

**AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS**  
**DE RATOS DESNUTRIDOS**

**LOUISE MARIA FREITAS MANZOLI**

**AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS**  
**DE RATOS DESNUTRIDOS**

**LOUISE MARIA FREITAS MANZOLI**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Alborghetti Nai  
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Pardo

636.089714 Manzoli, Louise Maria Freitas

M296a

Ação do ácido ascórbico na cicatrização de feridas cutâneas de ratos desnutridos. / Louise Maria Freitas Manzoli – Presidente Prudente, 2013. 65 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2013.

Bibliografia.

Orientador: Profa. Dra. Gisele Alborghetti Nai.

1. Desnutrição. 2. Ácido Ascórbico. 3. Cicatrização. 4. Vitaminas. 5. Pele. I. Título.

**LOUISE MARIA FREITAS MANZOLI**

**AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS  
DE RATOS DESNUTRIDOS**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 31 de outubro de 2013

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Gisele Alborghetti Nai  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof. Dra. Paula Magalhães  
Centro Universitário de Maringá- Cesumar  
Maringá- Paraná

---

Prof. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira  
Universidade do Oeste Paulista- Unoeste  
Presidente Prudente- SP

## **DEDICATÓRIA**

**À minha querida filha Maitê e aos meus queridos pais, Delermo (*in memoriam*)**

**e Marli, *com muito amor, satisfação e gratidão.***

**O tempo é muito sensato. É o senhor da razão. Cuida de tudo e cura tudo.  
Somente com o tempo... tudo passa.  
A ação do tempo cura feridas. Feridas físicas e feridas da alma.  
Com o auxílio da Ciência da Nutrição, podemos curar mais rápido todos os tipos de  
feridas. As fechadas e as abertas.  
Sem nutrição, o corpo padece. A alma grita.**

*Um aplauso especial à mais linda de todas as Ciências e a profissão que escolhi para a  
minha vida: a Nutrição. A base de tudo, o início de uma vida.*

*Um aplauso caloroso à Ação do Ácido Ascórbico em Cicatrização de Feridas Cutâneas em  
Nutridos e Desnutridos.*

## **AGRADECIMENTOS**

*À Deus e aos meus anjos da guarda-* pela vida, força, coragem, fé e determinação que ganhei durante o período do mestrado.

*Aos meus pais, Delermo (in memorian) e Marli,* que me deram a vida. Ao meu pai, que onde quer que esteja, conta com meu carinho e saudade eterna. À minha mãe, minha eterna gratidão pelo apoio de modo geral e exemplo de mulher ativa, paciente e forte.

*À minha querida filhinha Maitê,* que compreendeu as minhas horas ausentes e com seu carinho especial, me deu incentivo para superar o cansaço.

*Aos meus irmãos Lílian, Luciana, Lessandra e Luís Fernando; cunhados Edvaldo, Eliezer, Renato e Priscila; e namorado Geraldo,* por serem especiais. Além de anjos protetores, foram marcantes nesse momento de minha vida.

*À minha querida orientadora, Professora Dra. Gisele Alborghetti Nai,* que em todos os momentos, não mediu esforços; e além de orientadora foi amiga e um grande modelo de humanidade, ética, sabedoria e competência indiscutível.

*Ao meu co-orientador, Professor Dr. Paulo Eduardo Pardo,* pelo exemplo de sabedoria e didática ministradas.

*Ao Professor Dr. Rogério Giuffrida,* que auxiliou e conduziu a parte estatística desta pesquisa, minha grata satisfação.

*Ao Professor Ms. José Luiz Santos Parizi,* que auxiliou na parte prática de meu trabalho, meu agradecimento.

*Às meninas da Graduação em Medicina e Odontologia, Mary Ellen, Larissa, Thayane e Giovana,* que conheci durante a parte prática de minha pesquisa e contribuíram com suas habilidades, minha gratidão especial.

*Á todos os professores, doutores e veterinários do Programa de Mestrado em Ciência Animal da Unoeste, Professor Dr. Vamilton, Professora Dra. Cecília Laposy, Professora Rosa Barilli, e muitos outros, que me mostraram outro modo de aprender Ciência, minha total gratidão.*

*A todos os técnicos e funcionários do Biotério Central e Experimentação da Unoeste, pelo auxílio durante a prática da pesquisa.*

*A todos os colegas do Mestrado em Ciência Animal, em especial, Mariliza, Suellen e Cristina, pela amizade e espírito inovador de equipe multidisciplinar na área de Saúde.*

*Minha eterna gratidão a todos os meus amigos, família e colegas de serviço, que de uma maneira especial me apoiaram durante o período de mestrado.*

*Meu agradecimento especial a todos os noventa e seis ratos de minha pesquisa, que doaram as suas vidas para o meu crescimento profissional e pela Ciência. Apreendi muito com eles sobre estabilidade física e emocional, além de agilidade e movimento para a vida. Foram grandes heróis.*



## RESUMO

### AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS DESNUTRIDOS

Existem muitos fatores que interferem no processo de cicatrização. Enquanto, a desnutrição desfavorece este processo, o ácido ascórbico o beneficia. Objetivo: Avaliar a ação do ácido ascórbico na cicatrização de feridas cutâneas de ratos desnutridos em relação aos eutróficos. Material e métodos: Utilizaram-se 96 ratos Wistar, adultos, machos, divididos em quatro grupos: A – 24 ratos eutróficos, os quais receberam somente água e ração; B – 24 ratos eutróficos que receberam vitamina C por gavagem (340mg/kg de 12/12h); C – 24 ratos desnutridos que receberam somente água e ração; D – 24 ratos desnutridos que receberam vitamina C por gavagem (340mg/kg de 12/12h). A desnutrição foi realizada fornecendo-se aos animais metade da ração diária durante 30 dias. Realizaram-se duas incisões, uma suturada (cicatrização por 1ª intenção) e outra não (cicatrização por 2ª intenção). Os ratos foram eutanasiados no 3º (M3), 7º (M7) e 14º (M14) dia do experimento. Resultados: Observou-se diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os grupos para os parâmetros: granulação na borda da ferida para 1ª e 2ª intenção; medida das lesões por 1ª intenção em M7 e para cicatrização por 2ª intenção em M3; reepitelização das lesões em M7 para 1ª intenção; crosta fibrino-leucocitária em M14 para 1ª intenção; quantidade de neovascularização, concentração de macrófagos e concentração de fibroblastos e de fibras colágenas para 1ª e 2ª intenção. Conclusão: O uso de vitamina C em desnutridos assim como em eutróficos aumenta a proliferação fibroblástica e depósito de colágeno no tecido o que contribui para melhorar a cicatrização de 1ª e 2ª intenção.

**Palavras-chave:** desnutrição, ácido ascórbico, vitaminas, pele, cicatrização.

## ABSTRACT

### ACTION OF ASCORBIC ACID IN WOUND HEALING SKIN OF MALNOURISHED RATS

There are many factors that affect the healing process. While malnutrition disfavors this process, ascorbic acid benefits it. Objective: To evaluate the action of ascorbic acid on cutaneous wound healing in malnourished rats compared with eutrophic ones. Material and methods: We used 96 Wistar rats, adult, male, divided into four groups: A - 24 eutrophic rats, which received only water and feed; B - 24 eutrophic rats receiving vitamin C by gavage (340mg / kg 12/12h); C - 24 malnourished rats that received only water and feed; D - 24 malnourished rats receiving vitamin C by gavage (340mg/kg 12/12h). Malnutrition was conducted by providing to the animals half of the daily ration for 30 days. There were two incisions, one sutured (healing by 1st intention) and the other not (healing by 2nd intention). The rats were killed on the 3<sup>rd</sup> (M3), 7<sup>th</sup> (M7) and 14th (M14) day of the experiment. Results: There were statistical difference ( $p > 0.05$ ) between the groups for the parameters: granulation in the wound edge for 1st and 2nd intention; extent of injuries in M7 for 1st intention and in M3 by 2nd intention; reepithelization in M7 for 1st intention; fibrin-leukocyte crust in M14 for 1st intention; amount of neovascularization, macrophage, fibroblasts and collagen fibers concentration for 1st and 2nd intention. Conclusion: The use of vitamin C in malnourished rats and in eutrophic ones increases fibroblast proliferation and collagen deposition in the tissue which helps to improve healing both by 1st and 2nd intention.

**Key words:** malnutrition, ascorbic acid, vitamins, skin, wound healing

## LISTA DE FIGURAS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| FIGURA A- | Fechamento primário ou por 1ª intenção.....  | 13 |
| FIGURA B- | Fechamento secundário ou por 2ª intenção.....  | 14 |
| FIGURA C- | Fases do processo cicatricial.....   | 15 |
| FIGURA D- | Fase de fibroplasia ou proliferativa e fase de maturação.....                            | 16 |
| FIGURA E- | Mapa das principais carências existentes nas diferentes áreas alimentares do Brasil..... | 20 |
| FIGURA F- | Fórmula química e estrutural do ácido ascórbico.....                                     | 23 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....  | 12 |
| 1.1 Cicatrização das Feridas .....                          | 12 |
| 1.2 Fatores Interferentes na Cicatrização das Feridas ..... | 16 |
| 1.3 Nutrição e Cicatrização das Feridas.....                | 17 |
| 1.4 Desnutrição .....                                       | 19 |
| 1.5 Ácido Ascórbico.....                                    | 23 |
| 1.6 Desnutrição e Cicatrização das Feridas .....            | 26 |
| 1.7 Ácido Ascórbico e Cicatrização das Feridas .....        | 27 |
| REFERÊNCIAS.....  | 30 |
| 2 ARTIGO.....   | 32 |
| ANEXOS .....  | 54 |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Cicatrização das Feridas

Define-se por ferida a quebra de tecido vivo que resulta em qualquer dano físico, originado de presença de desordem médica ou fisiológica e/ou mecânica ou térmica. Além disso, a ferida é o resultado de um processo de continuidade anatômica e celular do tecido, sendo que após esse processo, inicia-se a cicatrização (MITCHELL et al., 2006).

Em toda cicatrização de feridas existe uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares se interagindo para a ocorrência da repavimentação e reconstituição do tecido (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Estes eventos acontecem em processos dinâmicos envolvendo os fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam em harmonia para a restauração tissular.

A cicatrização depende de vários fatores, como localização anatômica, tipo de pele, raça, técnica cirúrgica utilizada, bem como existem variantes da cicatrização em uma mesma espécie, interferindo de acordo com a faixa etária (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003)

Sabe-se que na cicatrização ocorre a perda tecidual e que a mesma pode atingir a derme completa ou incompletamente, ou mesmo atingindo o tecido celular subcutâneo, comprometendo todo o órgão; sendo estas as características para as definições dos tipos de ferida (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

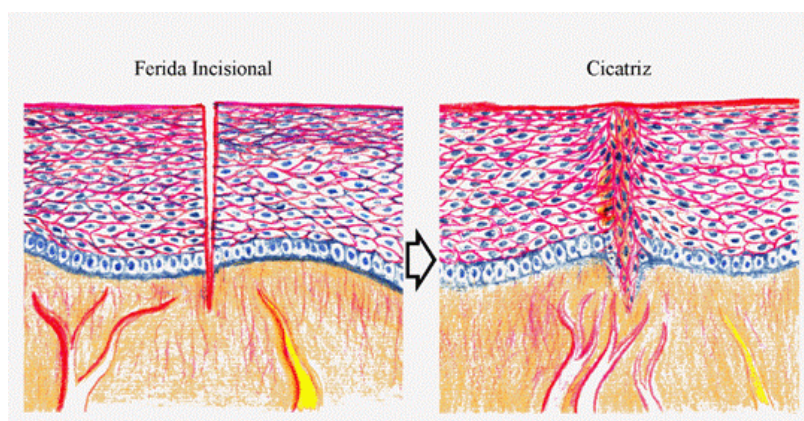
Uma ferida crônica ou complexa indica um índice significativo de causas para morbidade em muitos indivíduos em estado crítico, bem como pacientes com infecção ou úlceras de pressão (STECHMILLER, 2010).

Dentro deste contexto complexo que envolve todo o processo cicatricial, abordaremos de forma objetiva alguns dados importantes para entendimento do presente trabalho.

As cicatrizes são classificadas de acordo com o tipo de fechamento e procedimento realizado, sejam eles por primeira intenção ou fechamento primário; fechamento secundário ou por segunda intenção e ainda o fechamento por terceira intenção ou primário tardio. No primeiro tipo, ocorre em ferimento com margens em

contato, seja por suturas (fios, cliques ou fitas) ou ainda por enxertos cutâneos. Este método é realizado em feridas sem contaminação e localizado em áreas bem vascularizadas; ocorre pouca formação de tecido de granulação e rápida reepitalização, tendo melhor resultado estético (Figura A) (MITCHELL et al., 2006).

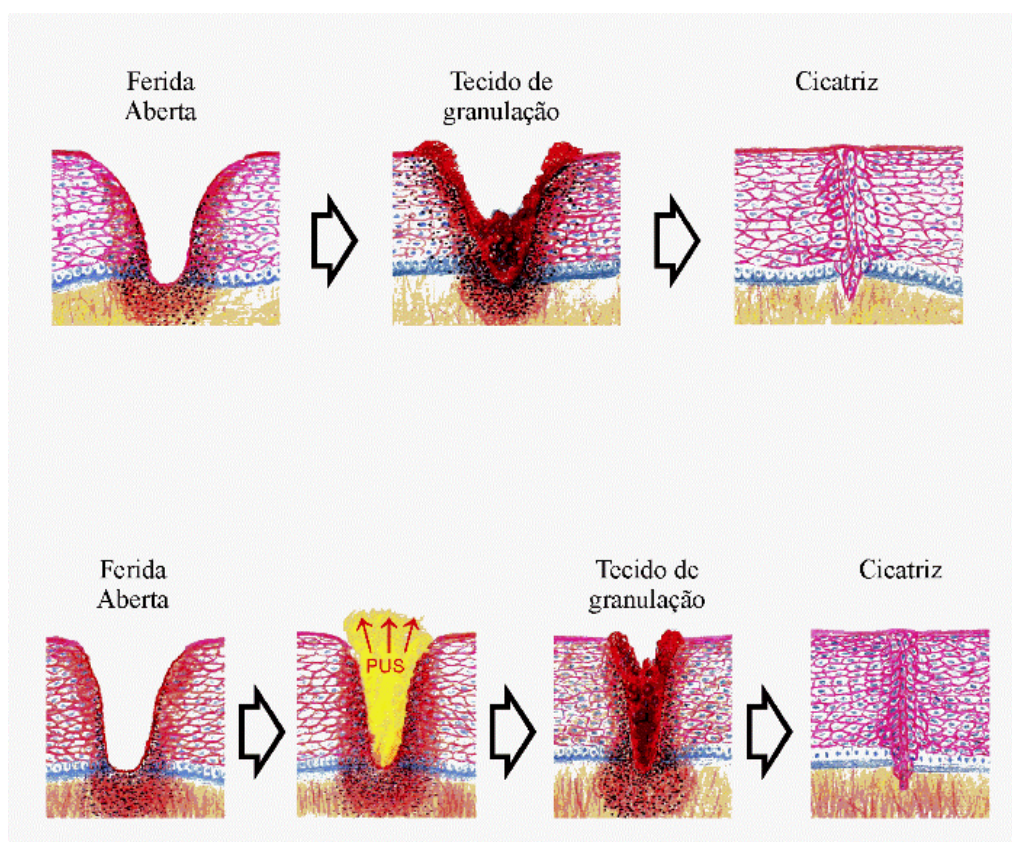
Figura A – Fechamento primário ou por 1ª intenção



Fonte: (MISODOR, 2008).

