT - butilhidroxitolueno

bpm - batimentos por minuto

CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média

cm - centímetro

CM Sephadex - coluna de troca catiônica

DAP - doença arterial periférica

dl - decilitro

DM - *Diabetes Mellitus*

DM1 - *Diabetes Mellitus* tipo 1

DM2 - *Diabetes Mellitus* tipo 2

DP - desvio padrão

ECN - Escores de comprometimento neuropáticos

ERK-2 - extracellular signal-regulated kinases

ESN - escores de sintomas neuropáticos

FGF - fator de crescimento de fibroblasto

FGF- β - fator de crescimento de fibroblasto

GT - gama glutamil transpeptidase

HCM - hemoglobina corpuscular média

ICB - Instituto de Ciências Biológicas

IMC - índice de massa corporal

ITB - índice tornozelo-braquial

KeV - quilo elétron-volt

Kg - quilograma

L - largura

mmHg - milímetros de mercúrio

MMP - metaloproteinases de matriz

Mono S - coluna para separação catiônica

n - número amostral

ND - neuropatia diabética

OMS - Organização Mundial de Saúde

p - probabilidade

PND - neuropatia periférica diabética

PNS - Pesquisa Nacional de Saúde

PSP - sensibilidade protetora plantar

P1G10 - primeiro pico protéico do látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*, após separação cromatográfica em coluna Sephadex G-10, rico em cisteíno proteases

P2G10 - segundo pico protéico do látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*, após separação cromatográfica em coluna Sephadex G-10

RAP/MAP – quinases mitogen-activated protein kinases

RDW - red cell distribution width

Sephadex G10 - coluna de gel filtração (40-120 uM Sigma Chem. Co.)

STATA - *Statistical Software Professional*

t - teste *t-student*

TCLE - termo de consentimento livre esclarecido

TGO - transaminase glutâmico oxalacética

TGP - transaminase glutâmico pirúvica

U/l - unidade por litro

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

URS - unidade referência secundária

VCM - volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 Neuropatia Diabética	20
3.2 Tratamento	26
3.3 Fase Inflamatória	27
3.4 Fase Proliferativa	28
3.5 Fase de remodelação ou maturação	30
3.6 Coberturas	30
3.7 A espécie <i>Vasconcellea cundinamarcensis</i>	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 Tipo de estudo	40
4.2 Local do Estudo	40
4.3 População e amostra	40
4.4 Recrutamento de voluntários	42
4.5 Tratamento	43
4.6 Mensuração da área da ferida	45
4.7 Desfechos (endpoints)	47
4.8 Instrumento de coleta de dados	47
4.9 Análise de Dados	49
4.10 Aspectos éticos	49
5 RESULTADOS	50

6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73
APÊNDICE A	81
APÊNDICE B	84
APÊNDICE C	87
APÊNDICE D	88
ANEXO I	97
ANEXO II	99

1 INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) é evidenciado por um conjunto de distúrbios metabólicos, dentre os quais se destaca a hiperglicemia sustentada, resultantes da deficiência na ação da insulina ou na secreção desta. Entre 90 a 95% dos casos são devidos à resistência à insulina, ou seja, as células não conseguem utilizar a insulina para metabolizar a glicose. Essa doença é frequentemente associada com os hábitos de vida contemporâneos adotados pela população em geral, tais como inatividade física, alimentação inadequada e obesidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016). O *diabetes mellitus* tipo 1 corresponde a 5 a 10% das pessoas que possuem diabetes, comum em crianças e jovens. Esse tipo de diabetes é decorrente da destruição autoimune específica da célula beta das ilhotas de Langerhans, localizada no pâncreas e responsável pela produção de insulina. O DM é uma doença presente em, aproximadamente, 415 milhões das pessoas de todo o mundo, e esse número tende a aumentar para 643 milhões até o ano de 2040 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). No Brasil, 14,3 milhões de pessoas possuem DM, o que equivale a 7,6% da população adulta. Esses dados inserem o Brasil na quarta posição mundial em número de casos de diabetes (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015).

A falta de controle adequado dos índices glicêmicos pode levar a complicações agudas e crônicas. Dentre as manifestações agudas, destaca-se a cetoacidose diabética, ou seja, situação clínica em que as células usam a gordura para obter energia devido à ausência de glicose intracelular, ocasionando o acúmulo de corpos cetônicos na corrente sanguínea. Das complicações crônicas, as mais frequentes são as cardiovasculares, a retinopatia, nefropatia e neuropatia periférica (PASQUALOTTO, ALVERTON, FRIGERI, 2012).

A neuropatia periférica diabética (PND) tem alta prevalência nos adultos com essa doença, sendo desencadeada pela deficiência de aporte sanguíneo fornecido aos nervos periféricos, como resultado da disfunção endotelial decorrente, dentre outros fatores, da hiperglicemia crônica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016). A PND associada à doença arterial periférica (PAD) contribui diretamente para o processo de desenvolvimento das úlceras que, geralmente, são complicadas devido à infecção (MARKAKIS, BOWLING, BOULTON, 2016).

A úlcera neuropática, também conhecida como pé-diabético, é caracterizada por infecções ou destruição dos tecidos moles que ocorrem, concomitantemente alterações neurológicas de diversos graus, devido à doença arterial periférica (DAP) localizada (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001).

Boulton (2005) afirma que de todas as pessoas diabéticas no mundo, em algum momento no decurso da doença, um quarto delas desenvolverá uma ferida nos pés e que pelo menos um em cada dez pessoas diagnosticadas com DM tipo 2, tem fatores de risco para problemas nos pés.

A prevalência anual de úlceras em pacientes com diabetes corresponde de 4 a 10%, e a incidência situa-se de 2 a 4%. A estimativa é de que, em países de baixa renda, a incidência e prevalência sejam mais elevadas (BOULTON *et al.*, 2005b). Para além disso, as úlceras nos pés colaboram para elevar o risco de mortalidade entre os indivíduos com diabetes (IVERSEN *et al.*, 2009).

As infecções em pé diabético estão dentre as complicações mais frequentes e comumente requerem internações hospitalares e intervenções diversas, incluindo amputação de extremidades em determinados casos (LAVRY *et al.*, 2007; AKGTAR *et al.*; 2011). Essas complicações estão diretamente relacionadas com a redução da qualidade de vida, desenvolvimento de incapacidades e morte das pessoas diabéticas (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). A ocorrência de pé diabético interfere na funcionalidade e realização de atividades de vida diária, ocasionando sofrimento e diminuindo qualidade de vida. Ressalta-se que os casos de amputação decorrentes das úlceras podem sobrecarregar o sistema previdenciário, em virtude do aumento do número de aposentadorias precoces (MARKAKIS, BOWLING, BOULTON, 2016).

Para reduzir o número de amputações, o tratamento do pé diabético é de extrema importância. Para tal finalidade, diversas opções de curativos estão disponíveis no mercado, porém o processo de cicatrização é lento e complicado. Até o momento, inexitem, na literatura científica, ensaios clínicos randomizados que respaldem a prática clínica dos profissionais de saúde no tratamento de pessoas com pé diabético (HINCHILIFFE *et al.*, 2008; GAME *et al.*, 2012, GAME *et al.*, 2016).

Alguns estudos têm avaliado o efeito cicatrizante de fração proteolítica do látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*. Após separação cromatográfica em coluna Sephadex G-10, obtém-se o primeiro pico rico em cisteíno proteases (P1G10) (SILVA et al., 2003).

A fração submetida avaliação farmacológica como cicatrizante cutâneo, utilizando-se testes em animais e humanos, análise dos parâmetros toxicológicos e farmacocinéticos. Os resultados desses estudos são bastante promissores e sugerem a continuidade das demais fases clínicas para consolidar sua indicação terapêutica, pautando-se em evidências científica (GOMES, 2009).

Considerando o que foi exposto e a potencialidade da fração proteolítica de *Vasconcellea cundinamarcensis* para tratamento de pé diabético, indaga-se: qual a capacidade cicatrizante da formulação tópica contendo a fração proteolítica P1G10 de látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*, quando administrada em úlceras neuropáticas de pacientes diabéticos?

Uma cobertura que apresente um custo benefício de grande relevância e eficiência para o tratamento das úlceras neuropáticas é fundamental para corroborar com a melhoria da qualidade de vida dos pacientes portadores dessas úlceras, bem como para subsidiar a redução das complicações inerente às feridas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade cicatrizante de uma formulação tópica contendo a fração proteolítica P1G10 de látex de *Vasconcellea cundinamarcensis* aplicada em úlceras neuropáticas de pessoas diabéticas.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar as características socioeconômicas e clínicas das pessoas diabéticas com úlcera neuropática tratada com fração proteolítica P1G10.
- Comparar as taxas de cicatrização de úlceras neuropáticas tratadas com a formulação contendo P1G10 ou com hidrogel.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Neuropatia Diabética

Das complicações tardias decorrentes do DM, o conjunto de patologias denominado como neuropatia diabética é responsável por afetar uma gama de órgãos ou sistemas. A neuropatia diabética (ND) consiste em uma grande manifestação clínica, podendo acometer fibras nervosas, sensitivo-motoras e autônomas, finas e grossas, distais e proximais (BOULTON et al., 2005a).

As ND englobam condições de diversos fatores e inúmeros processos em sua fisiopatogênese, caracterizada pelas alterações metabólicas, lesões autoimunes, vasculares, inflamatórias e deficiências do crescimento neural. Os membros do grupo internacional sobre o diagnóstico ambulatorial e tratamento da ND comungam da seguinte definição para as ND: a presença de sintomas ou sinais da alteração funcional dos nervos periféricos em indivíduos com diabetes após a isenção de outras causas. As formas mais comuns de neuropatias são as simétricas generalizadas, como, por exemplo, a polineuropatia sensitivo-motora crônica ou simétrica distal e as autônomas (TESFAYE et al., 2010; PEDROSA, H. C.; TAVARES, F. S., 2014). A PND é também denominada como neuropatia diabética periférica, e o Painel de Toronto a define como PND típica devido à sua alta prevalência (TESFAYE et al., 2010).

Um estudo multicêntrico realizado em uma população hospitalizada do Reino Unido relatou que a prevalência total de PND foi de 28,5%; a prevalência em pacientes DM1 foi de 22,7% e em portadores de DM2 foi de 32,6 %. Outro achado descrito consiste no fato de que PND aumenta com a idade, passando de 5% de prevalência na faixa etária de 20-29 anos para 44,2% na faixa etária de 70-79 anos. A neuropatia foi associada com o tempo de diabetes e esteve presente em 20,8% dos pacientes que foram diagnosticados com a patologia há menos de 5 anos e em 36,8% dos que são diabéticos por um período acima de 10 anos (YOUNG et al., 1993).

No Brasil, não estão disponíveis grandes estudos populacionais com dados de prevalência. Entretanto, pequenos estudos de caráter regional abordam a temática. Em Passo

Fundo, Rio Grande do Sul, realizou-se um estudo com 340 pacientes portadores de DM2, dentre os quais um total de 22% foi diagnosticado com PND (TRES et al., 2007).

A ND e a DAP são protagonistas no processo de desenvolvimento das úlceras neuropáticas, também denominados de pés diabéticos (MARKAKIS, BOWLING, BOULTON, 2016). É importante descrever que de 5 a 7% dos pacientes portadores de lesões nos pés são decorrentes da ND (BOULTON, PEDROSA, 2006).

Em consonância com o *International Working Group on the Diabetic Foot* (1998), o pé diabético é definido como ulcerações, infecções ou destruições dos tecidos moles em conjunto com alterações neurológicas de diversos graus e DAP localizadas nos membros inferiores.

Conforme já mencionado, os resultados das pesquisas disponíveis apresentam diversificações decorrentes de aspectos relacionados às questões socioeconômicas dos locais em que se realizam. Nos países desenvolvidos, a DAP é considerada a complicação mais frequentemente das lesões, e, nos países em desenvolvimento, a inflamação lidera esse ranking (UNWIN, 2008; BAKKER et al., 2015).

Os dados epidemiológicos revelam que a incidência de lesões em pacientes portadores de DM é de 2 a 4% e a prevalência de 4 a 10% (BOULTON et al., 2005a). Torna-se relevante ressaltar que a incidência acumulativa no decorrer da vida de uma úlcera neuropática é de 25%, sendo que essas lesões antecedem cerca de 85% das amputações (PECORARO, REIBER, BURGESS et al., 1990; IVERSEN et al., 2005). No Brasil, considerando-se estimativas baseadas em um modelo hipotético proveniente de uma população de cerca de 7,12 milhões de pessoas com DM 2, avalia-se a ocorrência de 484.500 úlceras, com 169.600 admissões hospitalares e 80.900 amputações efetuadas, das quais 21.700 evoluíram para morte (REZENDE et al., 2008).

A ferida do pé diabético, na maioria dos pacientes, é resultado da associação de dois ou mais fatores ocorrendo simultaneamente. O processo que corrobora o desencadeamento da úlcera é explícito na figura abaixo (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001).

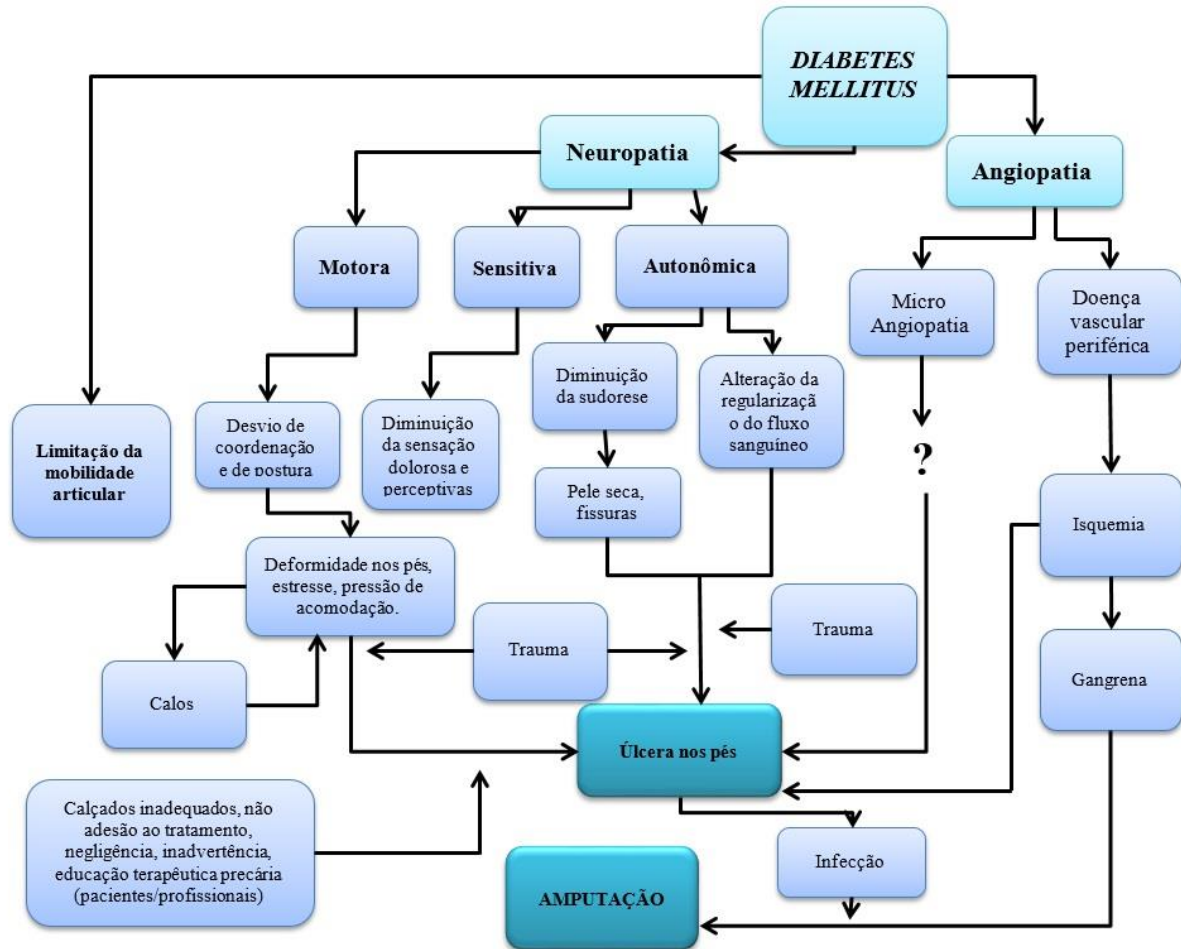


Figura 1- Vias para ulceração

Fonte: adaptado GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001.

No processo de desenvolvimento da PND, todas as fibras nervosas: sensitivas, motoras e autônomas passam por algum tipo de alteração. A neuropatia sensorial está relacionada com a perda da dor, percepção da pressão, temperatura e cinestesia. Devido a essas características, os estímulos para percepção de traumas/ferimentos estão diminuídos ou totalmente imperceptíveis, corroborando para desencadear o processo de ulceração. A neuropatia motora é responsável pela fraqueza e atrofia dos músculos dos membros inferiores, acarretando as deformidades como: flexão dos dedos, alteração da marcha e sobrecarga plantar (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001). Insta salientar que o comprometimento das fibras sensitivas e motoras ocorre no sentido distal-proximal, sendo comum nos dedos dos pés e muito raro nas mãos (PEDROSA, TAVARES, 2014). A neuropatia autônoma é responsável pela alteração funcional das glândulas sudoríparas, colaborando

diretamente para anidrose evidenciada pelo ressecamento da pele, o que contribui para formação de calos, rachaduras hiperkeratose e fissuras. O crescimento exponencial do fluxo sanguíneo, por intermédio dos *shunts* artério-venoso, é o desencadeador dos seguintes sinais e sintomas: alteração na temperatura (quente) dos pés e edema com dilatação das veias dorsais (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001; PEDROSA, TAVARES, 2014).

A DAP está associada à estenose e oclusão de artérias, culminando em uma diminuição do fluxo sanguíneo, presente em 50% dos portadores de DM com úlcera neuropática (CHATURVEDI et al., 2002; JBOUR et al., 2003; SINGH, ARMSTRONG, LIPSK, 2005). A presença de DAP exclusivamente é considerada um fator de risco independente para concepção da úlcera (BOULTON, 2008). Nos pacientes com DM, a mobilidade das articulações pode apresentar-se limitada, devido à ação da glicação das proteínas nas articulações, tecido conjuntivo e pele (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001).

É extremamente relevante mencionar que nem todos os indivíduos que são portadores da patologia de DM possuem risco de ulceração (GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO, 2001; MONTEIRO et al., 2011). Entretanto, os principais fatores que contribuem significativamente para o desencadeamento das úlceras são: polineuropatia periférica, falta de controle glicêmico, mais de 10 anos com DM, trauma, doença arterial periférica, deformidade, histórico de úlcera e de amputação. É importante descrever que a condição socioeconômica, residir sozinho, dificuldade/falta de acesso ao serviço de saúde, depressão, nefropatia e retinopatia também contribuem para o desencadeamento de ulceração (BAKKER et al., 2015; BUS et al., 2015).

A seguir, algumas imagens de deformidades.



Figura 2 - Deformidades neuropáticas: 1- Hálux valgo/ 2- Dedos em guara/ 3- Dedos sobrepostos/ 4- hiperkeratose plantar/ 5- Arco médio Charcot/ 6- Charcot

Fonte: Dados da pesquisa

Dessa forma, é possível compreender que as úlceras de pé são um grande problema de saúde pública, sendo responsáveis por uma incidência de 2 a 4% em países desenvolvidos com números mais expressivos em países em processo de desenvolvimento (BOULTON, 2005).

A presença das úlceras neuropáticas e de suas consequências impacta negativamente na vida dos pacientes, bem como de seus familiares, tanto na esfera psicossocial quanto financeira (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). O processo de infecção nas úlceras é uma das complicações mais prevalentes. Os dados apresentam que as úlceras neuropáticas evoluem para um processo de infecção de 40 a 80%, nos mais diversos grau de gravidade (AMARAL et al., 2014). As úlceras infectadas apresentam associação com elevação da taxa de mortalidade e morbidade, sendo um grande fator de amputação não traumática dos membros inferiores (TURHAN et al., 2013).

Além disso, apenas dois terços das feridas neuropáticas resultam em cicatrização e 28% evoluem para um processo de amputação (ARMSTRONG, LAVERY, HARKLESS, 1998; JEFFCOATE et al, 2006; PROMPERS et al., 20087). As úlceras neuropáticas são responsáveis por aproximadamente 85% do total das amputações (BOUHLTON, 2004). Depois da primeira amputação do membro inferior, o risco de ocorrência das demais amputações é de 50% em um período de 5 anos (LARSSON et al.; 1998).

A avaliação do pé diabético é extremamente simples e depende apenas de duas etapas: história clínica e exames dos pés (BAKKER et al., 2015; BUS et al., 2015). A avaliação neurológica e da pressão plantar é fundamental. O exame dos pés tem intuito de detectar a perda de sensibilidade protetora plantar (PSP). As evidências de sinais e sintomas neuropáticos possibilitam definir a presença de PND que, quando associados a evidências de DAP e histórico de úlcera ou amputação prévia, fornece elementos substancialmente importantes para detecção do risco de ulceração. A identificação desse risco é essencial para implementar ações efetivas de cunho preventivo, contribuindo significativamente para evitar o desenvolvimento das úlceras (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015).

A avaliação da sensibilidade protetora é realizada por meio de testes da sensibilidade à pressão, à vibração, à dor e ao reflexo de Aquileu. A utilização de alguns instrumentos são imprescindíveis para auxiliar nessa avaliação. Para avaliar a pressão utiliza-se o monofilamento de náilon de 10g que auxilia na identificação da alteração da fibra grossa (A beta e A alfa - mielínica). O diapasão 128 Hz testa as fibras grossas (A beta, mielínica) e avalia a sensibilidade vibratória. O martelo testa as fibras grossas (A alfa, mielínica) e avalia o reflexo motor (Aquileu). O palito/pino ou *pinprick* examina as fibras finas sensitivas (do tipo C, amielínica) com intuito de verificar a sensibilidade dolorosa (PEDROSA, TAVARES, 2014 SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015; BAKKER et al., 2015).

