

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

**PADRÃO DE PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO E
CITOCINAS PRÓ E ANTIINFLAMATÓRIAS EM
PACIENTES COM ÚLCERA DE PRESSÃO
SUPLEMENTADOS COM ÁCIDO ASCÓRBICO**

ÉLIDA JULIANA ANTONELLI

Uberaba - MG
2007

ÉLIDA JULIANA ANTONELLI

**PADRÃO DE PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO E
CITOCINAS PRÓ E ANTIINFLAMATÓRIAS EM
PACIENTES COM ÚLCERA DE PRESSÃO
SUPLEMENTADOS COM ÁCIDO ASCÓRBICO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia, área de concentração "Patologia Clínica", da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

***Orientador:* Prof. Daniel Ferreira da Cunha**

***Co-orientadores:* Profa. Maria Bernarda Cavalcanti Cordeiro**

Prof. David Nascimento Silva Teixeira

Uberaba - MG
2007

DEDICATÓRIA

Aos pacientes que têm, tiveram e ainda vão ter Úlceras de Pressão, espero que este trabalho possa contribuir para melhorar o conhecimento das úlceras de pressão elucidando formas mais eficientes para seu tratamento.

Aos meus pais, Atílio Antonelli e Lourdes Messias de Oliveira Antonelli.

Ao meu irmão: Edson Atílio Divino Antonelli.

“Seja a mudança que você deseja ver no mundo”

Mahatma Gandhi.

AGRADECIMENTOS

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha família, por sempre me apoiarem, em especial, minha tia Doralice Messias de Oliveira.

Às amigas Ione Aparecida Galvão e Isabella Barberato Silva, por sempre acreditarem no meu trabalho.

Às pessoas que colaboraram como sujeitos da pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Daniel Ferreira da Cunha, exemplo de dedicação profissional, a quem jamais poderei ser suficientemente grata pela orientação deste trabalho e pelo espírito científico transmitido.

Ao Prof. Dr. David Nascimento Silva Teixeira, pelo profissionalismo, paciência e dedicação durante a padronização das dosagens de citocinas e óxido nítrico.

À Prof^a. Maria Bernarda Cavalcanti Cordeiro, pelo estímulo e apoio ao meu ingresso no curso de pós-graduação.

Ao professor Virmondes Rodrigues Júnior e todos os funcionários do Laboratório de Imunologia (UFTM), por terem me acolhido em seu espaço de trabalho.

Aos professores Hélio Vannucchi e Alceu Afonso Jordão Júnior, pela colaboração e apoio constante às nossas solicitações.

Ao Doutorando Lúcio Roberto Cançado Castellano, pelo apoio durante as atividades no Laboratório de Imunologia (UFTM).

À enfermeira Vívian Teixeira Fonseca Rêis, pela companhia durante as visitas domiciliares e ajuda durante os cálculos de ingestão e confecção de bancos de dados.

À Regina Maria Costa Rabelo, funcionária do Curso de Biomedicina, pelo incentivo e apoio constantes durante o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas (UFTM), pela generosidade, paciência, profissionalismo, competência e disponibilidade para ajudar nas dificuldades que dependiam do seu trabalho.

Aos funcionários da Faculdade de Medicina-USP/RP, Mônica Silva de Souza Meirelles e Guilherme Vannucchi Portari, pela dedicação na realização das dosagens de vitaminas antioxidantes.

Aos funcionários do Programa de Saúde da Família, pelo auxílio na identificação dos pacientes com úlcera de pressão.

Às funcionárias Hilda Shizue M. Silva e Simone Amaral Coelho de Oliveira, da Disciplina de Nutrologia, pelo apoio e amizade.

Aos funcionários do serviço de Nutrição e Dietética (UFTM), por terem contribuído para o suporte nutricional oferecido aos sujeitos da pesquisa.

Aos funcionários da Biblioteca Frei Eugênio (UFTM), que muito me auxiliaram nos levantamentos bibliográficos e na realização das referências deste trabalho.

Apoio financeiro da CAPES, CNPq, FAPEMIG, Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU).

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1 - Associação entre úlcera de pressão e subnutrição.....	27
--	----

RESULTADOS

Figura 1 - Frequência (%) de pacientes com <i>kwashiorkor</i> nos grupos Controle ou Vitamina C.....	46
Figura 2 - Níveis séricos de vitamina C nos grupos controle e vitamina C, nos períodos estudados.....	46
Figura 3 - Correlação positiva (Pearson) entre níveis séricos de vitamina C e IL-6, estimulada com PHA, de 44 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo dos pacientes com úlcera de pressão.....	53
Figura 4 - Correlação positiva (Pearson) entre níveis séricos de vitamina C e IFN- γ , estimulado com PHA, de 30 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo dos pacientes com úlcera de pressão.....	53

LISTA DE TABELAS

RESULTADOS

Tabela 1 -	Dados de antropometria obtidos nos grupos Controle ou suplementados com vitamina C, no início do estudo e após 15 dias.....	41
Tabela 2 -	Ingestão diária de energia (Kcal), proteínas (g) e vitamina C (mg) de pacientes dos grupos Controle e Vitamina C, relacionados aos períodos de estudo.....	42
Tabela 3 -	Indicadores laboratoriais da presença de resposta de fase aguda nos pacientes Controle e Vitamina C, relacionados aos períodos de estudo.....	43
Tabela 4 -	Frequência (%) de pacientes dos grupos Controle ou suplementados com vitamina C com exames laboratoriais fora da faixa de normalidade no início do estudo.....	44
Tabela 5 -	Níveis de hemoglobina, leucócitos e linfócitos no sangue periférico de pacientes dos grupos Controle e Vitamina C, nos períodos de estudo.....	45
Tabela 6 -	Frequência (%) de pacientes dos grupos Controle ou suplementados com vitamina C com exames hematológicos fora da faixa de normalidade.....	45
Tabela 7 -	Níveis basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de TNF- α produzido por leucócito obtido do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	47
Tabela 8 -	Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IFN- γ produzido por leucócito obtido do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	48
Tabela 9 -	Níveis basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de IL-6 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	48

Tabela 10 -	Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IL-10 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	49
Tabela 11	Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IL-13 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	49
Tabela 12a -	Níveis séricos, basais (estimulação com salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de óxido nítrico produzido por leucócitos obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	50
Tabela 12b -	Níveis séricos, basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de Óxido Nítrico produzido por leucócitos obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.....	51
Tabela 13 -	Matriz de correlação entre variáveis numéricas de 44 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo de pacientes com úlcera de pressão.....	52
Tabela 14 -	Matriz de correlação entre variáveis numéricas de 44 resultados de hemoglobina, velocidade de hemossedimentação, leucócitos e dosagens bioquímicas realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo de pacientes com úlcera de pressão.....	52

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

Sigla	Significado
UP	Úlceras de pressão
HU-USP	Hospital Universitário – Universidade de São Paulo
CEP-UFTM	Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro
CB	Circunferência do braço
PCT	Prega cutânea tricipital
CMB	Circunferência muscular do braço
UFTM	Universidade federal do triângulo mineiro
UFTM-HE	Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro
RFA	Resposta de fase aguda
PCR	Proteína C reativa
CTLF	Capacidade total de ligação do ferro
VHS	Velocidade de Hemossedimentação

LISTA DE SIGLAS DE PALAVRAS NA LÍNGUA ESTRANGEIRA E SUA CORRESPONDÊNCIA NA LÍNGUA PORTUGUESA

Sigla	Significado na língua estrangeira	Significado na língua portuguesa
NPUAP	National Pressure Ulcer Advisory Panel	Painel Consultivo Nacional de Úlceras de Pressão
AHCPR	Agency for Health Care Policy and Research	Agência de Pesquisa e Política dos Cuidados de Saúde
Th1	T helper 1	T auxiliar 1
Th2	T helper 2	T auxiliar 2
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay	Ensaio de imunoadsorção enzimático
HPLC	High pressure liquid chromatography	Cromatografia líquida de alta pressão
TNF α	Tumour Necrosis Factor alfa	Fator de Necrose Tumoral alfa
IFN- γ	Interferon-gamma	Interferon-gama
IL-6	Interleukin-6	Interleucina-6
IL-10	Interleukin-10	Interleucina-10
IL-13	Interleukin-13	Interleucina-13
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolissacáride ou endotoxina
PHA	Phytohemagglutinin	Fitohemaglutinina
NO	Nitric Oxide	Óxido nítrico