No fechamento por segunda intenção, sabe-se que a cicatrização é dependente de granulação e contração da ferida para aproximação das bordas. Sabe-se também que a contração pode reduzir em 62% a área de superfície de defeito cutâneo (Figura B). O fechamento por terceira intenção, com as feridas deixadas abertas inicialmente, geralmente por apresentarem contaminação ou infecção local pode ser tratada com antibióticos (uso tópico ou sistêmico), e após o tratamento medicamentoso, a ferida é fechada mecanicamente através de suturas ou enxertos cutâneos, ocasionando um resultado estético intermediário (MISODOR, 2008; LAWRENCE et al., *apud* MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Figura B – Fechamento secundário ou por 2ª intenção

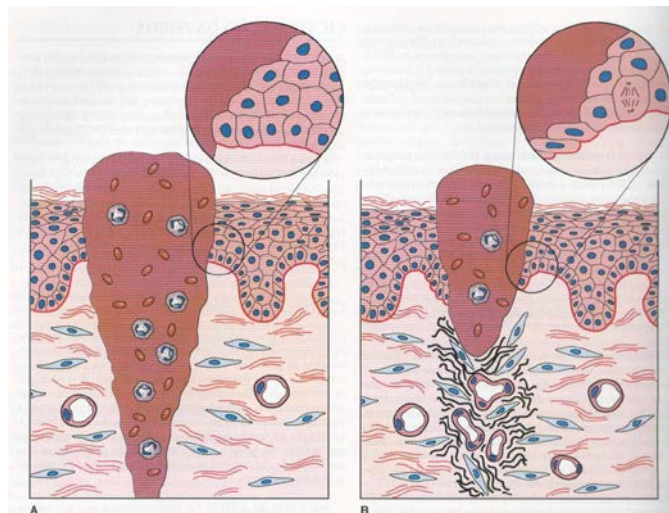


Fonte: (MISODOR, 2008).

Na realização deste estudo serão realizados os dois principais tipos de fechamento, primário e secundário; visando uma melhor observação dos dois tipos de procedimento com objetivo de diferenciar os mesmos durante todas as etapas da pesquisa.

As fases do processo de cicatrização estão divididas em: inflamatória, de fibroplasia e de maturação. Na primeira fase, há aumento de permeabilidade capilar, o que permite a migração de células específicas como os leucócitos polimorfonucleares (PMN) denominados neutrófilos (6 a 48 horas), macrófagos (72 horas) e linfócitos (5 dias). Em conjunto, esta celularidade pode possibilitar a migração de macro e micronutrientes, contribuindo com a nutrição celular local (Figura C). Além disso, esta fase é relatada como aumento de atividade da enzima xantinoxidase e maior produção de peróxido de hidrogênio; bem como há interferência hormonal e de outras enzimas importantes no processo de cicatrização, como histamina, eicosanóides (tromboxanos) e citocinas (MISODOR, 2008).

Figura C – Fase inflamatória. 1 – Migração dos neutrófilos. 2 – Início da reepitelização e angiogênese



Fonte: (MITCHELL et al., 2006).

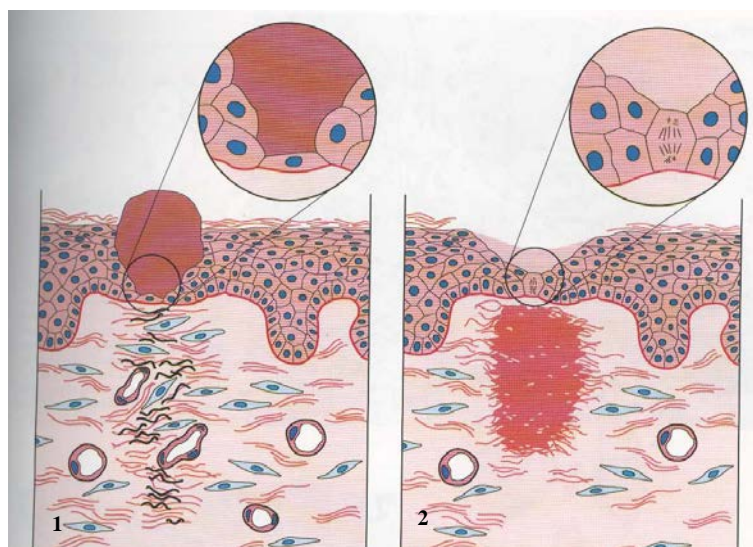
De acordo com Clark (1998) *apud* Mandelbaum, Di Santis e Mandelbaum (2003), além das células inflamatórias e de mediadores químicos, a fibronectina desempenha uma importante função nesta fase, ocorrendo a consolidação do coágulo de fibrina para matriz extracelular e a promoção da fagocitose de corpos estranhos e bactérias.

A fase seguinte classificada como de fibroplasia ou proliferativa, há grande proliferação vascular, com aumento de fibroblastos. É a fase responsável pelo fechamento da lesão propriamente dita. Ocorre também aumento significativo de gasto energético e é caracterizada por permitir a síntese de tecido e reparação da lesão (Figura D1) (MISODOR, 2008).

Na última fase do processo, a fase de maturação, também denominada remodelação, acontece a disposição e agrupamento de remodelação de colágeno, ocorrendo regressão endotelial. Sabe-se que após o depósito desordenado de substâncias diversas e síntese de colágeno sobre a cicatriz desordenada, ocorre a reestruturação da ferida, ordenando-a. O tecido é caracterizado por fibroblastos, fibras colágenas e vasos sanguíneos proliferados da fase anterior, realizando neoangiogênese (Figura D2) (MITCHELL et al., 2006).



Figura D – 1 – Fase de fibroplasia ou proliferativa. 2 – Fase de maturação



Fonte: (ROBBINS; COTRAN, 2006).

Estudos mais recentes sugerem uma avaliação mais detalhada do processo de cicatrização de feridas, como a sua tensiometria, as formas de colágeno, a imunohistoquímica do processo e também os fatores que colaboraram para evolução da cicatrização (CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008).

Campos, Groth e Branco. (2008) concluíram que a cicatrização pode também ser analisada do ponto de vista nutricional, com estímulo de alimentação suplementada no pré-operatório, com dieta rica em proteínas (ex: glutamina e arginina) e antioxidantes, principalmente o ácido ascórbico.

## 1.2 Fatores Interferentes na Cicatrização das Feridas

Existem muitos fatores que interferem no processo de cicatrização, sendo que estes podem agravar o quadro cicatricial ou beneficiá-lo. A instabilidade hemodinâmica, o estresse metabólico e o estado nutricional podem interferir desfavoravelmente nas etapas da cicatrização (WHITNEY; HEITKEMPER, 1999 *apud* CUKIER, 2009).

O tipo da lesão e a capacidade de proliferação vascular são também alguns dos fatores importantes que podem interferir na capacidade orgânica de reparação dos tecidos. Sabe-se, por exemplo, que haverá diferenças na

regeneração tecidual de indivíduos mais velhos, comparado aos mais jovens (MITCHELL et al., 2006).

Os fatores locais e sistêmicos que influenciam a cicatrização de feridas estão contextualizados em relação ao tamanho, localização e o tipo da ferida. Os fatores locais que retardam o processo estão relacionados com infecção, fatores mecânicos e corpos estranhos. Os fatores sistêmicos se relacionam com a nutrição (ex: ingestão de proteína e vitamina C), a condição metabólica (ex: diabetes melito retarda a cicatrização), a condição circulatória e os hormônios (ex: alguns hormônios que impedem a inflamação reparadora) (MITCHELL et al., 2006).

Ainda de acordo com o estado nutricional, este se relaciona com a energia corporal, ou seja, toda a energia corporal depende de reservas de proteínas para a construção de novas células. Alteração no estado nutricional pode ser vista, principalmente, em pacientes pouco alimentados, desnutridos ou caquéticos por diversas causas. Por isso, a nutrição é um fator muito importante a ser observado e que interfere significativamente no processo de cicatrização de feridas (WILD et al., 2010).

### **1.3 Nutrição e Cicatrização das Feridas**

Várias pesquisas apontam o papel da nutrição como fator de intervenção em cicatrização de feridas agressivas, principalmente em idosos. Um baixo teor protéico calórico prejudica a cicatrização, aumentando os índices de mortalidade e hospitalização; sendo sugerido adequado peso corpóreo e massa muscular do quadro de má cicatrização de feridas (HIMES, 1999).

Os macro e micronutrientes juntamente com o aporte hídrico fornecido aos pacientes podem interferir no processo de cicatrização. Segundo Rojas et al., 1999 *apud* Cukier (2009), a presença ou deficiência de vitaminas lipossolúveis (A e E), hidrossolúveis (C e tiamina) e oligoelementos (zinco, magnésio) podem modificar a evolução do processo de cicatrização.

Deficiências nutricionais, principalmente de energia, aminoácidos, minerais e oxigênio interferem na proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e epitelização, dificultando todas as fases da cicatrização, relacionada a tecidos e células, podendo agravar e retardar o quadro cicatricial (KAVALUKAS; BARBUL, 2011).

Em uma pesquisa sobre cicatrização de feridas bucais em ratos submetidos a uma dieta suplementada, isto é, com nutrientes específicos, foi constatado histologicamente e clinicamente uma melhor cicatrização em comparação ao grupo controle (GALVÃO; PINHEIRO; PESSOA, 2000).

Portanto, os principais macro e micronutrientes relacionados ao processo cicatricial serão aqui contextualizados para relacioná-los de acordo com sua importância e função específica:

Vitamina A: tem a ação específica para manutenção da visão normal, permitindo a integridade das estruturas neuro-epiteliais do globo ocular e de ultraestruturas no interior dos bastonetes. É essencial para diferenciação e proliferação celular principalmente nos tecidos epitelial e ósseo. Em estudos recentes, observou-se a relação de vitamina A na integridade do sistema imunológico (CUKIER, 2009);

Vitamina E: apresenta importante ação como anti-oxidante biológico, participando do bloqueio do processo de auto-oxidação das gorduras insaturadas da membrana celular, impedindo reações peroxidativas causadas por radicais livres (CUKIER, 2009);

Magnésio: é um macroelemento ativador de sistemas enzimáticos que controlam o metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas e eletrólitos. É cofator da fosforilação oxidativa, influencia a integridade e transporte da membrana celular. O magnésio circula ligado à albumina e é armazenado nos ossos (60 a 65%), músculos (27%) e outros tecidos (6 a 8 %) (CUKIER, 2009);

Zinco: é um microelemento ou elemento traço que exerce funções específicas atuando no crescimento e replicação celular, função fagocitária, imunitária celular e humoral, maturação sexual, fertilidade e reprodução. Atua na estabilização de lisossomas nos processos de síntese protéica e de membrana para a circulação de elementos celulares; circula no plasma e sangue ligado à albumina e aminoácidos (55%) e macroglobulinas (40%) não se destinando a uso metabólico. É armazenado no fígado, ossos, pele e tecido ocular. Em um estudo experimental foram administradas doses de 600 mg/dia de zinco após a elaboração de ferida cutânea, sendo demonstrado aceleração da cicatrização em relação ao grupo controle, porém, no citado estudo a dose seja extremamente elevada dificultando o seu uso clínico (CUKIER, 2009; SAPER; RASH, 2009);

Vitamina C: vitamina muito importante em todo processo de cicatrização, pois é essencial à síntese de colágeno. Participa da regulação de potencial de óxido redução intracelular. Aumenta a absorção do ferro, bem como transforma o ferro férrico em ferro ferroso. A sua absorção ocorre em 80-90% na dieta oral, no intestino delgado, por transporte ativo dependente de sódio saturável. É reabsorvida pelos rins em processo ativo saturável e excretada via urinária como ácido ascórbico ou metabólito (CUKIER, 2009).

#### **1.4 Desnutrição**

A desnutrição pode ser conceituada como uma condição clínica ocasionada por uma deficiência ou excesso, relativo ou absoluto, de um ou mais nutrientes essenciais. Sendo assim, ocorre quando o organismo não recebe os nutrientes necessários para o seu metabolismo fisiológico, devido tanto à carência de aporte ou deficiência na utilização do que lhe é oferecido (MONTE *apud* BOTEGA et al., 2010)

Em países de Terceiro Mundo, a desnutrição protéica calórica (DPC) continua sendo um problema comum, mas também ocorre nas sociedades mais ricas em comunidades de baixo poder aquisitivo (MITCHELL et al., 2006).

Segundo Nóbrega (2001) *apud* Botega et al. (2010), a desnutrição é uma doença social conseqüente de uma expansão econômica, política, social e cultural de um país sem uma distribuição de renda adequada.

Sabe-se que ao longo dos últimos anos, o declínio da desnutrição do Brasil passou por influência de melhores condições e progressos na renda familiar, expansão de serviços públicos de saneamento, saúde, educação, diminuição nos índices de fertilidade e natalidade e também, deslocamento crescente da população para áreas urbanas, onde, por conseqüência possuem melhores condições de renda e oportunidades de trabalho (GOULART et al., 2009 *apud* BOTEGA et al., 2010).

Apesar das evidências recentes de redução dos índices de desnutrição energética protéica no Brasil, especialmente no Nordeste (Figura E), a desnutrição continua como a endemia carencial mais importante em nosso país, provocando uma elevada demanda nos serviços de saúde e aumento nas taxas de mortalidade hospitalar (FALBO; ALVES, 2002).

Figura E – Mapa das principais carências existentes nas diferentes áreas alimentares do Brasil



(Fonte: CASTRO, 1992 apud BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Dentro desse contexto, o Brasil mudou substancialmente nos últimos cinqüenta anos, seja por fatores externos ou desenvolvimento autônomo de muitas circunstâncias. Subjacentes à rápida transição demográfica particularmente acelerada no período 1960-1980, ocorreram outras mudanças significativas, passando de um mercado de trabalho fundado no setor secundário (agropecuária e extrativismo) para uma demanda de mão-de-obra concentrada no setor secundário e, sobretudo, no setor terciário da economia. Estas são transformações cruciais, no que se refere à geração de renda, estilo de vida e, especificamente, demandas nutricionais (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Sendo assim, para entendimento do cenário epidemiológico de carências nutricionais, um fator importante é visto nas disparidades regionais de renda, com as regiões mais pobres (Norte e Nordeste) desfrutando de um ingresso per capita que representa pouco mais de ¼ da renda individual disponível nas regiões Sudeste, Centro Oeste e Sul (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Com a melhora significativa das condições de acesso, e ações de saúde foi resgatado os parâmetros básicos, e isso ocorreu pelo consenso da importância da determinação do perfil alimentar/ nutricional da população e, no caso brasileiro, alguns estudos apontam que tendo a desnutrição energético protéica (DEP) como paradigma, pontualiza-se a influência das variáveis referenciadas como marcadores de risco do problema, principalmente a renda, escolaridade materna e saneamento (BENÍCIO; MONTEIRO, 1997; SOUSA, 1992, apud BATISTA FILHO; RISSIN, 2003), e mais recentemente acesso aos serviços de saúde (MONTEIRO et al., 2000, apud BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Segundo Wang et al. (2002) *apud* Botega et al.(2010), o baixo peso para a idade entre crianças desnutridas, diminuiu entre os parâmetros nacionais, passando de 14,8% para 8,6%.

Nos últimos anos, o estado brasileiro experimentou o maior declínio da desnutrição infantil já registrada em nível mundial em desenvolvimento. Comparando-se com as estimativas dos inquéritos do programa Demographic Health Surveys realizados em amostras probabilísticas de toda população brasileira com menores de cinco anos em 1996 e em 2006/2007 mostra que formas graves de desnutrição, relacionando-se peso e estatura, foram virtualmente eliminadas de todo o país, incluindo a região Nordeste, onde estas formas de desnutrição ainda eram relevantes (MONTEIRO, 2009 *apud* BOTEGA et al.; 2010).

Segundo Alencar et al. (2008) e MONTE (2008) *apud* Botega et al., (2010):

o país está delineando um novo cenário epidemiológico caracterizado, pela inflexão da prevalência da desnutrição infantil urbana e aumento concomitante da obesidade, tanto em crianças como na população adulta, porém no mundo, essa patologia continua configurando um problema importante de saúde pública, devido a sua magnitude e conseqüências desastrosas para o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de crianças, relacionando-se com cerca de 50% das mortes infantis mundiais.

Estas são, portanto, dados necessários para a compreensão da cinética temporal, geográfica e social para situação nutricional do país e suas mudanças (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Ainda, para o entendimento da transição nutricional, podemos caracterizá-la por duas etapas distintas no que se refere ao processo de desnutrição: 1) o desaparecimento, como evento epidemiológico significativo do

“kwashiorkor”, ou desnutrição de origem edematosa, aguda e grave, com alta mortalidade, quase sempre precipitada por um quadro infeccioso de elevado impacto de patogenia (ex, sarampo), ocorrendo sobre uma criança já previamente desnutrida e, 2) o desaparecimento do marasmo nutricional, este caracterizada por um quadro de desnutrição de perda elevada e até extrema de tecidos moles (adiposa e muscular, principalmente), de instalação lenta, associada as doenças infecciosas de duração prolongada (ex. tuberculose, sendo afetado os índices de retardo peso/estatura) (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Na desnutrição marasmática, predomina a ingestão inadequada de alimentos, sobretudo, de energia insuficiente para cobrir as necessidades metabólicas e de crescimento normal. Existe perda evidente de massa muscular nas extremidades, e o abdômen às vezes proeminente, bem como a face com aparência de “velha” ou “simiesca”. Podem ocorrer quadros de diarreia, infecção respiratória, parasitoses, tuberculose e carências vitamínicas, como xeroftalmia, anemia ferropriva, deficiência de vitamina B, além de alterações como apatia, ansiedade e hipotermia (LATHAM, 1991 *apud* BOTEGA et al, 2010).