A PND é definida por meio de escores de sintomas neuropáticos (ESN), tais como: queimação, dormência, formigamento, fadiga, cãibra ou prurido e escore de comprometimento neuropático (ECN). Para se definir o ECN, são testados o reflexo de Aquileu e as sensações vibratória, dolorosa e térmica. Para avaliar a sensibilidade térmica fria utiliza-se o cabo do diapasão de 128 Hz ou tubo de ensaio com água fria que testa as fibras finas (A delta-mielinizada), enquanto o cabo do diapasão 128Hz aquecido ou tubo de ensaio com água quente avalia a sensibilidade térmica quente das fibras finas (C, amielínica). Na avaliação da DAP,

utiliza-se a palpação dos pulsos pediosos e tibiais posteriores, contudo não é o mais recomendado devido à questão de diferença intra e interobservador. Dessa forma é indicada a utilização do Doppler manual para definição do índice tornozelo-braço (ITB) (MOREIRA et al., 2005; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015; BAKKER et al., 2015).

3.2 Tratamento

A tentativa de reparação/tratamento das feridas existe desde a antiguidade. Na pré-história, era bastante comum utilizar plantas, neve, gelo, água, fruta, lama para o tratamento de feridas. Os povos primitivos tinham como prática supurar as lesões (utilizando quelíceras de formiga), mas grande parte optava por deixá-las abertas. Outros produtos muito utilizados eram: gordura animal, ovo e mel. Na Mesopotâmia, as feridas eram limpas com água ou leite; o curativo, realizado com resina ou mel e para cobrir, recorria-se à lã de carneiro, à casca de árvores e folhas. Os egípcios acreditavam que feridas fechadas tinham o período de cicatrização abreviado; dessa forma, usavam tira de pano com intuito de conservar as bordas unidas. Com objetivo de realizar a hemostasia, realizava-se a cauterização e, para tratamento das lesões empregavam mercúrio e cobre (ANDRADE, SEWARD, MELO, 1992; FERNANDES, 2000). Nas últimas décadas, têm sido realizadas muitas pesquisas concernentes ao tratamento de feridas, com objeto de acelerar o processo de cicatrização nas quais avultam as inúmeras coberturas, responsáveis por instigar a mitose celular e reposição tecidual (GOMES, BORGES, 2008).

O conhecimento concernente ao processo de cicatrização é primordial para determinar o tratamento adequado. Dessa forma, a ferida pode ser definida como a ruptura de estrutura anatômica e funcional do corpo, responsável por interromper a continuidade da pele, podendo ser desencadeada por um agente físico, químico ou biológico (MANDELBAUM, DI SANTIS, MANDELBAUM, 2003; RUSHTON, 2007).

O processo de reparação tecidual perpassa por três fases independentes e muitas vezes simultâneas, que são: inflamatória, proliferativa e de remodelação ou maturação. A divisão e migração celular, com objetivo de promover a formação de colágeno e contribuir para angiogênese, são condições indispensáveis nesse processo (BORGES, 2008).

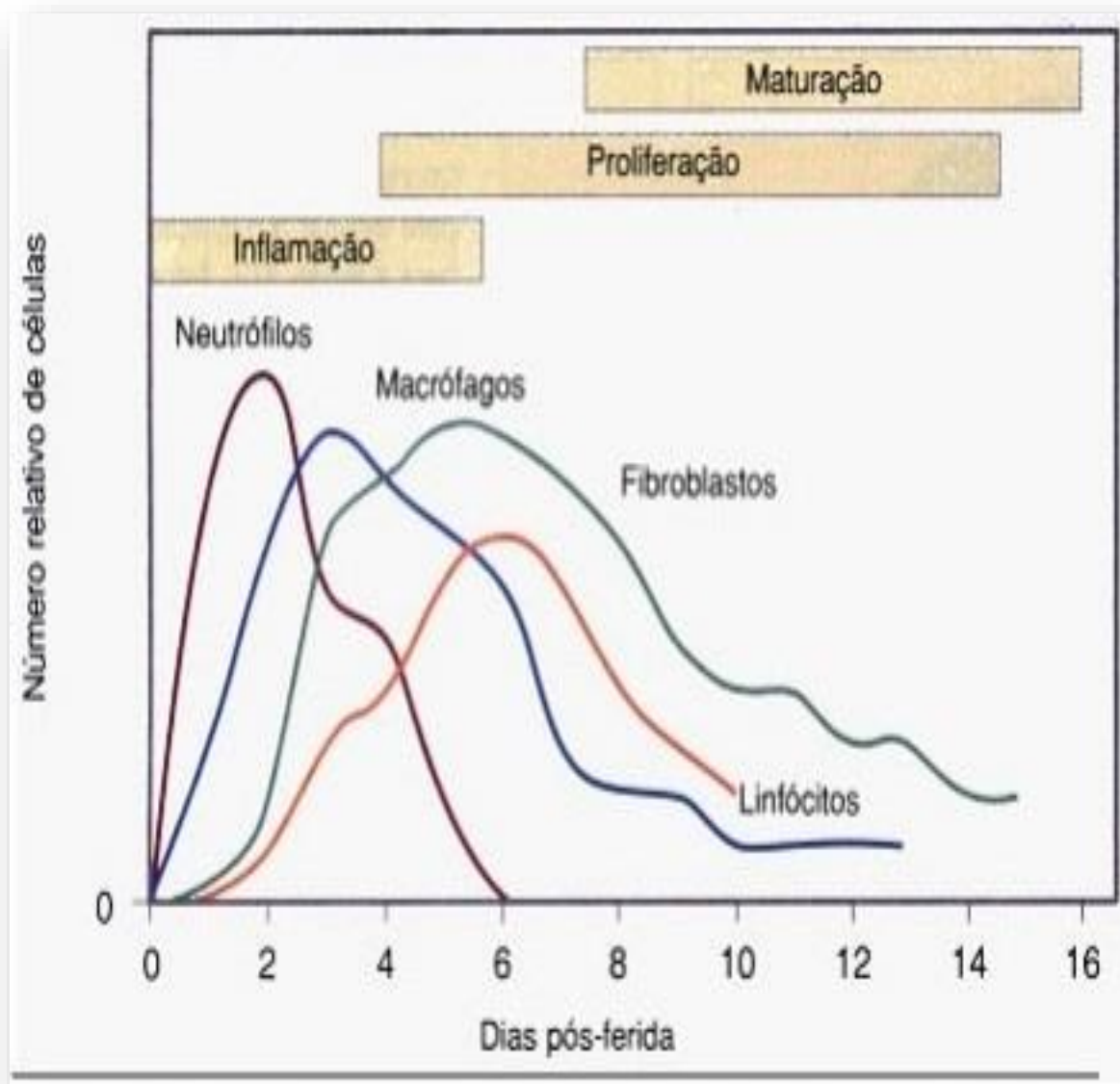


Figura 3 - Número relativo de células sanguíneas e fibroblastos envolvidas nas fases do processo de cicatrização
Fonte: TAZIMA et al., 2008.

3.3 Fase Inflamatória

Essa fase inicia-se após a lesão. O tecido lesado e as plaquetas iniciam a cascata de coagulação. A liberação de histamina, serotonina e bradicinina são responsáveis por promover a vasodilatação, o aumento do fluxo sanguíneo na região comprometida e o bloqueio da drenagem linfática, evidenciado pelos sinais inflamatórios como rubor e calor. A progressão da permeabilidade capilar corrobora o extravasamento do líquido para o espaço extracelular, caracterizando o edema. Com intuito de promover a hemostasia, as alterações nas células

endoteliais, ruptura dos vasos sanguíneos e o extravasamento de seus constituintes instigam agentes vasoativos a desencadear uma vasoconstrição, contribuindo para redução da perda sanguínea para o espaço extravascular. Após o início da cascata de coagulação, grânulos são liberados pelas plaquetas, ativadas pela matriz extracelular da parede vascular responsáveis por conter fator de crescimento de transformação beta – TGF- β que induz a migração dos neutrófilos na ferida (CAMPOS, BRANCO, GROTH, 2007; LI, CHEN, KIRSNER, 2007; TAZIMA, VICENTE, MORIYA, 2008; OLIVEIRA, DIAS, 2012).

Os neutrófilos são os primeiros a chegar ao local da ferida, com apogeu nas primeiras 24 horas após a lesão, instalam-se na parede do endotélio, a partir da ligação com selectinas e são responsáveis pela limpeza, fagocitose das partículas antigênicas e dos corpos estranhos. Os neutrófilos são substituídos gradativamente pelos macrófagos (CAMPOS, BRANCO, GROTH, 2007; TAZIMA, VICENTE, MORIYA, 2008).

Os macrófagos, presentes na ferida 48-96 horas após o início da lesão, são responsáveis por finalizar o processo de limpeza iniciado pelos neutrófilos. São de extrema relevância para liberação de fatores de crescimento e de citocinas que contribuirão para angiogênese, fibroplastia e na formação da matriz extracelular que são indispensáveis no processo de transição da fase inflamatória para proliferativa (CAMPOS, BRANCO, GROTH, 2007).

3.4 Fase Proliferativa

A fase proliferativa ocorre a partir do 4^o dia após a lesão e pode prolongar-se até o término da segunda semana, sendo reconhecida pela re-epitelização, neo-angiogênese, deposição de matriz e síntese de colágeno (CAMPOS, BRANCO, GROTH, 2007).

A re-epitelização é o reparo da epiderme que, após a lesão, perpassa pela migração e proliferação dos ceratinócitos a diferenciação do novo epitélio, considerado o evento mais precoce dessa etapa. Inicia-se decorrente de suplementos restantes da pele, como folículo piloso e das extremidades da ferida. Alguns elementos como matriz extracelular, metaloproteinases de matriz (MMP), fatores de crescimento, receptores de integrinas e inúmeros outros têm sido relacionados com a migração de ceratinócitos. Uma matriz provisória constituída de fibrina, fibronectina e colágeno tipo V é constituída, possibilitando que ceratinócitos migrem e disseminem sob as escaras e detritos que estão sobre a ferida. É importante elucidar que as

direções da migração dos ceratinócitos são controladas por meio da ligação aos receptores de integrinas localizados nas moléculas de colágenos presentes na lesão. As MMP também influenciam no processo de migração dos ceratinócitos. No decorrer desse processo de migração, os ceratinócitos produzem MMPs, como exemplo a MMP-9, responsável pela degradação do colágeno tipo IV e lamininas basais, contribuindo para que as células migrem para a lesão. Insta salientar que MMP-1 consegue romper qualquer ligação de colágeno fibrilar, corroborando a migração dos ceratinócitos para o leito da ferida (LI, CHEN, KIRSNER, 2007).

A formação de tecido de granulação, de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e o acúmulo de fibroblastos evidencia a reconstituição dérmica que, geralmente, ocorre de três a quatro dias após iniciada a lesão. Nesse momento do processo, os fibroblastos são as células mais abundantes no leito da ferida e são responsáveis por sintetizar colágenos e outras proteínas da matriz, colaborando para a gênese do tecido de granulação. Os fibroblastos iniciam a proliferação e a migração para matriz temporária do coágulo da ferida, local em que depositam colágenos, incluindo os de proteoglicanos e elastinas. No decorrer desse processo de transição, eles alteram para miofibroblastos e atuam ativamente na contração da lesão. Para que ocorra a contração da lesão, é necessário que as células no interior da ferida se alinhem ao longo das linhas de contração e que essa aconteça na direção da tensão da pele. A contração é unificada e necessita da comunicação célula-célula e célula-matriz. É notório descrever que a taxa de contração é proporcional à quantidade de células e inversamente proporcional à concentração de colágeno. Os fatores de crescimentos endoteliais vasculares são responsáveis por ativar a proliferação dos fibroblastos e a neo-angiogênese (LI, CHEN, KIRSNER, 2007).

Com intuito de reparar a perda tecidual, a re-epitelização necessita da migração das células epiteliais por intermédio do tecido de granulação. Em decorrência da perda da epiderme, as células basais adjacentes tornam-se reprogramadas após a separação da membrana basal, passam por um processo de divisão e transitam verticalmente em direção ao centro da lesão, constituindo uma única camada celular. Após esse processo passam por divisão mitótica e formação das demais camadas. Vale mencionar que o tecido recém-constituído é bastante delicado (ORGILL, DEMLING, 1998; BRADLEY et al., 1999).

3.5 Fase de remodelação ou maturação

A fase de remodelação é qualificada pela deposição da matriz e suas posteriores mudanças no decorrer do processo. O coágulo de fibrina constituído na fase inflamatória é suprido pelo tecido de granulação (rico em colágeno tipo III), e os vasos sanguíneos consolidados na fase proliferativa são substituídos por uma cicatriz de colágeno (maioria tipo I). As MMPs são as protagonistas no processo de troca do colágeno tipo III, de acordo com seu processo de degradação e a formação de colágeno tipo I. Esse mecanismo ocorre devido a uma síntese bastante ajustada do novo colágeno e da lise do antigo. Dessa forma, é possível compreender que as MMPs desempenham uma função bastante impactante no processo de remodelação e que sua atuação desordenada, associada à ação de seus inibidores teciduais, pode advir negativamente no processo de cicatrização e até mesmo na produção excessiva da fibrose. Algumas patologias, como diabetes, e nutrição inadequada colaboram para um processo de ferida crônica, bem como fibrose excessiva que desencadeiam modificação da estrutura e perda de função (LI, CHEN, KIRSNER, 2007). Esse processo é caracterizado pela redução da atividade celular e diminuição da quantidade de vasos sanguíneos, bem como a perda do núcleo de fibroblastos, colaborando para maturação da cicatriz. Ocorre a diminuição da quantidade de células, porém a produção e formação de colágeno tipo I aumenta (OLIVEIRA, DIAS, 2012). A maturação é perdida pelo resto da vida, mas a força tênsil se estabiliza, por volta de um ano, em 70 a 80% da pele intacta (LI, CHEN, KIRSNER, 2007; TAZIMA, VICENTE, MORIYA, 2008).

3.6 Coberturas

O processo de cicatrização é bastante complexo e depende de múltiplos fatores como: alívio da pressão, repouso dos membros inferiores, uso de sapatos adequados, desbridamento do tecido necrótico/calosidade, bem como da utilização da cobertura ideal para ferida (DUMVILLE ET al., 2011). E, para auxiliar nesse processo da cicatrização, as coberturas apresentam-se como elemento fundamental no processo de tratamento das úlceras. As coberturas oclusivas e interativas serão fundamentais para propiciar esse ambiente adequado (GOMES, BORGES, 2008). Um ambiente limpo, úmido e quente contribui positivamente para o processo de cura da ferida (OKAN et al., 2007). O ambiente úmido é essencial para

proporcionar o deslocamento dos fatores de crescimento e de outras células para o leito da ferida, corroborando a contração de suas bordas (ATTINGER et al., 2006).

As coberturas são categorizadas, em conformidade com seu desempenho em: passivas (responsáveis por promover a proteção da ferida), interativas (atuam em prol de manter o microambiente úmido) e bioativas (contribuem com elementos essenciais para o processo de cicatrização). Com relação ao contato com as feridas, as coberturas são classificadas em primárias (produtos aplicados diretamente sobre a ferida) e secundárias (os produtos são aplicados sobre a cobertura primária) (GOMES, BORGES, 2008).

Atualmente, existem no mercado inúmeros materiais de coberturas que podem contribuir para a cicatrização. O processo de cicatrização das feridas é dinâmico; dessa forma, as coberturas aplicadas podem alterar com evolução no decorrer do tratamento (SMANIOTTO et al., 2012).

A escolha correta da cobertura deve comungar com o ambiente adequado. Sendo assim, é cogente deter o conhecimento de alguns princípios básicos. Para as feridas que se apresentam secas, é necessário um tratamento pautado na hidratação; as que produzem uma quantidade exacerbada de exsudato, é fundamental que o líquido seja absorvido; e as que apresentam tecido necrótico, requerem desbridamento; e a presença de infecção, necessita de tratamento com agente antibacteriano (MORIN, TOMASELLI, 2007).

Dentro desse universo de coberturas para cicatrização de úlceras neuropáticas, é importante evidenciar as mais utilizadas na prática clínica. Em consonância com as recomendações do Cadernos de Atenção Básica de *diabetes mellitus* (2011), bem como com o Protocolo de Prevenção e Tratamento de Feridas (2011), as principais coberturas à base de pomada ou óleos são: sulfadiazina de prata, colagenase e ácido graxos essenciais (AGE).

Sulfadiazina de prata é utilizada em feridas que necessitam de ação antibacteriana, bastante comum em queimaduras. Os íons de prata são responsáveis por desencadear a precipitação de proteína desempenhando função bactericida na membrana citoplasmática da bactéria. A sua recomendação não é indicada a paciente que apresente hipersensibilidade a sulfas (FRANCO, GONÇALVES, 2008). A eliminação das bactérias pelo uso do antibiótico tópico é basicamente baixa, devido à camada fibrinosa localizada na superfície das úlceras.

Também é importante mencionar que algumas bactérias produzem biofilme, responsável por impedir ação antibacteriana (BELO HORIZONTE, 2006).

Colagenase é uma pomada composta por enzimas proteolíticas e clostridiopeptidase desempenhando sua atuação na destruição do colágeno nativo da ferida. É recomendado para feridas que se apresentam desvitalizadas e não é indicada para feridas que apresentam cicatrização por primeira intenção (FRANCO, GONÇALVES, 2008). A colagenase efetua o desbridamento de forma aleatória, destruindo células que desempenham função importante para o processo de cicatrização. Essa ausência de seletividade em sua atuação acarretou sua exclusão do protocolo de assistência para portadores de feridas da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte (BELO HORIZONTE, 2006).

Os ácidos graxos essenciais (AGE) compreendem: ácido linoleico, ácido cáprico, ácido caprílico, lectina de soja e vitamina A e E. Sua atuação no processo de quimiotaxia e angiogênese colabora para manter o leito da ferida úmido. É indicado para feridas que não apresentam processo de infecção, feridas superficiais e utilizado na profilaxia de úlceras de pressão (BRASIL, 2011).

O hidrogel, um dos produtos mais utilizados na assistência, é um gel transparente, incolor, composto basicamente por 77,7% de água, 2,3% carboximetilcelulose e 20% de propilenoglicol. Sua ação consiste em proporcionar umidade no leito ferida, promovendo o desbridamento autolítico. Não apresenta capacidade de absorção, o que o torna inviável para tratamento de feridas exsudativas (FRANCO, GONÇALVES, 2008; SOOD, GRANICK, TOMASSELLI, 2014). O hidrogel é uma cobertura padronizada pelo protocolo de assistência para portadores de feridas da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte e o que mais frequentemente é disponibilizado aos profissionais da atenção primária e secundária em saúde do município citado. De acordo com as revisões sistemáticas realizadas pelo Grupo Internacional sobre o Pé Diabético, conclui-se que o desbridamento efetuado pelo hidrogel contribui para a cicatrização de feridas comparada com utilização de gazes umedecidas em solução salina. Contudo, os estudos que compuseram a amostra da revisão apresentam vieses, o que impossibilita sua comprovação baseada em evidência científica (GAME et al., 2016).

Diante de tal situação e principalmente das complicações decorrentes das úlceras neuropáticas, o Comitê Editorial do Grupo de Trabalho Internacional do Pé Diabético, em 2006, convidou o Grupo de Trabalho Internacional sobre o Pé Diabético para desenvolver uma revisão

sistemática concernente aos tratamentos/produtos/curativos para essas lesões. Os resultados desses trabalhos contribuem para aprimorar as intervenções e as condutas dos profissionais de saúde a partir de elementos baseados em evidências, bem como na construção de um protocolo de cuidados de rotina. A primeira revisão contempla todos os trabalhos publicados até dezembro de 2006; a segunda, até junho de 2010 e a recente, até junho de 2014 (HINCHLIFFE et al., 2008; GAME et al., 2012; GAME et al., 2016).

Os resultados das três edições são bastante similares e apresentam as mesmas lacunas. Os estudos que compuseram as amostras possuem qualidade metodológica comprometida, a maioria não apresenta avaliação cega e são influenciados por diversos vieses. Dessa forma, é possível concluir que não existem dados de ensaios clínicos que possibilitem subsidiar a escolha adequada de curativos. Os estudos que possuem resultados promissores são: oxigenoterapia hiperbárica e terapia por pressão negativa. Entretanto requerem mais investigações com delineamento metodológico robusto, utilizando de ensaios clínicos cegos randomizados, com avaliação de custo-eficácia e delimitação do grupo de intervenção (HINCHLIFFE et al., 2008; GAME et al., 2012; GAME et al., 2016; GAME et al., 2016a).

3.7 A espécie *Vasconcellea cundinamarcensis*

A família *Caricaceae* é composta de aproximadamente 50 espécies. Dentre essas, destaca-se a *Vasconcellea Cundinamarcensis*, também conhecida como: *Carica cundinamarcensis*, *Carica pubescens*, *Carica chiriquensis* e *Vasconcellea cestriiflora*; denominada popularmente como “mamão da montanha” ou “*mountain papaya*” (WALRAEVENS et al., 1999). Planta oriunda da América do Sul, localizada especificamente na região Andina, compreendida do Panamá ao Chile. Encontrada comumente em locais com altitudes superiores a 1000 metros (LEON, 1987).

As características da planta consistem em: tronco grosso frequentemente ramificado, com frutos que medem de 5 a 15 cm, podendo chegar até 5 metros de altura e têm coroa compacta de folhas na parte terminal ou nas extremidades dessas ramificações. O seu fruto é amarelo quando maduro, possui forma elipsoide, com polpa delgada, aromatizada e aquosa, podendo ser consumido após o cozimento e sem cozimento. Na região cortical do tronco, nas

folhas, nas camadas mais externas do endocarpo estão localizados os canais lactíferos (LEON, 1987).



Figura 4 - Frutos de *Vasconcellea Cundinamarcensis* imaturos e maduros, respectivamente.
Fonte: Dados da pesquisa

O látex extraído apresenta carboidrato, vitaminas e peptídeos com baixa massa molecular (BAEZA, CORREA, SALAS, 1990). No limbo desses componentes, evidenciam-se as quitinases, cisteíno-proteases e serinoproteases (AZARKAN et al., 2004). As atividades proteolíticas das cisteíno-proteases são superiores às encontradas em *C. papaya* (BRAVO, HERMOSILLA, SALAS, 1994).