RESUMO

Úlceras de pressão (UP), também denominadas escaras de decúbito, são lesões na pele e em tecidos subjacentes causadas pelo aumento da pressão sobre proeminências ósseas. Além do processo inflamatório local, as úlceras de pressão provocam uma resposta sistêmica no organismo, denominada resposta de fase aguda (RFA). A cicatrização normal das UP resulta do balanço das atividades exercidas por citocinas reguladoras produzidos pelas células do sistema imune, e alterações da razão Th1/Th2 (linfócitos pró ou antiinflamatórios) poderiam determinar se uma UP irá cicatrizar ou cronificar-se. A vitamina C promove cicatrização que decorre tanto de sua ação antioxidante como da promoção da síntese de colágeno, além de suposta modulação de interleucinas. No entanto, pacientes com UP e RFA apresentam depleção dos níveis séricos de vitamina C. Dessa forma o objetivo deste estudo foi comparar o padrão de produção de citocinas pró (TNF- α , IFN- γ , IL-6) ou antiinflamatórias (IL-10, IL-13), bem como de outro mediador da resposta imune, o óxido nítrico, de pacientes com UP, antes e após a suplementação com ácido ascórbico. Foram estudados pacientes com UP, subnutridos, com síndrome de RFA e sob terapia nutricional oral ou enteral, alocados aleatoriamente para um Grupo Controle (n=7) ou Grupo Vitamina C (n=6), que recebeu, por via oral ou enteral, 1000mg de ácido ascórbico/dia. Foram realizados antropometria, história alimentar e exames laboratoriais, que incluíam parâmetros hematológicos (hemoglobina, leucócitos, linfócitos totais e VHS) e níveis séricos de proteínas totais, albumina, PCR, α 1-glicoproteína ácida, ferro, ferritina e transferrina. Os níveis séricos de vitamina C foram determinados por cromatografia líquida de alta pressão, e os níveis, *in vitro*, de TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13, por ELISA; e os níveis de NO, por reação colorimétrica de Griess. Os grupos Controle e Vitamina C estavam pareados, respectivamente, em relação à idade ($71,7 \pm 13,6$ vs. $65,3 \pm 24,9$ anos), proporção gênero masculino:feminino (3:4 vs. 4:2), presença de edema (71,4% vs. 83,3%)

e estágio da úlcera de pressão. Os níveis séricos de vitamina C (mg/dl), reduzidos no início, aumentaram gradativamente ao longo do estudo, tanto no grupo Controle (Dia 1: $0,38 \pm 0,18$; Dia 5: $0,65 \pm 0,35$; Dia 10: $0,69 \pm 0,25$; Dia 15: $0,75 \pm 0,27$) como no grupo Vitamina C (Dia 1: $0,37 \pm 0,33$; Dia 5: $0,77 \pm 0,29$; Dia 10: $0,73 \pm 0,31$; Dia 15: $1,01 \pm 0,33$), com maiores aumentos para o grupo Vitamina C. No 10º dia de estudo os leucócitos de pacientes do grupo vitamina C produziram menores quantidades de TNF- α ($97,3 \pm 177,2$ vs. $760,4 \pm 128,3$ pg/ml) e IL-6 ($103,4 \pm 80,7$ vs $739,2 \pm 327,5$ pg/ml) que o grupo controle. Embora os níveis de interleucinas não tenham modificado significativamente ao longo do estudo, observou-se aumento da produção de IL-6 (pós-estímulo com PHA) no grupo Controle do primeiro ($4179,1 \pm 2519,8$ pg/ml) para o décimo quinto dia ($10288,0 \pm 3634,5$ pg/ml) de estudo. Não se observaram mudanças no padrão de produção de IL-10, IL-13 e IFN- γ . O grupo suplementado apresentou redução progressiva dos níveis (mediana, em pg/ml) de NO tanto na estimulação com salina (Dia 1: 15,7; Dia 5: 14,4; Dia 10: 4,4; Dia 15: 4,4) como após adição de LPS (Dia 1: 16,8; Dia 5: 8,5; Dia 10: 3,5; Dia 15: 5,8) ou PHA (Dia 1: 16,8; Dia 5: 5,8; Dia 10: 4,4; Dia 15: 5,3). A suplementação oral ou enteral de 1g de vitamina C/dia para pacientes com UP associou-se à menor produção de citocinas pró-inflamatórias e de óxido nítrico, fato que pode estar ligado a sua ação antioxidante.

Palavras-chave: Úlcera de pressão. Resposta de fase aguda. Ácido ascórbico. Citocinas. Óxido nítrico.

ABSTRACT

Pressure sores (PS) are lesions on the skin and underlying tissues caused by increased pressure in areas of bone prominences. In addition to a local inflammatory process, PS also elicits a systemic response, the acute phase response (APR). PS normal healing depends on a balance between pro- and anti-inflammatory cytokines, which could be related to normal nutritional status or nutrient supplementation. Vitamin C supplementation is thought to promote PS healing caused by its increased collagen synthesis, antioxidant function, and a putative modulation of cytokine production. Notwithstanding, patients with PS and APR often have decreased serum vitamin C levels. Therefore, the aim of this study was to compare pro-inflammatory (TNF- α , IFN- γ , IL-6) or anti-inflammatory (IL-10, IL-13) cytokine production, as well as nitric oxide production of patients with PS before and after ascorbic acid supplementation. Malnourished PS patients submitted to oral or enteral nutritional therapy were randomly assigned to one of two groups: Control group (n=7) or Vitamin C group (n=6), which received 1000mg/day of ascorbic acid by oral or enteral route. Food intake recall questionnaire, anthropometry, and laboratory data, including serum levels of iron, ferritin, total protein, albumin, and C-reactive protein were assessed. Vitamin C serum levels were measured by High Performance Liquid Chromatography, and the *in vitro* levels of TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13 were performed by ELISA. NO levels were determined by Griess reaction. Control and Vitamin C groups were paired, respectively, relating to age (71.7 ± 13.6 vs. 65.3 ± 24.9 y), male:female gender proportion (3:4 vs. 4:3), edema presence (71.4% vs. 83.3%) and PS stage. Serum levels of vitamin C (mg/dl), which were below normal levels at the beginning of the study, increased gradually along the study in the Control (Day 1: 0.38 ± 0.18 , Day 5: 0.65 ± 0.35 ; Day 10: 0.69 ± 0.25 ; Day 15: 0.75 ± 0.27) as well as in Vitamin C group (Day 1: 0.37 ± 0.33 ; Day 5: 0.77 ± 0.29 ; Day 10: 0.73 ± 0.31 ; Day 15: $1.01 \pm$

0,33) with higher increase in the Vitamin C group. On the 10th day of the study, leucocytes obtained from Vitamin C group produced smaller quantities of TNF- α (97.3 ± 177.2 vs. 760.4 ± 128.3 pg/ml) and IL-6 (103.4 ± 80.7 vs. 739.2 ± 327.5 pg/ml) than Control group. Although interleukin levels have not significantly changed along the study, an increase in IL-6 production was observed (post stimulus with PHA) on Control group from the first (4179.1 ± 2519.8 pg/ml) to the 15th day of study ($10.288 \pm 3.634,5$ pg/ml). No patient showed changes in IL-10, IL-13 and IFN- γ production. Vitamin C supplemented patients showed progressive reduction of NO levels (medium in pg/ml) after stimulation with saline (Day 1: 15,7; Day 5: 14,4; Day 10: 4,4; Day 15: 4,4), and after LPS addition (Day 1: 16,8; Day 5: 8,5; Day 10: 3,5; Day 15: 5,8) or PHA (Day 1: 16,8; Day 5: 5,8; Day 10: 4,4; Day 15: 5,3). Oral or enteral supplementation of vitamin C (1g/day) for patients with PS was associated to decreased proinflammatory cytokines and nitric oxide production, which could be associated to healing promotion.

Key words: Pressure Sores. Acute phase response. Ascorbic Acid. Cytokines. Nitric Oxide.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	17
1.1. Patogênese das úlceras de pressão.....	22
1.2. A influência do estado nutricional na patogênese das UP.....	27
1.3. Vitamina C.....	28
1.4. Hipótese de estudo.....	30
2. Objetivos.....	30
2.1. Geral.....	30
2.2. Específicos.....	31
3. Pacientes e métodos.....	31
3.1. Grupos.....	31
3.2. Classificação das úlceras de pressão.....	32
3.3. Classificação do risco de desenvolvimento das UP.....	32
3.4. Critérios de exclusão.....	33
3.5. Protocolo de estudo.....	33
3.6. Recordatório alimentar de 24 horas.....	34
3.7. Coleta de sangue.....	35
3.8. Medidas laboratoriais.....	36
3.9. Determinação dos níveis séricos de ácido ascórbico.....	37
3.1.0. Estudo imunológico.....	37
3.1.0.1. Ensaio in vitro.....	38
3.1.0.2. Quantificação de citocinas (TNF α , IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13).....	39
3.1.1. Análise estatística.....	40
3.1.2. Elaboração das referências bibliográficas.....	41
4. Resultados.....	41
5. Discussão.....	54
6. Conclusões.....	62
7. Referências bibliográficas.....	63
8. Anexos.....	73

1. INTRODUÇÃO

Úlceras de pressão (UP), também denominadas escaras de decúbito são lesões na pele e em tecidos subjacentes causadas pelo aumento da pressão sobre proeminências ósseas, incluindo o sacro, ísquios, trocânteres, tornozelos, e calcâneos (NPUAP, 1989). Em relação à nomenclatura, as úlceras de pressão são conhecidas popularmente no Brasil como escaras de decúbito, além disso, podemos encontrar uma variedade de termos, incluindo lesão de acamados, feridas por pressão, úlceras dérmicas e úlceras de decúbito (ROCHA, 2003). No presente estudo optou-se pelo termo “úlceras de pressão”, designada pelo *NPUAP, National Pressure Ulcer Advisory Panel*, como a terminologia correta para estes ferimentos (ORLANDO, 1998). O termo úlcera de pressão é talvez o mais adequado porque explicita a pressão tecidual como o fator mais importante no desenvolvimento desses ferimentos (NPUAP, 1992).