Latham (1991) *apud* Botega (2010) ainda salienta que pode ocorrer uma forma de desnutrição mista, caracterizando os dois tipos de desnutrição, portanto a forma mais freqüente nos países em desenvolvimento é o tipo “marasmo”, principalmente em crianças menores de dezoito meses.

Esses dois índices de classificação em desnutrição estão sendo a cada ano ajustados, em níveis de indicadores epidemiológicos, sendo realizados ações e correções significativas para a redução dos déficits, principalmente estrutural, em crianças menores de cinco anos (IBGE/UNICEF, 1982 *apud* BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

Em relação a pesquisas recentes sobre desnutrição e cicatrização, estão sendo realizados vários estudos experimentais em ratos para averiguação da importância da nutrição. Um dos estudos realizados em ratos que foram submetidos a uma dieta com restrição protéica severa, obteve contração da ferida prejudicada no processo de cicatrização, além de vários fatores negativos relacionados às células, com cicatrização da ferida retardada (OTRANTO et al., 2009).

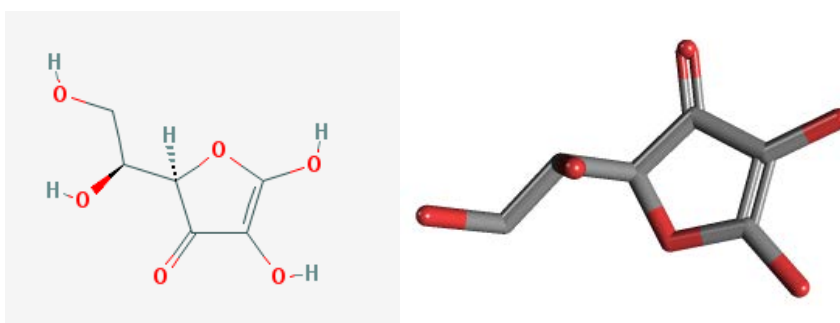
Portanto, sabe-se que, para a Organização Mundial da Saúde os profissionais da área poderiam colaborar com o conhecimento científico disponível,

minimizando as problemáticas existentes e promovendo estratégias e programas para melhorar a nutrição da população.

### 1.5 Ácido Ascórbico

Em 1928, Albert Szent-Gyorgy descobriu o ácido hexurônico, mostrando propriedades notáveis por ser facilmente e reversivelmente oxidado. Sendo posteriormente identificado como idêntico ao componente antiescorbúptico presente nos limões e limas, foi renominado para ácido ascórbico (Figura F) (ROSE; CHOI, 1990; DABROWSKI et al, 1994 *apud* ROTTA, 2003).

Figura F – Fórmula química e estrutural do ácido ascórbico.



Fonte: Drabrowski et al. (1994) *apud* Rotta (2003)

O ácido ascórbico desempenha uma importante função nos mecanismos oxidativos em todas as espécies animais e vegetais. Pesquisas recentes afirmam que os radicais livres ou as moléculas que contêm oxigênio e que são altamente reativas atuam diretamente no desenvolvimento de doenças, e aí a importância desse ácido no aspecto para saúde (ROTTA, 2003).

O ácido ascórbico, na sua forma pura, é bastante instável, sendo facilmente destruído por temperaturas elevadas, luz, umidade, microelementos e lipídeos oxidados (TACON, 1991 *apud* ROTTA, 2003). Entretanto, a estabilidade efetiva do ácido ascórbico foi alcançada somente com a proteção física ou química dos agentes oxidantes (O' KEEFE, 2001 *apud* ROTTA, 2003). Um dos principais métodos de proteção física é a encapsulação do ácido ascórbico puro, garantindo uma proteção restrita (O' KEEFE, 2001 *apud* ROTTA, 2003).



Em um estudo experimental com utilização de ácido ascórbico em rações para peixes, mostrou-se que o processo de industrialização e armazenamento contribuem para as perdas e oxidação de ácido ascórbico (SKELBAEK et al., 1990; TACON, 1991; MASUMOTO et al., 1991 *apud* ROTTA, 2003).

O principal papel biológico do ácido ascórbico é como agente redutor, atuando em várias funções importantes, servindo como co-fator nas oxidações, com funções distintas, promovendo incorporação de oxigênio molecular em vários substratos (KANEKO et al., 1997 *apud* ROTTA, 2003). Atua também nas hidroxilações de lisina e prolina no protocógeno, necessárias para as ligações cruzadas entre as fibras de colágeno, pois mantêm o ferro prostético (co-fator) da enzima hidroxilase na forma ferrosa (reduzida), mantendo a atividade enzimática; sendo por esta razão o ácido ascórbico importante na manutenção do tecido conectivo normal e cicatrização e na formação do osso, por participar da síntese do colágeno na matriz óssea (KANEKO et al., 1997 *apud* ROTTA, 2003).

Entre os alimentos fontes, com altos níveis de ácido ascórbico, estão as frutas cítricas, e alguns vegetais verde escuro, amarelo, vermelho e alaranjados (Tabela A) A recomendação diária de vitamina C é de 90 mg/ dia para os homens e 75 mg/dia para as mulheres, sendo que, pacientes com enfermidades crônicas como câncer, diabetes e pacientes fumantes necessitam de doses maiores que o recomendado (VALDÉS, 2006).

Tabela A - Alimentos Ricos em Ácido Ascórbico.

| <b>Alimentos</b> | <b>Concentração/100g de alimento</b> |
|------------------|--------------------------------------|
| Acerola          | 941,4 mg                             |
| Caju             | 219,3 mg                             |
| Pimentão amarelo | 201,4 mg                             |
| Mexerica         | 112 mg                               |
| Couve            | 96,7 mg                              |
| Mamão papaya     | 82,2 mg                              |
| Goiaba           | 80,6 mg                              |
| Laranja pêra     | 73,3 mg                              |
| Kiwi             | 70,8 mg                              |
| Manga            | 65,5 mg                              |
| Morango          | 63,6 mg                              |

Fonte: (LIMA et al. 2011).

O ácido ascórbico quando ingerido em quantidades acima das necessidades metabólicas, mantêm-se os níveis teciduais homeostaticamente. A homeostase, processo de manutenção de equilíbrio corporal com relação a diversas funções e composições químicas de líquidos e tecidos (STEDMAN, 1996, *apud* ROTTA, 2003) ocorre através da indução da descarboxilase do ácido ascórbico e da atividade enzimática de quebra, que resulta no aumento da degradação do ascorbato para gás carbônico e ribulose (KANEKO et al., 1997 *apud* ROTTA, 2003).

Em muitos organismos, a glicose (um substrato para o glicogênio em reação bioquímica, para obtenção de energia), através da enzima UDP-glicose fosforilase, promove o aumento do D-glicuronato, um componente dos glicosaminoglicanos, o qual é um participante essencial em certos casos de desintoxicação, como também da síntese de ácido ascórbico no organismo (NELSON; COX, 2000 *apud* ROTTA, 2003).

Sabendo que quase todas as espécies animais sintetizam o ácido ascórbico (vitamina C), sugere-se que a quantidade dessa vitamina, que geralmente está disponível na dieta, não é suficiente para uma nutrição adequada, exceto em circunstâncias excepcionais, como ocorrem em climas tropicais. Em circunstâncias normais, a quantidade diária de ácido ascórbico produzida pelo organismo, ajustada

para a comparação com um animal com peso de 10 kg é algo entre 400 mg e 3000mg de vitamina C. Os animais produzem quantidades variáveis, dependendo das circunstâncias, como por exemplo, em condições de estresse ou infecção, a sua síntese pode facilmente quadruplicar (Tabela B) (HOLFORD, 1997 *apud* ROTTA, 2003).

Tabela B – Produção diária de vitamina C em diferentes espécies animais (ajustado para o peso corporal de 10 kg). Adaptado de Holford (1997) e ajustado pelo peso metabólico - percentil 75.

| <b>Espécie Animal</b> | <b>Produção de vitamina C</b> |
|-----------------------|-------------------------------|
| Cabra                 | 530 a 3090 mg                 |
| Coelho                | 359 a 3676 mg                 |
| Camundongo            | 547 a 4473 mg                 |
| Gato                  | 78 a 651 mg                   |
| Ovelha                | 403 mg                        |
| Rato                  | 636 a 3230 mg                 |
| Vaca                  | 255 a 298 mg                  |

Fonte: Holford (1997) *apud* Rotta (2003).

A vitamina C aumenta a resistência das anastomoses jejunais dos ratos, tanto no pós-operatório imediato quanto no tardio. Além disso, a resistência final dos segmentos jejunais íntegros dos ratos submetidos à administração de vitamina C é significativamente maior do que no grupo controle; concluindo então a importante colaboração da mesma (PETROIANU; ALBERTI, 2011).

## **1.6 Desnutrição e Cicatrização das Feridas**

Atualmente, inúmeros estudos salientam a desnutrição como um fator preponderante e desfavorável à evolução em cicatrizações de feridas. A desnutrição engloba várias alterações da função imune, hipoalbuminemia, níveis baixos de hemoglobina, bem como a baixa aceitação dietética, aumentando então, o risco para a evolução desfavorável da lesão (SERPA; SANTOS, 2008).

A desnutrição protéica está associada à pior cicatrização por redução da produção de fibroblastos, neoangiogênese e síntese de colágeno, além de menor capacidade de remodelação tecidual (CUKIER, 2009).

Apesar das necessidades calóricas mínimas para cicatrização adequada não terem sido definidas, sabe-se que uma perda de 15 a 25% do peso habitual interfere significativamente com o processo de cicatrização. O catabolismo protéico associado à desnutrição dificulta e retarda todo o processo. Além disso, níveis de albumina (proteína plasmática) inferiores a 2,0g/dl estão relacionados a uma maior incidência de deiscências, além de atraso na cicatrização de feridas (MISODOR, 2008).

Um estudo experimental realizado em ratos desnutridos, submetidos à metade do fornecimento de ração, mostrou que os animais apresentaram dificuldade no processo de cicatrização, ocasionando aumento de 15% na mortalidade em relação a dieta ingerida pelo grupo controle (FERREIRA et al., 2006)

Outro estudo em grupos de ratos alimentados com dietas de teor protéico variado e submetidos a trauma osteomuscular padronizado, foram analisados aspectos de cicatrização - contração de ferida cutânea e resposta inflamatória do músculo e pele lesados, e verificou-se redução na contração cicatricial dos animais alimentados com dieta hipoprotéica, no período inicial após a realização da ferida cutânea e diminuição na quantidade de células inflamatórias, com menor atividade oxidativa dos tecidos musculares, sugerindo que as reservas calóricas e protéicas foram consumidas (ZACHARIAS et al., 1991).

### **1.7 Ácido Ascórbico e Cicatrização das Feridas**

Na carência de ácido ascórbico (vitamina C), é afetada a síntese de colágeno, uma vez que age como coenzima na formação da hidroxiprolina, sendo este um aminoácido fundamental, responsável pelas propriedades físico-químicas da estrutura do colágeno. A hipovitaminose C é a deficiência mais comum associada à falência de cicatrização de feridas, podendo o processo ser interrompido na fase de fibroplasia (MISODOR, 2008).

Os fibroblastos produzem substância fundamental e colágeno. Essa substância é composta por glicosaminoglicanos, fibronectina e ácido hialurônico. Esses mucopolissacarídes estão presentes com diferentes nomes na dependência

do órgão em que atuam, estes mesmos possuem moléculas que são compostas por três cadeias polipeptídicas distintas (cadeias alfa 1 e 2) enroladas em forma de hélice tripla (CUKIER, 2009)

A composição bioquímica da cadeia alfa 1 e a presença ou ausência da cadeia alfa 2 determina os diferentes tipos de colágeno e suas respectivas ações teciduais. Sabendo que as cadeias alfa são sintetizadas pelos ribossomos e destacadas dos ribossomos nas cisternas do retículo endoplasmático rugoso, estas sofrem modificações enzimáticas que incluem hidroxilação da prolina e da lisina, glicosilação da hidroxilisina e oxidação da lisina (CUKIER, 2009)

O colágeno está presente nos tecidos sob a forma de feixes de fibrilas longas, sendo que na fase de maturação da cicatrização ocorre deposição, agrupamento e remodelação do colágeno, sendo entendido como regressão endotelial. A partir daí, há presença de fibroblastos, fibras colágenas e vasos sanguíneos proliferados da neoangiogênese (CUKIER, 2009)

O ácido ascórbico torna-se importante nesse processo, pois sua ausência impede a regulação das hidroxilases e, conseqüentemente, a formação da hidroxiprolina, hidroxilisina e colágeno (CUKIER, 2009).

Em uma pesquisa sobre cicatrização de feridas no pós-cirúrgico até a cura completa em pacientes suplementados, foi relatado a importância de doses de vitamina C entre 1 a 2g por dia para melhora do processo cicatricial (MACKAY; MILLER, 2003)

Estudos indicaram que a suplementação de vitamina C associada ao ácido pantotênico e proteínas foi importante na intervenção de pacientes com úlceras de pressão e em má cicatrização de feridas no pós-cirúrgico (ELLINGER; STEHLE, 2009).

Portanto, têm sido demonstradas as inúmeras vantagens do ácido ascórbico no processo cicatricial. Atualmente, a fim de evitar danos estéticos, existem testes sendo realizados com ácido ascórbico em efeito tópico (cremes e pomadas) na tentativa de reduzir o processo de cicatrização de feridas (LIMA et al, 2008). Nestes estudos realizados em ratos, foi comprovado que o ácido ascórbico diminuiu o número de macrófagos, aumentando a quantidade de fibroblastos e favorecendo a deposição de colágeno e organização das feridas; mostrando o maior efeito antiinflamatório e cicatrizante deste. Assim, existe uma melhor reparação tecidual e abreviação do tempo de cicatrização (LIMA et al, 2008).

Estão sendo realizadas pesquisas também com o ácido ascórbico no uso dermatológico e tópico em dermatites de contato, cremes anti-envelhecimento e para prevenir em casos de pacientes com aumento de pigmentação na pele, abrangendo ainda mais o efeito reparador da vitamina C (VALDÉS, 2006).

Algumas alterações no processo de cicatrização podem comprometer a evolução clínica de feridas cutâneas. O quadro de desnutrição global ou específica pode prejudicar todo o processo de reparação tecidual. A deficiência do ácido ascórbico na cicatrização interfere na síntese de fibroblastos, sendo estes mesmos responsáveis pela produção do colágeno.

Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a ação do ácido ascórbico na cicatrização das feridas cutâneas de ratos desnutridos em relação a ratos eutróficos.

## REFERÊNCIAS

- BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n.1. p. S181-S191, 2003.
- BOTEGA, A. O. et al. Desnutrição Infantil: um problema de saúde pública. In: Jornada Interdisciplinar em Saúde, 3., 2010, Santa Maria, RS. **Anais Promovendo saúde na contemporaneidade**: desafios de pesquisa, ensino e extensão. Disponível em: <http://www.unifra.br/eventos/jis2010/Trabalhos/249.pdf>. Acesso em: 06 ago. 2013.
- CAMPOS, A. C. L; GROTH, A. K; BRANCO, A. B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 11, p. 281-288, 2008.
- CASTRO, J. **Geografia da fome**: o dilema brasileiro: pão ou aço. 3.ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira; 2003. p. 38.
- CUKIER, C. **Nutrição e cicatrização**. SaudePro –IMEN Instituto de Metabolismo e Nutrição, 2009. Disponível em: [www.nutricaoclinica.com.br/2005080359/nutricao-e-cicatrizacao](http://www.nutricaoclinica.com.br/2005080359/nutricao-e-cicatrizacao). Acesso em: 01 dez. 2011.
- ELLINGER, S; STEHLE, P. Efficacy of vitamin supplementation in situations with wound healing disorders: results from clinical intervention studies. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 12, n. 6, p.588-595, 2009.
- FALBO, A. R; ALVES, G. B. Desnutrição grave: alguns aspectos clínicos e epidemiológicos de crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro; v. 5, p. 1473-1477, 2002.
- FERREIRA, M. M. et al. Efeito da desnutrição na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Rev Bras Coloproct**, v. 3, n. 26, p. 239-243, 2006.
- GALVÃO, C. B. C.; PINHEIRO, A. L. B.; PESSOA, D. C. N. P. Comparação da cicatrização de feridas bucais em animais submetidos às dietas: DBR e dieta balanceada acrescida de suplementação alimentar. **Rev. Bras. Med.**, v. 57, n. 8, 844-850, 2000.
- HIMES, D. Protein-calorie malnutrition and involuntary weight loss: the role of aggressive nutritional intervention in wound healing. **Ostomy Wound Manage**, v. 45, n. 3, p. 46-51, 54-5, 1999.
- KAVALUKAS, S. L.; BARBUL, A. Nutrition and wound healing: an update. **Plast Reconstr. Surg.**, n.127, supl. 1, p. 38S- 43S, jan /2011.
- LIMA, C. C. et al. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. **Braz. J. Biol.**, n. 69, p. 1195-1201, nov. 2008.