Após observações inerentes aos processos envolvidos na regeneração do tecido vegetal da planta da família *Caricaceae*, no qual ativação e processamento de proteases aconteceram em sequência, de forma bastante similar ao mecanismo de coagulação sanguínea e cicatrização

em animais, emergiu a possibilidade do látex possuir atividade semelhante a um fator de crescimento em sistemas animais (SILVA, 2009).

As enzimas extraídas a partir do látex do *Vasconcellea cundinamarcensis* apresentam aspectos bastante diferentes e peculiares das extraídas de outras espécies de *Caricaceae*. Muitas dessas proteases possuem eficiência enzimática cerca de dez vezes superior para clivar com substrato sintético quando comparada com as proteases da *Carica papaya*, planta que também integra a família *Caricaceae*. Outras características que as diferem incluem o pH ótimo, ponto isoelétrico, e reatividade imunológica (GRAVINA, TERMIGNONI, SALAS, 1994; BRAVO, HERMOSILLA, SALAS 1994).

Acredita-se que a função biológica das proteases que compõem parte do látex de *Vasconcellea cundinamarcensis* consiste em fornecer proteção ou promover cicatrização do fruto após injúrias (AZARKAN et al., 2004). Essa possibilidade corrobora veementemente o mecanismo de cicatrização que se inicia após a lesão no fruto de *Caricaceae*, podendo ser evidenciada pela formação de um coágulo de látex no ferimento. Insta salientar que as proteases são ativadas antes da consolidação do coágulo, configurando um processo de natural sequência (SILVA et al, 1997; MOUTIM, et al, 1999).

Tanto na planta quanto em mamíferos, vários eventos ocorrem com objetivo de desencadear o processo de cicatrização do tecido lesionado. Esses eventos são subdivididos em fases, apenas para caráter didático, mas podem ocorrer simultaneamente. Inicia-se com a ativação de plaquetas com liberação de fatores de crescimento e citocinas, fase inflamatória, proliferativa e remodelação ou maturação (COHEN, DIEGELMANN, LINDBLAND, 1992).

A partir dos estudos concernentes ao processo de regeneração do tecido vegetal e à grande possibilidade de atividade similar a um fator de crescimento em sistemas animais iniciou-se a caracterização bioquímica e atividade mitogênica de frações e proteases purificadas do látex de *Vasconcellea cundinamarcensis*.

Entendendo que no látex de *Vasconcellea cundinamarcensis* possui substância que pode colaborar como o processo de cicatrização dos mamíferos, começou-se a utilizar modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* para avaliar esse efeito. Por intermédio do processo de separação cromatográfica em resina – Sephadex G-10 do látex, conseguiu-se obter dois picos bastante específicos, denominados P1G10 (rico em cisteíno protease) e P2G10 (SILVA et al., 2003).

Realizaram, em seguida, também duas fases de purificação cromatográfica em colunas CM-Sephadex e Mono S, derivadas da P1G10, as quais resultaram em duas proteases denominadas CMS2MS2 e CMSMS3 apresentando atividade mitogênica em fibroblastos e outras linhagens celulares (GOMES et al., 2005). A proliferação celular instigada pela CMS2MS2 é intercedida via MAP quinases, como estabelecido pela elevação da fosforilação de ERK-2 e independentemente de sua atividade proteolítica (GOMES et al., 2005; GOMES et al., 2008; GOMES et al., 2010).

Outra fase bastante importante no processo de cicatrização é a neoformação vascular, denominada como angiogênese, responsável pelo aporte de oxigênio e nutrientes necessários para sustentação do metabolismo celular e a remodelação tecidual, que também foi avaliada após o tratamento com P1G10. Realizaram-se implantes de polietileno, antecipadamente, na região subcutânea dorsal de camundongos *Swiss* que receberam solução da fração P1G10 a 0,1%, no período de oito dias. O grupo tratado com P1G10 apresentou uma elevação de 57% na concentração de hemoglobina em relação ao controle. Porém, a concentração a 1% resultou numa redução de 35%. O dado referente à redução pode ser explicado pela sobreposição da atividade proteolítica em relação à atividade mitogênica (MELLO et al., 2008).

Com a conclusão das atividades mitogênica, proteolítica e angiogênica da fração P1G10, um estudo avaliou a atividade de cicatrização em escoriação realizada na pele de camundongos *Hairless*. Os grupos que foram tratados com P1G10 (1,0% e 0,1%) apresentaram taxa de cicatrização de 100,0 % a 60,0% superior ao controle. A concentração de 10% de P1G10 proporcionou efeito irritante sobre a pele lesionada, bem como na parte íntegra das bordas das lesões. No mesmo modelo experimental o efeito cicatrizante da papaína 0,1% também foi avaliado, como proposta de comparação. A taxa de cicatrização apresentada por essa cisteíno-protease foi de 66% maior em relação as feridas controle, porém menor do que os resultados obtidos com a concentração de 0,1% de P1G10 (MELLO et al., 2006).

No decorrer de três a seis meses, avaliou-se a toxicidade tópica sub-crônica/crônica de P1G10 na concentração de 0,1%, em camundongos *Swiss*. Os resultados da análise histopatológica e da variação de peso dos órgãos selecionados permitiram compreender que não houve diferenças entre o grupo tratado P1G10 e o controle (creme hidrossolúvel), sinalizando ausência de toxicidade no grupo estudado (LEMOS et al., 2006). A irritação apresentada pela

exposição a essa concentração foi reversível após o quinto dia da última aplicação (MELLO et al., 2006).

Após os resultados descritos concernentes à cicatrização, a fração de P1G10 foi utilizada para avaliações em outros modelos de feridas, especificamente nas lesões gástricas. Ratos *Wistar* foram submetidos ao processo de anestesia e, subsequentemente, a laparotomia abdominal da região epigástrica, receberam injeção contendo ácido acético na subserosa, com propósito de desencadear úlceras crônicas. As úlceras foram tratadas diariamente com solução de P1G10 a 0,1, 1,0 e 10 mg/kg por via oral. A P1G10 com dose 10,0 mg/kg possibilitou a redução de 62,0% do índice da lesão em relação ao grupo controle. Além disso, quando se comparou a eficiência da P1G10 10 mg/kg com os medicamentos que são bastante utilizados na prática clínica, omeprazol (10 mg/kg) e ranitidina (100mg/kg), verificou-se efeito bastante similar, porém não houve diferença estatística (MELLO, 2005).

Efetuaram-se análises da quantidade de úlceras, nas quais os fármacos omeprazol e ranitidina apresentaram-se mais eficientes, resultando numa redução de 85,0% e 88,0% respectivamente, enquanto os tratados com a fração P1G10 (10mg/kg) reduziram 61,7% das úlceras. Na avaliação do efeito citoprotetor de P1G10 (10mg/kg) aplicado em modelo de indução de lesões por etanol, estresse e ligadura pilórica verificou-se uma redução média de 60,0% no índice de ulceração (MELLO, 2005; SILVA, 2009).

Em úlceras induzidas por indometacina, a fração P1G10 nas concentrações 0,1, 1,0 e 10 mg/kg apresentou uma redução estatisticamente significativa na quantidade e na intensidade das lesões, de maneira dose-dependente, sendo que a maior dose apresentou um efeito similar aos dos fármacos controles. Em úlceras desencadeadas pelo etanol 70%, a P1G10, quando administrada 30 minutos antes da exposição aos agentes, não foi eficaz para proteger o estômago (MELLO et al., 2008).

Estudos realizados sobre efeitos toxicológicos sistêmicos apresentaram resultados em que as atividades das enzimas citocromo P450, ganho de peso corporal, peso do fígado, consumo alimentar e os valores de proteínas totais microssomais não sofreram nenhuma alteração pelo uso oral da P1G10 em doses até 30 vezes maiores (334,0 mg/kg/dia administrado no período de seis dias interruptamente, totalizando nesse período 2,0 g/kg, por via oral), comparado com as aplicações na avaliação da atividade anti-ulcerosa 10mg/kg (VILLALBA et al., 2007).

Outra característica da P1G10 não possui efeito mutagênico nas concentrações estudadas: o número de colônias que apresentaram reversão pelo tratamento com a fração nas concentrações 0,1 e 1% foi similar ao quantitativo de reversões espontâneas – controle negativo, e dez vezes menores que os resultantes da exposição à azida sódica – controle positivo (VILLALBA et al., 2007). A P1G10 não provocou micronucleação significativamente maior que o controle, indicando ausência de genotoxicidade da fração quando submetida ao teste de Micronúcleos (VILLALBA et al., 2008). Com intuito de conhecer e determinar os parâmetros farmacocinéticos de P1G10, efetuou-se a marcação da fração com radioisótopo tecnécio metaestável (^{99m}Tc) e verificou-se que essa apresentou tempo de meia vida baixo (6 horas), manuseio seguro, alta disponibilidade, baixo custo e emitiu radiação gama de baixa energia dentro da faixa detectada em cintiladores (140 KeV). O estudo também permitiu identificar que as altas taxas relativas - área sob a curva – AUC – (AUC órgão/AUC sangue) foram localizadas na bexiga (113,7), rins (46,1), intestino grosso (5,5), fígado (4,2) e intestino delgado (1,2), enquanto que pele (0,72), coração (0,68), tireoide (0,48), tecido adiposo (0,30) e cérebro(0,06) apresentaram as menores taxas. Dessa forma, as maiores taxas de captação foram identificadas nos órgãos que estão diretamente ligados à metabolização e à excreção dos medicamentos. O tempo de meia vida foi de aproximadamente 1,51 hora e a biodisponibilidade foi de 106,9%, por via subcutânea, e de 8,4%, por via oral (LEMOS et al., 2008).

As etapas supracitadas são essenciais, pois os experimentos farmacocinéticos são fundamentais para avaliar os processos de administração, distribuição, biotransformação e excreção dos medicamentos. Por intermédio desses estudos, é possível determinar a posologia correta em consonância com a forma farmacêutica, intervalo entre as doses, quantidade adequada para o caso clínico e via de administração; bem como leitura de resposta inesperada ao fármaco (OLIVEIRA, OLIVEIRA, 2006).

Estudo realizado por Gomes et.al, 2009 concluiu que a fração P1G10 - 0,1% abrevia o tempo de epitelização. Esse mesmo estudo incluiu um ensaio clínico em humanos, que, na fase I, não mostrou evidências de toxicidade da fração P1G10 - 0,1% quando aplicada em pele íntegra. A fase II desse ensaio clínico, por sua vez, mostrou que não houve diferença significativa entre o grupo com úlceras por pressão tratadas com a fração P1G10 - 0,1% e o tratado com sulfadiazina de prata 1,0%. A ausência de efeito cicatrizante significativo de P1G10 foi atribuída à restrição amostral (n = 10). No entanto, foi observado que nas feridas tratadas

com P1G10 60,0% houve diminuição do perímetro, enquanto nenhum efeito foi observado nas tratadas com sulfadiazina de prata (GOMES, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um ensaio clínico, controlado, randomizado, duplo-mascarado, sobre o efeito da fração proteolítica PIG10 na cicatrização de úlceras neuropáticas.

4.2 Local do Estudo

O estudo foi desenvolvido no Ambulatório do Pé diabético (APD) da Unidade de Referência Secundária (URS) Padre Eustáquio, do Distrito Sanitário Noroeste da Secretaria Municipal e Saúde de Belo Horizonte. O fluxo de atendimento mensal do Ambulatório é de 220 pacientes. O serviço é referência estadual no atendimento aos usuários com diagnóstico de *diabetes mellitus* com úlcera neuropática.

4.3 População e amostra

A população foi composta pelos usuários diabéticos com úlceras neuropáticas em tratamento no APD da URS Padre Eustáquio, do Distrito Sanitário Noroeste da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte no período de agosto de 2012 a outubro de 2016.

No processo metodológico do ensaio clínico 50 pacientes foram elegidos para o estudo.

Foram incluídas no estudo, pessoas diabéticas com, no mínimo, uma úlcera neuropática; com idade igual ou maior de 18 anos; que concordaram em participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, cujos resultados de exames laboratoriais fossem: hemoglobina maior ou igual a 9,0 g/dl, contagem total de leucócitos maior ou igual a 3000/mm³, contagem de plaquetas >100.00/mm³, valores de bilirrubina total dentro dos limites de normalidade considerado pelas instituições, valores de Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO) para homem até 40U/L e para mulher 32U/L, Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP)

para homem de 10 a 40 U/L para mulher, de 7 a 35U/L e para mulher e valores de creatinina dentro dos limites normais (homem: 0,70 a 1,20; mulher: 0,55 a 0,96). Todas as dosagens foram realizadas no mesmo laboratório de análises clínicas.

Foram excluídas mulheres grávidas ou em período de amamentação, pessoas com úlceras neuropáticas altamente exsudativas (mais de 10 gazes duplas por troca); que estivessem recebendo tratamento com produtos semelhantes ao utilizado neste estudo; com outras comorbidades não controladas, como infecções ativas e por HIV; com neoplasias ativas ou em remissão, bem como aquelas que estivessem recebendo tratamento citostático, com imunossuppressores ou radioterapia, nos últimos três meses.

Considerando essa recomendação, os usuários recém-admitidos no serviço foram sendo alocados aleatoriamente em dois grupos de tratamento distintos, conforme a Figura 5. A aleatorização foi realizada por sorteio simples e estratificado para cada um dos tipos de tratamento. O sorteio simples considerou a seleção de dois grupos de tratamentos:

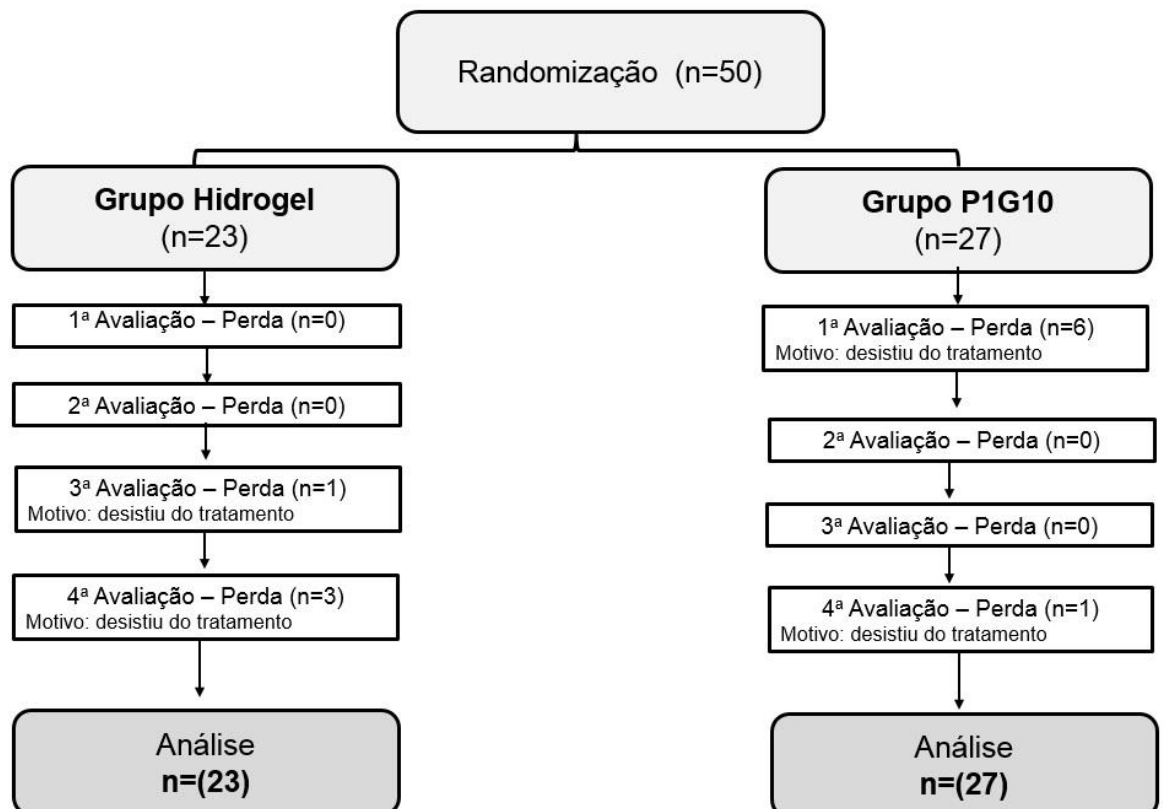


Figura 5 - Fluxograma dos participantes do Ensaio Clínico
Fonte: esquema elaborado pelo autor.

4.4 Recrutamento de voluntários

O recrutamento se deu por meio de convite aos usuários do APD para participar do Ensaio Clínico. O usuário do serviço era abordado pela equipe de pesquisa, em ambiente tranquilo e privado, recebia informações sobre os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, possibilidade de pertencer a um dos grupos de tratamentos, direito de desistir do Ensaio Clínico a qualquer momento do estudo, sem nenhum prejuízo da sua assistência na instituição; obrigatoriedade de realização dos exames laboratoriais e direito de terem suas dúvidas esclarecidas em qualquer momento no decorrer do tratamento.

Após essa apresentação, era entregue ao usuário uma via do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) para que fosse analisado fora do local da abordagem e, se possível, discutido com os demais membros do seu núcleo familiar, para que sua decisão fosse comunicada em seu retorno à instituição.

Após a anuência do paciente do TCLE, era realizada a consulta de enfermagem, para preenchimento do formulário de coleta de dados e solicitação dos exames laboratoriais.

Exames laboratoriais de sangue e urina foram solicitados no início e fim do tratamento. Os exames realizados incluíram hemograma, hemoglobina glicada, glicemia de jejum, albumina sérica, proteína, TGO, TGP, fosfatase alcalina, ácido úrico, creatinina, bilirrubina total, fósforo e cálcio, tempo de protromboplastina, tempo de trombina, GAMA GT, ureia, cloro, sódio e potássio e os de urina rotina. O material para exames foi coletado e analisado por um único laboratório de análises clínicas.

A seguir os valores de referências adotados neste trabalho.

Tabela 1 - Valores de referência

Exames	Valores de Referência
<i>Hemograma</i>	
Hémacias	4.500.00 a 5.500.000 mm ³
Hemoglobina	13,0 a 17,5 g/dl
Hematócritos	40,0 a 50,0 %
VCM	80,0 a 100,0 fl
HCM	26,0 a 32,0 pg
CHCM	31,5 a 36,5 g/dl

Exames	Valores de Referência
RDW	11,5 a 14,6 %
Leucócitos Globais	4.000 a 11.000/mm ³
Neutrófilos	2.000 a 7.000/mm ³
Linfócitos	1.000 a 3.500/mm ³
Monócitos	200 a 1.000/mm ³
Eosinófilos	20 a 500/mm ³
Basófilos	até 200/mm ³
Plaquetas	150.000 a 450.000/mm ³
Teste Bioquímico	
Tempo de Protrombina (atividade)	maior ou igual a 70%
Tempo de Tromboplastina parcial	até 10 segundos acima do plasma controle
Glicemia em Jejum	de 60 a 99 mg/dL
Hemoglobina Glicada	Bom controle- menor que 7%
Creatinina	Homem : 0,70 A 1,20 mg/dL mulher: 0,55 A 0,96 mg/dL
Ureia	10 a 50 mg/dL
Albumina	adultos : 3,5 A 5,2 g/dL
Bilirrubina Total	ate 1,1 mg/dL
Cálcio	de 8,6 a 10,2 mg/dl
Cloreto	de 98 a 107 mEq/L
Potássio	3,5 a 5,1 mEq/L
Sódio	de 136 a 145 mEq/L
Fósforo	adultos: 2,5 A 5,0 mg/dl
Fosfatase Alcalina	maior ou igual a 21 anos - homem: 40 A 129 U/L mulher: 35 A 104 U/L
Proteínas Totais	de 6,6 a 8,7 g/dL
Transaminase Oxalacética	homem: até 40 U/L mulher: até 32 U/L
Transaminase Pirúvica	homem: 10 a 40 U/L mulher: 7 A 35 U/L
GAMA GT	homem: de 08 a 61 U/L mulher: de 05 a 36 U/L
Urina	
Densidade	1.015 A 1.025
pH	4,5 A 7,8

4.5 Tratamento

A composição dos produtos utilizados para tratamento está descrita nas tabelas abaixo:

Tabela 2 - Composição do creme contendo a fração PIG10

Descrição	Porcentagem	Peso (g)
P1G10	0,1%	58,8
Polawax®	8%	4.000,0
Vaselina líquida	6%	3.000,0
BHT	0,05%	25,0
Nipagin*	0,15%	75,0
Propilenoglicol	5%	2.500,0
Nipazol*	0,1%	50,0
EDTA	0,1%	50,0
Aminometilpropanol-95	0,03%	15,0
Imidazolidinil ureia	0,3%	150,0
Ciclometicone volátil	2%	1.000,0
Água destilada	**q.s.p 100%	39.076,2

*conservantes – baixa atividade antimicrobiana; **q.s.p para 50.000,0g de formulação do creme dermatológico

Tabela 3 - Composição do Hidrogel Purilon® Gel Comfell® Coloplast - envasado no Laboratório

Descrição*
Água purificada
Carboximetilcelulose de sódio
Alginato de cálcio

* Porcentagem e Peso (g) não informados pelo fabricante

A fração P1G10 foi formulada no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Produtos Naturais do Departamento de Biologia e Imunologia ICB, sob responsabilidade do Professor Carlos Edmundo Salas Bravo.

Os dois produtos utilizados para tratamento das úlceras foram divididos em quatro recipientes idênticos e numerados de 1 a 4 cujo conteúdo de dois deles era o hidrogel e outros dois, a fração P1G10 (0,1%).

Os envolvidos na pesquisa, os componentes da amostra e pesquisadores não tiveram conhecimento do tratamento utilizado. Os produtos usados para tratamento foram fracionados e dispensados quinzenalmente, pelo Laboratório de Substâncias Antitumorais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, por membros do grupo de pesquisa que não tinham contato com os outros participantes. Os recipientes ficavam armazenados em geladeira até o momento da aplicação.

O tratamento e, por conseguinte, a coleta de dados, ocorreu de agosto de 2012 a junho de 2016, e foi realizado pelo pesquisador e por uma enfermeira (bolsista de apoio técnico), previamente treinados para avaliação e execução dos procedimentos da pesquisa.