As úlceras de pressão acometem entre 3-14% dos pacientes internados em hospitais gerais (ALLMAN et al., 1986), número que pode ser de até 25% em pessoas idosas internadas em asilos (ALLMAN, 1989; VOHRA & MCCOLLUM, 1994) ou de 66% em pacientes idosos internados nas enfermarias de ortopedia (ORLANDO, 1998). Assim, um estudo realizado na Holanda mostrou prevalência de úlceras de pressão em pessoas atendidas num hospital universitário (10,1%), em pessoas cuidadas em ambiente domiciliar (12,7%) e em asilos (83,6%), embora essa última porcentagem tenha parecido um tanto exagerado para os autores (BOURS et al, 1999).

Existem poucos estudos sobre incidência ou prevalência de úlceras de pressão em instituições de saúde no Brasil. ROGENSKI & SANTOS (2005) relataram que as úlceras de pressão ocorrem numa incidência de até 39,8% entre pacientes com risco para desenvolvimento dessa complicação durante a internação em diversas enfermarias do Hospital Universitário (HU-USP). Segundo THOMAS et al. (1996) a incidência

cumulativa para úlceras de pressão graves em pessoas idosas hospitalizadas por um evento agudo, em períodos superiores a oito semanas foi de 12,9%. Estes dados estão em acordo com trabalhos americanos que mostram que a incidência cumulativa de úlcera de pressão após três semanas de hospitalização para aqueles com um ou dois fatores de risco foi 11,4% e 39,6%, respectivamente (ALLMAN et al., 1995).

A presença de úlceras de pressão também aumenta o risco de morte; em nosso meio, CUNHA et al (2000) relataram prevalência de 11,3% úlceras de pressão (graus II, III, e IV) em indivíduos necropsiados no HE-UFTM, Uberaba-MG.

Macroscopicamente a úlceras de pressão podem ser classificadas em quatro estágios. No estágio I há eritema permanente (não-clareável) da pele e início de ulceração. No estágio II ocorre perda parcial da derme e epiderme, com presença de úlcera superficial vista como abrasão, bolha, ou cratera rasa na pele. Quando o estágio III é atingido ocorre perda total das camadas da pele e necrose do tecido subcutâneo, sendo que essa alteração pode estender-se até a fáscia subjacente. O estágio IV é o mais grave e caracteriza-se por perda total das camadas da pele com grande destruição de tecidos profundos, necrose muscular e comprometimento ocasional de ossos, tendões e cápsulas articulares (NPUAP, *National Pressure Ulcer Advisory Panel*, 1989). Uma classificação simplificada proposta pela *Agency for Health Care Policy and Research* (AHCPR) caracteriza a UP grau I como a presença de pele eritematosa, UP grau II na presença de bolhas ou escarificação na camada superficial da pele, UP grau III a que envolve o tecido subcutâneo, e UP grau IV a que se estende aos músculos ou ossos (AHCPR, 1992).

As úlceras de pressão estão entre as quatro afecções mais dispendiosas em termos de custos hospitalares, juntamente com o câncer, as doenças cardiovasculares e a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), chegando a 1% dos custos totais do cuidado à saúde em alguns países (HAALBOOM, 2000). A ocorrência de úlceras de pressão associa-

se com prolongamento do tempo de internação e dos custos hospitalares, em especial nos casos com infecções secundárias por microorganismos multirresistentes.

No Reino Unido, estima-se que as úlceras de pressão representem um gasto de 4% do orçamento anual do Sistema de Saúde, um valor entre 1,4 a 2,1 bilhões de libras esterlinas; a maioria deste montante é gasto com trabalho de enfermagem (BENNETT et al, 2004). Nos Estados Unidos, o custo do tratamento de cada pessoa com úlceras de pressão varia de \$4.000 a \$40.000, dependendo do estágio da úlcera (HIBBS, 1988), estimando-se um custo anual de \$ 3 bilhões com o tratamento desses pacientes (VOHRA & MCCOLLUM, 1994).

A prevenção é considerada mais barata que a cura e 95% de todas as úlceras de pressão podem ser prevenidas. A avaliação dos fatores de risco e a implementação de medidas profiláticas nesse grupo de pacientes podem reduzir os custos hospitalares em torno de 3% do gasto anual. Medidas de prevenção diminuem esses gastos em mais 5% (WATERLOW, 1988).

O fator de risco primário para o desenvolvimento de úlceras de pressão é a pressão elevada na pele entre uma proeminência óssea e a superfície externa, sendo os riscos secundários a fricção, a umidade, as forças de cisalhamento e a temperatura (LONGE, 1986). As UP ocorrem em maior frequência entre pacientes subnutridos, idosos, com pouca mobilidade no leito, e nos pacientes internados por longos períodos. Assim, 7,7% dos pacientes acamados ou restritos a cadeiras de rodas durante três semanas desenvolvem úlcera de pressão (ALLMAN, 1989; BOURDEL-MARCHASSON, 2000). As doenças de base associadas com as UP incluem o diabetes mellitus, a subnutrição aguda ou crônica, o trauma da coluna cervical, e estados demenciais avançados, além da presença de incontinência fecal e/ou urinária (ALLMAN et al, 1995).

Num estudo realizado na Paraíba, SILVA (1998) considerou fatores intrínsecos de risco para UP as doenças hematológicas (84,6%), alterações nutricionais (80, 8%), as alterações no turgor e elasticidade da pele (77,9%), o uso de medicamentos depressores do SNC (65,4%) e a idade maior ou igual a 60 anos (61,5%), além da mobilidade física parcialmente prejudicada (60,6%). Entre os denominados fatores extrínsecos incluiu a presença de forças de cisalhamento na pele (80,8%) e inadequações da roupa de cama (72,1%) e colchão (51,9%), além de má qualidade na mobilização do paciente (67,3%).

Úlceras de pressão podem indicar a falência sistêmica que acompanha os estágios terminais de muitas doenças. Nesses casos o conforto do paciente deve ser o objetivo principal da equipe de saúde (NPUAP, 1992), cabendo ao enfermeiro a identificação dos pacientes que estão em risco para o desenvolvimento destas lesões, e planejar estratégias que reduzam custos e otimizem a prevenção (BERGSTROM et al., 1987; WATERLOW, 1988). Entretanto, devido à insuficiência de infra-estrutura e de cuidadores em número adequado, muitos pacientes desenvolvem UP (ROWLAND, 1993).

Os principais componentes da profilaxia são identificação dos pacientes com potencial para desenvolvimento de UP e implementação de medidas que reduzam os efeitos adversos da pressão, fricção e descamação. Fatores como subnutrição, imobilidade, inatividade física, redução da sensibilidade corporal, incontinência fecal ou urinária aumentam a susceptibilidade a ulcerações por pressão e devem ser identificados à internação e reavaliados periodicamente (NPUAP, 1992). Inúmeras escalas de risco estão disponíveis na literatura, incluindo as escalas de Norton, Gosnell, Waterlow e Braden (ROCHA, 2003).

Por exemplo, a escala de Norton classifica os pacientes usando cinco fatores de risco graduados de um a quatro: 1) condição física; 2) estado mental; 3) atividade; 4) mobilidade; 5) incontinência. A pontuação varia de 5 a 20, sendo que os valores maiores

indicam menor risco (NORTON, 1989; THOMAS, 2001). GOLDSTONE et al. (1982) utilizando os escores da escala de Norton demonstrou que 48% dos pacientes com escore menor que 12 (doze) desenvolveram úlcera de pressão, comparado com apenas 5% daqueles com escore acima de 18 (dezoito). BOURDEL-MACHASSON (2000) usou a escala de Norton dividindo seus escores em três classes de risco: 5 a 10 indicando grande risco, 11 a 14 indicando risco moderado e 15 a 20 indicando nenhum risco.