LIMA, D. M. et al . **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4.ed. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentos, 2011.

MACKAY, D.; MILLER, A. Nutritional support for wound healing. **Alternative Medicine Review** , v. 8, n. 4, 2003. p. 359-377.

MANDELBAUM, S. H; DI SANTIS, E. P; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **An. Bras. Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-410, jul/ago. 2003

MISODOR. **Cicatrização das feridas**. 2008. Disponível em: <http://www.misodor.com/CICATRIZACAO.html>. Acesso em: 01 dez. 2011.

OTRANTO M. et al. Male and female rats with severe protein restriction present delayed wound healing. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v. 34, n. 6, p. 1023–1031, 2009

PETROIANU, A.; ALBERTI, L. R. Effect of oral supplementation of vitamin C on intestinal anastomotic resistance. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Belo Horizonte, v. 1, n. 38, p. 54-58, 2011.

ROTTA, M. A. **Utilização do ácido ascórbico (vitamina c) pelos peixes**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.

MITCHELL, R. N. **Robbins & Cotran: fundamentos de patologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

SAPER, R. B; RASH, R. Zinc: an essential micronutrient. **American Family Physician**, Massachusetts, v. 79, n. 9, p. 768-772, mai/2009.

SERPA, L. F; SANTOS, V. L. C. G. Desnutrição como fator de risco para o desenvolvimento de úlceras por pressão. **Acta Paul Enferm.**; São Paulo, v. 21, n. 2, p. 367-369, 2008.

STECHMILLER, J. K. Understanding the role of nutrition and wound healing. **Nutr. Clin. Pract.**, v. 25, n. 1, p. 61-8, 2010.

VALDÉS, F. Vitamina C. **Actas Dermosifiliogr.**, v. 9, n. 97, p. 557-568, 2006.

WILD, T. et al. Basics in nutrition and wound healing. **Nutrition**, n. 26, p. 862-866, 2010.

ZACHARIAS, D. P. M. et al. Efeito da desnutrição protéica sobre a resposta cicatricial ao trauma: aspectos histológicos, histoquímicos e contração cicatricional. **Acta Cir. Bras.**, v. 33, n. 6, p. 97-102, 1991.



**2 ARTIGO****AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS  
DE RATOS DESNUTRIDOS****ACTION OF ASCORBIC ACID IN WOUND HEALING SKIN OF MALNOURISHED  
RATS****TÍTULO RESUMIDO: ÁCIDO ASCÓRBICO, DESNUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO****SHORT TITLE: ASCORBIC ACID, MALNUTRITION AND WOUND HEALING**

Louise Maria Freitas Manzoli<sup>1</sup>, Gisele Alborghetti Nai<sup>2</sup>, Giovana de Carvalho Katayama<sup>3</sup>, Larissa de Queiroz Mamede<sup>4</sup>, Mary Ellen de Oliveira Martins Disconzi<sup>4</sup>, Tayane Carvalho Isidoro da Silva<sup>3</sup>, Paulo Eduardo Pardo<sup>5</sup>, Rogério Giufrida<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Mestrado, Nutricionista, Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora, médica patologista, professora do Departamento de Patologia e do Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Discente de graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente (FOPP), Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

<sup>4</sup>Discente de graduação em Medicina, Faculdade de Medicina de Presidente Prudente (FAMEPP), Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

<sup>5</sup>Doutor, professor do Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

Correspondência: Gisele Alborghetti Nai, Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Rua José Bongiovani, 700, 19050-680, Presidente Prudente, SP, Brasil. Phone: +55-18-3229-1059. Fax: +55-18-3229-1194. E-mail: patologia@unoeste.br.

## RESUMO

Existem muitos fatores que interferem no processo de cicatrização. Enquanto, a desnutrição desfavorece este processo, o ácido ascórbico o beneficia. **Objetivo:** Avaliar a ação do ácido ascórbico na cicatrização de feridas cutâneas de ratos desnutridos em relação aos eutróficos. **Material e métodos:** Utilizaram-se 96 ratos Wistar, adultos, machos, divididos em quatro grupos: A – 24 ratos eutróficos, os quais receberam somente água e ração; B – 24 ratos eutróficos que receberam vitamina C por gavagem (340mg/kg de 12/12h); C – 24 ratos desnutridos que receberam somente água e ração; D – 24 ratos desnutridos que receberam vitamina C por gavagem (340mg/kg de 12/12h). A desnutrição foi realizada fornecendo-se aos animais metade da ração diária durante 30 dias. Realizaram-se duas incisões, uma suturada (cicatrização por 1ª intenção) e outra não (cicatrização por 2ª intenção). Os ratos foram eutanasiados no 3º (M3), 7º (M7) e 14º (M14) dia do experimento. **Resultados:** Observou-se diferença estatística ( $p < 0.05$ ) entre os grupos para os parâmetros: granulação na borda da ferida para 1ª e 2ª intenção; medida das lesões por 1ª intenção em M7 e para cicatrização por 2ª intenção em M3; reepitelização das lesões em M7 para 1ª intenção; crosta fibrino-leucocitária em M14 para 1ª intenção; quantidade de neovascularização, concentração de macrófagos e concentração de fibroblastos e de fibras colágenas para 1ª e 2ª intenção. **Conclusão:** O uso de vitamina C em desnutridos assim como em eutróficos aumenta a proliferação fibroblástica e depósito de colágeno no tecido o que contribui para melhorar a cicatrização de 1ª e 2ª intenção.

**Palavras-chave:** desnutrição, ácido ascórbico, vitaminas, pele, cicatrização.

**ABSTRACT**

There are many factors that affect the healing process. While malnutrition disfavors this process, ascorbic acid benefits it. **Objective:** To evaluate the action of ascorbic acid on cutaneous wound healing in malnourished rats compared with eutrophic ones. **Material and methods:** We used 96 Wistar rats, adult, male, divided into four groups: A - 24 eutrophic rats, which received only water and feed; B - 24 eutrophic rats receiving vitamin C by gavage (340mg / kg 12/12h); C - 24 malnourished rats that received only water and feed; D - 24 malnourished rats receiving vitamin C by gavage (340mg/kg 12/12h). Malnutrition was conducted by providing to the animals half of the daily ration for 30 days. There were two incisions, one sutured (healing by 1st intention) and the other not (healing by 2nd intention). The rats were killed on the 3<sup>rd</sup> (M3), 7<sup>th</sup> (M7) and 14th (M14) day of the experiment. **Results:** There were statistical difference ( $p > 0.05$ ) between the groups for the parameters: granulation in the wound edge for 1st and 2nd intention; extent of injuries in M7 for 1st intention and in M3 by 2nd intention; reepithelization in M7 for 1st intention; fibrin-leukocyte crust in M14 for 1st intention; amount of neovascularization, macrophage, fibroblasts and collagen fibers concentration for 1st and 2nd intention. **Conclusion:** The use of vitamin C in malnourished rats and in eutrophic ones increases fibroblast proliferation and collagen deposition in the tissue which helps to improve healing both by 1st and 2nd intention.

**Key words:** malnutrition, ascorbic acid, vitamins, skin, wound healing

## INTRODUÇÃO

Uma ferida crônica ou complexa indica um índice significativo de causas para morbidade em muitos indivíduos em estado crítico, bem como pacientes com infecção ou úlceras de pressão<sup>1</sup>.

As cicatrizes são classificadas de acordo com o tipo de fechamento e procedimento realizado, sejam eles por primeira intenção ou fechamento primário ou por segunda intenção ou fechamento secundário. O primeiro tipo ocorre em ferimentos com margens em contato, seja por sutura (fios, cliques ou fitas) ou ainda por enxertos cutâneos. Este método é realizado em feridas sem contaminação e localizado em áreas bem vascularizadas; ocorre pouca formação de tecido de granulação e rápida reepitelização, tendo melhor resultado estético<sup>2</sup>. No fechamento por segunda intenção, a cicatrização é dependente da granulação e contração da ferida para aproximação das bordas<sup>2</sup>.

Existem muitos fatores que interferem no processo de cicatrização, tais como, fatores locais (infecção, presença de corpo estranho, fatores mecânicos) e sistêmicos (condição metabólica, nutrição, condição circulatória) sendo que estes podem agravar o quadro cicatricial ou beneficia-lo. A instabilidade hemodinâmica, o estresse metabólico e o estado nutricional podem interferir nas etapas da cicatrização<sup>3</sup>.

Embora, o papel da suplementação nutricional no tratamento de feridas ainda não esteja claro<sup>4</sup> e a ingesta ideal de nutrientes para promover uma adequada cicatrização não seja conhecida, é certo que proteínas, vitaminas, arginina, glutamina, ferro, zinco e selênio têm efeitos benéficos significantes sobre a cicatrização e o sistema imune<sup>5</sup>.

O ácido ascórbico atua nas hidroxilações de lisina e prolina no protocógeno, necessárias para as ligações cruzadas entre as fibras de colágeno, pois mantêm o ferro prostético (co-fator) da enzima hidroxilase na forma ferrosa (reduzida), mantendo a atividade enzimática; sendo por esta razão o ácido ascórbico importante na manutenção do tecido conectivo normal e na cicatrização, por participar da síntese do colágeno na matriz tecidual<sup>6</sup>.

A desnutrição protéica está associada à pior cicatrização por redução da produção de fibroblastos, diminuição da neoangiogênese e diminuição da síntese de colágeno, além de menor capacidade de remodelação tecidual<sup>7</sup>.

Em países de Terceiro Mundo, a desnutrição protéica-calórica (DPC) continua sendo um problema comum, mas também ocorre nas sociedades mais ricas em comunidades de baixo poder aquisitivo<sup>7</sup> e associado a procedimentos cirúrgicos como a cirurgia bariátrica.<sup>5</sup>

Apesar das evidências recentes de redução dos índices de desnutrição protéica-calórica no Brasil, especialmente no Nordeste, a desnutrição continua como a endemia carencial mais importante em nosso país, provocando uma elevada demanda nos serviços de saúde e aumento nas taxas de mortalidade hospitalar<sup>8-9-10</sup>.

O quadro de desnutrição pode prejudicar todo o processo de reparação tecidual e a deficiência do ácido ascórbico diminui a síntese de colágeno pelos fibroblastos. Não há trabalhos na literatura que avaliaram a ação do ácido ascórbico na cicatrização de feridas em desnutridos.

O objetivo deste estudo foi determinar a ação do ácido ascórbico na cicatrização das feridas cutâneas de ratos desnutridos em relação aos ratos eutróficos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista (Protocolo nº 1103), em 1º de junho de 2012.

Para este estudo, foram utilizados 96 ratos Wistar albinos (*Ratus Norvegicus albinus*), adultos, machos, com peso entre 200 a 250g. Os ratos foram separados e colocados em caixas individuais pequenas e retangulares, medindo 30x20x13cm, preconizadas para alojamento de um rato adulto. Os ratos foram mantidos em biotério climatizado em umidade e temperatura e com fotoperíodo (12 horas de claro e escuro) controlados. Os animais foram pesados semanalmente até o momento da eutanásia.

Todos os animais (n=96) receberam a mesma ração (SUPRALAB®, São Leopoldo, Brasil). A desnutrição foi realizada fornecendo-se aos animais (n=48) metade da ração diária durante 30 dias<sup>11</sup>, equivalente a 15 a 20g, calculado pelo consumo diário habitual dos animais<sup>12</sup>.

Após 30 dias do início do experimento, para a realização das incisões, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Tiopental® (Syntec, EUA), na dose de 25mg/Kg de peso corporal<sup>13</sup>. Após a tricotomia e antissepsia com povidine (PVPI degermante a 10% - Rioquímica – Rio de Janeiro, Brasil) no dorso superior, foram realizadas duas incisões de 1,5cm ao longo do eixo longitudinal<sup>14</sup>,

uma à direita e outra à esquerda, utilizando-se lâmina de bisturi nº 11. A incisão à direita foi suturada com fio de mononylon 3-0 (Ethicon, Brasil) (cicatrização por 1ª intenção) e a incisão à esquerda não foi suturada nem recoberta (cicatrização por 2ª intenção). Para controle da dor no pós-operatório foi administrado Acetaminofeno na dose de 25-75mg/250g de peso, por via oral (na água de beber) de 4/4horas por dois dias<sup>13</sup>.

Quatro animais desnutridos morreram após o procedimento cirúrgico para a realização das incisões, pois não houve recuperação da indução anestésica.

Os animais foram divididos então em quatro grupos: A – 24 ratos eutróficos, os quais receberam água e ração *ad libi* (grupo controle); B – 24 ratos eutróficos que receberam vitamina C (Cewin® gotas, Sanofi Aventis Farmacêutica, São Paulo, Brasil) por gavagem, na dose de 340mg/kg de 12/12h diluída em 1 ml de soro fisiológico a 0,9%<sup>15</sup>; C – 22 ratos desnutridos que receberam água *ad libi* e ração pela metade; D – 22 ratos desnutridos que receberam vitamina C (Cewin® gotas, Sanofi Aventis Farmacêutica, São Paulo, Brasil) por gavagem, na dose de 340mg/kg de 12/12h diluída em 1 ml de soro fisiológico a 0,9% e ração pela metade.

Oito ratos de cada grupo foram eutanasiados no 3º (M3), 7º (M7) e 14º (M14) dia do experimento<sup>16</sup>. A eutanásia foi realizada em câmara de CO<sub>2</sub> (Indústria Beiramar, São Paulo, Brasil). Após a eutanásia, foi retirado o segmento de pele contendo as áreas incisadas.

Foram observados os seguintes parâmetros morfológicos com seus respectivos escores: cor da ferida (1- rósea; 2- amarelada; 3- pálida; 4- cianótica), bordas da ferida (1- sem granulação, 2-pouca granulação, 3-muita granulação), crosta (1- pequena, 2- moderada, 3- grande), característica da crosta (1- serosa, 2- hemática, 3-purulenta) e sensibilidade, avaliada pela reação ao toque nas feridas (1- dor ausente; 2- dor presente).

O tamanho da lesão, em cada momento de eutanásia, foi medida a distância entre as bordas com auxílio de um paquímetro manual (Digimess Instrumentos de Precisão Ltda, São Paulo, Brasil).

Os fragmentos de pele retirados foram fixados em formol a 10% (Cinética Indústria Química, São Paulo, Brasil) durante 24 horas e submetidos a processamento histológico habitual, com inclusão em parafina (Dinâmica Reagentes Analíticos, São Paulo, Brasil). Três cortes seriados de 5µm foram obtidos e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) (Dolles, São Paulo, Brasil) e pelo método

de tricrômio de Masson (Merck, Darmstadt, Germany) para melhor identificação das fibras colágenas<sup>17</sup>.

A análise histopatológica foi cega e realizada por um observador experiente e capacitado, com microscópio óptico comum e foram avaliados os seguintes parâmetros com seus respectivos escores: reepitelização da pele (0- ausente, 1- parcial, 2- total), crosta fibrino-leucocitária (0- ausente, 1- presente), neovascularização (0- ausente, 1- discreta, 2- moderada, 3- intensa), intensidade do processo inflamatório (0- sem inflamação; 1- leve; 2- moderada; 3- severa) e tipo de célula inflamatória presente (neutrófilos, linfócitos ou mista), concentração de macrófagos (0- ausente, 1- discreta, 2- moderada, 3- intensa), quantidade de fibroblastos (0- ausente, 1- pequena, 2- moderada, 3- grande) e quantidade de fibras colágenas (0- ausente, 1- pequena, 2- moderada, 3- grande) presentes na área incisada.