A aplicação dos produtos foi efetuada três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), completando 48 aplicações ou até a epitelização de toda extensão da úlcera, o que acontecesse primeiro. O tratamento foi realizado exclusivamente no âmbito ambulatorial. Quando o usuário não podia comparecer ao serviço e houvesse algum processo de infecção na área da ferida, ele era orientado a realizar a troca do curativo apenas com soro fisiológico 0,9%.

A limpeza das úlceras era realizada com solução fisiológica a 0,9% sob pressão, em jato, sem esfregação ou uso de substâncias antissépticas. Posteriormente, era aplicada uma fina camada da fração P1G10 ou do hidrogel, sobre o leito da úlcera, recobrando toda a sua extensão. Em seguida, aplicava-se gaze dupla, fixava-se com esparadrapo e atadura de crepom, caso necessário.

Nos casos de usuários com mais de uma ferida, todas recebiam tratamento, mas somente uma foi alocada para o estudo.

Na primeira semana em que os usuários iniciaram o tratamento proposto, eles ficavam 30 minutos em observação após aplicação dos produtos, para verificação de possível efeito indesejado. Depois desse intervalo de tempo, caso nada apresentassem, eles eram liberados. Os usuários também foram orientados a entrar em contato telefônico com os pesquisadores responsáveis caso observassem algum efeito adverso, como prurido.

4.6 Mensuração da área da ferida

Para avaliar a evolução do tratamento, a extensão das úlceras era mensurada mensalmente. Para tal, aplicava-se sobre a lesão um papel transparente estéril e nele realizava-se o contorno da borda, utilizando-se caneta própria. Obtido o desenho no papel transparente, as maiores extensões da vertical e horizontal eram identificadas e registradas. A profundidade da úlcera era verificada utilizando-se espátula de madeira estéril, perpendicular ao leito, no ponto mais profundo e, posteriormente, essa medida era comparada em régua. Além disso, a

imagem das úlceras era obtida, mensalmente, por meio de câmera fotográfica digital Sony (Cyber-shot®), modelo DSC-WX100, resolução de 18.2 mega pixels. Ao lado da úlcera, era posicionado o padrão secundário comparativo de 5,1 x 15,0 cm e etiqueta contendo data, iniciais do nome do usuário, número do prontuário e momento do tratamento.



Figura 6 - Mensuração da ferida

Fonte: Dados da pesquisa



Figura 7 - Imagem padrão secundário comparativo
Fonte: Dados da pesquisa

4.7 Desfechos

Considerou-se resposta satisfatória ao tratamento a epitelização completa da lesão (100,0%) ou a redução da sua área em 80,0%. As causas de interrupção ou encerramento do tratamento: presença de tecido epitelial em 100% da extensão do leito da lesão; término de 48 aplicações; ocorrência de um evento adverso; observância de qualquer critério de exclusão; abandono voluntário do tratamento; atraso superior a quinze dias na aplicação do creme em relação à data agendada; mudança do usuário para outra localidade; início de novo tratamento por conta do próprio usuário; falecimento do mesmo.

4.8 Instrumento de coleta de dados

Para realizar a coleta de dados foram utilizados dois instrumentos: Formulário de Avaliação do Portador de Ferida e Registro de Evolução da Ferida.

O formulário de avaliação do portador de feridas foi elaborado para registro da história clínica do paciente, bem como das características da ferida (APÊNDICE B).

- Dados socioeconômicos: sexo, cor de pele, estado civil, escolaridade, religião, ocupação, profissão, renda, condições da residência.
- Hábitos pessoais: número de refeições ao dia, ingestão hídrica, hábito intestinal e vesical, etilismo, tabagismo, prática de atividade física.
- História clínica: doenças atuais, medicamento em uso, imunização, alergia tópica e medicamentosa, feridas prévias, amputação prévia, uso de prótese, uso de órtese, terapia compressiva, calçados adequados, uso de creme hidratante.
- Exame físico: peso, altura, índice de massa corporal, circunferência abdominal, glicemia capilar, pressão arterial, frequência de pulso e respiratória, temperatura axilar, dor, circunferência dos membros inferiores, sinais e sintomas locais, deformidades, pulso em membros inferiores, resposta de monofilamento de 10 gramas, avaliação e classificação da ferida.

O formulário de registro de evolução (APÊNDICE 3) foi elaborado com a finalidade de registrar a avaliação da úlcera a cada troca de curativo. Nele continha os seguintes itens:

- Mensuração: comprimento, largura, área, profundidade, solapamento.
- Tecido necrótico: tipo, cor e porcentagem da área acometida.
- Exsudato: odor, característica, volume
- Dor: avaliada segundo a Escala Número Dor de 0 a 10
- Pele circunvizinha
- Sinais de infecção
- Edema

- Reações adversas

4.9 Análise de Dados

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa estatístico *Data Analysis and Statistical Software* (Stata), versão 14.0.

A normalidade dos dados foi verificada por meio de teste de Shapiro-Wilk e as variáveis contínuas foram apresentadas como médias e desvios padrão e comparadas mediante o teste t-student. As categorias foram expressas em números absolutos e relativos e comparadas por meio do teste qui-quadrado. Foram calculadas as taxas de incidência x 1000 pessoas-dia e seus intervalos de confiança.

As curvas de sobrevida estimadas por meio do método de Kaplan-Meier, e a regressão de Cox foi usada para estimar o efeito de cicatrização, usando como força de associação o Hazard Ratio e seus intervalos de confiança de 95%. Todos os testes foram considerados significativos no nível de significativos com valores de $p < 0,05$.

A análise foi realizada por intenção de tratar, dessa forma, considerou-se o número total de indivíduos no início da corte.

4.10 Aspectos éticos

Este estudo clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG (CAAE: 05172412.0.0000.5149), em 20 de dezembro de 2012, e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretária Municipal de Saúde de Belo Horizonte, em de 28 junho de 2012 (Parecer 179.129).

5 RESULTADOS

O grupo estudado foi de 50 indivíduos cuja mediana de idade foi 57 anos, sendo que a idade mínima encontrada foi de 36 anos e a máxima, de 83 anos. A maioria dos participantes foi do sexo masculino (82,00%), da cor parda (52,00%), aposentados/pensionistas (62,00%) e possuíam de 11 a 14 anos de estudos (30,00%).

A renda mediana dos pacientes foi de R\$ 1.360, sendo a mínima de zero reais e a máxima de R\$ 5.239,20 reais.

Quanto ao estado civil, constatou-se que (64,00%) eram casados ou mantinham uma união estável. A maioria (66,00%) residia com companheiro e filhos.

Em relação às condições de saneamento básico de suas residências, 100,00% dos pacientes relatavam residir em casas com água encanada, tratamento de esgoto e possuíam coleta de lixo.

Deve-se destacar que não houve diferença estatística nas características sociodemográficas entre os grupos estudados.

Tabela 4 - Características sócio-demográficas dos participantes do Ensaio Clínico (n=50), Belo Horizonte, junho de 2017.

DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS				
Variáveis	Total	Hidrogel	PIG10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Idade (anos)				0,06
30-40	01(02,00)	-	01(100,00)	
41-50	07(14,00)	06(87,71)	01(14,29)	
51-60	28(56,00)	16(57,14)	12(42,86)	
61-70	10(20,00)	02(20,00)	08(80,00)	
71-80	02(04,00)	02(100,00)	-	
81-90	03(04,00)	01(50,00)	01(50,00)	
Sexo				0,4
Masculino	41(82,00)	21(51,22)	20(48,78)	
Feminino	09(18,00)	06(66,67)	03(33,33)	
Cor da Pele				0,31
Amarela	01(02,00)	01(100,00)	-	
Branca	13(26,00)	08(61,54)	05(38,46)	

DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS				
Variáveis	Total	Hidrogel	PIG10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Parda	26(52,00)	11(42,31)	15(57,69)	
Preta	10(20,00)	07(70,00)	03(30,00)	
Estado Civil				0,21
Casado (a)/União Estável	32(64,00)	15(46,88)	17(53,13)	
Solteiro (a)	09(18,00)	03(33,33)	06(66,67)	
Viúvo (a)	03(06,00)	03(100,00)	-	
Divorciado/separado	06(12,00)	02(33,33)	04(66,67)	
Situação Familiar				0,51
Convive companheiro (a)	33(66,00)	17(51,52)	16(48,48)	
Convive com somente o companheiro (a)	01(2,00)	-	01(100,00)	
Convive com familiares sem companheiro (a)	10(20,00)	03(30,00)	07(70,00)	
Vive sozinho	06(12,00)	03(50,00)	03(50,00)	
Religião				0,163
Evangélico	10(20,00)	07(70,00)	03(30,00)	
Católico	31(62,00)	18(58,06)	13(41,94)	
Espírita	03(06,00)	01(33,33)	02(66,67)	
Sem Religião	06(12,00)	01(16,67)	05(83,33)	
Ocupação				0,15
Empregado	10(20,00)	05(50,00)	05(50,00)	
Desempregado	02(04,00)	-	02(100,00)	
Aposentado/pensionista	31(62,00)	16(51,61)	15(48,39)	
Afastado	07(14,00)	06(87,71)	01(14,29)	
Escolaridade				0,28
Sem instrução e menos de 1 ano	01(02,00)	01(100,00)	-	
1 a 3 anos	10(20,00)	03(30,00)	07(70,00)	
4 a 7 anos	13(26,00)	10(76,92)	03(23,08)	
8 a 10 anos	09(18,00)	05(55,56)	04(44,44)	
11 a 14 anos	15(30,00)	07(46,67)	08(53,33)	
Acima de 14 anos	02(4,00)	01(50,00)	01(50,00)	

A mediana do peso obtido foi de 88,05 kg sendo que medida mínima foi de 55,6 Kg e a máxima foi 149,8 kg. A média de altura foi de 1,69 m, cujo menor valor foi 1,45 m e o maior valor 1,88. Em relação ao índice de massa corporal, o predominante entre as pessoas que compuseram a amostra foi referente à obesidade I (36,00%). O tempo médio de diagnóstico DM foi de 13,2 anos, cujo mínimo foi de 01 ano e o máximo 36 anos.

Os dados vitais mensurados foram pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal, cujos valores da média e seus respectivos desvios padrões foram: 136,2 mmHg sistólica (DP=18,17), 83,4 diastólica mmHg (DP=12,05), 81,82 bpm (DP=11,71), 18,1resp/min (DP=2.46), 35,97 °C (DP=0,50).

Quanto ao estilo de vida, a maioria dos participantes: nunca fumou (52,0%), era ex-fumante (54,00%), inativa (94,00%) e não possuía cartão de vacina (54,00%). A média de anos dos atuais fumantes foi de 28,83 (DP= 13,59), e a bebida alcoólica mais frequentemente consumida por eles foi cerveja (52,00%).

Em relação ao histórico de ulceração, 46.00% deles já tiveram uma lesão anterior, 60,00% foram submetidos ao processo de amputação de um membro ou parte dele.

Observou-se que o uso de próteses estava presente em 46,00 % da amostra, sendo essas: prótese total removível (36,00%), perna direita (6,00%) e peniana (4,00%). O uso de órtese foi relatado por 62,00% da amostra e as órteses mencionadas foram: óculos (28,00%), muleta (18,00%) óculos e muleta (6,00%), bengala (8,00%) e óculos e *roach* (2,00%).

No que concerne à prática de autocuidado, foi observado que a maioria dos indivíduos não fazia repouso (52,00%) e não usava terapia compressiva (92,00%). O uso de calçado inadequado foi observado na seguinte proporção: pé direito (72,00%) e pé esquerdo (70,00%); bem como de palmilha ortopédica: pé direito (82,00%) e pé esquerdo (88,00%).

Os dados clínicos não apresentaram diferença estatística em relação aos grupos de tratamento:

Tabela 5 - Dados Clínicos dos participantes do Ensaio Clínico (n=50). Belo Horizonte, junho de 2017.

DADOS CLÍNICOS - Hábitos Pessoais				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
<i>Índice de Massa Corporal (IMC)</i>				0.90
Eutrófico	07(14,00)	04(57,14)	03(42,86)	
Sobrepeso	18(36,00)	11(61,11)	07(38,89)	
Obesidade I	18(36,00)	09(50,00)	09(50,00)	
Obesidade II	03(06,00)	1(33,33)	02(66,67)	
Obesidade III	04(08,00)	02(50,00)	02(50,00)	
<i>Pressão Arterial</i>				0,54

DADOS CLÍNICOS - Hábitos Pessoais				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Normotenso	15(31,91)	08(53,33)	07(46,67)	
Hipertenso	32(68,09)	14(43,75)	18(56,25)	
<i>Frequência Cardíaca</i>				0,87
Eucárdico	46(92,00)	21(45,65)	25(54,35)	
Taquicárdico	04(08,00)	02(50,00)	02(50,00)	
<i>Frequência Respiratória</i>				0,64
Bradpnéico	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
Eupnéico	41(82,00)	19(46,34)	22(53,66)	
Taquipnéico	06(12,00)	02(33,33)	04(66,67)	
<i>Temperatura Axilar (°C)</i>				0,35
≤ 35	01(02,00)	-	01(100,00)	
35,1-37	49(98,00)	23(46,94)	26(53,06)	
<i>Circunferência Abdominal</i>				0,39
Ideal	18(36,00)	06(33,33)	12(66,67)	
Aumentada	08(16,00)	04(50,00)	04(50,00)	
Muito Aumentada	24(48,00)	13(54,17)	11(45,83)	
<i>Quantidade de Doenças</i>				0,17
1	15(30,00)	04(26,67)	11(73,33)	
2	27(54,00)	14(51,85)	13(48,15)	
3	06(12,00)	03(50,00)	03(50,00)	
4	02(04,00)	02(100,00)	-	
<i>Tabagismo</i>				0,48
Nunca	26(52,00)	16(61,54)	10(38,46)	
Ex-tabagista	21(42,00)	10(47,62)	11(52,38)	
Sim	03(6,00)	01(33,33)	02(66,67)	
<i>Consumo de álcool</i>				0,36
Nunca	13(26,00)	09(69,23)	04(30,77)	
Ex-etilista	27(54,00)	14(54,85)	13(48,15)	
Sim	10(20,00)	04(40,00)	06(60,00)	
<i>Prática de Atividade Física</i>				0,49
Não Prática	47(94,0)	26(55,32)	21(44,68)	
Prática	03(6,00)	01(33,33)	02(66,67)	
<i>Insônia</i>				0,14
Não	43(86,00)	25(58,14)	25(60,98)	
Sim	05(71,43)	02(28,57)	02(22,22)	
<i>Alergia Tópica</i>				0,52

DADOS CLÍNICOS - Hábitos Pessoais				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Não	36(72,00)	16(44,14)	20(55,56)	
Sim	08(16,00)	05(62,50)	03(37,50)	
Desconhece	06(12,00)	02(33,33)	04(66,67)	
<i>Alergia Medicamentosa</i>				0,59
Não	35(70,00)	15(42,86)	20(57,14)	
Sim	08(16,00)	05(62,50)	03(37,50)	
Desconhece	07(14,00)	03(42,86)	04(57,14)	
<i>Cartão de Vacina</i>				0,17
Não	27(54,00)	10(37,04)	17(62,96)	
Sim	23(46,00)	13(56,52)	10(43,48)	
<i>História Pgressa de Ferida</i>				0,14
Não	27(54,00)	12(44,44)	15(55,56)	
Sim	23(46,00)	15(65,22)	08(34,78)	
<i>História Pgressa de Amputação</i>				0,20
Não	20(40,00)	13(65,00)	07(35,00)	
Sim	30(60,00)	14(46,67)	16(53,33)	
<i>Prótese</i>				0,37
Não	27(54,00)	13(48,15)	14(51,85)	
Sim	23(46,00)	14(60,87)	09(39,13)	
<i>Órtese</i>				0,31
Não	19(38,00)	12(63,16)	07(36,84)	
Sim	31(62,00)	15(48,39)	16(51,61)	
<i>Terapia Compressiva</i>				0,38
Não	46(92,00)	24(52,17)	22(47,83)	
Sim	04(08,00)	03(75,00)	01(25,00)	
<i>Prática de Repouso</i>				0,59
Não	26(52,00)	15(57,69)	11(42,31)	
Sim	24(48,00)	12(50,00)	12(50,00)	
<i>Calçado Adequado Pé Direito</i>				0,32
Não	36(72,00)	21(58,33)	15(41,67)	
Sim	14(28,00)	06(42,86)	08(57,14)	
<i>Calçado Adequado Pé Esquerdo</i>				0,19
Não	35(70,00)	21(60,00)	14(40,00)	
Sim	15(30,00)	06(40,00)	09(60,00)	
<i>Planilha no Pé Direito</i>				0,92
Não	41(82,00)	22(53,66)	19(46,34)	

DADOS CLÍNICOS - Hábitos Pessoais				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Sim	09(18,00)	05(55,56)	04(44,44)	
<i>Palmilha no Pé Esquerdo</i>				0,83
Não	44(88,00)	24(54,55)	20(45,45)	
Sim	06(12,00)	03(50,00)	03(50,00)	
<i>Aplicação de Creme Hidratante</i>				0,11
Não	19(38,00)	13(68,42)	06(31,58)	
Sim	31(62,00)	14(45,16)	17(54,84)	

Quanto aos sinais e sintomas locais referentes aos membros inferiores, 68% dos participantes apresentaram varizes, 60,00% apresentaram edema e 50,00% relatam de dor. A caracterização da dor relatada apresentou-se da seguinte forma: queimação (24,00%), choque (12,00%), agulhadas (16,00%), membro pendente (16,00%), membro elevado (4,00%), formigamento (14,00%), dormência (14,00%), fraqueza muscular (2,00%), sensação de esfriamento/aquecimento (2,00%). Além disso a dor é responsável por influenciar no sono (4,00%), no apetite (6,00%), na deambulação (6,00%) e no humor (4,00%).

Não foi observado membro inferior algum com cianose nem hipotermia. No que se refere à deformidade nos pés, 88,00% apresentam algum tipo, sendo as mais comuns: pés *calvus*, arco desabado, dedos em garras, hálux vago, atrofia intraóssea com Charcot, dedos sobrepostos e dedos em garras.

Os pulsos pediosos direito e esquerdo apresentaram-se alterados em 46% e 36% da amostra, respectivamente, enquanto os pulsos tibiais posteriores direito e esquerdo expressaram-se alterados em 38,00%. Também foi realizado o teste de monofilamento de 10 g nos em ambos os pés, obtendo-se sensibilidade ausente em 58,00% dos participantes.

Os dados referente aos sinais e sintomas dos membros inferiores não apresentaram diferença estatística entre os diversos grupos de tratamento:

Tabela 6 - Sinais e sintomas locais dos membros inferiores dos participantes do Ensaio Clínico (n=50). Belo Horizonte, junho de 2017.

SINAIS E SINTOMAS LOCAIS				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	<i>p</i>
	n(%)	n(%)	n(%)	
<i>Micose</i>				0.18
Não	39(78,00)	23(58,97)	16(41,03)	
Sim	11(22,00)	04(36,36)	07(63,64)	
<i>Maceração Interdigital</i>				0.87
Não	46(92,00)	25(54,35)	21(46,65)	
Sim	04(08,00)	02(50,00)	02(50,00)	
<i>Varizes</i>				0.83
Não	16(32,00)	09(56,25)	07(43,75)	
Sim	34(68,00)	18(52,94)	16(47,06)	
<i>Edema</i>				0.49
Não	20(40,00)	12(60,00)	08(40,00)	
Sim	30(60,00)	15(50,00)	15(50,00)	
<i>Linfedema</i>				0.51
Não	45(90,00)	25(55,56)	20(44,44)	
Sim	05(10,00)	02(40,00)	03(60,00)	
<i>Hiperpigmentação</i>				0.72
Não	36(72,00)	20(55,56)	16(44,44)	
Sim	14(28,00)	07(50,00)	07(50,00)	
<i>Lipodermatoesclerose</i>				0.35
Não	49(98,00)	26(53,03)	23(46,94)	
Sim	01(2,00)	01(100)	-	
<i>Ceratose</i>				0.95
Não	35(70,00)	19(54,29)	16(45,71)	
Sim	15(30,00)	08(53,33)	07(46,67)	
<i>Dermatites</i>				0.91
Não	48(96,00)	26(54,17)	22(45,83)	
Sim	02(04,00)	01(50,00)	01(50,00)	
<i>Claudicação</i>				-
Não	49(98,00)	27(55,10)	22(44,90)	
Sim	01(02,00)	-	01(100,00)	
<i>Pele Ressecada</i>				0.06
Não	31(62,00)	20(64,52)	11(35,48)	
Sim	19(38,00)	07(36,84)	12(63,16)	
<i>Ausência de Pelos</i>				0.92
Não	14(82,00)	22(53,66)	19(46,34)	
Sim	09(18,00)	05(55,56)	04(44,44)	

SINAIS E SINTOMAS LOCAIS				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	
	n(%)	n(%)	n(%)	p
<i>Fissura</i>				0.78
Não	45(90,00)	24(53,33)	21(46,67)	
Sim	05(10,00)	03(60,00)	02(40,00)	
<i>Calosidade</i>				0.72
Não	36(72,00)	20(55,56)	16(44,44)	
Sim	14(28,00)	07(50,00)	07(50,00)	
<i>Proeminência Óssea Saliente</i>				0.12
Não	48(96,00)	27(56,25)	21(43,75)	
Sim	02(04,00)	-	02(100,00)	
<i>Deformidade nos Pés</i>				0.51
Não	06(12,00)	04(66,67)	02(33,33)	
Sim	44(88,00)	23(52,27)	21(47,73)	
<i>Dor</i>				0.78
Não	25(50,00)	13(52,00)	12(48,00)	
Sim	25(50,00)	14(56,00)	11(44,00)	
<i>Escala de dor de Baker</i>				0.87
0	32(64,00)	16(50,00)	16(50,00)	
2	05(10,00)	03(60,00)	02(40,00)	
4	05(10,00)	03(60,00)	02(40,00)	
6	07(14,00)	04(57,14)	03(42,86)	
8	01(02,00)	01(100,00)	-	
<i>Pulso Pedioso do MID</i>				0.27
Ausente	09(18,00)	05(55,56)	04(44,44)	
Alterado	23(46,00)	15(65,22)	08(37,78)	
Presente	15(30,00)	05(33,33)	10(66,67)	
Não se aplica	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
<i>Pulso Tibial Posterior do MID</i>				0.39
Ausente	16(32,00)	11(68,75)	05(32,25)	
Alterado	18(36,00)	09(50,00)	09(50,00)	
Presente	13(26,00)	05(38,46)	08(61,54)	
Não se aplica	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
<i>Pulso Pedioso do MIE</i>				0.27
Ausente	15(30,00)	07(46,67)	08(53,33)	
Alterado	19(38,00)	13(68,42)	06(31,58)	
Presente	15(30,00)	06(40,00)	09(60,00)	
Não se aplica	01(02,00)	1(100)	-	

SINAIS E SINTOMAS LOCAIS				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	p
	n(%)	n(%)	n(%)	
<i>Pulso Tibial Posterior do MIE</i>				0.80
Ausente	18(36,00)	10(55,56)	08(44,44)	
Alterado	19(38,00)	11(57,89)	08(42,11)	
Presente	13(26,00)	06(46,15)	07(58,85)	
<i>Resposta ao Monofilamento de 10g no MID</i>				0.27
Sensibilidade Ausente	29(58,00)	18(62,07)	11(37,93)	
Sensibilidade Presente	18(36,00)	07(38,89)	11(61,11)	
Não se aplica	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
<i>Resposta ao Monofilamento de 10g no MIE</i>				0.27
Sensibilidade Ausente	29(58,00)	18(62,07)	11(37,93)	
Sensibilidade Presente	18(36,00)	07(38,89)	11(61,11)	
Não se aplica	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
<i>Unhas Hipertróficas</i>				0.91
Não	30(60,00)	16(53,33)	14(46,67)	
Sim	20(40,00)	11(55,00)	09(45,00)	
<i>Unhas Frágeis</i>				0.05
Não	46(92,00)	23(50,00)	23(50,00)	
Sim	04(08,00)	04(100,00)	-	
<i>Unhas Escamosas</i>				0.52
Não	39(78,00)	22(56,41)	17(43,59)	
Sim	11(22,00)	05(45,45)	06(54,55)	
<i>Unhas Secas</i>				0.86
Não	43(86,00)	23(53,49)	20(46,51)	
Sim	07(14,00)	04(57,14)	03(42,86)	
<i>Unhas Amareladas ou Acastanhadas</i>				0.32
Não	36(72,00)	21(58,33)	15(41,67)	
Sim	14(28,00)	06(42,86)	08(57,14)	
<i>Unhas com Sinais de Infecção Fúngica</i>				0.52
Não	39(78,00)	22(56,41)	17(43,59)	
Sim	11(22,00)	05(45,45)	06(54,55)	

Com relação aos exames laboratoriais, destacam-se os resultados obtidos em hemograma no início do tratamento: hemácias e hematócritos apresentaram-se alterados em 54,00% e 56,00% dos participantes, respectivamente. Contudo, não foram encontradas

diferenças estatísticas entre os grupos que receberam P1G10 e o grupo controle (Hidrogel) em momento algum do tratamento.