GOSNELL (1973) adicionou o item nutrição aos critérios da escala de Norton, o que indica o reconhecimento da influência do estado nutricional na cicatrização das feridas. A escala de Waterlow baseia-se na escala de Norton e inclui a avaliação do índice de massa corporal, tipo de pele (saudável, fina, seca, edemaciada e outras), gênero, idade, medicação usada e fatores de risco especiais, que incluem a presença ou não de insuficiência cardíaca, anemia e história de tabagismo entre outros (WATERLOW, 1988; ROCHA, 2003). A escala de Braden, bastante usada nos EUA, avalia percepção sensitiva, exposição à umidade, atividade física, mobilidade, nutrição e forças de fricção. Cada item é classificado de um (menos favorável) a três ou quatro (mais favorável) para um escore total máximo de 23 (vinte e três). Um escore de 16 (dezesesseis) ou menos indica alto risco (BERGSTROM et al., 1987).

O tratamento inclui medidas de recuperação do estado nutricional e desbridamento mecânico, autolítico ou enzimático do tecido necrótico. O desbridamento autolítico é realizado por neutrófilos, macrófagos e enzimas contidos no fluído tecidual que se acumulam no local da ferida (GOODE & THOMAS, 1997). Enzimas que hidrolisam o material necrótico incluem a papaína, a collagenase, a tripsina, a fibrinolizina e a desoxirribonuclease, (EVANS et al., 1995). A sulfadiazina de prata e antibióticos tópicos como a bacitracina e a neomicina ajudam na reepitelização local, mas podem selecionar bactérias resistentes (WITKOWSKI & PARISH, 1982).

O tratamento mais efetivo consiste na redução da pressão na pele afetada (ORLANDO, 1998). Os pacientes que têm incontinência urinária e/ou fecal devem ser avaliados e causas reversíveis de incontinência devem ser tratadas, o que inclui a infecção do trato urinário, o uso de medicamentos e a glicosúria.

Complicações infecciosas das úlceras de pressão incluem infecção local, celulite, osteomielite, bacteremia e sepsis (BRYAN et al., 1983). O desenvolvimento de UP também se associa ao aumento da mortalidade (ALLMAN et al., 1986). Pacientes que desenvolvem uma nova úlcera de pressão dentro de 6 (seis) semanas após hospitalização têm probabilidade de morte três vezes maior que a dos pacientes que não desenvolveram uma úlcera de pressão (BERLOWITZ & WILKING, 1990). Em instituições de cuidados por longo tempo, o desenvolvimento de úlceras de pressão em 3 (três) meses entre pacientes recém-admitidos foi associado com uma taxa de mortalidade de 92%, comparada com uma taxa de mortalidade de 4% entre os residentes da instituição que não desenvolveram úlcera de pressão (BERGSTROM & BRADEN, 1992).

1.1. PATOGÊNESE DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO

A patogênese da úlcera de pressão é complexa e pelo menos dois fatores são considerados importantes nesse processo, a pressão direta nos tecidos e o efeito de forças de cisalhamento e fricção (WATERLOW, 1988; GRAFF et al., 2000; ARMSTRONG & BORTZ, 2001).

O aumento da pressão lesa inicialmente os tecidos mais profundos, incluindo músculos e gordura subcutânea, estendendo-se para a pele seguindo o compartimento vascular, do tecido distal para a superfície da pele (HOUWING et al., 2000). Sabe-se que a pressão no interior dos capilares proximais é de aproximadamente 35mmHg (GUYTON, 1984) e, de acordo com BRYANT (1992) e MAKLEBUST & SIEGGREEN (1996), a

pressão de fechamento capilar, necessária para o colapso do capilar, é de aproximadamente 32mmHg nas arteríolas e 12mmHg nas vênulas. Assim, uma pressão externa superior a esses limites poderá levar à restrição do fluxo sangüíneo, lesar os tecidos a jusante e causar úlceras de pressão. A oclusão pode ocorrer mesmo com menores níveis de pressão capilar, em casos de hipotensão arterial ou choque.

Segundo BRYANT (1992) baixa intensidade de pressão por um longo período de tempo pode causar uma lesão equivalente ao de uma alta intensidade de pressão por curto período de tempo. MAKLEBUST & SIEGGREEN (1996), demonstraram que pressões menores aplicadas por longo período de tempo são mais significantes na patogenia de úlceras de pressão que altas pressões aplicadas por curtos períodos de tempo. Apesar de conflitantes, esses dados indicam que tanto o tempo como a duração do aumento da pressão são importantes na patogenia das UP.

O cisalhamento tecidual ocorre quando o indivíduo desliza na superfície da cama ou cadeira, comprometendo a microcirculação, com posterior trombose venosa (ROCHA, 2003). A fricção causa a remoção do estrato córneo, iniciando a ulceração superficial quando as áreas são esfregadas na superfície da cama ou cadeira (BERGSTROM et al.1987; WATERLOW,1988; GRAFF et al.,2000).

Mudanças da pele associadas à idade podem aumentar o risco de desenvolvimento de úlceras de pressão. Mudanças morfológicas epidérmicas da pele que ocorrem durante o envelhecimento normal incluem camada epidérmica fina, redução do número de melanócitos e células de Langerhans, e diminuição da altura vertical com elevação da área de superfície dos queratinócitos e achatamento (alisamento) das junções dermoepidérmicas. Uma derme hipotrófica inclui diminuição do número de fibroblastos e células basais com uma rede de capilares papilar menos eficiente (GILCHRIST & MARTIN, 1983; VOHRA & MCCOLLUM, 1994).

A oclusão da microcirculação provoca edema e microtrombose das veias, resultando em interferência na oxigenação e nutrição dos tecidos envolvidos; o problema é exacerbado por acúmulo de eritrócitos, plaquetas e leucócitos, levando à formação de exsudato dentro dos tecidos e acúmulo de resíduos tóxicos do metabolismo que provocam anóxia tecidual e morte celular. Células basais são separadas da derme, enquanto as glândulas sudoríparas e folículos pilosos são destruídos. A necrose tecidual é também causada pela oclusão de vasos linfáticos (WATERLOW, 1988; BRYANT, 1992; MAKLEBUST & SIEGGREEN, 1996).

A isquemia e hipoxia celulares induzem a formação de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), moléculas com um ou mais elétrons não-pareados, que podem ampliar a lesão para áreas adjacentes ao foco de maior isquemia tecidual (BENDICH, 1990). Os radicais livres afetam estrutura e função de proteínas, carboidratos e lipídeos da célula e contribuem para a morte celular. Os radicais livres têm alta afinidade para moléculas com dupla ligação como os ácidos graxos insaturados, presentes nas membranas celulares.

A peroxidação dos lipídeos presentes nas membranas celulares gera produtos que incluem o malondialdeído, dienos conjugados e adutos de proteína-lipídeos. Embora sejam necessários para a plena capacidade bactericida de neutrófilos e macrófagos, os radicais livres também podem lesar as estruturas celulares, incluindo as células que participam do sistema imune, o que pode comprometer a resposta inflamatória e a posterior cicatrização (BENDICH, 1990).

O organismo possui mecanismos endógenos que contêm ou neutralizam os radicais livres, incluindo enzimas como a superóxido dismutase, que inativa o radical superóxido e a glutathione peroxidase, que ajuda a transformar peróxido de hidrogênio em água. Minerais como o zinco, o cobre, o ferro, o manganês e o selênio são constituintes dessas enzimas,

sendo essenciais para a defesa imune. O organismo também requer a ação de vitaminas como o ácido ascórbico (vitamina C) e o α -tocoferol (vitamina E), principais responsáveis pela proteção extracelular contra a lesão oxidativa (BENDICH, 1990).

No início da formação da úlcera de pressão, há aumento da permeabilidade capilar com acumulação de linfócitos e neutrófilos. Macrófagos aparecem no sítio da ferida 48 a 96 horas após estímulo inicial, fazendo o desbridamento necessário antes da ativação fibroblástica (ORLANDO, 1998).

Os macrófagos ativados aumentam sua expressão de $CD40^+$ e do receptor de TNF além de secretarem mais $TNF\alpha$. Esse estímulo autócrino age em sinergia com $IFN-\gamma$ secretado por células Th1 para aumentar a ação antimicrobiana do macrófago, em particular pela indução de potentes substâncias antimicrobianas, incluindo o óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (JANEWAY et al, 2001).

Macrófagos ativados produzem interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral-alfa ($TNF-\alpha$), que estão envolvidos na angiogênese. Linfócitos-T ativados também migram para o interior da ferida inflamatória, liberando interferon-gama ($IFN-\gamma$) e fator de crescimento e transformação beta ($TGF-\beta$), que também contribuem para angiogênese. Os produtos dos macrófagos secretores podem também influenciar nas atividades fibroblásticas, incluindo a quimiotaxia, a proliferação e a síntese de colágeno (ORLANDO, 1998).