Para determinar se as variáveis descritas na forma de escores diferiram entre os grupos experimentais e entre momentos dentro de cada grupo, recorreu-se ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com contrastes pelo método de Dunn. Para comparar os pesos dos ratos antes e depois se empregou o teste t não pareado. Para verificar se as medidas das lesões diferiram entre grupos e entre momentos empregou-se o teste de análise de variância com contrastes pelo método de Tukey. Para as análises utilizou-se o programa computacional Biostat 5.0, conforme descrito em Ayres et al.<sup>18</sup>, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Animais do grupo A apresentaram média de peso inicial de 220.53g (desvio padrão – DP= $\pm 32.85$ g) e final de 243.54g (DP= $\pm 23,71$ g) ( $p=0.007$ ). Animais do grupo B apresentaram média de peso inicial de 216.60g (DP= $\pm 36.46$ g) e final de 244.29g (DP= $\pm 30,21$ g) ( $p=0.0011$ ). Os do grupo C apresentaram média de peso inicial de 242.80g (DP= $\pm 19.69$ g) e final de 187.20g (DP= $\pm 15.64$ g) ( $p < 0.0001$ ) e os do grupo D, média de peso inicial de 245.28g (DP= $\pm 0,07$ g) e final de 188.84g (DP= $\pm 16.99$ g) ( $p < 0.0001$ ). Enquanto, os animais dos grupos A e B ganharam peso, os animais do grupo C e D perderam cerca de 20% do peso corporal.

Não foi observada deiscência de sutura em nenhum dos animais.

Os animais de todos os grupos experimentais apresentaram ferida de cor rósea, tanto na cicatrização por 1<sup>a</sup> quanto por 2<sup>a</sup> intenção, independente do tempo

de avaliação.

Em M3, os animais dos grupos eutróficos (com e sem uso de vitamina C) apresentaram borda da ferida, tanto de 1ª quanto de 2ª intenção, sem granulação, diferente dos animais dos grupos desnutridos (com e sem uso de vitamina C) que apresentaram granulação discreta na borda da ferida, tanto de 1ª quanto de 2ª intenção ( $p < 0.0001$ ). As lesões cicatrizadas por 1ª ou 2ª intenção dos quatro grupos avaliados apresentaram borda da lesão sem granulação em M7 e M14 (Tabela 1).

Presença de crosta ocorreu em M3 e M7, em pequena quantidade, na maioria dos casos, e era do tipo hemática. Em M14, apenas dois animais do grupo C apresentavam crosta na lesão por 1ª intenção. Não houve diferença estatística com relação à presença e tipo de crosta nas lesões de 1ª e 2ª intenção, independente do tempo de avaliação e do grupo estudado ( $p > 0.05$ ) (Tabela 1).

Apenas dois animais (um do grupo B e um do grupo C) apresentaram dor em ambas as lesões em M3 ( $p > 0.05$ ).

Com relação à medida das lesões cicatrizadas por 1ª intenção, não houve diferença estatística entre todos os grupos em M3 e M14, porém houve diferença estatística em M7 entre os grupos A e B, A e C, e A e D ( $p < 0.05$ ). Com relação à medida das lesões cicatrizadas por 2ª intenção, não houve diferença estatística entre todos os grupos em M7 e M14, porém houve diferença estatística em M3 entre os grupos A e C ( $p < 0.01$ ) e B e C ( $p < 0.05$ ) (Tabela 1).

Em M3, somente um animal do grupo B apresentava reepitelização parcial da lesão por 1ª intenção e os demais ainda não apresentavam reepitelização. Embora, em M7, a maioria dos animais de todos os grupos (A, B, C e D- 87,5%) apresentasse reepitelização total da ferida, observou-se diferença estatística, na reepitelização das lesões de 1ª intenção neste momento de avaliação ( $p = 0.0197$ ). Não houve diferença estatística com relação à reepitelização nas lesões de 2ª intenção, independente do tempo de avaliação e do grupo estudado ( $p > 0.05$ ) (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

No primeiro momento de avaliação, os animais de todos os grupos apresentavam crosta fibrino-leucocitária sobre ambas as lesões e em M14, esta esteve presente em apenas dois animais do grupo C, na lesão por 1ª intenção. A maioria dos animais dos grupos B e D (87,5%) não apresentavam mais crosta fibrino-leucocitária em M7, enquanto que os animais dos grupos A e C (87,5%) ainda apresentavam em sua maioria. Em M7, houve diferença estatisticamente significativa com relação à presença de crosta fibrino-leucocitária nas lesões de 1ª intenção



( $p=0.0093$ ), mas não com relação às lesões de 2ª intenção ( $p>0.05$ ) (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

Apenas dois animais (um do grupo B e um do grupo D) não apresentaram neovascularização em suas feridas de 1ª intenção em M3 e quatro animais (três do grupo A e um do grupo C) ainda apresentavam neovascularização discreta em suas feridas de 2ª intenção em M14. Houve diferença estatisticamente significativa entre quantidade de neovascularização em M3 ( $p=0.0445$ ) e M7 ( $p=0.0109$ ), porém não para M14 ( $p=0.9422$ ), com relação à cicatrização por 1ª intenção. Na cicatrização de 2ª intenção, houve diferença estatística significativa entre quantidade de neovascularização apenas para o M3 ( $p=0.0009$ ), especificamente para os grupos A e B, e A e C (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

Com relação à intensidade do infiltrado inflamatório, apenas dois animais (um do grupo A e outro C) não apresentaram inflamação em M3 para lesão de 1ª intenção. Em M7, a maioria dos animais do grupo B (75%) não apresentava inflamação em ambas as lesões, enquanto que a maioria dos animais dos outros grupos (A- 100%, C-75%, D- 62,5%) apresentava inflamação leve. Em M14, apenas animais do grupo C ainda apresentavam inflamação leve nas lesões de 1ª e 2ª intenção. Porém, não houve diferença estatística significativa entre os três momentos avaliados na cicatrização por 1ª intenção ( $p>0.05$ ) e houve somente em M7 na cicatrização por 2ª intenção ( $p=0.0393$ ) (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

Em M3, o tipo de célula inflamatória predominante em todas as lesões dos animais de todos os grupos foi o neutrófilo. Em M7, animais de todos os grupos, independente do tipo de lesão, apresentaram infiltrado inflamatório misto, com polimorfonucleares e mononucleares (linfócitos). Em M14, os animais do grupo C com inflamação na lesão, apresentaram predomínio de linfócitos no infiltrado.

Em M3 e M14, houve ausência de macrófagos em ambas as lesões de todos os animais dos quatro grupos experimentais. Em M7, houve diferença estatisticamente significativa entre a concentração de macrófagos na cicatrização por 1ª intenção ( $p=0.0004$ ) e na cicatrização por 2ª intenção ( $p< 0.0001$ ), onde todos os animais do grupo B apresentaram ausência de macrófagos em ambas as lesões e todos os animais dos grupos A e C e a maioria grupo D (62,5%) apresentaram concentração discreta de macrófagos em ambas as lesões. Na cicatrização por 1ª e 2ª intenção houve diferença estatística entre os grupos A e B, B e C, e B e D ( $p< 0.05$ ) (Tabela 2).

Aumento na concentração de fibroblastos foi observado a partir do sétimo dia de avaliação, quando todos os animais apresentavam pequena ou moderada quantidade de fibroblastos em ambas as feridas, assim como a maioria dos animais (A-100%, B-100%, C e D-87,5%) em M14. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos para este parâmetro somente em M7 para a cicatrização por 1ª intenção ( $p=0.0243$ ) e em M7 ( $p=0.0219$ ) e M14 ( $p=0.0119$ ) para cicatrização por 2ª intenção (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

Em M3, em todos os grupos estudados, não se observou aumento na concentração de fibras colágenas no tecido. Em M7, a maioria dos animais (A, B e D- 100%, C -87,5%) apresentava pequena ou moderada quantidade de fibras colágenas no tecido. Em M14, todos os animais do grupo B e a maioria do grupo D (85,7%) apresentavam grande quantidade de fibras colágenas em ambos os tipos de lesão, enquanto a maioria dos animais dos outros dois grupos (A- 62,5%, C- 71,4%) apresentava moderada quantidade. Houve diferença estatística entre os grupos para este parâmetro avaliado somente em M14 para a cicatrização por 1ª intenção ( $p=0.0001$ ) e para cicatrização por 2ª intenção ( $p< 0.0001$ ) (Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3).

## DISCUSSÃO

A cicatrização pode também ser analisada do ponto de vista nutricional. Para melhoria deste processo, pode-se realizar estímulo cicatricial com alimentação suplementada no pré-operatório, com dieta rica em proteínas (ex: glutamina e arginina) e antioxidantes, principalmente o ácido ascórbico<sup>19</sup>.

A recomendação diária de vitamina C é de 90 mg/ dia para os homens e 75 mg/dia para as mulheres<sup>20</sup>. No presente estudo, foi administrada uma dosagem diária de 136mg de vitamina C para suplementação.

A desnutrição é um dos principais problemas de saúde mundial, que afeta entre 20% e 60% dos pacientes hospitalizados. Está muito relacionada ao aumento da morbidade e mortalidade<sup>21</sup>, pois acarreta em alterações da função imune, hipoalbuminemia, níveis baixos de hemoglobina deficiência de cicatrização, maior incidência de complicações e maior tempo de internação<sup>22</sup>. Um estudo experimental realizado em ratos desnutridos, submetidos à metade do fornecimento de ração, mostrou que os animais apresentaram dificuldade no processo de cicatrização, ocasionando aumento de 15% na mortalidade em relação ao grupo controle<sup>11</sup>.

É considerada desnutrição leve quando ocorre perda ponderal de 10%, desnutrição moderada, quando há perda de 10 a 20% e grave quando maior que 20%<sup>23</sup>. No presente estudo, os animais dos grupos C e D podem ser classificados como desnutridos moderados, pois perderam cerca de 20% do peso corporal em sua maioria.

Tanto as feridas cicatrizadas por 1ª quanto por 2ª intenção apresentaram coloração rósea em todos os momentos de avaliação. Embora, pacientes desnutridos tenham maiores riscos de infecção e deiscência de sutura, isto não foi observado neste estudo, em nenhum dos momentos avaliados. Assim, como raros animais apresentaram dor nas feridas e somente em M3, o que corrobora a ausência de infecção nas lesões.

Em um dos estudos realizados, em que ratos foram submetidos a uma dieta com restrição protéica severa, obteve-se contração da ferida prejudicada e cicatrização retardada<sup>7</sup>. Em outro estudo com ratos utilizando dietas de teor protéico variado e submetidos a trauma osteomuscular padronizado, também se verificou redução na contração cicatricial dos animais utilizando dieta hipoprotéica, além de diminuição na quantidade de células inflamatórias<sup>24</sup>. O mesmo pode ser observado em uma pesquisa sobre cicatrização de feridas bucais, onde ratos submetidos a uma dieta suplementada com nutrientes específicos, tiveram clinicamente e histologicamente uma melhor cicatrização<sup>25</sup>. No presente trabalho, houve diferença estatística entre a medida das lesões em M7 para cicatrização por 1ª intenção e em M3 para a cicatrização por 2ª intenção, porém sem interferência da desnutrição ou do uso da vitamina C ( $p > 0.05$ ). Assim como, presença de crosta e do tipo hemática, ocorreu apenas em M3 e M7, de pequena monta, sem diferença entre os grupos estudados, corroborando os dados acima de retração adequada da ferida. Em M3, nenhum animal apresentava reepitelização da ferida e em M14, todos apresentavam reepitelização total. Em M7, a maioria dos animais apresentava reepitelização total e alguns parcial, com diferença estatística apenas para cicatrização por 1ª intenção. Com relação a este parâmetro, também não houve interferência da desnutrição ou do uso da vitamina C, o que difere dos dados da literatura. Neste estudo, a ausência de infecção nas feridas, corroborada também por ausência de crosta purulenta, pode ter contribuído para adequada retração das feridas e reepitelização.

Estudos indicam que a suplementação de vitamina C associada ao ácido pantotênico e proteínas é importante na intervenção de pacientes com úlceras de

pressão e em má cicatrização de feridas no pós-cirúrgico<sup>26</sup>. Em estudo realizado em ratos, comprovou-se que o ácido ascórbico em uso tópico diminui o número de macrófagos, aumentando a quantidade de fibroblastos e favorecendo a deposição de colágeno e organização das feridas. Assim, há uma melhor reparação tecidual e abreviação do tempo de cicatrização<sup>16</sup>.

As fases do processo de cicatrização estão divididas em: inflamatória, de fibroplasia e de maturação. Na fase inflamatória, há aumento de permeabilidade capilar, o que permite a migração de células específicas como neutrófilos (6 a 48 horas), macrófagos (72 horas) e linfócitos (5 dias)<sup>2</sup>. Neste trabalho, observou-se o padrão esperado de células inflamatórias no decorrer da cicatrização. Tanto as feridas cicatrizadas por 1ª quanto por 2ª intenção apresentaram predomínio de neutrófilos em M3, padrão misto (neutrófilos e linfócitos) em M7 e apenas animais do grupo C ainda apresentavam linfócitos em ambas as feridas em M14. Este dado sugere que o uso da vitamina C no grupo D, constituído por ratos desnutridos, pode ter contribuído para ausência de linfócitos no terceiro momento de avaliação, mesmo sendo usada via oral, corroborando com o estudo de Lima et al.<sup>16</sup>, que mostrou efeito antiinflamatório no uso tópico da vitamina C. Com relação à intensidade do processo inflamatório, em M7, a maioria dos animais do grupo B não apresentava mais infiltrado inflamatório, enquanto, a maioria dos animais dos demais grupos ainda apresentava infiltrado discreto. Este dado mostra que a vitamina C diminui a intensidade do processo inflamatório nos animais eutróficos de forma mais precoce do que nos animais desnutridos, provavelmente por diminuir a migração das células inflamatórias. Além disto, o uso de vitamina C influenciou na não persistência de crosta fibrino-leucocitária para as lesões cicatrizadas por 1ª intenção, pois em M7 a maioria dos animais dos grupos B e D não apresentavam mais esta crosta diferente dos animais dos grupos A e C que ainda apresentavam em sua maioria ( $p < 0.05$ ).

A presença de macrófagos foi observada a partir de M7, estando ausente no M3 e M14. Porém, o uso de vitamina C diminuiu a migração de macrófagos como descrito na literatura<sup>16</sup>, apenas no grupo eutrófico, onde não foram observados macrófagos em M7 também, mas não no grupo desnutrido. Este dado mostra que a vitamina C parece não ter ação efetiva na diminuição da migração macrofágica em desnutridos.

Na fase seguinte, classificada como de fibroplasia ou proliferativa, que ocorre com 3 a 7 dias de evolução da ferida, há grande proliferação vascular

(neoangiogênese) e aumento de fibroblastos<sup>2</sup>. Neste trabalho em M3, embora microscopicamente, os animais dos quatro grupos apresentassem neovascularização e a maioria dos animais do grupo A (87,5%) apresentasse neovascularização moderada semelhante a aqueles do grupo D, todos os animais eutróficos (grupos A e B) não apresentavam granulação nas bordas de ambas as lesões, enquanto todos os animais desnutridos (grupos C e D) apresentavam ( $p < 0.05$ ). A granulação observada nas bordas e no leito das lesões cicatriciais representa o tecido neovascularizado<sup>2</sup>. Em relação à intensidade da neovascularização, houve diferença estatística apenas entre os grupos A e B na cicatrização por 1ª intenção em M3 e M7 e entre os grupos A e B e entre A e C para M3 na cicatrização por 2ª intenção, mostrando que o uso da vitamina C não influenciou este parâmetro, como esperado, porém a desnutrição também não. Este dado mostra que a influência da desnutrição sobre o processo cicatricial pode não estar relacionado com a neovascularização tecidual.