Tabela 7 - Resultado de hemograma dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50). Belo Horizonte, junho de 2017.

Hemograma	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>
Hemácias				0,81				0,86
Alterado	27(54,00)	12(52,17)	15(54,00)		18(51,43)	09(50,00)	09(52,94)	
Normal	23(46,00)	11(47,83)	12(44,44)		17(48,57)	09(50,00)	08(47,06)	
Hemoglobina				0,16				0,6
Alterado	25(50,00)	09(39,13)	16(59,26)		19(54,29)	09(50,00)	10(58,82)	
Normal	25(50,00)	14(60,87)	11(40,74)		16(45,71)	09(50,00)	07(41,18)	
Hematócrito				0,28				0,4
Alterado	28(56,00)	11(47,83)	17(62,96)		21(60,00)	12(66,33)	09(52,94)	
Normal	22(44,00)	12(52,17)	10(37,04)		14(40,00)	06(33,33)	08(47,06)	
VCM				0,28				0,68
Alterado	06(12,00)	04(17,39)	02(07,41)		05(14,29)	03(16,67)	02(11,76)	
Normal	44(88,00)	19(82,61)	25(92,59)		30(85,71)	15(83,33)	15(88,24)	
HCM				0,87				0,59
Alterado	04(08,00)	02(08,70)	02(07,41)		05(14,29)	02(11,11)	03(17,65)	
Normal	46(92,00)	21(91,30)	25(92,59)		30(85,71)	16(88,89)	14(82,35)	
CHCM				0,28				0,97
Alterado	01(02,00)	01(04,35)	-		02(4,71)	01(05,56)	01(05,88)	
Normal	49(98,00)	22(95,65)	27(100,00)		33(94,29)	17(94,44)	16(94,12)	
RDW				0,48				0,89
Alterado	17(34,00)	09(39,13)	08(29,63)		14(40,00)	07(38,89)	07(41,18)	
Normal	33(66,00)	14(60,87)	19(70,37)		21(60,00)	11(61,11)	10(52,82)	
Leocócitos Globais				0,35				-
Alterado	01(02,00)	-	01(03,70)		-	-	-	
Normal	49(98,00)	23(100,00)	26(96,00)		35(100,00)	18(100,00)	17(100,00)	
Neutrófilos				0,35				0,17
Alterado	01(02,00)	-	01(03,70)		02(05,88)	02(11,11)	-	
Normal	49(98,00)	23(100,00)	26(96,00)		32(94,12)	16(88,89)	16(100,00)	
Linfócitos				0,1				0,51
Alterado	03(06,00)	-	03(11,11)		03(08,57)	01(05,56)	02(11,76)	
Normal	47(94,00)	23(100,00)	24(88,89)		32(91,43)	17(94,44)	15(88,24)	
Monócito				0,1				0,51

	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>
Hemograma								
Alterado	03(06,00)	-	03(11,11)		03(08,47)	01(05,56)	02(11,76)	
Normal	47(94,00)	23(100,00)	24(88,89)		32(91,43)	17(94,44)	15(88,24)	
Eosinófilos				0,51				0,61
Alterado	06(12,00)	02(08,70)	04(14,81)		07(20,00)	03(16,67)	04(23,53)	
Normal	44(88,00)	21(91,30)	23(85,19)		28(80,00)	15(83,33)	13(76,47)	
Basófilos				-				-
Alterado	-	-	-		-	-	-	
Normal	50(100,00)	23(100,00)	27(100,00)		35(100,00)	18(100,00)	17(100,00)	
Plaquetas				0,91				0,97
Alterado	02(04,00)	01(4,35)	01(03,70)		02(05,71)	01(05,56)	01(05,88)	
Normal	48(96,00)	22(95,65)	26(96,30)		33(94,29)	17(94,44)	16(94,12)	

Quanto aos testes bioquímicos de sangue, é possível observar que os valores alterados da glicemia de jejum foram encontrados em 82,00% dos participantes e de creatinina, em 36,00% no início do tratamento.

Tabela 8 - Resultado dos testes bioquímicos de sangue dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50). Belo Horizonte, junho de 2017.

Teste Bioquímico	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>
Tempo Protrombina (atividade)				0,05				0,34
Alterado	03(06,00)	03(13,04)	-		01(02,94)	01(05,56)	-	
Normal	47(94,00)	20(86,96)	27(100,00)		33(97,06)	17(94,44)	16(100,00)	
Tempo de Tromboplastina parcial				0,27				0,73
Alterado	01(02,00)	01(04,35)	-		21(58,33)	11(61,11)	10(55,56)	
Normal	49(98,00)	22(95,65)	27(100,00)		15(41,67)	07(38,89)	08(44,44)	
Hemoglobina Glicada				0,72				0,48
Alterado	36(69,57)	16(69,57)	20(74,07)		33(66,00)	14(60,87)	19(70,37)	
Normal	14(28,00)	07(30,43)	07(25,93)		17(34,00)	09(39,13)	08(29,63)	
Glicemia de Jejum				0,92				0,1
Alterado	41(82,00)	19(82,61)	22(81,48)		28(77,78)	16(88,89)	12(66,67)	
Normal	09(18,00)	04(17,39)	05(18,52)		08(22,22)	02(11,11)	06(33,33)	
Creatinina				0,18				0,08

Teste Bioquímico	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	p	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	p
Alterado	18(36,00)	06(26,09)	12(44,44)		13(36,11)	04(22,22)	09(50,00)	
Normal	32(64,00)	17(73,91)	15(55,56)		23(63,89)	14(77,78)	09(50,00)	
Ureia				0,04				0,46
Alterado	16(32,00)	04(17,39)	12(44,44)		10(27,78)	04(22,22)	06(33,33)	
Normal	34(68,00)	19(82,61)	15(55,56)		26(72,22)	14(77,78)	12(67,67)	
Albumina				-				1.0
Alterado	-	-	-		02(05,56)	01(05,56)	01(05,56)	
Normal	50(100,00)	23(100,00)	27(100,00)		34(94,44)	17(94,44)	17(94,44)	
Billirubinas Totais				0,91				-
Alterado	02(04,00)	01(04,35)	01(03,70)		-	-	-	
Normal	48(96,00)	22(95,65)	26(96,30)		36(100,00)	18(100,00)	18(100,00)	
Cálcio				0,87				0,55
Alterado	04(08,00)	02(08,70)	02(07,41)		03(08,33)	01(05,56)	02(11,11)	
Normal	46(92,00)	21(91,30)	25(92,59)		33(91,67)	17(94,44)	16(89,89)	
Cloreto				0,32				0,29
Alterado	07(14,00)	02(08,70)	05(18,52)		04(11,11)	01(05,56)	03(16,67)	
Normal	43(86,00)	21(91,30)	22(81,48)		32(88,89)	17(94,44)	15(83,33)	
Potássio				0,2				0,2
Alterado	13(26,00)	04(17,39)	09(33,33)		07(19,44)	02(11,11)	05(27,78)	
Normal	37(74,00)	19(82,61)	18(66,67)		29(80,56)	16(88,89)	13(72,22)	
Sódio				0,22				0,67
Alterado	05(10,00)	01(04,35)	04(14,81)		07(19,44)	03(16,67)	04(22,22)	
Normal	45(90,00)	22(95,65)	23(85,19)		29(80,56)	15(83,33)	14(77,78)	
Fósforo				0,35				-
Alterado	01(02,00)	-	23(100,00)		-	-	-	
Normal	49(98,00)	01(03,70)	26(96,30)		36(100,00)	18(100,00)	18(100,00)	
Fostatase alcalina				0,52				0,29
Alterado	07(14,00)	04(07,39)	03(11,11)		04(11,11)	01(05,56)	03(16,67)	
Normal	43(86,00)	19(82,61)	24(88,89)		32(88,89)	17(94,44)	15(83,33)	
Proteínas Totais				0,46				0,55
Alterado	03(06,00)	02(08,70)	01(03,70)		03(08,33)	01(05,56)	02(11,11)	
Normal	47(94,00)	21(91,30)	26(96,30)		33(91,67)	17(94,44)	16(88,89)	
Transaminase Oxalacético				-				-
Alterado	-	-	-		-	-	-	
Normal	50(100,00)	23(100,00)	27(100,00)		36(100,00)	18(100,00)	18(100,00)	
Transaminase Pirúvica				0,12				0,31
Alterado	06(12,00)	01(04,35)	05(18,52)		01(02,78)	-	01(05,56)	
Normal	44(88,00)	22(95,65)	22(81,48)		35(97,22)	18(100,00)	17(94,44)	

Teste Bioquímico	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>
Gama GT				0,92				0,37
Alterado	09(18,00)	04(17,39)	05(18,52)		06(16,67)	02(11,11)	04(22,22)	
Normal	41(82,00)	19(82,61)	22(81,48)		30(83,33)	16(89,89)	14(77,78)	

Os resultados da urinálise não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento, em nenhum momento do tratamento. Mas evidenciaram valores alterados na densidade da urina em 52,00% (início do tratamento) e 51,43% (fim do tratamento) dos participantes da pesquisa.

Tabela 9 - Resultado da urinálise dos participantes do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50). Belo Horizonte, junho de 2017.

Urina	Início do tratamento				Fim do tratamento			
	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>	Total n(%)	Hidrogel n(%)	P1G10 0,1% n(%)	<i>p</i>
Densidade				0,59				0,86
Alterado	26(52,00)	11(47,83)	15(55,56)		18(51,43)	09(50,00)	09(52,94)	
Normal	24(48,00)	12(52,17)	12(44,44)		17(48,57)	09(50,00)	08(47,06)	
pH				-				0,29
Alterado	-	-	-		01(02,86)	-	01(05,88)	
Normal	50(100,00)	23(100,00)	27(100,00)		34(97,14)	18(100,00)	16(94,12)	

Com relação às especificidades da lesão no primeiro momento do ensaio clínico foi possível identificar que os valores concernentes a média da área das lesões foi de 5,85 cm² (DP = 6,48) e a média da profundidade, de 0,66 cm (DP=0,41). A característica predominante do exsudado foi o seroso (76,00%), com pouco volume (70,00%). Quanto ao tratamento realizado antes de iniciar no ensaio clínico, os mais utilizados são: soro fisiológico (34,00%), Aquacel[®] (26,00%) e a combinação de Aquacel[®] e hidrogel (16,00%). O tecido necrótico presente foi o esfacelo (100,00%), e a característica mais frequente da pele circunvizinha foi ceratosa (48,00%). A média de tempo que o indivíduo possui a ferida é de 3,7 anos (DP=6,7), sendo o valor mínimo de 0.83 e o valor máximo de 40 anos.

Tabela 10 - Caracterização das feridas durante a primeira avaliação do Ensaio Clínico no início do tratamento (n=50). Belo Horizonte, julho de 2017.

AVALIAÇÃO DA LESÃO				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
<i>Número de Feridas</i>				0,6
Uma	41(82,00)	19(46,34)	22(53,66)	
Duas	08(16,00)	04(50,00)	04(50,00)	
Três	01(02,00)	-	01(100,00)	
<i>Localização da Lesão</i>				0,1
Região o do Plantar	25(50,00)	15(60,00)	10(40,00)	
Dorso do pé	06(12,00)	01(16,67)	05(83,33)	
Laterais do pé	05(10,00)	03(60,00)	02(40,00)	
Artelhos	11(22,00)	04(36,36)	07(63,64)	
Perna	03(06,00)	-	03(100,00)	
<i>Extensão - Comprimento (cm)</i>				0,7
0,0-1,0	11(22,45)	06(54,55)	05(45,45)	
1,1-2,0	11(22,45)	04(36,36)	07(63,64)	
2,1-3,0	09(18,37)	06(66,67)	03(33,33)	
3,1-4,0	07(14,29)	02(28,57)	05(71,43)	
4,1-5,0	05(10,20)	02(40,00)	03(60,00)	
>5,1	06(12,24)	03(50,00)	03(50,00)	
<i>Extensão - Largura (cm)</i>				0,8
0,0-1,0	21(42,00)	11(52,38)	10(47,62)	
1,1-2,0	13(26,00)	05(38,46)	08(61,54)	
2,1-3,0	10(20,00)	05(50,00)	05(50,00)	
3,1-4,0	05(10,00)	02(40,00)	03(60,00)	
>5,1	01(02,00)	-	01(100,00)	
<i>Profundidade (cm)</i>				0,5
Sem profundidade	10(20,00)	03(30,00)	07(70,00)	
0,0-1,0	35(70,00)	17(48,57)	18(51,43)	
1,1-2,0	04(08,00)	02(50,00)	02(50,00)	
2,1-3,0	01(02,00)	01(100,00)	-	
<i>Característica do Exsudato</i>				0,7
Seroso Esverdeado	03(06,00)	02(66,67)	01(33,33)	
Seroso	38(76,00)	17(44,47)	21(55,26)	
Sero-sanguinolento	08(16,00)	04(50,00)	04(50,00)	
Sanguinolento	01(100,00)	-	01(100,00)	
<i>Odor do Exsudato</i>				0,5
Não	33(66,00)	14(42,42)	19(57,58)	
Sim	17(34,00)	09(52,94)	08(47,06)	

AVALIAÇÃO DA LESÃO				
Variáveis	Total	Hidrogel	P1G10 0,1%	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
Volume do Exsudato				0,3
Pouco	35(70,00)	14(40,00)	21(60,00)	
Moderado	11(22,00)	06(54,55)	05(45,45)	
Muito	04(08,00)	03(75,00)	01(25,00)	
Pele Circunvizinha				0,6
Macerada	11(22,00)	04(36,36)	07(63,64)	
Intacta	06(12,00)	02(33,33)	04(66,67)	
Ceratosa	24(48,00)	11(45,83)	13(54,17)	
Macerada/Ceratosa	07(14,00)	04(57,14)	03(42,86)	
Hiperemiada	01(02,00)	01(100,00)	-	
Ceratosa Descamativa	01(02,00)	01(100,00)	-	

A taxa de incidência de cicatrização total em indivíduos tratados com a fração proteolítica P1G10 foi de 5,15 x 1000 pessoas-dia (IC 95% = 2,85 – 9,3) e com cicatrização a 80% foi de 7,03 x 1000 pessoas-dia (IC 95% = 4,25-11,66). Pacientes que foram submetidos ao tratamento com P1G10 apresentaram 2,95 (IC 95% = 1,03- 8,51) vezes a taxa de incidência de cicatrização total quando comparados com aqueles tratados com hidrogel.

Tabela 11 - Taxas de Incidências. Belo Horizonte, junho de 2017.

	Taxas de Incidência	Hazard ratio (IC 95%)	P
	x 1000 pessoas dias (IC95%)		
Cicatrização 100% Área Total			
P1G10	5,15(2,85-9,30)	2,95 (1,03-8,51)	0,03
Hidrogel	1,74(0,74-4,18)	-	-
Cicatrização 80% Área Total			
P1G10	7,03(4,24-11,66)	2,52 (1,07-5,94)	0,03
Hidrogel	2,79(1,36-05,58)	-	-

Em consonância com as funções de risco acumulado de cicatrização total e a 80%, verificou-se, com significância, maior proporção de risco acumulativo dos indivíduos tratados com P1G10 em relação ao grupo controle (hidrogel), representado pelos gráficos abaixo:

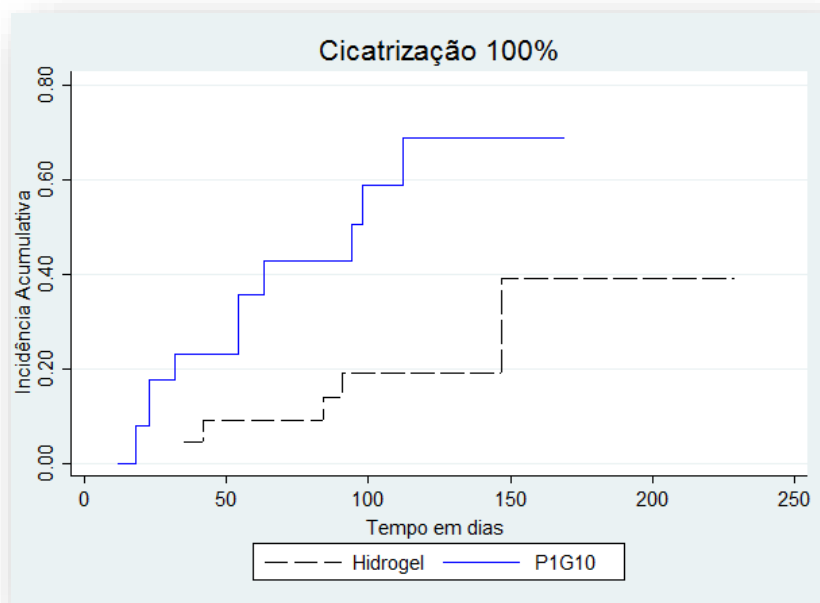


Figura 8 - Probabilidade de Cicatrização a 100%. Belo Horizonte, julho de 2017

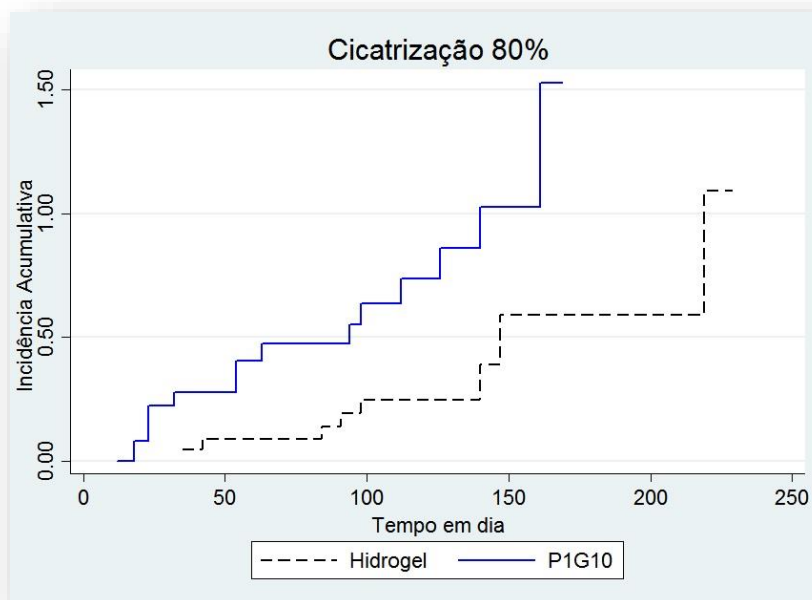


Figura 9 - Probabilidade de Cicatrização a 80%. Belo Horizonte, março de 2017.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, foi mostrado que o uso da fração proteolítica do látex da *Vasconcellea cundinamarzensis* foi eficaz na taxa de cicatrização de feridas em um grupo de pacientes diabéticos que apresentaram feridas neuropáticas tratadas com P1G10 produto liofilizado desse látex. Esse efeito foi observado em dois níveis de desfechos (100% e 80% de cicatrização). Em geral, a taxa de incidência de cicatrização no grupo total de pacientes estudados (tratados e não tratados) foi de 3,2 x 1000 pessoas-dia (IC95% 1,9 – 5,2). O grupo que recebeu a intervenção (P1G10) apresentou uma taxa de incidência de cicatrização de 5,15 x 1000 pessoas-dia (IC95%= 2,85-9,3) e 7,03 x 1000 pessoas-dia (IC95%= 4,24-11,66) por mil pessoas-dia para cicatrização de 100% e 80% da área da ferida, respectivamente. No grupo controle, que recebeu tratamento com hidrogel, esses valores foram, respectivamente, 1,74 x 1000 pessoas-dia (IC 0,74-4,18) e 2,79 x 1000 pessoas-dia (IC95% 1,36-5,58), valores de incidência significativamente menores quando comparados ao grupo intervenção. Esse efeito também foi demonstrado por meio de análise de regressão de Cox, mostrando que o HR (Hazard ratio) de cicatrização em pacientes receberam o tratamento foi estatisticamente significativo quando comparados com os do grupo controle tanto para o nível de cicatrização de 100% (HR = 2,95 IC95% 1,027-8,51) e de 80% (HR 2,52 IC95% 1,06-5,94).