Quando há contaminação local por microorganismos a ativação do sistema imune é realizada de forma a conter o agente agressor e reparar as células e tecidos lesados. Numa etapa inicial e inespecífica desse processo há grande afluxo de células mononucleares de defesa (leucócitos e macrófagos) que fagocitam debris celulares e destroem os microorganismos invasores. Em fase mais tardia, os macrófagos secretam citocinas que estimulam a angiogênese e o afluxo e proliferação de fibroblastos, responsáveis pela

síntese do principal componente da matriz extracelular, o colágeno. A cicatrização normal depende ainda da contração, epitelização e remodelação das feridas (NWOMEH et al, 1998).

A cicatrização normal resulta do balanço das atividades exercidas por citocinas reguladoras produzidos pelas células do sistema imune. A produção de IFN- γ , uma citocina típica de células Th1, apresenta uma acentuada atividade antifibrótica, enquanto que a IL-13, uma citocina Th2, apresenta ação pró-fibrótica (JANEWAY et al, 2001); alterações da razão Th1/Th2 poderiam determinar se uma escara de decúbito irá cicatrizar-se ou cronificar.

Dessa forma, a cicatrização anormal das úlceras de pressão pode resultar de alterações em um ou mais dos seguintes passos do processo inflamatório: (1) ausência de sinais moleculares ou celulares eficientes, (2) disfunção imune, (3) acúmulo anormal de líquidos no local, (4) persistência local de microorganismos e (5) carência de nutrientes como proteínas, zinco e vitamina C (NWOMEH et al, 1998).

Além do processo inflamatório local, as úlceras de pressão provocam uma resposta sistêmica no organismo (CORDEIRO et al, 2005), denominada resposta de fase aguda (RFA), que se manifesta clinicamente por (1) febre, (2) leucocitose com presença de leucócitos imaturos na circulação, (3) anemia progressiva, com redução dos níveis séricos de ferro e transferrina, bem como aumento da ferritina circulante, (4) aumento da velocidade de hemossedimentação e de proteínas de fase aguda, incluindo a proteína C reativa, e o componente C3 do complemento, e (5) redução dos níveis séricos de albumina.

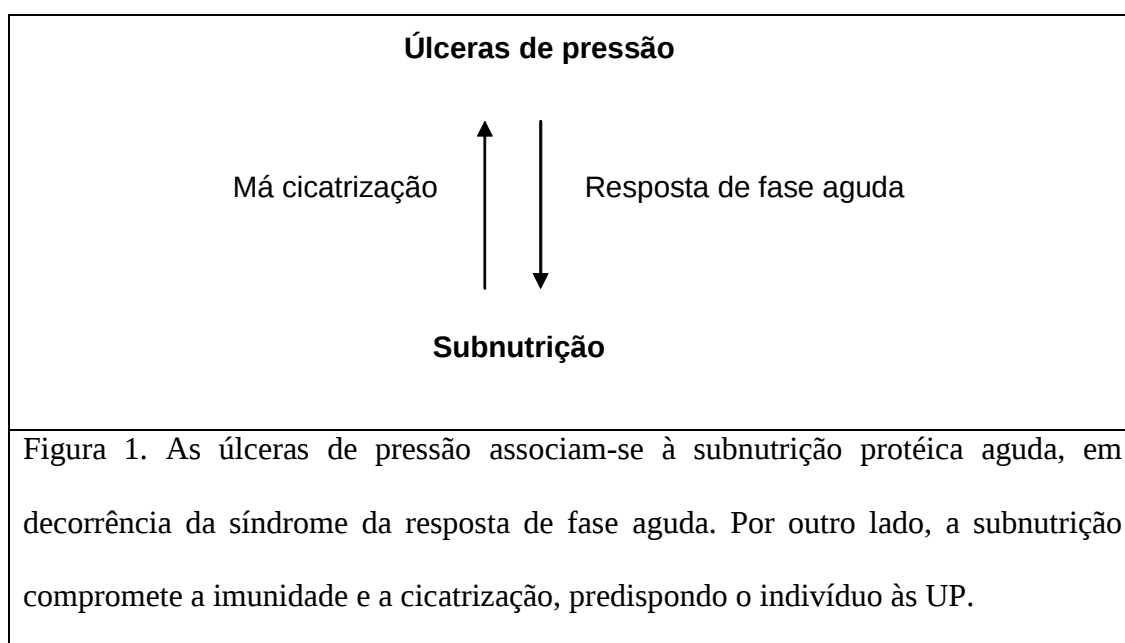
Além da anorexia, com diminuição da ingestão de alimentos, as interleucinas como IL-1, IL-6 e TNF- α incrementam o gasto energético e a proteólise muscular, agravando eventual subnutrição já existente (BONNEFOY et al, 1995). É digno de nota que muitos pacientes com úlcera de pressão apresentam edema hipoalbuminêmico decorrente da

retenção corporal de sódio e água. A presença do edema hipoalbuminêmico associado à síndrome da resposta de fase aguda permite o diagnóstico de subnutrição protéica aguda, do tipo *kwashiorkor* (CUNHA et al, 1998).

A hipoalbuminemia é um fator de risco importante para o desenvolvimento de escaras de decúbito (ALLMAN, 1989), aumentando três vezes a cada diminuição de um grama de albumina sérica. A hipoalbuminemia pode contribuir para a ruptura da pele ao causar edema intersticial e prejudicar a respiração tecidual; explicação alternativa decorreria da subnutrição ou síndrome de reação de fase aguda associada, situação em que a cicatrização tecidual encontra-se prejudicada devido a alterações da síntese protéica.

1.2. A INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL NA PATOGÊNESE DAS UP

É digno de nota que pessoas com subnutrição crônica (marasmo) têm maior predisposição ao desenvolvimento de úlceras de pressão (BRESLOW, 1991); com frequência esses pacientes apresentam anemia, hipoalbuminemia e níveis séricos diminuídos de ácido ascórbico e zinco.



Assim, pessoas subnutridas têm maior risco de desenvolvimento de UP; a ocorrência de UP pode acarretar subnutrição devido a mudanças metabólicas associadas à resposta de fase aguda.

A manutenção da integridade dos tecidos depende de um estado nutricional adequado. Sinais e sintomas de subnutrição crônica (marasmo) são comuns em pacientes com UP, incluindo redução da prega cutânea tricipital, do peso corporal e do índice de massa corporal (MAKLEBUST & MAGNAN, 1994; BRESLOW & BERGSTROM, 1994).

Os níveis séricos de albumina também têm relação com a presença de UP, sendo menores nos pacientes com feridas infectadas (THOMAS, 2001). Nesses pacientes, a hipoalbuminemia associa-se com maior morbidade e mortalidade (BRESLOW, 1991; BRESLOW *et al.*, 1993; BRESLOW, 1994; BRESLOW & BERGSTROM, 1994; STRAUSS & MARGOLIS, 1996).

1.3. VITAMINA C

A vitamina C é uma substância orgânica solúvel em água, essencial para os seres humanos e um número relativamente pequeno de mamíferos, que não têm a gulonolactona-oxidase (EC 1.1.3.8), enzima necessária para a síntese de ácido ascórbico a partir da glicose (GRAY & WHITNEY, 2003).

O ácido ascórbico exerce funções 1) na formação do colágeno, 2) na síntese de carnitina, 3) na absorção de minerais como o ferro e o cálcio, 4) na síntese de neurotransmissores, incluindo a serotonina e noradrenalina, 5) na ativação de hormônios como a gastrina, a calcitonina e a oxitona. Além disso, tem ação antioxidante, ao doar elétrons ao radical hidroxila e aos superóxidos, neutralizando a reatividade dessas

substâncias (BENDICH, 1990). No entanto o ácido ascórbico é mais bem descrito como um agente redox, isto é, possui atividade anti e pró-oxidante (POULSEN et al, 1998).

O ácido ascórbico é necessário na hidroxilação da prolina e lisina, passos necessários para a produção do colágeno e processo de cicatrização (RINGSDORF & CHERASKIN, 1982; TAYLOR et al.,1974; GOODE et al.,1992; AYELLO et al., 1999; BOURDEL – MACHASSON et al., 2000; GRAY & WHITNEY, 2003). O ácido ascórbico influencia na quimiotaxia dos neutrófilos, proliferação de linfócitos e bioatividade das células *natural killer*, além de influenciar moduladores do sistema imune, incluindo histamina e prostaglandinas (GRAY & WHITNEY, 2003). Os níveis séricos de vitamina C diminuem na resposta de fase aguda associada às úlceras de pressão (CORDEIRO et al., 2005), sendo necessários estudos para verificar se nessa circunstância a reposição dessa vitamina é capaz de modificar o padrão de produção de interleucinas que favoreça a cicatrização.