Os fibroblastos produzem substância fundamental (composta por glicosaminoglicanos, fibronectina e ácido hialurônico) e colágeno, que irão reconstituir o tecido destruído<sup>6</sup>. Aumento do número de fibroblastos se iniciou em M7, onde a maioria dos animais do grupo A (62,5%) e todos do grupo B apresentaram moderada quantidade de fibroblastos na lesão cicatrizada por 1ª intenção, enquanto poucos do grupo C (25%) e metade do grupo D apresentavam moderada quantidade de fibroblastos ( $p < 0.05$ ). Assim como em M14, enquanto todos os animais do grupo A apresentavam discreta quantidade de fibroblastos, alguns do grupo B (37,5%) apresentavam moderada quantidade e a maioria do grupo D (57%) apresentava quantidade discreta a moderada, a maioria dos animais do grupo C (75%) não apresentava fibroblastos aumentados no tecido ( $p < 0.05$ ). Com relação à cicatrização por 2ª intenção, a maioria dos animais dos grupos A, B e D (50%, 87,5%, 75% respectivamente) apresentou moderada quantidade de fibroblastos na ferida, enquanto os animais do grupo C mostraram aumento discreto em M7 ( $p < 0.05$ ). Em M14, a maioria dos animais do grupo B (87,5%) e alguns do grupo A (37,5%) apresentava moderada quantidade de fibroblastos no tecido ( $p < 0.05$ ). Estes dados mostram que o uso de vitamina C aumenta a proliferação de fibroblastos no tecido, mesmo nos animais desnutridos, o que pode contribuir para melhor cicatrização das feridas nestes, porém em momentos diferentes para cicatrização por 1ª e 2ª intenção.

Na terceira fase da cicatrização, de maturação, ocorre deposição, agrupamento e remodelamento do colágeno, que está presente nos tecidos sob a forma de feixes de fibrilas longas, além de regressão endotelial. Após o depósito desordenado de substâncias diversas e síntese de colágeno sobre a cicatriz, ocorre a reestruturação da ferida, ordenando-a. A partir daí, há presença de maior quantidade de fibroblastos e fibras colágenas na ferida<sup>27</sup>. O ácido ascórbico torna-se importante nesse processo, pois sua ausência impede a regulação das hidroxilases e, conseqüentemente, a formação da hidroxiprolina, hidroxilisina e colágeno<sup>27</sup>. O aumento de fibras colágenas ocorreu a partir de M7, como esperado. Todos os animais do grupo B e a maioria dos animais do grupo D mostraram grande aumento de fibras colágenas em M14 tanto para lesões cicatrizadas por 1ª quanto por 2ª intenção, diferente dos animais dos grupos sem uso de vitamina C que apresentavam moderada quantidade ( $p < 0.05$ ). Assim, mesmo em animais desnutridos a vitamina C pode contribuir para maior deposição de colágeno no tecido e melhor finalização do processo cicatricial.

## **CONCLUSÃO**

Com os dados do presente estudo, pode-se concluir que o uso de vitamina C em desnutridos, assim como em eutróficos, aumenta a proliferação fibroblástica e o depósito de colágeno no tecido, além de diminuir a migração de linfócitos na fase final da cicatrização, o que contribui para melhorar a cicatrização, tanto de 1ª quanto de 2ª intenção nestes indivíduos. Porém, apenas nos animais eutróficos ocorreu o efeito de diminuição da intensidade do processo inflamatório de forma precoce e diminuição na migração de macrófagos.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Ms. José Luiz Santos Parizi, pela orientação e ajuda na realização das incisões nos animais.

## **REFERÊNCIAS**

1. Stechmiller J K. Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutr Clin Pract.*2010; 1: 25, 61-8. doi: 10.1177/0884533609358997
2. Kumar V, Abbas A. K, Fausto N., Mitchell R.N. (Eds). *Robbins – Patologia Básica.* 8ª ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier; 2008.

3. Wild T, Rahbarnia A, Kellner M; Sobotka L, Eberlein T. Basics in nutrition and wound healing, Salzburg. Nutrition. 2010; 9: 26, 862-6. doi: 10.1016/j.nut.2010.05.008
4. Brown K L, Phillips T J. Nutrition and wound healing. Clin Dermatol. Jul-Aug;28(4):432-9. doi: 10.1016/j.clindermatol.2010.03.028.
5. Agha-Mohammadi S, Hurwitz DJ. Potential impacts of nutritional deficiency of postbariatric patients on body contouring surgery. Plast Reconstr Surg. 2008 Dec; 122(6): 1901-14. doi: 10.1097/PRS.0b013e31818d20d6
6. Yang BW, Lin YM, Wang SY, Yeh DC. The study of absorption efficiency and restoring effects of collagen and ascorbic acid on aged skin by fluorescence and reflection spectroscopy. Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi. 2012 Dec; 32(12):3299-303. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.03.014
7. Otranto M, Souza Netto I, Águila M B, Monte Alto Costa A. Male and female rats with severe protein restriction present delayed wound healing. Appl Physiol Nutr Metab. 2009; 34:1023–31.
8. Falbo A. R, Alves G. B. Desnutrição grave: alguns aspectos clínicos e epidemiológicos de crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), Brasil. Cad. Saúde Públ. 2002 Set-Out; 5:1473-7.
9. Monteiro C A, Conde, W L, Popkin, B M. Is Obesity Replacing or Adding to Undernutrition? Evidence from Different Social Classes in Brazil. Public Health Nutrition. 2002; 5,(1A): 105-112. doi: 10.1079/PHN2001281
10. Rissin A, Filho M. B. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. Cad. Saúde Públ. 2003; 19 (Supl 1): 181-191.
11. Ferreira M. M; Scialom J M; Campos A D, Ramalho L L.Z, Marchini J S; Féres O; Rocha J. R. Efeito da desnutrição na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. Rev Bras Coloproct. 2006; 3 (26), 239-43
12. Andersen M L; Tufik S. Animal Models as Tools in Ethical Biomedical Research. CLR Balieiro. 2010; 563.
13. Paiva F P, Mafilli V V, Santos A C S. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. Fundação Osvaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz. [Internet].2005. [acesso 2011 mar 22]. Disponível em: [http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha\\_manipulacao.pdf](http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha_manipulacao.pdf).
14. Schirato G V, Monteiro F M F, Silva F O, Filho, J L L, Leão A M A, Porto A L

- F.O polissacarídeo do *Anacardium Occidentale L.* na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Ciência Rural*. 2006; 36 (1): 149-154.
15. Pace D, Campos A C, Graf R. Efeito de substâncias antioxidantes (vitamina C, vitamina E e Gingko biloba) na viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos. *Rev Soc Bras Cir Plást*. 2006; 2 (21): 77-81. doi: 10.1590/S0100-69912013000100009
  16. Lima C C; Pereira A P C, Silva J R F, Oliveira L S, Resck M C C, Grechi C O et al. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Braz. J. Biol.* 2008 nov; 4: 69, 1195-1201. doi:10.1590/S1519-69842009000500026
  17. Michalany J. Técnica histológica em anatomia patológica com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico. 3a ed. São Paulo: Michalany; 1998. 295p.
  18. Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres, D L, Santos, A A. 2007. BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Belém: Ong Mamiraua; 2007.
  19. Campos A C L, Groth A K, Branco A B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin in Clin Nutr and Metab Care*. 2008; 11: 281-8. doi: 10.1177/0022034509359125
  20. Valdés F. Vitamina C. *Actas Dermosifiliogr*. 97 (9). Espanha, 2006; 557-68.
  21. Azevedo L C, Medina F, Silva AA, Campanella ELS. Prevalência de desnutrição em um hospital geral de grande porte de Santa Catarina/Brasil. *Arquivos Catarinenses de Medicina*. 2006; 35(4):89-96.
  22. Kavalukas S L, Barbul A. Nutrition and wound healing: an update. *Plast Reconstr Surg*. 2011 jan; (127):1: 38S- 43S doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00833.x
  23. Ramos Fernández de Cafiante P. Malnutrición: conceptos, repercusión en los distintos órganos y sistemas. Indicaciones del soporte nutricional. [Internet]. 2000. [acesso 2013 mai 27]. Disponible em: <http://1.www.multimania.com/trenchei.opin.1201.httn>
  24. Zacharias D P M, Waitzberg D L, Schmidt B, Oliveira A S B, Gonçalves E L. Efeito da desnutrição protéica sobre a resposta cicatricial ao trauma: aspectos histológicos, histoquímicos e contração cicatricial. *Acta Cir Bras*. 1991; 33 (6): 97-102.
  25. Galvão C B C, Pinheiro A L B, Pessoa D C N P. Comparação da cicatrização



- de feridas bucais em animais submetidos às dietas: DBR e dieta balanceada acrescida de suplementação alimentar. Rev Bras Med. 2000 Ago; 8: 57, 844-7, 850.
26. Ellinger S, Stehle P. Efficacy of vitamin supplementation in situations with wound healing disorders: results from clinical intervention studies. Curr Opin Clin Nutr Metab Care- (Department of Food and Nutr Sciences- Nutr Physiol, University of Bonn, Germany) 2006; 6:12.
27. Choi HI, Park JI, Kim HJ, Kim DW, Kim SS. A novel L-ascorbic acid and peptide conjugate with increased stability and collagen biosynthesis. B M B Rep 2009 Nov 30;42(11):743-6.

**TABELAS**

Tabela 1 – Escores predominantes\* na análise morfológica das lesões

| Tempo de avaliação       |                             | M3             |                  |                |                  | M7             |                |                   |                | M14            |                |                |                |
|--------------------------|-----------------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Grupos                   |                             | A              | B                | C              | D                | A              | B              | C                 | D              | A              | B              | C              | D              |
| Parâmetros               | <b>Tipo de cicatrização</b> |                |                  |                |                  |                |                |                   |                |                |                |                |                |
|                          |                             |                |                  |                |                  |                |                |                   |                |                |                |                |                |
| Cor da ferida            | 1 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>    | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>    | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> |
| Borda da ferida          | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>b</sup> | 1 <sup>b</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>b</sup> | 1 <sup>b</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Crosta                   | 1 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Característica da crosta | 1 <sup>a</sup>              | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | -              | -                 | -              | -              | -              | -              | -              |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | -              | -                 | -              | -              | -              | -              | -              |
| Sensibilidade            | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Medida da lesão          | 1 <sup>a</sup>              | 2 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 0.25 <sup>b</sup> | 0 <sup>b</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|                          | 2 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a,b</sup> | 2 <sup>b</sup> | 2 <sup>a,b</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0.25 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |

\*Escore ocorrido no maior número de animais. Resultados com diferentes sobrescritos diferem significativamente ( $p < 0.05$ ).

Tabela 2 – Escores predominantes na análise histopatológica das lesões.

| Tempos de avaliação                    |                             | M3             |                |                  |                  | M7             |                |                  |                  | M14            |                |                |                |
|--|-----------------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Grupos                                 |                             | A              | B              | C                | D                | A              | B              | C                | D                | A              | B              | C              | D              |
| Parâmetros                             | <b>Tipo de cicatrização</b> |                |                |                  |                  |                |                |                  |                  |                |                |                |                |
|  |                             |                |                |                  |                  |                |                |                  |                  |                |                |                |                |
| Reepitelização                         | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>b</sup> | 2 <sup>b</sup>   | 2 <sup>b</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> |
| Crosta fibrinoleucocitária             | 1 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 0 <sup>a,b</sup> | 0 <sup>a,b</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Neovascularização                      | 1 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>b</sup> | 1 <sup>a,b</sup> | 1 <sup>a,b</sup> | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 1 <sup>a,b</sup> | 0 <sup>a,b</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 3 <sup>a</sup> | 1 <sup>b</sup> | 1 <sup>b</sup>   | 1 <sup>a,b</sup> | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Intensidade do infiltrado inflamatório | 1 <sup>a</sup>              | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 2 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Macrófagos                             | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> |
| Fibroblastos                           | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 2 <sup>b</sup> | 2 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 2 <sup>b</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 0 <sup>b</sup> | 1 <sup>a</sup> |
| Fibras colágenas                       | 1 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 3 <sup>b</sup> | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>b</sup> |
|  | 2 <sup>a</sup>              | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>   | 0 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup> | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup>   | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>b</sup> | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>b</sup> |

\*Escore ocorrido no maior número de animais. Resultados com diferentes sobrescritos diferem significativamente ( $p < 0.05$ ).

## FIGURAS

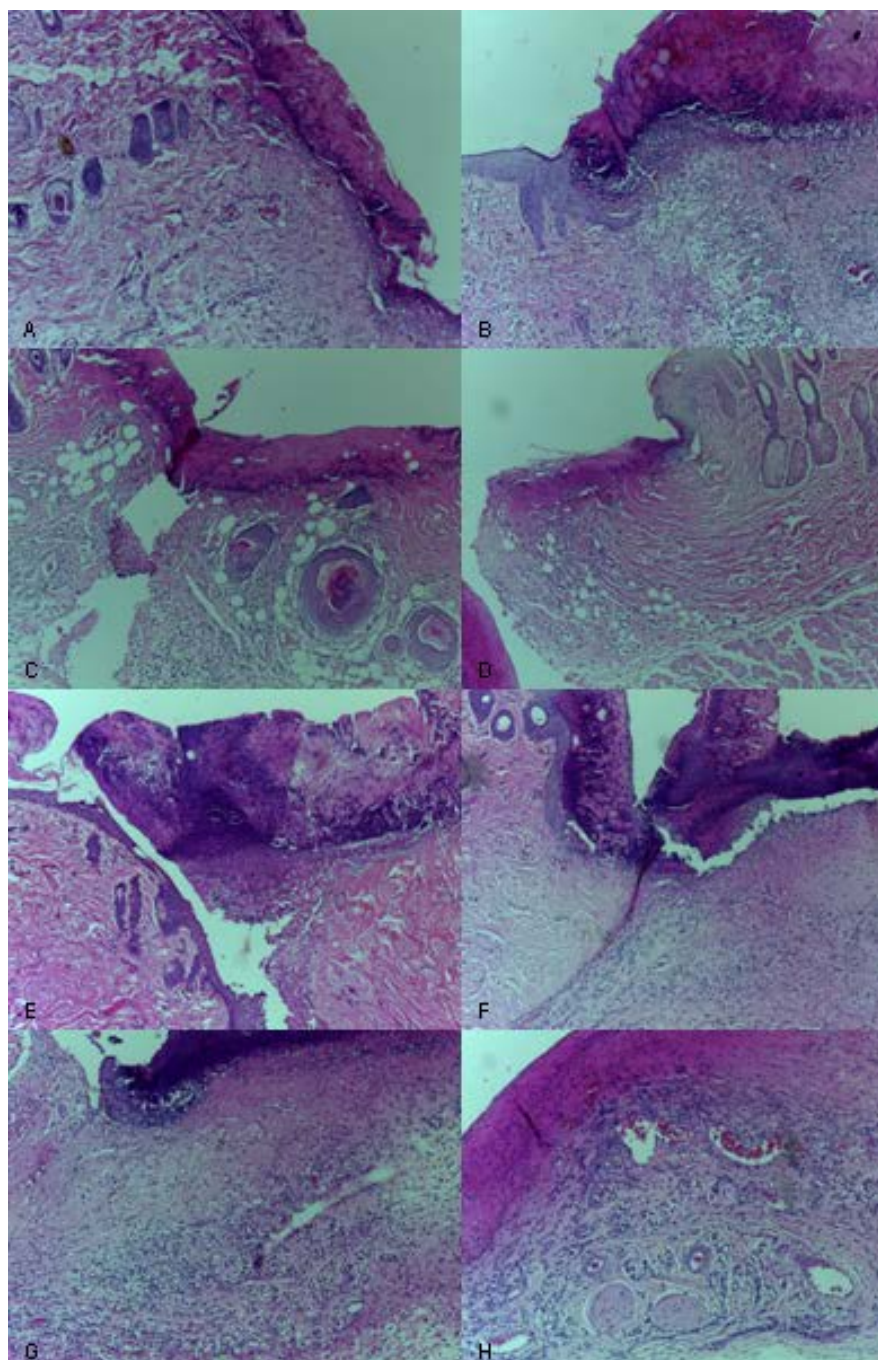


Figura 1 – Análise histopatológica em M3. À direita, cicatrização por 1ª intenção e à esquerda cicatrização por 2ª intenção. Notar presença de crosta fibrino-leucocitária e infiltrado inflamatório em todas as imagens. A e B – animal do grupo A. C e D – animal do grupo B. E e F – animal do grupo C. G e H – animal do grupo D. (Hematoxilina-eosina, aumento de 200x). Presidente Prudente, 2013.