Apesar de não ser avaliado neste estudo o teste de segurança e inocuidade de P1G10 a 0,1%, estudo realizado por GOMES (2009), mostrou que local da aplicação se manteve íntegro, não desenvolveu reação de nenhum tipo ao produto.

Essa observação corrobora com os testes pré-clínicos tóxico agudo e tóxico sub-crônico e crônico de P1G10, não apresentaram diferença estatisticamente significativas entre os grupos tratados com a P1G10 e os grupos controle (MELLO et al. 2006) . Outro teste, no qual foi realizada aplicação da P1G10 na pele íntegra de camundongos, no tempo de três a seis meses, não mostrou alterações histopatológicas ou nos órgãos selecionados, apontando ausência de toxicidade no modelo estudado (LEMOS et al., 2006).

As proteases presentes na P1G10 podem ter contribuído significativamente para o processo de cura/epitelização das feridas nesse estudo, bem como pela sua ação angiogênica conforme demonstrado em outros estudos (LEMOS et al., 2011).

Quanto aos parâmetros bioquímicos de sangue e urina, pôde-se observar que não teve diferença estatisticamente significativa entre o grupo tratado com P1G10 e o grupo controle.

Os ensaios clínicos de fase II, como esse estudo, são fundamentais para determinar o nível de eficiência de um novo fármaco. É nessa etapa que ocorre, pela primeira vez, o contato do potencial fármaco com o doente. Para efetuar seu desenvolvimento é imprescindível a existência de um grupo de comparação que, neste estudo, utilizou o hidrogel como substância ativa para o tratamento das feridas (OLIVEIRA, OLIVEIRA, 2010). Esse produto foi escolhido por ser uma cobertura frequentemente utilizada na prática clínica do município de Belo Horizonte, e por seu relativo baixo custo.

Recentemente, alguns estudos que avaliam o efeito cicatrizante da fração proteolítica presente na P1G10 em feridas venosas, arteriais e queimaduras, predominantemente em modelos animais, estão disponíveis na literatura científica. Por esse motivo esta pesquisa é pioneira no processo de avaliação do efeito cicatrizante do produto supracitado em úlceras neuropáticas.

Efeitos cicatrizantes da P1G10 já foram mostrados nas concentrações 1 e 0,1%, em lesões ocasionadas por dermoabrasão, em camundongos *Hairless*. (MELLO et al., 2006). A fração de P1G10 nas referidas concentrações apresentou valores de taxa de cicatrização de 100 e 600% superior às lesões controle. Adicionalmente, a fração de P1G10 apresentou elevada eficácia no processo de cicatrização das lesões, comparado com a papaína 0,1%, outro cicatrizante proveniente de espécie/gênero similar, no qual a taxa de cicatrização da P1G10 foi 66% maior em relação às da lesões controle.

Outro estudo avaliou atividade protetora e cicatrizante gástrica da P1G10 (MELLO, et al., 2008). Esse estudo atribuiu atividade antiulceragênica, efeito cicatrizante gástrico e citoprotetor à P1G10. Em modelos animais de indução de úlcera crônica, a administração de P1G10 via oral, nas doses de 0,1, 1, e 10 mg/kg diminuiu significativamente a gravidade das lesões, de maneira dose dependente, atingindo em sua maior dose um efeito similar ao efeito do omeprazol em doses de 10mg/kg e foi superior ao apresentado pela ranitidina 100mg/kg (MELLO et al., 2008). Acredita-se que o efeito de cicatrização gástrica é decorrente da proteção à mucosa gástrica, causando pela P1G10, contração a ação lesiva dos principais agentes envolvidos na formação da úlcera, inibição da secreção ácida e estimulação à proliferação celular e possivelmente a angiogênese (SILVA et al., 2009). Estudo desenvolvido por Silva et

al. (2015) confirmam a eficácia da fração proteolítica da P1G10 a 10mg/kg na proteção da mucosa gástrica, bem como cicatrização das lesões gástricas decorrentes da indometacina. Além disso, evidenciou que terapêutica com P1G10 reduz acidez gástrica em animais submetidos à ligadura pilórica.

Outros achados também corroboram o potencial mecanismo da cicatrização da P1G10, no qual realizou-se queimadura provocada por escaldadura em camundongos *Hairless* sem pelos e comparou a evolução do processo de epitelização em seis grupos de tratamento: a P1G10 nas seguintes concentrações (0,01%, 0,1% e 1%), papaína a 0,2%, sulfadiazina de prata a 0,1% e um controle do estudo usando placebo. A P1G10, a 0,1% apresentou maior taxa de epitelização estatisticamente significativa nos dias 25 e 27, após início do experimento, enquanto os demais grupos se mantiveram em condições bastante semelhantes. Porém essa diferença de taxa reduziu até o dia 31, momento que todos os produtos alcançaram um ponto final semelhante (GOMES et al.; 2010). Nesse mesmo estudo com objetivo de confirmar as observações descritas anteriormente, aplicou-se o produto em três grupos da fração proteolítica (0,1%, 0,01% e placebo). Os resultados desse estudo mostraram que o grupo que recebeu a P1G10 a 0,01% apresentou maior taxa de cicatrização comparado com grupo controle e o grupo tratado com a P1G10 a 0,1%. Porém, essa tendência mostrou-se inversa no 29º dia e o grupo que recebeu 0,1% apresentou maior epitelização. A diferença estatisticamente significativa foi observada apenas no 34º dia para condição de 0,1% (GOMES et al.; 2010).

Estudos em seres humanos utilizando P1G10 são escassos, como parte dos resultados de um estudo piloto de nosso mesmo grupo proveniente de resultados de uma tese de doutorado, cujo objetivo foi avaliar o efeito tópico da fração P1G10 a 0,10% em 10 pacientes portadores de úlceras (n=05 úlceras venosa e n=05 para úlcera por pressão). O grupo de controle utilizado foi tratamento com sulfadiazina de prata (1,0%). A opção por esse produto se justificou na mesma da escolha desta pesquisa. Entretanto, os resultados não apresentaram diferença estatisticamente significativa, provavelmente pelo pequeno número amostral. Contudo foi possível detectar uma redução nos valores médios dos seguintes parâmetros em feridas que receberam o tratamento com a P1G10 a 0,1% nas seguintes medidas: comprimento (51,00%), largura (67,00%) e profundidade (74,00%). As feridas que foram tratadas com sulfadiazina de prata 1,0% apresentaram redução apenas da profundidade em (74,00%) (GOMES, 2009).

A atividade de cicatrização da pele decorrente da administração tópica da fração proteolítica da P1G10 0,1% foi avaliada em modelo de dermoabrasão em camundongos *Hairless*. Os ratos tratados com a fração proteolítica supracitada apresentaram 80% de cicatrização, comparados aos seus controles (P1G10 a 0,01%, 1% e 0,1% Papaína) que foi de 15% após oito dias de indução da ferida cutânea. Importante relatar que, utilizando análise morfométrica das lesões, observou-se cura significativamente elevada no grupo que usou a fração proteolítica, em comparação ao controle (LEMOS et al., 2011).

Em outros experimentos realizados foi verificado, por meio de cortes histológicos e emprego de anticorpos CDC47, que a P1G10 elevou significativamente a proliferação celular em 3,55 vezes (LEMOS et al., 2011).

É importante salientar que o uso de P1G10 mostrou taxa de cura superior a do grupo controle, no qual foi usado como cobertura de hidrogel, cobertura comumente usada em serviços públicos de saúde, pelo menos no Brasil (BRASIL, 2016). Uma revisão sistemática e metanálise que avaliou a eficiência de alginato, espuma, hidrocolóide, hidrofibras e curativos de hidrogel no tratamento de úlcera neuropática e úlcera de perna, revelou que os hidrogéis foram mais eficazes no processo de cicatrização de úlceras do pé diabético quando comparados ao uso de alginato, hidrocolóide, espuma e hidrofibras. As outras comparações de curativos não apresentaram resultados com diferença estatística significativa para o desenvolvimento de cicatrização total das úlceras neuropáticas. Importante mencionar há que sérias limitações metodológicas nesses estudos, como: população pequena de estudo, curto acompanhamento do tratamento, ensaios clínicos sem cegamento, número baixo de ensaios clínicos para cada comparação de produtos em pares e limitações de generalização dos resultados a outros tipos de feridas crônicas (SACO, TAMPA, 2016).

Por outro lado, uma revisão objetivou avaliar o efeito de curativos de hidrogel em comparação com curativos alternativos ou nenhum curativo na cicatrização de úlceras em pé indivíduos com DM. A meta-análise de três estudos que efetuaram a comparação da utilização do hidrogel com coberturas de ferimento básico apresentou que a cicatrização foi significativamente maior com o hidrogel (risco relativo 1,80, IC 95% 1,27 – 2,56). O hidrogel apresenta algumas evidências de que pode ser utilizado com um tratamento eficiente para cicatrização de úlceras de pé em relação a coberturas básicas de contato com ferida, porém esse

achado é incerto, decorrente dos problemas metodológicos elencados nos estudos originais (DUMVILLE et al., 2013).

A ausência de estudos que possa confirmar a eficácia e o custo-eficácia das coberturas para o tratamento de úlceras neuropáticas ainda é uma realidade nos dias atuais. Ensaio clínicos randomizados robustos, com desenho metodológico bem consolidado são fundamentais para propor coberturas baseadas em evidências científicas que possam auxiliar/respalda as ações desenvolvidas na prática clínica e, principalmente, na melhoria da qualidade de vida dos pacientes portadores desse problema (HINCHLFFE et al., 2008; GAME et al., 2012; GAME et al., 2016).

Os bons resultados evidenciados neste estudo quanto ao desempenho da cicatrização das úlceras neuropáticas são extremamente justificados pelos diversos estudos experimentais realizados anteriormente a essa fase, nos quais se descreve que tal evento é sua ação mitogênica e angiogênica, destacando também o processo de recrutamento das células envolvidos no processo de regeneração dos tecidos (GOMES et al.; 2005; MELLO et al.; 2006).

Algumas potencialidades e fragilidades devem ser consideradas. Este é um estudo pioneiro de fase II que aborda a efetividade do processo de cicatrização utilizando a P1G10 a 0,1% em seres humanos. Dentre as limitações do estudo, destaca-se primeiramente, a validade externa deste estudo restrita a pacientes com úlceras neuropáticas decorrente dos vários critérios utilizados para incluir participantes. Insta salientar que existe a grande dificuldade de recrutamento de indivíduos que possuam perfil e tenham disponibilidade para participar do estudo; principalmente quando o paciente tem que se deslocar durante três vezes no decorrer da semana até o serviço de atendimento. Esse fator limitante já é descrito por Hulley, Newman, Cummings (2006).

Secundariamente, ressalta-se ao tamanho da amostra, que embora tenha sido suficiente para detectar diferenças estatísticas entre os grupos, não permitiu outros tipos de análises mais complexos. Outra aparente limitação pode surgir da técnica usada para medição das áreas de feridas que pode não ser suficientemente precisas quando comparadas a técnicas de estimativas de área de pixels obtidas por análise computadorizada de imagens, metodologias em estudos futuros. Entretanto exclui-se a possibilidade de aferições diferenciais entre os grupos estudados que poderiam indicar alguns vieses.

Entre os aspectos que fortalecem a validade interna deste estudo, podem ser destacados a eficiência da aleatorização dos grupos experimental e controle a respeito das de variáveis clínicas e sociodemográficas, ou seja, não houve diferenças entre os grupos no que se refere a características que poderiam potencialmente afetar os desfechos. Houve também similaridade entre os grupos de estudos relativos aos exames bioquímicos e laboratoriais. Outra questão pertinente para ser elucidada é concernente à gravidade da amostra evidenciada ausência dos pulsos pediosos e tibiais, bem como os resultados do teste de Monofilamento 10g.

Apesar das limitações, o presente estudo avança na proposta de uma nova terapêutica, com boas evidências científicas e bons resultados no mecanismo de cicatrização das úlceras neuropáticas. Os resultados fornecem ainda mais justificativas para a continuidade de investimento nas fases subsequentes a esse ensaio clínico.

7 CONCLUSÃO

Ao utilizar a fração proteolítica da P1G10 de *Vasconcellea cundinamarcensis* no tratamento de úlceras neuropáticas em seres humanos, observou-se que a P1G10 – 0,1% aumenta significativamente a epitelização destas feridas em comparação com o grupo controle.

Os resultados aqui apresentados contribuem significativamente para ampliar o potencial de indicações terapêuticas das enzimas proteolíticas de *Vasconcellea cundinamarcensis*. Sugere-se a continuidade do ensaio clínico de fase III com estudo multicêntrico com número bem maior de participantes para confirmação de nossos achados.

REFERÊNCIAS

- AKGTAR, S.; SCHAPER, N.; APELQVIST, J. et al. A Review of the Eurodiale: What Lessons for Diabetic Foot Care? **Curr Diab Rep**, v.11, n.4, p. 302-9, 2011.
- AMARAL JÚNIOR, A.H.A. *et al.* Prevenção de lesões de membros inferiores e redução da morbidade em pacientes diabéticos. **Rev Bras Ortop**, v. 49, n. 5, p. 482-487, 2014.
- ANDERSEN, K.E.; FRANKEN, C.P.M.; GAD, P. *et al.* A randomized, controlled study to compare the effectiveness of two foam dressings in the management of lower leg ulcers. **Ostomy Wound Manage**, v.48, n.8, p. 34-41, 2002.
- ANDRADE, M.N.B.; SEWARD, R.; MELO, J.R.C. Curativos; wound dressings. **Rev. Méd. Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.2, n.4, p.228-236, out/dez. 1992.
- ARMSTRONG, D.G.; LAVERY, L.A.; HARKLESS, L.B. Validation of a diabetic wound classification system. The contribution of depth, infection, and ischemia to risk of amputation. **Diabetes Car**, v.28, n.5, p. 855-859, 1998.
- ATTINGER, C.E.; JANIS, J.W.E.; STEINBERG, J. et al. Clinical approach to wounds: debridement and wound bed preparation including the use of dressings and wound healing adjuvants. **Plast Reconstr Surg**, V.117, N. 7 Suppl, p. 72S-109S, 2006.
- AZARKAN, M.; WINTJENS, R.; LOOZE, Y.; VOLANT, D.B. Detection of three wound-induced proteins in papaya latex. **Phytochem**. 65:525-534, 2004.
- BADDER K; APELQVIST, J.; LIPSKY, B.A. *et al.* The 2015 Guidance on prevention and management of foot problems in diabetes: development of an evidence-based global consensus. **International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF)**. Disponível em: <<http://www.iwgdf.org>>. Acesso em: 19/02/2017.
- BAEZA, G.; CORREA, D.; SALAS, C.E. Proteolytic enzymes in *Carica candamarcensis*. **J. Sci. Food Agric.**, v.51, p.1-9, 1990.
- Bakker k, Apelqvist J, Lipky BA *et al.* The 2015 Guidance on prevention and management of foot problems in diabetes: development of and evidence-based global consensus. International Working Group on The Diabetic Foot (IWGDF). Disponível em: <<http://www.iwgdf.org>>
- BARONE, B. *et al.* Cetoacidose Diabética em Adultos – Atualização de uma Complicação Antiga. **Arq Bras Endocrinol Metab**, Rio de Janeiro, RJ, v. 51, n. 9, p. 1434-1447, 2007.
- BELO HORIZONTE. Prefeitura Municipal de Belo Horizonte. Secretária Municipal de Políticas Públicas. Secretária Municipal de Saúde. Gerência de Assistência – Coordenação de Atenção à Saúde do Adulto e do Idoso. **Protocolo de Prevenção e Tratamento de Feridas**. PBH, p.81, 2011. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual do pé diabético: estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

- BORGES, E.L. Evolução da cicatrização. In: BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; MAGALHÃES, M.B.B.; GOMES, F.S.L.; LIMA, V.L.A.N. **Feridas: como tratar**. 2.ed. Belo Horizonte, Coopmed, 2008. 246p. cap.3, p.31-43.
- BOULTON, A.; PEDROSA, H.C. Abordagem diagnóstica, terapêutica e preventiva da neuropatia periférica. In: VILAR, L. Endocrinologia clínica. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.126 - 144.
- BOULTON, A.J.M.; The diabetic foot: grand over-view, epidemiology and pathogenesis. **Diabetes Metab Rev.**, v. 24, Suppl 1, p. S3-6, 2008.
- BOULTON, A.J.; The diabetic foot: from art to science. The 18th Camillo Golgi Lecture. **Diabetologia**, v. 47, n.8, p. 1343-53, 2004.
- BOUTON A.J.; The diabetic foot: epidemiology, risk factors and the status of care. **Diabetes voice**, v. 50, Special Issue, p. 5-7, 2005.
- BOUTON A.J.; VILEIKYYE L.; TENNAVALL G, et al. The global burden of diabetic foot disease. **Lancet**, v. 366, p. 1719-24, 2005b.
- BOUTON A.J.; VINIL, A.L.; AREZZO, J.C. et al.; Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetic Association. **Diabetes Care**, v.28, n.4, p. 956-62, 2005a.
- BRADLEY, M.; CULLUM, N.; NELSON, E.A.; PETTICREW, M.; SHELDON, T.; TORGERSON, D. Systematic reviews of wound care management: (2) dressings and topical agents used in the healing of chronic wounds. **Health Technol Assess**, v.3, n.17, p.1-35, dec. 1999.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Cadernos de Atenção Básica**. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. **Caderno de Atenção Primária. Procedimentos**. Brasília, 2011, 66 p.
- BRAVO, L.M.; HERMOSILLA, J.; SALAS, C.E. A biochemical comparison between latex from *Carica candamarcensis* and *C. papaya*. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v.27, n.12, p.2831-2842, Dec. 1994.
- BUS, S.A., VAN Netten JJ, Lavery LA *et al.* IWGDF Guidance on the prevention of foot ulcers in at-risk patients with diabetes. **Diabetes Metab Res Rev**, 2015.
- CAMPOS, A.C.L.; BRANCO, A.B.; GROTH, A.K. Cicatrização de Feridas. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v.20, n.1, p. 51-8, 2007.
- CHATURVEDI, N.; ABBOTT, C.A.; WHALLEY, A. *et al.* Risk of diabetes-related amputation in South Asians vs Europeans in the UK. **Diabet Med.**, v. 12, n. 2, p. 99-104, 2002.
- COHEN, I.K.; DIEGELMANN, F.R.; LINDBLAND, W.J. Wound healing: biochemical and clinical aspects. 1.ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1992. 630p.
- DUMVILLE, J.C.; O'MEARA, S.; DESHPANDE, S.; *et al.* Hydrogel dressings for healing diabetic foot ulcers. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Issue 7., 2013.

- FERNANDES, A.T. Arte de curar nos primórdios da civilização. In: FERNANDES, A.T.; FERNANDES, M.O.V.; RIBEIRO FILHO, N. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000. 2 v. v.1, cap.2, p. 8-24.
- FRANCO, D.; GONÇALVES, L.F. Feridas Cutânea: a escolha do curativo adequado. Ver. Col. Bras. Cir., v. 35, n. 3, p. 203-206, Mai./Jun. 2008.
- GAME, F.L., APELQVIST, J., ATTINGER, A. *et al.* IWGDF Guidance on use interventions to enhance the healing of chronic ulcers of foot in diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 32, Supplement S1, p. 75-83, 2016a.
- GAME, F.L.; HINCHILIFFE, R.J.; APELQVIST, J. *et al.* A systematic review of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. **Diabetes Metab Res Rev.**, v.28, Suppl 1, p. 119-41, 2012
- GAME, F.L.; HINCHILIFFE, R.J.; APELQVIST, J. *et al.* A systematic review of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. **Diabet Metab Res Rev.**, v. 32, Suppl 1, p. 154-68, 2016.
- GOMES, F.S.L. Efeito da fração proteolítica de *Carica candamarsensis* na cicatrização cutânea: avaliação pré-clínica e clínica fase I. 2009. 230f. (Doutorado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.
- GOMES, F.S.L., BORGES, E.L. Coberturas. In: BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; MAGALHÃES, M.B.B.; GOMES, F.S.L.; LIMA, V.L.A.N. **Feridas: como tratar**. 2.ed. Belo Horizonte, Coopmed, 2008. 246p. cap.3, p.133-178.
- GOMES, F.S.L.; SPÍNOLA, C.V.; RIBEIRO, H.A. *et al.* Wound-healing activity of a proteolytic fraction from *Carica candamarcensis* on experimentally induced burns. **Burns**, v.36, n.2, p. 277-83, 2010.
- GOMES, M.T.; TEIXEIRA, R.D.; RIBEIRO, H.A.; TURCHETTI, A.P.; JUNQUEIRA, C.F.; LOPES, M.T.; SALAS, C.E.; NAGEM, R.A. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of CMS1MS2: a cysteine proteinase from *Carica candamarcensis* latex. **Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.**, v.64, n.6, p.492-494, Jun. 2008.
- GOMES, M.T.R.; MELLO, V.J.; RODRIGUES, K.C.; BEMQUERER, M.P.; LOPES, M.T.P.; FAÇA, V.M.; SALAS, C.E. Isolation of two plant proteinases in latex from *Carica candamarcensis* acting as mitogenic for mammalian cells. **Planta Med.**, v.71, n.3, p.244-248, Mar. 2005.
- GRAVINA, M.C.; TERMIGNONI, C.; SALAS, C.E. Biochemical characterization of a new cysteine endopeptidase from *Carica candamarcensis*. *L. Plant Science*, v.102, p.11-18. 1994.
- GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO. **Consenso Internacional sobre Pé Diabético**. Brasília: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, 2001, 126 p.