Durante o estresse agudo, ocorre depleção de substâncias antioxidantes, incluindo o ácido ascórbico. A depleção dos níveis séricos de vitamina C observada em pacientes críticos (SCHORAH et al., 1996) também tem sido relacionada à etiologia das úlceras de pressão (GOODE et al.,1992).

Em pacientes críticos, baixos níveis séricos de vitamina C podem decorrer de ingestão deficiente (SCHORAH et al., 1996). Pacientes que desenvolveram úlcera de pressão (estágio I) consumiram menos vitamina C do que os pacientes que não desenvolveram úlcera (BERGSTROM & BRADEN, 1992).

Estudos clínicos têm sugerido que a suplementação de vitamina C pode melhorar a cicatrização das úlceras de pressão (BRESLOW, 1991). Num estudo prospectivo placebo-controlado, casualizado, duplo-cego, observou-se redução de 84% na área de superfície da úlcera de pressão dos pacientes suplementados com 500 mg de ácido ascórbico por via

oral, duas vezes ao dia por um mês, comparada com redução de 43% no grupo placebo (TAYLOR et al., 1974).

É sabido que os níveis séricos de ácido ascórbico diminuem durante processos inflamatórios ou infecciosos agudos (GALLOWAY et al., 2000). Em um estudo de corte transversal de 122 pacientes com fibrose cística, a concentração plasmática de vitamina C foi inversamente correlacionada com contagem de leucócitos, e dos níveis séricos de α_1 -glicoproteína ácida e IL-6, todos marcadores do processo inflamatório (WINKLEHOFER-ROOB et al., 1997). Em outro estudo observou-se correlação negativa entre os níveis séricos de fibrinogênio (uma proteína de fase aguda) e concentração de ácido ascórbico (KHAW & WOODHOUSE, 1995). Em pacientes críticos, os níveis médios da concentração plasmática de vitamina C corresponderam a apenas 75% dos níveis normais de controles saudáveis e associa-se à maior gravidade da doença (SCHORAH et al., 1996).

1.4. HIPÓTESE DE ESTUDO

A hipótese deste estudo parte da premissa de que a vitamina C afeta a produção de citocinas em pacientes com úlcera de pressão. Também seriam esperadas alterações nos níveis de óxido nítrico, composto que tem importante papel na modulação da resposta imune, em especial através da regulação da síntese de citocinas (LIEW, 1995).

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL:

O objetivo deste estudo é verificar o efeito da suplementação com ácido ascórbico sobre a produção “in vitro” de óxido nítrico e citocinas por leucócitos de pacientes portadores de úlceras de pressão.

2.2. ESPECÍFICOS:

1. Quantificar e comparar o efeito da suplementação de vitamina C sobre a produção “in vitro” de citocinas pró (TNF- α , IFN- γ e IL-6) e antiinflamatórias (IL-10 e IL-13) por leucócitos de indivíduos portadores de úlcera de pressão, estimulados com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) e fitohemaglutinina (PHA).
2. Quantificar e comparar o efeito da suplementação de vitamina C sobre a produção “in vitro” de óxido nítrico (NO) por leucócitos de indivíduos portadores de úlcera de pressão, estimulados com LPS e PHA.

3. PACIENTES E MÉTODOS

O estudo, prospectivo foi realizado em treze pacientes adultos (idade maior que 18 anos) com Úlceras de Pressão, recrutados em seu domicílio com o auxílio dos agentes comunitários de saúde (ACSs) e dos enfermeiros das equipes do Programa de Saúde da Família (PSF) de Uberaba-MG.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP-UFTM), e os pacientes portadores de úlcera de pressão ou seus responsáveis legais assinaram um termo de consentimento concordando em participar do estudo.

3.1. GRUPOS

Os pacientes incluídos na pesquisa foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos, um grupo controle e um grupo experimental, pareados quanto à idade, ao gênero, às condições sócio-econômicas e os diagnósticos clínicos. Sendo que cada grupo seguiu os seguintes critérios:

- Grupo Controle (n=7), constituído de pacientes com úlcera de pressão que receberam tratamento domiciliar padrão das escaras, que incluiu desbridamento

mecânico, antibióticos, curativos, mudança de decúbito e dieta enteral padrão ou suplemento alimentar oral. A dieta enteral, administrada para 4 pacientes, apresentava a seguinte composição: calorias = 1440kcal, proteínas = 51,6g, vitamina C = 240mg. O suplemento alimentar, usado para complementar a alimentação por via oral dos demais pacientes, continha calorias = 760kcal, proteínas = 27,5g e vitamina C = 75mg.

- Grupo vitamina C (n=6), constituído de pacientes que receberam o mesmo tratamento do grupo controle, incluindo quatro pacientes que receberam dieta enteral e dois que receberam suplemento alimentar. Esse grupo foi também suplementado com ácido ascórbico numa dosagem de 1000mg/dia, por via oral ou enteral.

3.2. CLASSIFICAÇÃO DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO

As úlceras de pressão foram diagnosticadas pela presença de úlceras em locais de proeminências ósseas que estão submetidas à pressão (região maleolar, sacral, trocantérica, sub-escapular e calcânea) e foram classificadas nos seguintes estágios: (I) Eritema localizado, irregular, (II) lesão superficial na derme como bolhas e abrasões, (III) com ruptura da pele expondo subcutâneo e com bordas definidas e (IV) em que as lesões expõem músculo ou osso (ECKMAN, 1989).

3.3. CLASSIFICAÇÃO DO RISCO DE DESENVOLVIMENTO DAS UP

O risco para desenvolvimento de úlceras de pressão foi quantificado utilizando a Escala de Norton, sendo adotado valores de 5 a 10 como indicadores de grande risco, valores de 11 a 14 como risco moderado e de 15 a 20 nenhum risco para desenvolvimento de úlceras de pressão (NORTON, 1989).

3.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo pacientes com diarreia e/ou vômitos, osteomielite subjacente, insuficiência renal crônica, insuficiência cardíaca congestiva, hipoalbuminemia atribuída à insuficiência hepática ou doenças glomerulares, trauma recente de medula espinhal e pacientes em uso prévio de corticosteróides sistêmicos ou suplementação de vitamina C e/ou vitamina E.

3.5. PROTOCOLO DE ESTUDO

Os pacientes foram recrutados para o estudo dentro de 24h horas após sua identificação no domicílio. A avaliação inicial foi repetida depois de 5, 10 e 15 dias. Além da história, exames físicos e laboratoriais de rotina, foram realizados exames específicos para o estudo, incluindo antropometria e coleta de sangue para dosagens bioquímicas, de citocinas e óxido nítrico.

A avaliação antropométrica não incluiu a determinação de peso e altura, já que as condições clínicas destes pacientes dificilmente permitem antropometria completa; além disso, com frequência esses pacientes têm edema, o que dificulta a interpretação do peso corporal. A circunferência do braço (CB) foi medida no ponto médio entre o acrômio e o olécrano do braço não-dominante, com uma fita de fibra de vidro inextensível com graduação de 0,1 mm. A prega cutânea tricipital (PCT) foi medida, em triplicata, na parte posterior da CB com o auxílio de um plicômetro Lange Skinfold Caliper®, com pressão uniforme de 0,1 g/mm. O valor da PCT é dado pela média das três medidas (HEYMSFIELD et al, 1994). A partir da CB e PCT foi calculada a CMB, a qual reflete a quantidade de massa magra corporal, sendo calculada por meio da seguinte equação: $CMB (cm) = CB - (3,1416 \times PCT)$

Onde:

CMB = Circunferência muscular do braço (cm)

CB = Circunferência do braço (cm)

PCT = Prega cutânea tricipital (mm)

Foram adotados como padrão de referência para a CB, PCT e CMB os critérios e classificação estabelecidos por FRISANCHO, 1984.

3.6. RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

O recordatório alimentar de 24 consiste na obtenção de informações sobre o consumo de alimentos, sólidos ou líquidos, no dia anterior ou nas 24 horas anteriores à entrevista, e inclui a descrição dos tipos e quantidades dos alimentos ingeridos.

Para maior padronização da entrevista e obtenção dos dados, utilizou-se um formulário impresso contendo quatro colunas, sendo a primeira reservada para o registro de até seis refeições diárias (incluindo café da manhã, colação, almoço, lanche da tarde, jantar e ceia noturna), a segunda coluna reservada para anotações dos tipos de alimentos ingeridos em cada refeição. Na terceira coluna eram anotadas as quantidades de cada alimento ingerido de acordo com medidas caseiras e na quarta coluna era registrada a quantidade do alimento ingerida em gramas, cujo valor foi obtido por meio da conversão das medidas caseiras em gramas (Anexo 4).