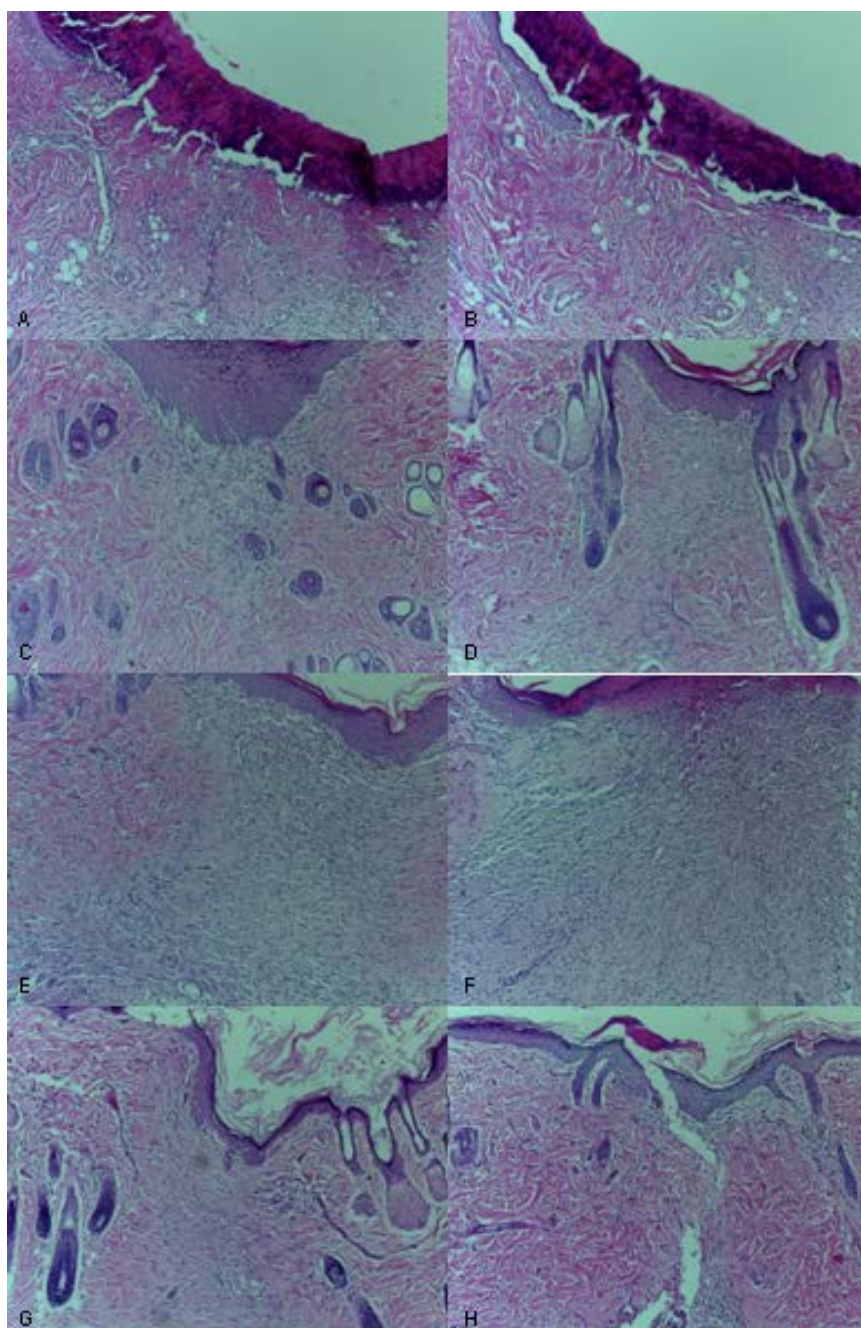


Figura 2 – Análise histopatológica em M7. À direita, cicatrização por 1ª intenção e à esquerda cicatrização por 2ª intenção. Notar presença de crosta fibrino-leucocitária somente em A, B e F e infiltrado inflamatório mais exuberante em E e F. A e B – animal do grupo A. C e D – animal do grupo B. E e F – animal do grupo C. G e H – animal do grupo D. (Hematoxilina-eosina, aumento de 200x). Presidente Prudente, 2013.

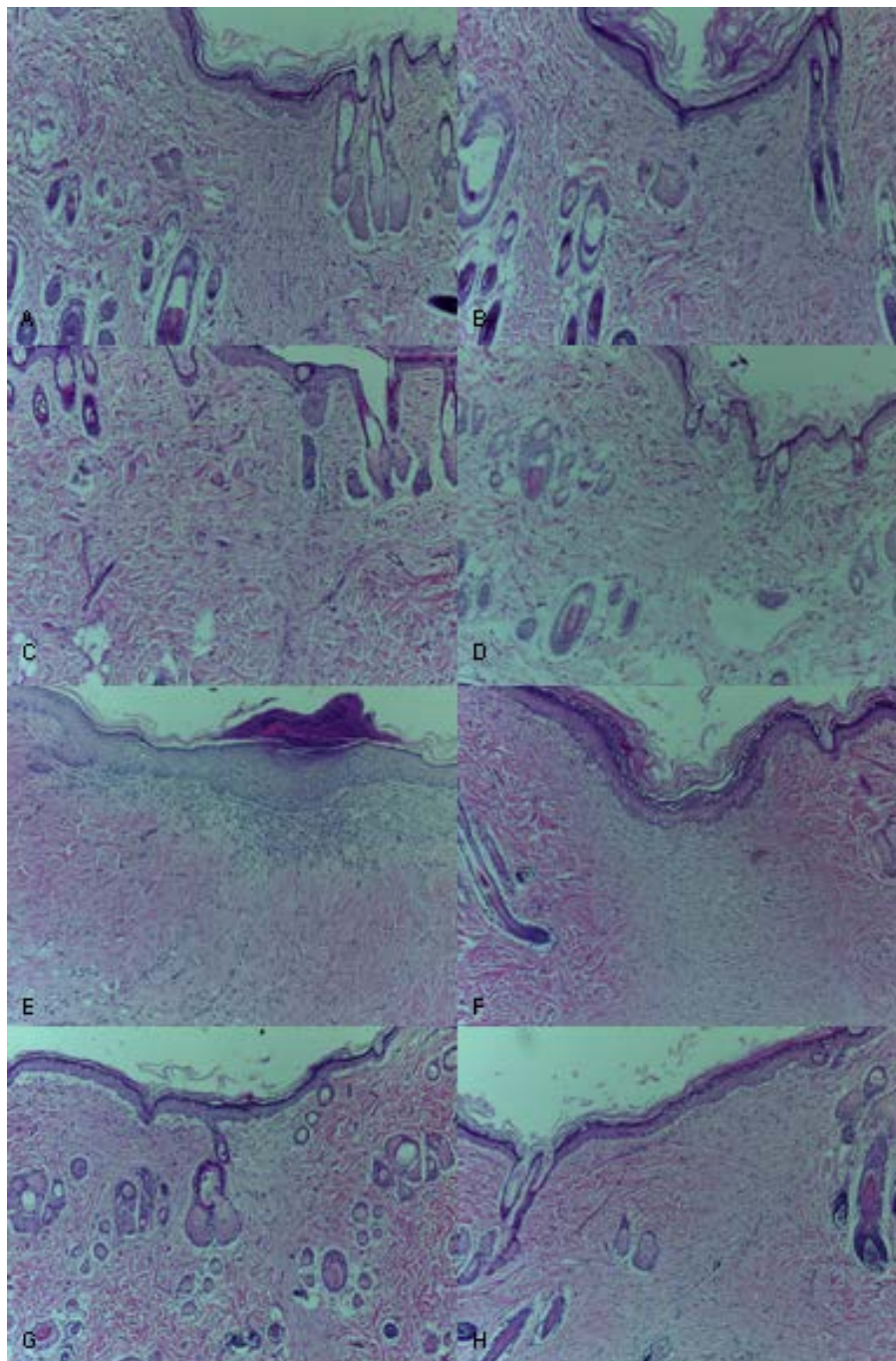
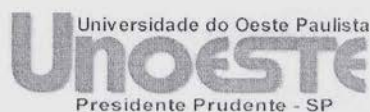


Figura 3 – Análise histopatológica em M14. À direita, cicatrização por 1<sup>a</sup> intenção e à esquerda cicatrização por 2<sup>a</sup> intenção. Notar presença de crosta fibrino-leucocitária e infiltrado inflamatório apenas em E. A e B – animal do grupo A. C e D – animal do grupo B. E e F – animal do grupo C. G e H – animal do grupo D. (Hematoxilina-eosina, aumento de 200x). Presidente Prudente, 2013.

## ANEXOS

**Anexo 1 - Aprovação do Trabalho pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).**


Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq)  
Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

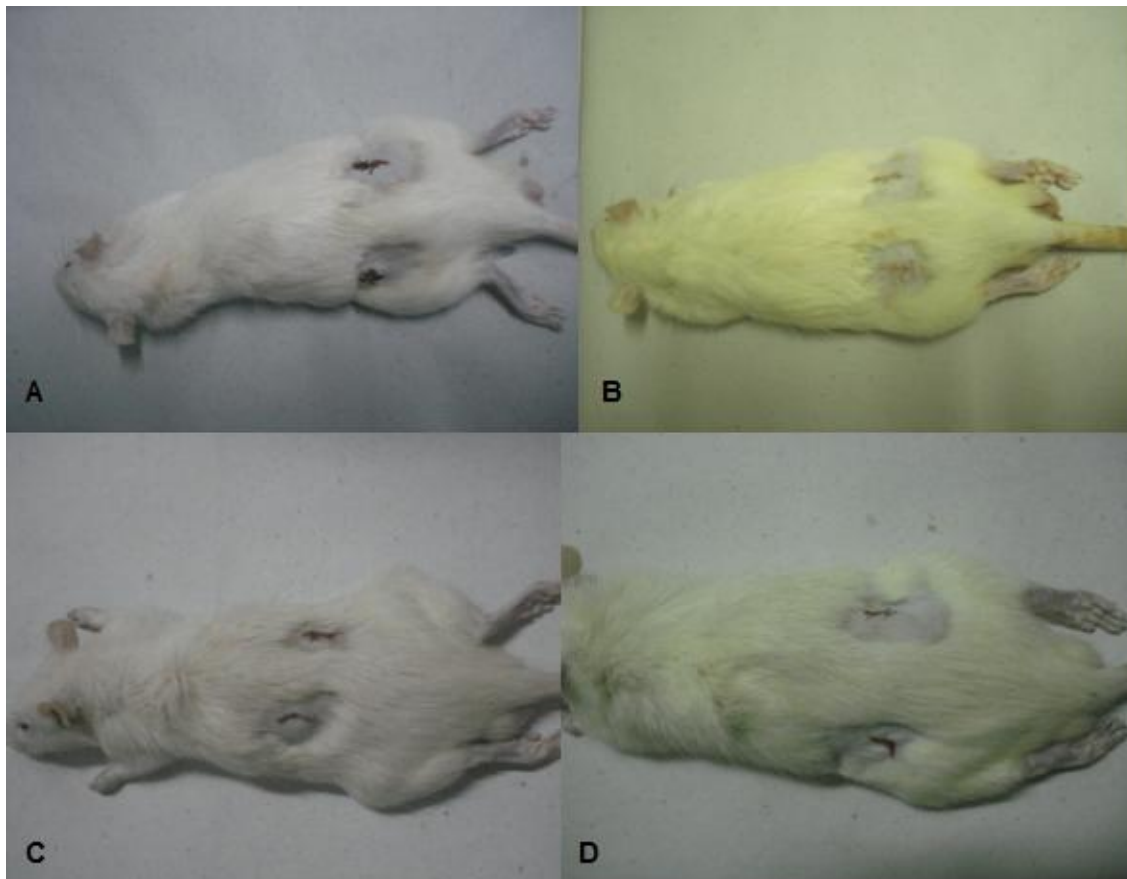
**PARECER FINAL**

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado “**AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS DESNUTRIDOS**” cadastrado no PROGRAMA ESPECIAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PEIC) na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) e na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número n° 1103 (online) tendo como pesquisadora responsável a Profª.Dra. **GISELE ALBORGHETTI NAI**, o Prof. Dr. **PAULO EDUARDO PARDO**, o técnico participante **CARLOS ALEXANDRE SANT'ANNA DE OLIVEIRA** e as acadêmicas **GIOVANA DE CARVALHO KATAYAMA**, **LARISSA DE QUEIROZ MAMEDE**, **LOUISE MARIA MANZOLI RIBEIRO**, **MARY ELLEN DE OLIVEIRA MARTINS DISCONZI** e **TAYANE CARVALHO ISIDORO DA SILVA** foi avaliado e **APROVADO** nas duas instâncias da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente-SP.

Presidente Prudente, 01 de junho de 2012.

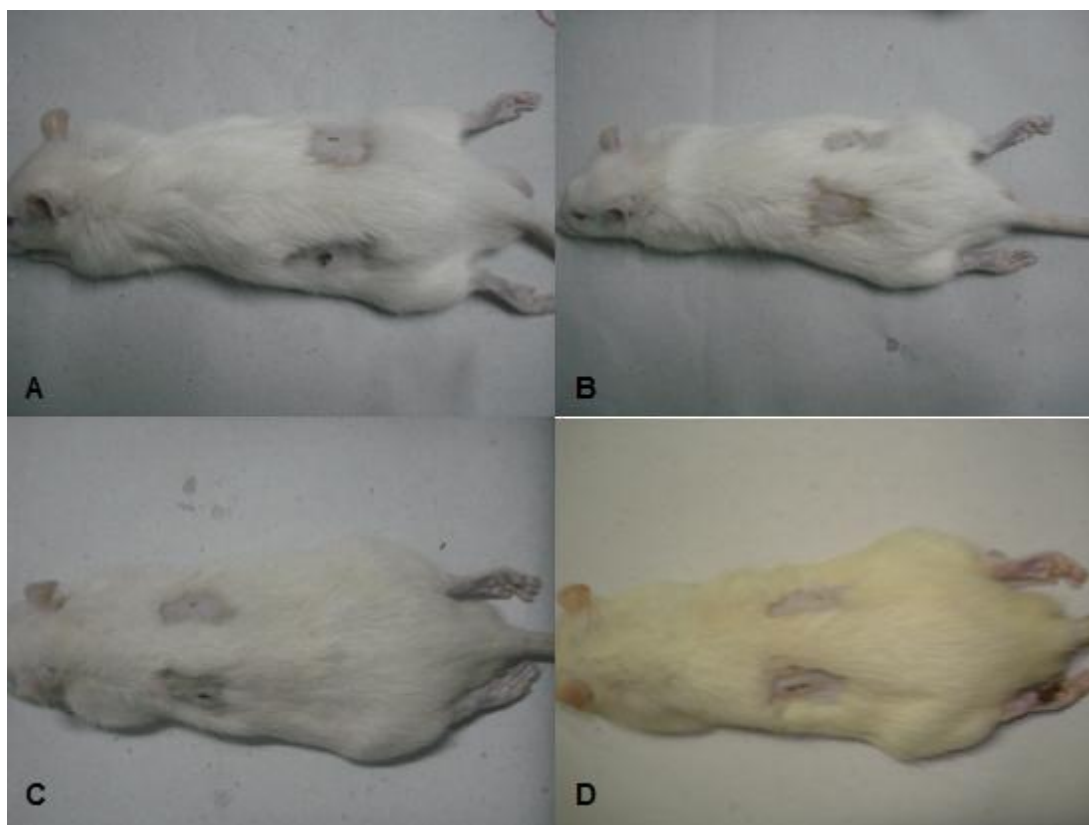
  
Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.  
Coordenador Científico da CCPq