HINCHILIFFE, R.J.; VALK, G.D.; APELQVIST, J. *et al.* A systematic review of the effectiveness of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. **Diabetes Metab Res Rev**, v.24, Suppl 1, p.S119-144, 2008.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF. **Atlas**. 7. edição, 2015. Disponível em: < <http://www.diabetesatlas.org/> > Acesso em: 17 de fevereiro de 2016.

ISER, B.P. *et al.* Prevalência de diabetes autorrefereido no Brasil: resultado da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.24, n 2, p.305-314, 2015.

IVERSEN, M.M., *et al.* History of Foot Ulcer Increases Mortality Among Individuals With a Diabetes. **Diabetes Care**, v. 32, n.12, p. 2193-2199, dec 2009.

IVERSEN, M.M.; TELL, G.S.; RIISE, T. *et al.* HISTORY OF FOOT ULCER INCREASES MORTALITY AMONG INDIVIDUALS WITH DIABETES. **Diabetes Care**, v. 32, n. 12, p. 2193-2199, 2005.

JBOUR, A.S.; JARRAH, N.S.; RADAIDEH, A.M.; Prevalence and predictors of diabetic foot syndrome in type 2 diabetes mellitus in Jordan. **Saudi Med J.**, v. 24, n.

JEFFCOATE, W.J.; CHIPCHASE, S.Y.; INCE, P. *et al.* Assessing the outcome of the management of diabetic foot ulcers using ulcer-related and person-related measures. **Diabetes Care**, v. 29, n.8, p. 1784-1787, 2006.

KLAFKE, A. *et al.* Mortalidade por complicações agudas do diabetes melito no Brasil, 2006-2010. **Epidemiol Serv Saúde**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 455-462, 2014.

LARSSON, J.; AGARDH, C.D.; APELQVIST, J. *et al.* Longterm prognosis after healed amputation in patients with diabetes. **Clin Orthop Relat Res**, v. 350, p. 149-158, 1998.

LAVRY, L.A; ARMSTRONG, D.G; MURDOCH, D.P, *et al.* Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system. **Clin Infect Dis**, v. 44, n.4, p. 562-5, Jan 2007.

LEMOS, F.O.; FERREIRA, L. A.; CARDOSO, V.N. *et al.* Skin-healing activity and toxicological evaluation of a proteinase fraction from *Carica Candamarcensis*. **Eur. J. Dermatol**, v. 21, n.5, p. 722-730, 2011

LEMOS, F.O.; MELLO, V.J.; CASSALI, G.D.; SALAS, C.E.; LOPES, M.T.P. Preclinic evaluation of proteases from *C. candamarcensis* as dermal healing principles. In: INTERNATIONAL SYMPOSIA ABOUT PHARMACOLOGY OF NATURAL PRODUCTS, 1, 2006, Varadero. Annal... Varadero: BLACPMA, 2006.

LEMOS, F.O.; SALAS, C.E.; CARDOSO, V.N.; LOPES, M.T.P. Parâmetros farmacocinéticos da fração cromatográfica proteolítica P1G10 do látex de *Carica candamarcensis* com atividades farmacológicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA, 40, 2008, Águas de Lindóia.

LEON, J. Botânica de Los Cultivos Tropicales. San Jose: IICA, 445, 1987.

- LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clin dermatol.**, v.25, n.1, p.9-18, Jan/Feb. 2007.
- LOPES, M.T.P.; SALAS, C.E. The gastric ulcer protective and healing role of cysteine proteinases from *Carica candamarcensis*. *Phytomedicine*, v.15, n.4, p.237- 244, Apr. 2008.
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte 1. *An Bras Dermatol*, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.393-410, jul/ago. 2003.
- MARKAKIS, K.; BOWLING, F.L.; BOULTON, A.J. The diabetic foot in 2015: an overview. **Diabetes Metab Res Rev**, v.32, Suppl 1, p. 167-78, 2009.
- MELLO, V. J.; GOMES, M. T.; RODRIGUES, K. C.; LOPES, M. T. P.; SALAS, C. E. Plant proteinases: Their potential as therapeutic drugs In: **Recent progress in medicinal Plants - Drug Development from Molecules**. 1º ed., Houston, Studium press, LLC.11:211-224, 2006.
- MELLO, V.J. *Avaliação da atividade cicatrizante gástrica/cutânea e de parâmetros toxicológicos da fração purificada PIG10 do látex de Carica candamarcensis*. 2005. 201f. (Doutorado em Ciências Biológicas: Farmacologia e Fisiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- MELLO, V.J.; GOMES, M.T.R.; LEMOS, F.O.; DELFINO, J.L.; ANDRADE, S.P.;MELLO, V.J.; GOMES, M.T.R.; RODRIGUES, K.C.L.; SANCHEZ, E.F.; LOPES, M.T.P.; SALAS, C.E. Plant Proteinases: their potential as therapeutic drugs. In: Govil, J.N., Singh, V.K., Arunachalam, C. **Drug Development from molecules**. Texas: Studium Press, p 211-224, 2006.
- MONTEIRO, S.M.; BOYKO, E.J.; RIBEIRO, J. *et al*. Risk stratification systems for diabetic foot ulcers: a systematic review. *Diabetologia*, v. 54, n. 5, p. 1190-1199, 2011.
- MOREIRA, R. O.; CASTRO. A. P.; PAPELBAUM, M. *et al*. Confiabilidade de Um Escala para Diagnóstico da Polineuropatia Distal Diabética. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 4, n.6, p. 944-950, 2005.MORIN, R.J.; TOMASELLI, N.L. Interactive dressings and topical agents. **Clin Plast Surg**, v. 34, n. 4, p. 643-58, 2007.
- MOUTIM, V.; SILVA, L. G.; LOPES, M. T. P.; FERNANDES, G. W.; SALAS, C. E. Spontaneous processing of peptides during coagulation of latex from *Carica papaya*. **Plant Sci.**, 142: 115-121, 1999.
- OKAN, D.; WOO, K. AYELLO, E.A. *et al*. The role of moisture balance in wound healing. **Adv Skin Wound Care** , v.20, n.1, p. 39-53, 2007.
- OLIVEIRA, G.G.; OLIVEIRA, S.A.H. Os ensaios clínicos. In: SILVA, P. *Farmacologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p 159-171.
- OLIVEIRA, I.V.P.M.; DIAS, R.V.C.; Cicatrização de Feridas: Fase e Fatores de Influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.
- ORGILL, D.; DEMLING, R.H. Current concepts and approaches to wound healing. **Crit Care Med.**, v.16, n.9, p.899-908, Sep. 1988.

- PASQUALOTTO, K.R.; ALBERTON, D.; FRIGERI, H.R. Diabetes mellitus e Complicações. **J Biotec Biodivers**, Ponta Grossa, PR, v. 3, n.4, p. 134-145, 2012.
- PECORARO, R.E.; REIBER, G.E.; BURGESS, E.M. Pathways to diabetic limb amputations. Basis for prevention. **Diabetes Care**, v.13, n.5, p. 13-21; 1990.
- PEDROSA, H. C.; TAVARES, F. S. As vias para a ulceração. In: PEDROSA, H. C.; VILAR, L.; BOULTON, A. J. M. **Neuropatias e pé diabético**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014. Cap. 10, p. 142-57
- PROMPERS, L.; HUIJBERTS, M.; APELQVIST, J. *et al.* High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. **Diabetologia**, v. 350, n.1, p. 18-25, 2007.
- RAGNARSON, T.; APELQVIST, J. Health economic consequences of diabetic foot lesions. **Clin Infect Dis.**, v. 39, Suppl 2, p. S132-S139, 2004.
- REZENDE, K.F.; FERRAZ, M.B.; MALERBI, D.A; et al. Predicted annual costs for inpatients with diabetes and foot ulcers in a developing country – a simulation of the current situation in Brazil. **Diabetic Medicine**, v. 27, n.1, p. 109-12, 2010.
- REZENDE, K.F.; NUNES, M.A.O.;MELO.NH.; *et al.* Internações por Pé Diabético: Comparação entre o custo Direto e o Desembolso do SUS. *Arq Bras Metab*, REZENDE, K.F.; NUNES. M.A.P; MELO, N. H. *et al.* Internação por Pé Diabético: Comparação entre o Cuto Direto Estimado e o Desembolso do SUS. *Arqu Bras Endrocrinol*, v.53, n. 3, p. 523-530, 2008.
- RUSHTON, I. Understanding the role of proteases and pH in wound healing. *Nursing Standart*, v.21, n.32, p.68-74, Apr. 2007.
- SACO, M.; TAMPA, F.L. Comparing the efficacies of alginate, foam, hydrocolloid, hydrofiber, and hydrogel dressings in the management of diabetic foot ulcers and venous leg ulcers: A systematic review and metaanalysis examining how to dress for success. **JAAD**, v. 74, Supplement 1, p. 2333, 2016.
- SILVA, A.C.A. Avaliação da atividade anti-úlceras gástrica e de vias envolvidas no modo de ação da fração P1G10, obtida do látex de *Carica candamarcensis*. 2009. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Farmacologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SILVA, A.C.A.; LEMOS, F.O; GOMES, M.T.R. et al. Role of gastric acid inhibition, prostaglandins and endogenous-free thiol groups on the gastroprotective effect of a proteolytic fraction from *Vasconcellea cundinamarcensis* latex. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 67, n. 1, p. 133–141, 2015.
- SILVA, C.A.; MELLO, V.J.; LOPES, M.T.P.; VAL, C.G.; GOMES, M.T.R.; FERREIRA, R.S.; RODRIGUES, K.C.L.; SALAS, C.E. A mitogenic protein fraction in látex from *Carica candamarcensis*. **Plant Med.**, v.69, p.926-932. 2003.
- SILVA, L. G.; LOPES, M. T. P.; GARCIA, O. S.; SALAS C. E. Changes in protein profile during coagulation of latex of *Carica papaya*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 30: 615-619, 1997.

- SILVA, R.S.; HADDAD, M.C.L.; ROSSANEIS, M.A., *et al.* Análise financeira das internações de diabéticos submetidos à amputação de membros inferiores em hospital público. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 36, n. 1, supl, p. 81-88, ago. 2015.
- SINGH, N.; ARMSTRONG, D.G; LIPSK, B.A. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. **JAMA**, v.293, n.2, p. 217028, 2005.
- SMANIOTTO, P. H. de S. et al. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, v. 27, n. 4, p. 623-6, Oct./Dec. 2012.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016)**. São Paulo , 2016. 384 p.
- SOOD, A.; GRANICK, M.S.; TOMASSELLI, N.L. Wound Dressing and Comparative Effectiveness Data. **Adv Wound Care**, v. 1, n.3, p. 511-529, 2015.
- TAZIMA, M.F.; VICENTE, Y.A.M.V.A.;MORIYA, T. Biologia da Cicatrizção. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.4, n. 2, p. 259-65,2 008.
- TESFAYE, S.; BOULTON, A.J.; DYCK, P.J. *et al.* Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. **Diabetes Care**, v. 33, n.10, p. 2285-93, 2010.
- THOMAS, D.R. Prevention and Treatment of Pressure Ulcers. **JAMDA**, v.7. n.1, p. 46-59, 2007.TRES, G.S.; LISBÔA. H.R.K.; SYLLOS, R. *et al.* Prevalence and characteristics of diabetic polyneuropathy in Passo Fundo, South of Brazil. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.51, n. 6, p. 987-992, 2007.
- TURHAN, V. *et al.* Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, n. 10, p. 707-712, 2013.
- UNWIN, N. The diabetic foot in the developing world. **Diabetes Metab Res Rev.**, v. 24, (Suppl 1), p. S31-S3, 2008.
- VAN D.; B.; BREYNE, P.; GOTGHEBEUR, P. *et.al.* Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (*Caricaceae*) using PCR-RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, v.108, p.1473-1486, 2004.
- VILLALBA, M. I. C.; LEMOS, F. O.; TAGLIATI, C. A. et al. Avaliação Toxicológica de fração proteolítica com atividade cicatrizante obtida do látex de *C. canadamarcentis*. In: Livro de resumos do XXXIX Congresso Brasileiro de farmacologia e Terapêutica Experimental, 2007, p. 529.
- VILLALBA, M. I. C.; VIANA, C. T. R.; TAGLIATI, C. A. et al. Avaliação toxicológica sistêmica de fração proteolítica obtida do látex de *Carica candamarcentis*. In: Livro de Resumos do II Congresso de Fitoterápicos do Mercosul e VI Reunião da Sociedade Latino Americana de Fitoquímica, 2008.
- WALRAEVENS, V.; VANDERMEERS-PIRET, M.C.; VANDERMEERS, A.; GOURLET, P.; ROBBERECHT, P. Isolation and primary structure of the CCI papain - like cysteine

proteinases from the latex of *Carica candamarcensis* hook. **Biol Chem**, v.380, n. 4, p.485-488, Apr. 1999.

YOUNG,M.J.; BOULTON, A.J.; MACLEOD, A.F. *et al.* A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. **Diabetologia**, v. 36, n. 2, p. 150-4, 1993.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Título do Estudo: Estudo pré-clínico e clínico de Fase II da ação cicatrizante cutânea de fração proteolítica do látex de *C. candamarcensis*.

Informações gerais

Este estudo está sendo realizado para avaliar um novo tratamento de feridas de pele, desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A substância em teste é retirada do látex (leite) de uma espécie de mamão chileno, a *C. candamarcensis*, que tem apresentado a propriedade de favorecer a multiplicação de células e assim, a possibilidade de uma cicatrização melhor e mais rápida das feridas. Essa nova substância foi adicionada a um creme, o qual será aplicado como tratamento em feridas de difícil cicatrização.

Você foi convidado(a) a participar deste estudo clínico de forma voluntária, podendo sair da pesquisa a qualquer momento. Você não terá qualquer gasto e não receberá pagamento para participar. A sua identidade será mantida em sigilo. Os resultados serão apresentados em grupo e não individualmente, sem incluir os nomes dos participantes. Dessa forma você não será identificado quando os resultados forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa.

O estudo terá duração de dezesseis semanas. Haverá dois grupos de tratamento: o primeiro será tratado com hidrogel amorfo (tratamento utilizado pelo Serviço de Saúde), o segundo receberá creme com a amostra em teste. A distribuição nos grupos será feita por sorteio, portanto sua inclusão poderá ocorrer em qualquer um dos grupos de tratamento.

Realização dos curativos

A limpeza das feridas será realizada com jato de solução fisiológica a 0,9%.

A amostra em teste ou hidrogel amorfo será aplicada sobre o leito da ferida, recobrendo toda a sua extensão. Em seguida, será aplicada gaze e fixada com micropore e atadura de

crepom, caso seja necessário. Terminada a aplicação do produto, você ficará sob observação por meia hora; caso não haja qualquer reação, você poderá deixar a unidade. Os curativos com esses produtos serão trocados em dias alternados, podendo permanecer até 3 dias.

Não foram encontrados na literatura registros de efeitos adversos relacionados à aplicação do hidrogel amorfo. A amostra em teste não provocou efeitos indesejados, de qualquer natureza, em testes com animais, na pele íntegra de pessoas que receberam a aplicação do creme e em pessoas portadoras de úlceras por pressão que foram tratadas com este creme.

Caso ocorra algum efeito indesejado relacionado aos tratamentos, como dor, edema, vermelhidão, prurido ou calor, o médico participante deste estudo, Dr. Antônio Carlos Martins Guedes, fará uma avaliação e prestará a assistência necessária.

Coleta do fluido da lesão

A cada quatro semanas, a secreção das feridas será coletada para a avaliação.

A área ulcerada será coberta por filme de poliuretano. Você deverá manter a área lesada na posição horizontal pendente, de forma que o líquido formado possa ser acumulado do filme. Após 90 minutos, o fluido será aspirado através de uma agulha e seringa, o filme será retirado e, em seguida, o curativo será realizado conforme os padrões já descritos anteriormente.

Exames a serem realizados

Serão coletadas amostras de sangue no início e no final do estudo para controle de: hemograma, tempo de coagulação, protrombina e tromboplastina; glicemia em jejum, hemoglobina glicada, albumina sérica, proteínas totais, TGO, TGP, gama GT, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, bilirrubina total, cálcio, fósforo, cloro, sódio, potássio, urina rotina, fatores de crescimento e mediadores inflamatórios.

As amostras de sangue coletadas serão estocadas até o final do estudo, para possível revisão. Você poderá participar mesmo não aceitando que seja coletado seu sangue.

Durante o estudo, o teste de glicemia capilar será realizado uma vez por semana para monitorar as variações dos níveis de glicose.

Contatos

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Prefeitura de Belo Horizonte em data de xxx, com registro número xxx.

Qualquer dúvida que você tenha em relação ao estudo clínico ou a este termo, ou ainda, caso queira se retirar do estudo, o contato deverá ser realizado com os pesquisadores responsáveis:

Dra. Miriam Teresa Paz Lopes (31-3409-2724; 31-9615-2724)

Dra. Flávia Sampaio Latini Gomes (31-3409-9854)

Ou, ainda, com o Comitê de Ética em Pesquisas da UFMG, situado na Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005 – Campus Pampulha - Belo Horizonte, ou pelo telefone (31) 3409-4592.

Aceite de participação

Li compreendi e esclareci todas as informações contidas neste documento antes de assiná-lo. Confirmando, também, estar de acordo em participar voluntariamente do estudo clínico e que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para participar deste estudo.

PARTICIPANTE

Nome Legível (Letra de Forma)

Assinatura do participante

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____

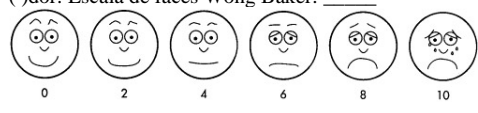
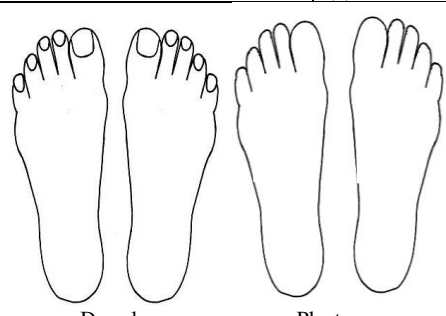
APÊNDICE B

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Formulário de Avaliação do Portador de Feridas do Estudo clínico de Fase II da ação cicatrizante e cutânea de fração proteolítica do látex de *Carica Candamarcensis*.

Responsável pelo preenchimento: _____ COREN: _____ Data: __/__/__

ANAMNESE									
Prontuário eletrônico		Prontuário na URS			Proveniente				
DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS									
Nome		Data de nascimento			Idade (em anos)				
Sexo <input type="checkbox"/> masculino <input type="checkbox"/> feminino		Cor <input type="checkbox"/> branca <input type="checkbox"/> parda <input type="checkbox"/> negra <input type="checkbox"/> vermelha <input type="checkbox"/> amarela		Naturalidade					
Estado civil <input type="checkbox"/> casado/união estável <input type="checkbox"/> solteiro <input type="checkbox"/> viúvo <input type="checkbox"/> divorciado/separado				Religião					
Escolaridade		____ anos de estudo							
Ocupação		Profissão		Renda		Telefones: fixo celular de um contato			
		<input type="checkbox"/> empregado <input type="checkbox"/> desempregado <input type="checkbox"/> aposentado/pensionista <input type="checkbox"/> afastado				(em salários mínimos)		<input type="checkbox"/> _____ - _____ <input type="checkbox"/> _____ - _____ <input type="checkbox"/> _____ - _____	
Endereço									
Água encanada		Coleta de lixo		Esgoto					
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Número de moradores no domicílio		Reside com							
		<input type="checkbox"/> companheiro(a), filhos e/ou outros <input type="checkbox"/> convive somente com companheiro(a) <input type="checkbox"/> familiares, sem companheiro(a) <input type="checkbox"/> pessoas sem laços consanguíneos ou conjugais <input type="checkbox"/> vive só							
DADOS CLÍNICOS									
HÁBITOS PESSOAIS									
Refeições (nº/dia)		Ingestão hídrica (L/dia)		Hábito intestinal (vezes/dia)		Hábito vesical (micções/dia)			
Sono (horas/noite)		Insônia		Motivo					
		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim							
Etilismo		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		Há quanto tempo (em meses)? _____ Bebida mais frequente: _____ Volume Diário (mL): _____					
		<input type="checkbox"/> ex-etilista		Por quanto tempo foi (em meses)? _____ Parou há quanto tempo (em meses)? _____ Bebida mais frequente: _____ Volume Diário (mL): _____					
Tabagismo		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		Há quanto tempo (em meses)? _____ Tipo de Cigarro: _____ Quantos Cigarros/dia: _____					
		<input type="checkbox"/> ex-tabagista		Por quanto tempo foi (em meses)? _____ Parou há quanto tempo (em meses)? _____ Tipo de Cigarro: _____ Quantos Cigarros/dia: _____					
Prática atividade física		Qual tipo de atividade?		Quantas vezes por semana?		Quantas horas por dia?			
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim									
Alergia tóxica		Alergia medicamentosa							
<input type="checkbox"/> desconhece <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim Produto: _____		<input type="checkbox"/> desconhece <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim Produto: _____							
HISTÓRIA CLÍNICA									
Doenças atuais		Diabetes Mellitus há (meses) _____							
Medicamentos em uso									
Possui cartão de vacina?		Influenza		Última dose					
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Antipneumocócica		Anti-tetânica		Última dose					
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Ferida prévia		Local		Amputação prévia		Local		Realizada há (em meses)	
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim				<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Uso de prótese		Qual?		Uso de órtese		Qual?			
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim				<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Terapia compressiva		Reposo		Técnica:					
<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
Calçados adequados		Uso de palmilhas		Uso de creme hidratante (diariamente)					
		MID <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim MIE <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim		MID <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim MIE <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim					
AUTOCUIDADO									