A entrevistadora usou como material de apóio um mostruário contendo recipientes comuns, incluindo colheres, conchas, copos, escumadeiras, pratos e xícaras, com peso e/ou volume previamente avaliados, para diminuir erros na determinação das porções ingeridas pelo paciente (FEDIUK, 2000).

Os dados obtidos foram analisados com o auxílio de computador, utilizando-se de um software adequado para avaliação de ingestão nutricional da população brasileira (Calculadora Nutricional® v. 1.5.2.8), sendo registrado a quantidade ingerida de energia, proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais.

O recordatório alimentar de 24h é baseado na suposição de que a ingestão alimentar descrita no dia anterior é típica do padrão de ingestão alimentar diária do indivíduo e, apesar dos erros metodológicos potenciais (DOOD et al., 2006; FEDIUK, 2000), ainda é o método mais usado em estudos epidemiológicos (BUZZARD, 1998).

3.7. COLETA DE SANGUE

Amostras de sangue foram coletadas de todos os pacientes, no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo, entre o período das 8:00 às 9:00 h da manhã, após jejum noturno de 12 horas. Quando ocorreu impossibilidade na punção venosa periférica foi feito uma coleta de sangue através de punção arterial. Foi coletado 25ml de sangue com agulhas 21G ou 22G (PrecisionGlide™ - Becton Dickinson Vacutainer Systems) ou scalp 21G ou 23G (Safety - Lok™ - Becton Dickinson Vacutainer Systems) descartáveis, para sistema de coleta a vácuo. O sangue foi armazenado em tubos de vidro estéreis de 5ml (Becton Dickinson Vacutainer™ - Becton Dickinson Vacutainer Systems), com heparina sódica (plasma), EDTA (plasma), gel SST™ (soro) e sem adjuvantes (soro), sendo processado em seguida. O plasma e soro foram separados do sangue total por centrifugação, acondicionados em tubos plásticos de 1,5ml estéril (Eppendorf – Alemanha) e estocados a -70º C até a análise laboratorial.

3.8. MEDIDAS LABORATORIAIS

As dosagens laboratoriais foram utilizadas para a avaliação do estado nutricional, do processo inflamatório e do estado imunológico dos pacientes. No soro, foram realizadas as dosagens de proteínas totais e albumina, ferro, capacidade total de ligação de ferro (CTLF), ferritina, transferrina, proteína C reativa (PCR), e α 1-glicoproteína ácida, bem como o ácido ascórbico.

Óxido nítrico, fator de necrose tumoral alfa (TNF α), IL-6, IL-10, IL-13 e interferon gama (IFN- γ), foram dosados no plasma diluído 1:4 em solução salina estéril (Soro Fisiológico 0,9%), sem estímulo e estimulado com lipopolissacáride de membrana de bactérias (LPS) e fitoemaglutinina (PHA). O sangue total foi utilizado nas dosagens de hemoglobina (Hb), leucócitos e linfócitos.

As dosagens de proteínas totais, albumina, ferro sérico, transferrina, ferritina, leucócitos, PCR e α 1-glicoproteína ácida foram realizadas segundo métodos padronizados pelo Laboratório de Bioquímica da UFTM-HE. Todas as dosagens foram realizadas por meio de um *Automatic Chemical Analyser*, modelo Cobas Integra® (Roche Diagnostic Systems, Inc-Branchburg, NJ), enquanto que a dosagem de hemoglobina e leucócitos foram realizadas no aparelho hematológico Coulter®P-890, juntamente com a contagem diferencial de linfócitos que foi conferida em lâminas.

Os níveis séricos da PCR foram analisados por meio de turbidimetria, utilizando-se kits comercial da marca Cobas®. Os ensaios foram realizados segundo a orientação do fabricante e a leitura realizada em sistema automatizado Cobas Integra®.

3.9. DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDO ASCÓRBICO

A determinação do ácido ascórbico (vitamina C) sérico foi realizada no Laboratório de Nutrição do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina-USP-Ribeirão Preto.

O ácido ascórbico sérico foi determinado por meio de adaptação do método descrito por ROSE & BODE (1995), com detecção UV, consistindo em modificação de fase móvel. Uma quantidade de 0,5 ml de ácido metafosfórico (5%), gelado foi adicionado à mesma

quantidade de plasma, deixando-se em seguida na geladeira por 10 minutos. Após centrifugação refrigerada por 10 minutos, o sobrenadante foi retirado para separação em HPLC (High-performance liquid chromatography), em coluna ODS2 (Spherisorb, 5 μ). Utilizando o ácido metafosfórico (2 g/l; pH=2,5) como fase móvel, sob fluxo de 1 ml/min. e detecção UV (254nm). Os padrões também foram preparados em ácido metafosfórico (5%), sendo os cálculos realizados por meio de um padrão externo de ácido ascórbico.

3.1.0. ESTUDO IMUNOLÓGICO

A quantificação do óxido nítrico (NO) presente no sobrenadante de cultura de leucócitos de sangue total (plasma diluído 1:4 em salina) foi baseada na Reação Colorimétrica de Griess, em que a concentração de NO foi avaliada indiretamente após redução enzimática do nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) pela enzima nitrato redutase. Em cada poço, foi adicionado 50 μ l da amostra teste e 50 μ l da solução de redução, deixando a placa incubada em estufa a 37°C por 18h (“over night”), ao abrigo da luz. Após o período de incubação foi adicionado 100 μ l de reagente de Griess em cada poço, deixando a placa por 10 minutos, em temperatura ambiente e, a seguir, determinou-se a absorbância (DO 540 nm), usando um leitor automático de micro-placas (Bio-Rad – Model 3550). Os resultados, expressos em μ M foram determinados pela extrapolação para uma curva padrão realizada com nitrato de sódio (NaNO_2 - SIGMA) em concentrações de 400 a 6,25 μ M.

Reagente de Griess: no momento do uso foi misturada uma parte de diamina di-hidroclorido naftaleno (NEED) a 0.1% (SIGMA) em água bidestilada com uma parte de sulfanilamida a 1% (SIGMA) em H_3PO_4 a 5% (Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ) em água bidestilada. A seguir, a solução foi deaerada em bomba de vácuo.

Solução de redução: a solução de redução foi preparada misturando-se: 1250 μ l de NADPH (5 mg/ml em água, estocado à -20°C) (SIGMA), 1250 μ l de tampão KH_2PO_4

(0,5M, pH 7,5, estocado a 4°C) (SIGMA), 125 µl da enzima nitrato redutase (1U/100µl, estocada -70°C) (SIGMA) e 2375 µl de água deionizada (MILLI-Q, Millipore, USA) .

3.1.0.1. ENSAIO IN VITRO

Estimulação *ex vivo* de sangue total: do sangue coletado com heparina separou-se 2 ml para o ensaio. Pipetou-se 250 µl de sangue total juntamente com 750 µl de solução salina (soro fisiológico 0,9%) em tubo de poliestireno de fundo redondo, estéril, com capacidade de 5ml (12X75mm - FALCON®). Nos tubos controles foi acrescentado 10µl de solução salina estéril (Soro Fisiológico 0,9%). Nos demais tubos foram adicionados como estímulos para produção de citocinas, 10 µl de LPS (1mg/ml) ou 10 µl de PHA (1mg/ml), seguindo-se de incubação em estufa a 37°C/5% de CO₂, por 4h e 24h, respectivamente. Transcorrido os períodos de incubação, os tubos foram centrifugados a 16,1G por 6 minutos e, então coletados 750 µl do sobrenadante da cultura (plasma em soluções salinas com e sem estímulos) por cada tubo. Os sobrenadantes obtidos foram armazenados em criotubos de 1,25 ml (NALGENE® - SARSTED) e congelados a -70° C para posterior análise de citocinas (TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-10 e IL-13) através do ensaio imunoenzimático (ELISA- Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay).

3.1.0.2. QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS (TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-10, IL-13)

As citocinas presentes nas amostras foram dosadas por ELISA, utilizando-se pares de anticorpos monoclonais comercialmente disponíveis. Foram utilizadas placas de 96 poços de fundo chato, sensibilizadas com os anticorpos monoclonais (anticorpos primários ou de captura) específicos para a captura da citocina que foi quantificada. Utilizou-se para cada placa 20µl do anticorpo primário diluído em 5ml de solução tampão carbonato PH 9,4 (Solução de “COATING”), colocando em cada poço da placa 50µl da solução total diluída. Após o preenchimento, as placas foram cobertas com parafilm para evitar a evaporação do

líquido e foram deixadas “over night” (18h) em refrigerador a 4°C para completar a etapa de sensibilização. Depois as placas foram lavadas quatro vezes com solução PBS-TWEEN20 (1 litro de PBS para 500µl de TWEEN20 – Polyoxyethylensorbitan Monolaurate SIGMA), utilizando lavador de microplacas (BIO - RAD). O bloqueio dos sítios de ligação inespecíficos em cada poço das placas foi feito com 200µl de PBS(1X)-BSA(2%) e as placas foram novamente cobertas com parafilm e deixadas a temperatura ambiente por 4h. Após esse período as placas foram lavadas quatro vezes conforme procedimento já descrito.