  
Profª Ms. Adriana Falco de Brito  
Coordenadora da CEUA-UNOESTE

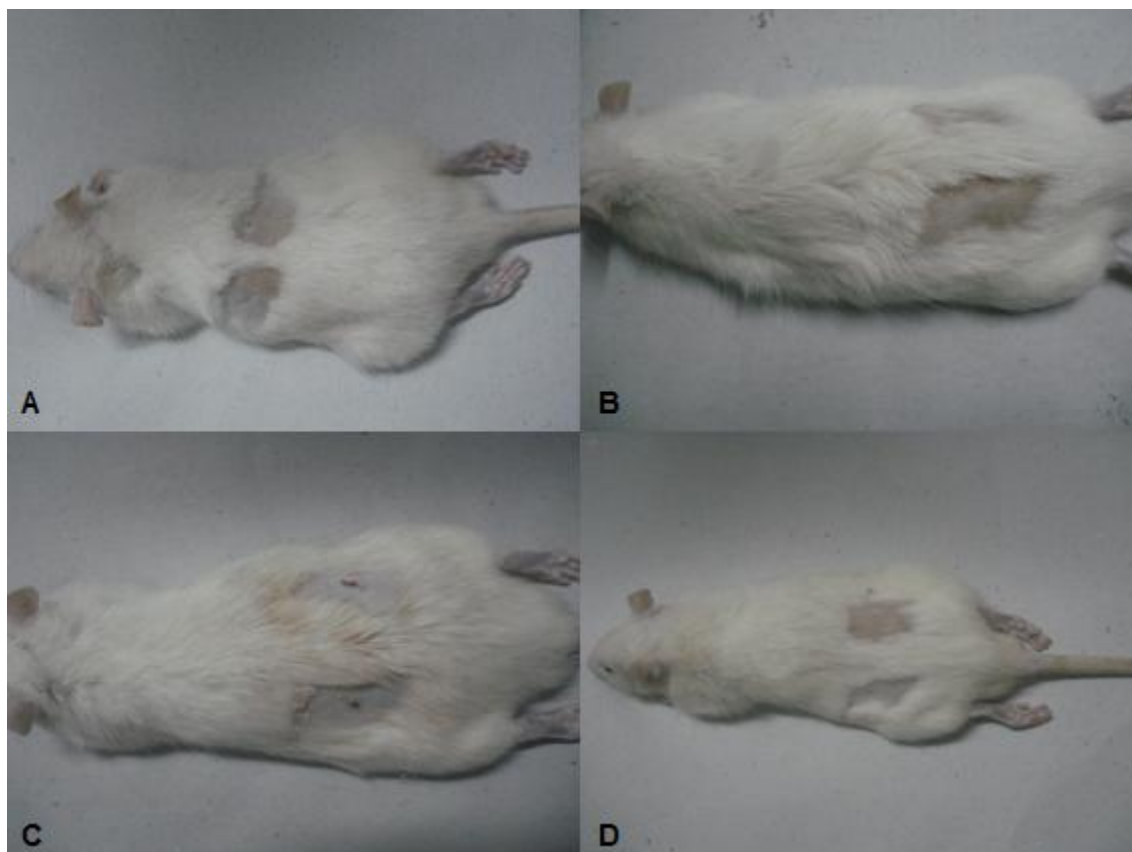
**Anexo 2 – Análise morfológica das feridas.**

Morfologia das feridas em M3. Notar presença de crosta em todas as feridas. A – animal do Grupo A. B – animal do Grupo B. C – animal do Grupo C. D – animal do Grupo D.





Morfologia das feridas em M7. Notar ausência de crosta nas feridas em B. A – animal do Grupo A. B – animal do Grupo B. C – animal do Grupo C. D – animal do Grupo D.



Morfologia das feridas em M14. Notar presença de crosta nas feridas apenas em C. A – animal do Grupo A. B – animal do Grupo B. C – animal do Grupo C. D – animal do Grupo D.

### Anexo 3 – Normas de publicação da revista científica a qual o artigo será submetido.



#### Escopo e política

A **Revista de Nutrição** é um periódico especializado que publica artigos que contribuem para o estudo da Nutrição em suas diversas subáreas e interfaces. Com periodicidade bimestral, está aberta a contribuições da comunidade científica nacional e internacional.

Os manuscritos podem ser rejeitados sem comentários detalhados após análise inicial, por pelo menos dois editores da **Revista de Nutrição**, se os artigos forem considerados inadequados ou de prioridade científica insuficiente para publicação na Revista.

#### Categoria dos artigos

A Revista aceita artigos inéditos em português, espanhol ou inglês, com título, resumo e termos de indexação no idioma original e em inglês, nas seguintes categorias:

**Original:** contribuições destinadas à divulgação de resultados de pesquisas inéditas, tendo em vista a relevância do tema, o alcance e o conhecimento gerado para a área da pesquisa (limite máximo de 5 mil palavras).

**Especial:** artigos a convite sobre temas atuais (limite máximo de 6 mil palavras).

**Revisão (a convite):** síntese de conhecimentos disponíveis sobre determinado tema, mediante análise e interpretação de bibliografia pertinente, de modo a conter uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área, que discuta os limites e alcances metodológicos, permitindo indicar perspectivas de continuidade de estudos naquela linha de pesquisa (limite máximo de 6 mil palavras). Serão publicados até dois trabalhos por fascículo.

**Comunicação:** relato de informações sobre temas relevantes, apoiado em pesquisas recentes, cujo mote seja subsidiar o trabalho de profissionais que atuam na área, servindo de apresentação ou atualização sobre o tema (limite máximo de 4 mil palavras).

**Nota Científica:** dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento (limite máximo de 4 mil palavras).

**Ensaio:** trabalhos que possam trazer reflexão e discussão de assunto que gere questionamentos e hipóteses para futuras pesquisas (limite máximo de 5 mil palavras).

**Seção Temática (a convite):** seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 10 mil palavras no total).

**Categoria e a área temática do artigo:** os autores devem indicar a categoria do artigo e a área temática, a saber: alimentação e ciências sociais, avaliação nutricional, bioquímica nutricional, dietética, educação nutricional, epidemiologia e estatística, micronutrientes, nutrição clínica, nutrição experimental, nutrição e geriatria, nutrição materno-infantil, nutrição em produção de refeições, políticas de alimentação e nutrição e coletiva.

#### Pesquisas envolvendo seres vivos

Resultados de pesquisas relacionadas a seres humanos e animais devem ser acompanhados de cópia de aprovação do parecer de um Comitê de Ética em pesquisa.

#### Registros de Ensaio Clínicos

Artigos com resultados de pesquisas clínicas devem apresentar um número de identificação em um dos Registros de Ensaio Clínicos validados pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

Os autores devem indicar três possíveis revisores para o manuscrito. Opcionalmente, podem indicar três revisores para os quais não gostaria que seu trabalho fosse enviado.

#### Procedimentos editoriais

##### **Autoria**

A indicação dos nomes dos autores logo abaixo do título do artigo é limitada a 6. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nomes de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima.

Os manuscritos devem conter, na página de identificação, explicitamente, a contribuição de cada um dos autores.

## Processo de julgamento dos manuscritos

Todos os outros manuscritos só iniciarão o processo de tramitação se estiverem de acordo com as Instruções aos Autores. Caso contrário, **serão devolvidos para adequação às normas**, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria lingüística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar o uso da primeira pessoa "meu estudo...", ou da primeira pessoa do plural "percebemos...", pois em texto científico o discurso deve ser impessoal, sem juízo de valor e na terceira pessoa do singular.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas **serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação** quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Aprovados nesta fase, os manuscritos serão encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores. Cada manuscrito será enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada, podendo um deles ser escolhido a partir da indicação dos autores. Em caso de desacordo, o original será enviado para uma terceira avaliação.

Todo processo de avaliação dos manuscritos terminará na segunda e última versão.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

Os pareceres dos revisores comportam três possibilidades: a) aprovação; b) recomendação de nova análise; c) recusa. Em quaisquer desses casos, o autor será comunicado.

Os pareceres são analisados pelos editores associados, que propõem ao Editor Científico a aprovação ou não do manuscrito.

Manuscritos recusados, mas com possibilidade de reformulação, poderão retornar como novo trabalho, iniciando outro processo de julgamento.

## Conflito de interesse

No caso da identificação de conflito de interesse da parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminhará o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da Revista.

Provas: serão enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não serão aceitas nesta fase.

## Preparo do manuscrito

### Submissão de trabalhos

Serão aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho e da área temática, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Revista de Nutrição e de concordância com a cessão de direitos autorais e uma carta sobre a principal contribuição do estudo para a área.

Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso.

Enviar os manuscritos via site <<http://www.scielo.br/rn>>, preparados em espaço entrelinhas 1,5, com fonte Arial 11. O arquivo deverá ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do Word (Windows).

O texto deverá contemplar o número de palavras de acordo com a categoria do artigo. As folhas deverão ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deverá apresentar o número 1). O papel deverá ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50. Sempre que uma referência possuir o número de *Digital Object Identifier* (DOI), este deve ser informado.

**Versão reformulada:** a versão reformulada deverá ser encaminhada via <<http://www.scielo.br/rn>>. O(s) autor(es) deverá(ão) enviar apenas a última versão do trabalho.

O texto do artigo deverá empregar fonte colorida (cor azul) ou sublinhar, para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta Revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito, na

versão reformulada. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deverão apresentar os argumentos que justificam sua posição. O título e o código do manuscrito deverão ser especificados.

**Página de rosto:**

a) título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do...", "considerações acerca de..." "estudo exploratório...";

b) *short title* com até 40 caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês;

c) nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deverá(ão), portanto, escolher, entre suas titulações e filiações institucionais, aquela que julgar(em) a mais importante.

d) Todos os dados da titulação e da filiação deverão ser apresentados por extenso, sem siglas.

e) Indicação dos endereços completos de todas as universidades às quais estão vinculados os autores;

f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico;

**Observação:** esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

**Resumo:** todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês.

Para os artigos originais, os resumos devem ser estruturados destacando objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicando formas de continuidade do estudo.

Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações.

O texto não deve conter citações e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - da Bireme <<http://decs.bvs.br>>.

**Texto:** com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Comunicação, Nota Científica e Ensaio, os trabalhos deverão seguir a estrutura formal para trabalhos

científicos:

**Introdução:** deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

**Métodos:** deve conter descrição clara e sucinta do método empregado, acompanhada da correspondente citação bibliográfica, incluindo: procedimentos adotados; universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Em relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex.  $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ;  $p < 0.001$ ) devem ser mencionados.

Informar que a pesquisa foi aprovada por Comitê de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do processo.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas.

**Resultados:** sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma a serem auto-explicativas e com análise estatística. Evitar repetir dados no texto.

Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. **É imprescindível a informação do local e ano do estudo.** A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros e tabelas terão as bordas laterais abertas.

O(s) autor(es) se responsabiliza(m) pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que deverão ser elaboradas em tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente); **não é permitido o formato paisagem.** Figuras digitalizadas deverão ter extensão jpeg e resolução mínima de 300 dpi.

Gráficos e desenhos deverão ser gerados em programas de desenho vetorial (*Microsoft Excel, CorelDraw, Adobe Illustrator* etc.), acompanhados de seus parâmetros quantitativos, em forma de tabela e com nome de todas as variáveis.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, será custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Revista de Nutrição providenciará um orçamento dos custos envolvidos, que poderão variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).



Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deverá(ão) efetuar depósito bancário. As informações para o depósito serão fornecidas oportunamente.

**Discussão:** deve explorar, adequada e objetivamente, os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

**Conclusão:** apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. **Não serão aceitas citações bibliográficas nesta seção.**

**Agradecimentos:** podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

**Anexos:** deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

**Abreviaturas e siglas:** deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, quando da primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

#### **Referências de acordo com o estilo *Vancouver***

**Referências:** devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, conforme o estilo *Vancouver*.

Nas referências com dois até o limite de seis autores, citam-se todos os autores; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros autores, seguido de *et al.*

As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus*.

**Não serão aceitas** citações/referências de **monografias** de conclusão de curso de graduação, **de trabalhos** de Congressos, Simpósios, *Workshops*, Encontros, entre outros, e de **textos não publicados** (aulas, entre outros).

Se um trabalho não publicado, de autoria de um dos autores do manuscrito, for citado (ou seja, um artigo *in press*), será necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo.

Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, será necessário incluir uma carta de autorização, do uso dos mesmos por seus autores.

**Citações bibliográficas no texto:** deverão ser expostas em ordem numérica, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo "&"; se forem mais de

dois, cita-se o primeiro autor, seguido da expressão *et al.*

**A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor.**

Todos os autores cujos trabalhos forem citados no texto deverão ser listados na seção de Referências.

## **Exemplos**

### **Artigo com mais de seis autores**

Oliveira JS, Lira PIC, Veras ICL, Maia SR, Lemos MCC, Andrade SLL, *et al.* Estado nutricional e insegurança alimentar de adolescentes e adultos em duas localidades de baixo índice de desenvolvimento humano. *Rev Nutr.* 2009; 22(4): 453-66. doi: 10.1590/S1415-52732009000400002.

### **Artigo com um autor**

Burlandy L. A construção da política de segurança alimentar e nutricional no Brasil: estratégias e desafios para a promoção da intersectorialidade no âmbito federal de governo. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2009; 14(3):851-60. doi: 10.1590/S1413-81232009000300020.

### **Artigo em suporte eletrônico**

Sichieri R, Moura EC. Análise multinível das variações no índice de massa corporal entre adultos, Brasil, 2006. *Rev Saúde Pública [Internet].* 2009 [acesso 2009 dez 18]; 43(suppl.2):90-7. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102009000900012&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102009000900012&lng=pt&nrm=iso)>. doi: 10.1590/S0034-89102009000900012.

### **Livro**

Alberts B, Lewis J, Raff MC. *Biologia molecular da célula.* 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.

### **Livro em suporte eletrônico**

Brasil. Alimentação saudável para pessoa idosa: um manual para o profissional da saúde [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2009 [acesso 2010 jan 13]. Disponível em: <[http://200.18.252.57/services/e-books/alimentacao\\_saudavel\\_idosa\\_profissionais\\_saude.pdf](http://200.18.252.57/services/e-books/alimentacao_saudavel_idosa_profissionais_saude.pdf)>.

### **Capítulos de livros**

Aciolly E. Banco de leite. In: Aciolly E. *Nutrição em obstetrícia e pediatria.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. Unidade 4.

### **Capítulo de livro em suporte eletrônico**

Emergency contraceptive pills (ECPs). In: World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use [Internet]. 4th ed. Geneva: WHO; 2009 [cited 2010 Jan 14]. Available from: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563888\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563888_eng.pdf)>.

### **Dissertações e teses**

Duran ACFL. Qualidade da dieta de adultos vivendo com HIV/AIDS e seus fatores associados [mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.

### **Texto em formato eletrônico**

Sociedade Brasileira de Nutrição Parental e Enteral [Internet]. Assuntos de interesse do farmacêutico atuante na terapia nutricional. 2008/2009 [acesso 2010 jan 14]. Disponível em: <<http://www.sbnpe.com.br/ctdpg.php?pg=13&ct=A>>.

### **Programa de computador**

*Software* de avaliação nutricional. DietWin Professional [programa de computador]. Versão 2008. Porto Alegre: Brubins Comércio de Alimentos e Supergelados; 2008. Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do *Committee of Medical Journals Editors* (Grupo Vancouver) <<http://www.icmje.org>>.

### Lista de checagem

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor.
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letras fonte Arial, corpo 11 e entrelinhas 1,5 e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).
- Indicação da categoria e área temática do artigo.
- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas.
- Preparar página de rosto com as informações solicitadas.
- Incluir o nome de agências financiadoras e o número do processo.
- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, o ano de defesa.
- Incluir título do manuscrito, em português e em inglês.
- Incluir título abreviado (short title), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas.
- Incluir resumos estruturados para trabalhos submetidos na categoria de originais e narrativos para manuscritos submetidos nas demais categorias, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas na ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, e se todas estão citadas no texto.
- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas.
- Cópia do parecer do Comitê de Ética em pesquisa.

## Documentos

### **Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais**

Cada autor deve ler e assinar os documentos (1) Declaração de Responsabilidade e (2) Transferência de Direitos Autorais, nos quais constarão:

- Título do manuscrito:
- Nome por extenso dos autores (na mesma ordem em que aparecem no manuscrito).
- Autor responsável pelas negociações:

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autoras devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

- "Certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo";

- "Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Revista de Nutrição, quer seja no formato impresso ou no eletrônico".

2. Transferência de Direitos Autorais: "Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Revista de Nutrição passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento \_\_\_\_\_ à \_\_\_\_\_ Revista".

Assinatura do(s) autores(s) Data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

### Justificativa do artigo

Destaco que a principal contribuição do estudo para a área em que se insere é a seguinte: \_\_\_\_\_

(Escreva um parágrafo justificando porque a revista deve publicar o seu artigo, destacando a sua relevância científica, a sua contribuição para as discussões na área em que se insere, o(s) ponto(s) que caracteriza(m) a sua originalidade e o conseqüente potencial de ser citado) Dada a competência na área do estudo, indico o nome dos seguintes pesquisadores (três) que podem atuar como revisores do manuscrito. Declaro igualmente não haver qualquer conflito de interesses para esta indicação.