NÍVEL DE INDEPENDÊNCIA FUNCIONAL									
Cuidados pessoais		A. Alimentação () B. Cuidados com a aparência exterior () C. Toalete () D. Habilidade de vestir a parte alta do corpo () E. Habilidade de vestir a parte inferior do corpo () F. Utilização do toalete ()							
Controle de esfínteres		G. Controle de bexiga () H. Controle de fezes ()							
Mobilidade (transferência)		I. Transferência do leito, da cadeira, da cadeira de rodas () J. Transferência ao vaso sanitário () K. Transferência para a banheira ou chuveiro ()							
Locomoção		L. Deambulação sobre o plano horizontal () M. Escadas ()							
Comunicação		N. Compreensão () O. Expressão ()							
Comportamento Social		P. Interação Social () Q. Resolução de problemas () R. Memória ()							
Total de pontos									
Escala de Risco de Braden									
EXAME FÍSICO									
Peso	Kg	Altura	m	IMC	Kg/m ²	Circunferência abdominal	cm	Glicemia capilar	mg/dL
Pressão arterial	mmHg			Pulso	bpm	Respiração	irpm	Temperatura axilar	°C
Circunferência	MID	Panturrilha	cm	MIE	Panturrilha	cm	*Circunferência: posicionar a fita métrica 2cm acima do maléolo e 4cm abaixo do joelho.		
		Tornozelo	cm		Tornozelo	cm			
Sinais e sintomas locais		()micose interdigital () maceração interdigital ()varizes ()edema ()linfedema ()hiperpigmentação ()lipodermatoesclerose ()ceratose ()dermatites ()claudicação ()cianose ()hipotermia ()pele ressecada ()ausência de pelos ()fissuras ()calosidades ()proeminências ósseas salientes ()outros:							
Deformidade		()nenhuma ()pé cavus ()arco desabado ()dedos em garra ()hálux valgo ()artrofia interóssea ()proeminência de metatarsos ()Charcot							
Queixas		()ausentes							
		()dor: Escala de faces Wong Baker: _____				Tipo da Dor ()queimação ()em peso ()choques ()agulhadas ()alodínea			
						Dor com membro pendente ()não ()sim			
						Dor com membro elevado ()não ()sim			
						Interferência nas atividades diárias ()não ()sim ()sono ()apetite ()deambulação ()humor			
		()formigamento ()dormência ()fraqueza muscular ()cãibras ()sensação de esfriamento/aquecimento ()outra: _____							
PULSO*	MID	Pedioso	(0) (1) (2)	MIE	Pedioso	(0) (1) (2)	**Pulso: 0=ausente; 1=alterado; 2=presente		
		Tibial Posterior	(0) (1) (2)		Tibial Posterior	(0) (1) (2)			
Resposta de monofilamento de 10 gramas		MID	()sensibilidade presente ()sensibilidade ausente				*em qualquer uma das áreas testadas		
		MIE	()sensibilidade presente ()sensibilidade ausente						
Características das unhas		()hipertróficas ()frágeis ()escamosas ()secas ()amareladas ou acastanhadas ()sinais de infecção fúngica							
AVALIAÇÃO DA LESÃO									
Critérios		FERIDA 1	FERIDA 2	FERIDA 3	FERIDA 4				
LOCALIZAÇÃO ¹									
ETIOLOGIA ²									
CLASSIFICAÇÃO ³									
TEMPO DE EXISTÊNCIA									
TRATAMENTO ANTERIOR									
TECIDO NECRÓTICO		() não () sim: %	() não () sim: %	() não () sim: %	() não () sim: %				
EXSUDATO		() não () sim: () seroso () sanguinolento () serosanguinolento () purulento	() não () sim: () seroso () sanguinolento () serosanguinolento () purulento	() não () sim: () seroso () sanguinolento () serosanguinolento () purulento	() não () sim: () seroso () sanguinolento () serosanguinolento () purulento				
ODOR		() Ausente () Discreto () Acentuado	() Ausente () Discreto () Acentuado	() Ausente () Discreto () Acentuado	() Ausente () Discreto () Acentuado				
ÁREA PERIFERIDA		() Intacta () Ceratosa () Com bolhas () Descamativa () Macerada () Pruriginosa () Eritomatosa	() Intacta () Ceratosa () Com bolhas () Descamativa () Macerada () Pruriginosa () Eritomatosa	() Intacta () Ceratosa () Com bolhas () Descamativa () Macerada () Pruriginosa () Eritomatosa	() Intacta () Ceratosa () Com bolhas () Descamativa () Macerada () Pruriginosa () Eritomatosa				
		¹ A) Hálux D ou E; 2ºartelho D ou E; 3ºartelho D ou E; 4ºartelho D ou E; 5ºartelho D ou E; ^B 1º metatarso D ou E; 2º metatarso D ou E; 3º metatarso D ou E; 4º metatarso D ou E; 5º metatarso D ou E; ^C Retro pé D ou E; ante pé D ou E ^D Calcâneo ^E Região posterior			A) dorsal B) plantar C) lateral interna ou externa D) interdigital				
		² Úlcera por pressão; úlcera de estase; úlcera arteriosclerótica; úlcera microangiopática; neuropática.							
		³ Úlcera por pressão: estágio I II III ou IV; demais úlceras: superficial (até a derme), profunda parcial (até o subcutâneo), profunda total (além do subcutâneo).							

CLASSIFICAÇÃO DA FERIDA:				
GRAU/ESTÁGIO	GRAU 0	GRAU 1	GRAU 2	GRAU 3
ESTÁGIO A	Lesão pré ou pós ulcerativa epitelizada	Superficial, sem comprometer tendão, cápsula ou osso	Penetra no tendão ou cápsula	Penetra no osso
ESTÁGIO B	Infecção	Infecção	Infecção	Infecção
ESTÁGIO C	Isquemia	Isquemia	Isquemia	Isquemia
ESTÁGIO D	Infecção e isquemia	Infecção e isquemia	Infecção e isquemia	Infecção e isquemia

University of Texas Health Science San Antonio (UT). Fonte: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009

APÊNDICE C

FORMULÁRIO DE REGISTRO DE EVOLUÇÃO

Nome: _____ Prontuário (URS): _____

Data							
Ferida (n ^o)							
Mensuração	Comprimento (cm)						
	Largura (cm)						
	Área (cm ²)						
	Profundidade						
	Solapamento	Direção					
Tamanho (cm)							
Tecido Necrótico		() escara () esfacelo Cor: _____ _____%	() escara () esfacelo Cor: _____ _____%	() escara () esfacelo Cor: _____ _____%	() escara () esfacelo Cor: _____ _____%	() escara () esfacelo Cor: _____ _____%	() escara () esfacelo Cor: _____ _____%
Exsudato	Odor	() acentuado () discreto () ausente	() acentuado () discreto () ausente	() acentuado () discreto () ausente	() acentuado () discreto () ausente	() acentuado () discreto () ausente	() acentuado () discreto () ausente
	Característica	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento	() seroso () seroso esverdado () sero sanguinolento
	Volume	() acentuado () moderado () pouco	() acentuado () moderado () pouco	() acentuado () moderado () pouco	() acentuado () moderado () pouco	() acentuado () moderado () pouco	() acentuado () moderado () pouco
Dor		Escore: _____	Escore: _____	Escore: _____	Escore: _____	Escore: _____	Escore: _____
Pele circunvizinha		() intacta () macerada () ceratos	() intacta () macerada () ceratos	() intacta () macerada () ceratos	() intacta () macerada () ceratos	() intacta () macerada () ceratos	() intacta () macerada () ceratos
Sinais de Infecção		() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim
Edema (circunferência)	Panturilha D (cm)						
	Tornozelo D (cm)						
	Panturilha E (cm)						
	Tornozelo E (cm)						
Registro Fotográfico		() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim	() não () sim
Eventos adversos							
Observações							
Assinatura e COREN do profissional							

APÊNDICE D

REGISTRO FOTOGRÁFICO

- Casos tratados com PIG10 - 0,1%



Figura 10 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com PIG10 - 0,1% do paciente VLN

Paciente VLN, sexo masculino, 63 anos, hipertenso (140X80 mmHg), normoesfígmico (96bpm), afebril (36,6^oC), com sobrepeso (90,5kg, 1,77m, IMC: 28,91), ex-tabagista e ex-etilista. Com história de hipertensão e relata ser portador de *diabetes mellitus* há 24 anos. Portador de ferida neuropática, localizada no terço médio lateral da perna esquerda, superficial, que media 6,0 cm de comprimento, 1,6 de largura, área total de 9,6 cm² com quatro meses de duração. No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelo (90%), cora amarela, odor discreto, exsudato seroso (pouco) e pele circunvizinha intacta. Informa histórico de ferida prévia e nega amputação. Declara não realizar terapia compressiva, nem repouso dos membros inferiores, mas faz uso de sapatos adequados. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.



Figura 11 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com PIG10 - 0,1% da paciente MPS.

Paciente MPS, sexo feminino, 59 anos, normotensa (130X60 mmHg), normoesfígmica (66bpm), afebril (35,80C), com obesidade grau II (88,6 kg, 1,51m, IMC:38,86), ex-etilista e

nega etilismo. Declara história de hipertensão arterial e relata ser portador de diabetes mellitus há 10 anos. Portador de ferida neuropática localizadas na terço inferior anterior da perna Esquerda (há 2 meses) e no calcâneo esquerdo (há 7 anos). A ferida selecionada para o estudo foi a maior que media 1,3cm de comprimento, 1,5 cm de largura com área total de 1,95 cm². No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelos (30%) da cor amarela, com odor ausente, exsudato seroso (pouco) e pele circunvizinha intacta. Informa história de ferida prévia e nega amputação. Declara realizar terapia compressiva, utiliza-se meia compressiva e faz repouso dos membros inferiores (deitada com as pernas esticadas), porém não usa calçados nem palmilha adequadas. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.

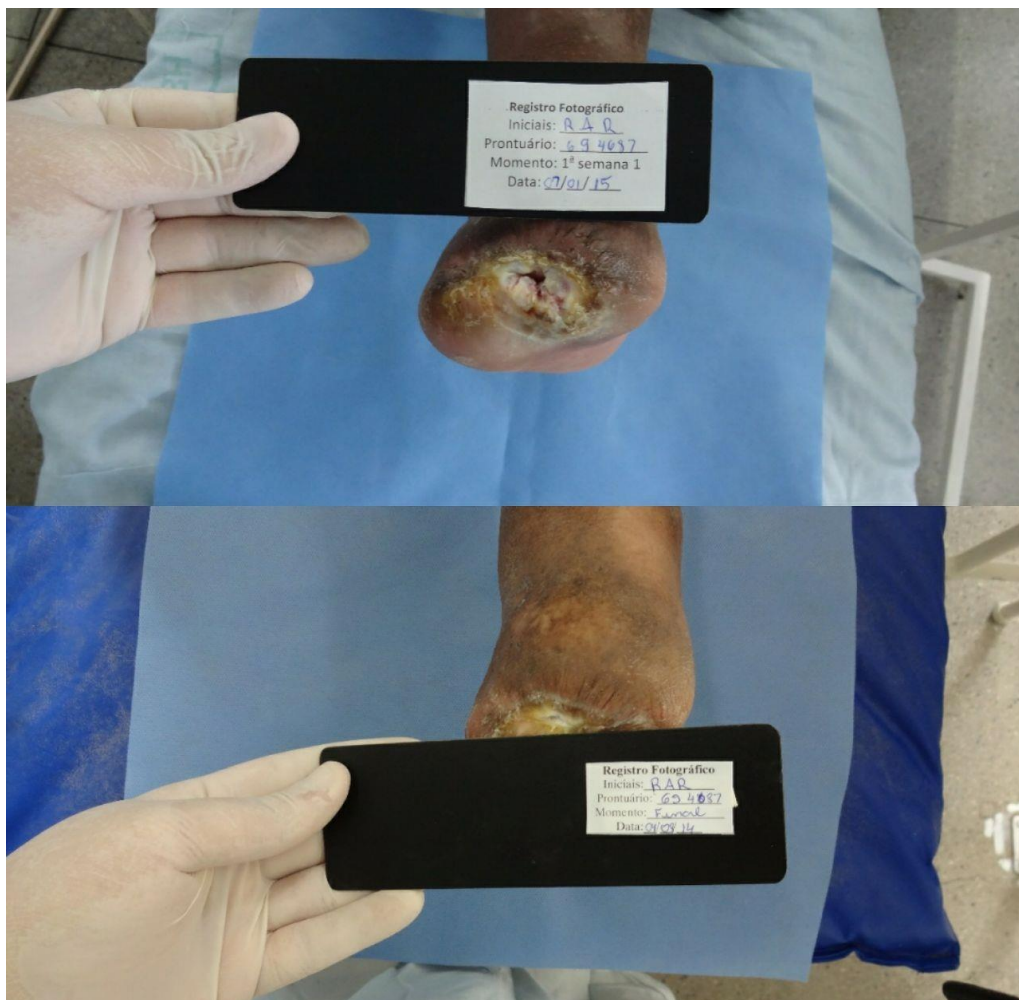


Figura 12 - Ferida neuropática ao início e no final do tratamento com PIG10 - 0,1% do paciente RAR.

Paciente RAR, sexo masculino, 56 anos, normotenso (120-70mmHg), normoesfígmico (87bpm), afebril (37⁰C), com sobrepeso (73,5kg, 1,62m, IMC:27,86), negava etilismo e tabagismo. Declara ser portador de diabetes mellitus há 03 anos. Portador de ferida neuropática localizada na região transmetatársica direita (há 1 ano). A ferida possuía 4,2 cm de comprimento, 2,1 cm de largura e 1,0 cm de profundidade com área total de 8,82 cm². No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelo (100%) da cor amarela, com odor ausente, exsudato seroso (pouco) e com pele circunvizinha macerada. Declara realizar terapia compressiva e faz repouso dos membros inferiores (membros elevados), contudo não usa calçados, nem palmilhas adequadas. Apresenta histórico de amputação prévia. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.



Figura 13 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com P1G10 - 0,1% do paciente DA.

Paciente DA, sexo masculino, 61 anos, hipertenso (140-80 mmHg), normoesfígmica (85 bpm), afebril (36⁰C), com obesidade grau I (96,900 kg, 1,67m, IMC: 34,75), ex-etilista e ex-tabagista. Declara ser possuir hipertensão arterial e *diabetes mellitus* há 08 anos. Portador de ferida neuropática localizada anté pé esquerdo, superficial, (há 06 meses), com 1,4 cm de comprimento, 0,6 cm de largura, 0,7cm de profundidade, com área total de 0,84 cm², nega terapia de compressão, repouso e não usa calçado, mas usa palmilha adequada no membro inferior direito. No início do tratamento a ferida apresentava tecido necrótico esfacelos (80,00%) da cor amarela, com odor ausente, exsudato esverdeado (moderado), com pele circunvizinha hiperkeratada. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 89,28% da área da ferida.

- **Casos tratados com Hidrogel**



Figura 14 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel da paciente SMRH.

Paciente SMRH, sexo feminino, 66 anos, normotensa (120-70 mmHg), normoesfígmica (63 bmp), afebril (36,0C), com obesidade grau II (105,6 kg, 1,71m, IMC: 36,04), negava etilismo e declara ex-tabagismo. Declara ser possuir hipertensão arterial e diabetes mellitus há aproximadamente 03 anos. Portador de ferida neuropática localizada no quinto metatarso direito (há 45 dias), superficial, com 0,4 cm de comprimento, 0,5 de largura e 0,2 de profundidade, com área total de 0,2 cm²; nega terapia de compressão e realizar repouso e não usa calçados nem palmilhas adequadas. No início do tratamento a ferida apresentava tecido necrótico esfacelos (100%) da cor amarela, com odor ausente, exsudato esverdeado (moderado), com pele circunvizinha macerada e com sinais sugestivos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.



Figura 15 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel do paciente LRR.

Paciente LRR, sexo masculino, 47 anos, normotensa (130-90 mmHg), normoesfígmica (92 bpm), afebril (36,20C), com obesidade grau III (147,1 kg, 1,81m, IMC: 44,99), nega etilismo e tabagismo. Declara possuir hipertensão arterial e diabetes mellitus há 15 anos. Portador de ferida neuropática localizada no hálux esquerdo (há 03 anos), superficial, com 0,5 cm de comprimento, 0,5 de largura e 0,5 de profundidade, com área total de 0,25cm²; nega terapia de compressão e realizar repouso, e não usa calçados nem palmilha adequadas. No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelo (100%) da cor amarela, com ausência de odor, exsudato seroso (pouco), com pele circunvizinha com hiperkeratose. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações neste paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.



Figura 16 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel da paciente VGSS.

Paciente VGSS, sexo feminino, 64 anos, normotensa (120-80 mmHg), normoesfígmica (68 bpm), afebril (35,30C), com sobrepeso (65,6 kg, 1,51m, IMC: 28,77), declara se ex-etilista e nega tabagismo. Declara possuir diabetes mellitus há 08 anos. Portador de ferida neuropática localizada primeiro metatarso medial direito (há 2 meses), superficial, com 0,7 cm de comprimento, 0,8 de largura e 0,5 de profundidade, com área total de 0,56cm²; nega terapia de compressão e fazer repouso e usa calçados adequados. No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelo (80,00%) da cor amarela, odor ausente, exsudato seroso (pouco), com pele circunvizinha macerada. Informa história prévia de amputação há 01 ano. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações nesta paciente, exceto a redução de 100% da área da ferida.



Figura 17 - Ferida neuropática no início e ao final do tratamento com Hidrogel do paciente JEA.

Paciente JEA, sexo masculino, 54 anos, hipertenso (180X100 mmHg), normotensa (120-80 mmHg), normoesfígmica (82 bmp), afebril (36,6⁰C), com I obesidade grau (101,900 kg, 1,78m, IMC: 32,16), nega ser tabagista e etilista. Declara possuir *diabetes mellitus* há 10 anos. Portador de ferida neuropática localizada do terceiro ao quinto artelho direito (há 10 meses), superficial, com 1,9cm de comprimento, 0,9cm de largura, com área total de 1,71 cm² nega terapia de compressão, mas faz repouso (membros inferiores elevados); não calçados adequados, porém usa palmilhas adequadas nos membros inferiores direito e esquerdo. No início do tratamento a ferida apresentava: tecido necrótico esfacelo (80,00%) da cor amarela, odor ausente, exsudato seroso (pouco), com pele circunvizinha intacta. Informa história prévia de amputação há 08 anos. A ferida não exibia sinais clínicos de infecção. Não foram observadas alterações nesta paciente, exceto a redução de 96,49 da área da ferida.

ANEXO I

APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudos clínicos de Fase II da ação cicatrizante cutânea de fração proteolítica do látex de *Carica candamarcensis*

Pesquisador: Miriam Teresa Paz Lopes

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 3

CAAE: 05172412.0.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (Instituto de Ciências Biológicas)

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 179.129

Data da Relatoria: 17/12/2012

Apresentação do Projeto:

A pesquisa objetiva estudar a segurança e a eficácia da fração P1G10 (isolada do látex da espécie de planta da família das Caricaceae) em queimaduras, úlceras por pressão e venosas, além de avaliar possíveis efeitos mediadores dessa atividade. Os proponentes afirmam tratar-se de ensaio clínico de fase II, que recrutará 210 (duzentos e dez) sujeitos, que serão aleatorizados entre o tratamento teste (n=70) e o padrão (baseado em hidrogel ou placa de hidrocoloide; n=70 para cada modalidade). O acompanhamento da resposta ao tratamento será realizado por meio da medida das dimensões da ferida e por morfometria de imagens capturadas semanalmente. No fluido das lesões serão avaliados mediadores da inflamação e de proliferação celular. Exames laboratoriais de sangue e urina serão realizados no início e ao final dos tratamentos a fim de observar eventuais alterações. Há dados pré-clínicos e de um ensaio piloto realizado em Cuba com 10 sujeitos sugerindo a segurança e a eficácia da proposta em teste.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a segurança e a eficácia clínica, como cicatrizante, da fração proteolítica do látex de *C. candamarcensis* - P1G10 - em queimaduras de grau II, úlceras por pressão e venosas, com tamanho não superior a 100 cm². Os proponentes sugerem que, dado o mecanismo de ação duplo do produto (atividade proteolítica e estímulo à proliferação celular), ele possa ser um interessante

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: 3134-0945

Fax: 3134-0945

E-mail: coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

cicatrizante na prática clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os proponentes mencionam que não foram descritas reações locais ou sistêmicas com a substância em teste nos ensaios pré-clínicos e clínicos de fase I e IIa. O desenvolvimento de uma nova estratégia cicatrizante, mais acessível economicamente e potencialmente mais eficaz, contribuirá sobremaneira para o tratamento desse grave problema clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os métodos descritos são pertinentes com os objetivos da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Constam os formulários da pesquisa clínica, o parecer substanciado do Depto. de Farmacologia do ICB/UFMG e a anuência do Dr. Antonio Carlos Martins Guedes. A nova versão do TCLE está escrita em linguagem mais acessível, descrevendo os procedimentos da pesquisa, explicitando riscos e benefícios. Há detalhamento do orçamento da pesquisa na carta endereçada ao COEP, que será financiada pelo CNPq.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos, s.m.j., por aprovação do presente projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

Este projeto deverá ir para a CONEP.

BELO HORIZONTE, 20 de Dezembro de 2012

Assinador por:
Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: 3134-0945 **Fax:** 3134-0945 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

ANEXO II

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE BELO HORIZONE

Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

Carta de Anuência Institucional

Declaro conhecer o projeto de pesquisa intitulado **Estudos clínicos de Fase II da ação cicatrizante cutânea de fração proteolítica do látex de *Carica candamarcensis***, sob a responsabilidade da pesquisadora Prof^a. Miriam Teresa Paz Lopes, CPF 047.588.608-90, a ser realizada nas Unidades Básicas de Saúde da Prefeitura de Belo Horizonte, Instituto de Ciências Biológicas e Escola de Enfermagem da UFMG.

Declaro ainda conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar, autorizo sua execução.

Maria Luisa Fernandes Góes - BM: 30381-2
Gerente de Assistência
CEAS/MSA

Assinatura e Carimbo

Belo Horizonte, 28 de junho de 2012.

Laurence Almeida
BM 899694