As amostras foram diluídas 1:2 em PBS-BSA(1%) (50µl das amostras dos pacientes em 50µl de PBS-BSA(1%) por poço) e quantidades conhecidas de cada citocina recombinante (rh TNF- α , rh IFN- γ , rh IL-6, rh IL-10 e rh-IL-13) foram diluídas em água destilada e deionizada para curva padrão que começou em 1000pg/ml para todas as citocinas dosadas. As placas foram novamente colocadas “over night” no refrigerador a 4° C. Após esse período as placas foram lavadas por quatro vezes com PBS-TWEEN20(PBS-T) e a seguir foram adicionados 80µl/poço de um anticorpo monoclonal anti-citocina (anticorpo de detecção) marcado com biotina. As placas foram incubadas por 2 horas em estufa a 37° C e novamente lavadas por quatro vezes com PBS-T. Após esta etapa, foram adicionados 70µl/poço de streptoavidina conjugada à fosfatase alcalina diluída 1:2000 em PBS-BSA1% (25µl de estreptoavidina conjugada com fosfatase alcalina para 50ml de PBS-BSA1%). As placas foram incubadas novamente por duas horas em estufa a 37° C e lavadas por quatro vezes com PBS-T, quando então foram adicionados 100 µl/poço da solução de substrato PNPP (p-nitrofenilfosfato) utilizando kit de comprimidos SIGMA FASTTM (foram diluídos um comprimido de tampão em 20ml de água ultrapura e a seguir um comprimido (20mg) de PNPP nessa solução tampão). As placas foram cobertas com

papel laminado para proteção contra a luz e mantidas à temperatura ambiente até a formação de cor, sendo então realizada a leitura das placas.

Os resultados foram obtidos por diferença de absorbâncias (Abs405 e Abs490) medidas em um leitor automático de ELISA (BIO-RAD Model3550). A concentração de citocinas nas amostras foi determinada em pg/ml por meio da análise de regressão com as absorbâncias obtidas em uma curva-padrão da respectiva citocina recombinante humana realizada simultaneamente.

3.1.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis numéricas contínuas com distribuição normal foram expressas como média $\pm$ desvio padrão; nesse caso, as diferenças entre os grupos foram comparadas inicialmente por análise de variância, com a utilização do teste “t” de Student com a correção de Bonferroni. As variáveis numéricas de distribuição não-homogênea foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis ou de Mann-Whitney e apresentadas em mediana, valores mínimo e máximo. As proporções foram comparadas pelo teste exato de Fisher ou do χ^2 . Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$. Foram realizadas correlações “post-hoc”, sendo utilizada Correlação linear de Pearson para dados de distribuição normal e Correlação de Spearman para dados com distribuição não normal.

3.1.2. ELABORAÇÃO DAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Foram elaboradas seguindo o estilo dos Requisitos Uniformes para Manuscritos submetidos a Periódicos Biomédicos. Esse estilo é conhecido como Estilo de Vancouver, elaborado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (International Committee of Medical Journal Editors – ICMJE), adaptado pela United States - National Library of Medicine (US-NLM) – National Institutes of Health (SAVI & MACHADO, 2006).

4. RESULTADOS

Foram estudados treze pacientes, estando o grupo Controle (n=7) pareado com o grupo que recebeu vitamina C (n=6), respectivamente, em relação à idade ($71,7 \pm 13,6$ vs. $65,3 \pm 24,9$ anos), gênero masculino:feminino (3:4 vs. 4:2) e classificação quanto ao risco ($10 \pm 3,6$ vs. $9,2 \pm 1,0$), segundo a escala de Norton e estágio da úlcera de pressão (grau III; 4 vs. 5; grau IV: 3 vs.1), além da presença de edema (71,4% vs. 83,3%).

Os grupos também estavam pareados em relação aos dados de antropometria obtidos no início e ao final do estudo (Tabela 1).

Tabela 1: Dados de antropometria obtidos nos grupos Controle ou suplementados com vitamina C, no início do estudo e após 15 dias.

	Controle (n=7)		Vitamina C (n=6)	
	Início	Final	Início	Final
Circunferência do braço (cm)	$27,6 \pm 6,6$	$27,9 \pm 5,9$	$24,8 \pm 6,2$	$23,4 \pm 5,5$
Prega cutânea tricipital (mm)	$10,7 \pm 5,7$	$11,4 \pm 5,1$	$7,8 \pm 6,8$	$7,5 \pm 6,9$
Circunferência muscular do braço (cm)	$24,2 \pm 5,1$	$24,3 \pm 4,3$	$21,4 \pm 6,0$	$21,1 \pm 5,1$

Não houve diferença significativa entre os grupos.

Os pacientes ingeriram quantidades similares de alimentos (ou receberam dieta enteral) durante o período de estudo, como se pode observar quanto à ingestão diária de energia, proteínas e vitamina C nos dias 1, 5, 10 e 15 (Tabela 2).

Tabela 2: Ingestão diária de energia (Kcal), proteínas (g) e vitamina C (mg) de pacientes dos grupos Controle e Vitamina C, relacionados aos períodos de estudo.

	Controle (n=7)	Vitamina C (n=6)
Energia (kcal)		
Dia 1	1355,5 ± 447,5	1550,6 ± 600,9
Dia 5	1583,6 ± 340,2	1283,4 ± 634,8
Dia 10	1341,1 ± 515,9	1409,8 ± 593,2
Dia 15	1355,8 ± 439,1	1172,0 ± 783,8
Proteínas (g)		
Dia 1	54,3 ± 11,6	66,6 ± 34,3
Dia 5	65,2 ± 28,1	53,5 ± 30,7
Dia 10	52,5 ± 22,8	58,2 ± 28,4
Dia 15	52,7 ± 15,5	49,8 ± 36,1
Vitamina C (mg)		
Dia 1	145,5 ± 110,1	232,7 ± 149,4
Dia 5	196,9 ± 98,5	115,8 ± 93,6
Dia 10	165,5 ± 130,8	153,8 ± 98,6
Dia 15	146,3 ± 136,1	106,4 ± 103,8

Não houve diferença significativa entre os grupos

Em relação à avaliação bioquímica, os grupos mostraram-se pareados quanto aos níveis séricos de proteínas totais, albumina, proteína C reativa, α -1 glicoproteína ácida, ferro, ferritina e transferrina; exceto pelo aumento dos níveis séricos de α 1 glicoproteína ácida no grupo controle, não se observaram diferenças significativas desses parâmetros com o passar dos dias (Tabela 3).

Tabela 3: Indicadores laboratoriais* da presença de resposta de fase aguda nos pacientes Controle e Vitamina C, relacionados aos períodos de estudo.

	Controle (n=7)	Vitamina C (n=6)
Proteínas totais (g/dl)		
Dia 1	5,6 ± 1,3	6,1 ± 0,7
Dia 5	6,4 ± 1,2	6,1 ± 0,5
Dia 10	6,7 ± 1,3	6,3 ± 0,6
Dia 15	6,5 ± 1,1	6,1 ± 0,6
Albumina (mg/dl)		
Dia 1	2,5 ± 0,7	2,4 ± 0,4
Dia 5	2,8 ± 0,7	2,4 ± 0,7
Dia 10	2,9 ± 0,6	2,5 ± 0,8
Dia 15	2,8 ± 0,4	2,3 ± 0,7
Proteína C reativa (mg/dl)		
Dia 1	65,74 ± 63,94	123,4 ± 90,1
Dia 5	71,72 ± 63,19	117,2 ± 114,2
Dia 10	141,28 ± 112,88	115,9 ± 87,8
Dia 15	100,80 ± 82,09	108,3 ± 105,5
α1-glicoproteína ácida (g/l)		
Dia 1	1,8 ± 0,4 ^{a b}	2,5 ± 0,8
Dia 5	1,9 ± 0,5	2,4 ± 0,9
Dia 10	2,3 ± 0,2 ^a	2,4 ± 0,8
Dia 15	2,3 ± 0,3 ^b	2,2 ± 0,8
Ferro (µg/dl)		
Dia 1	34,9 ± 17,5	25,7 ± 17,3
Dia 5	25,2 ± 14,5	44,6 ± 36,7
Dia 10	23,8 ± 12,9	42,4 ± 26,6
Dia 15	23,0 ± 10,6	35,2 ± 41,6
Ferritina (ng/ml)		
Dia 1	445,7 ± 350,0	781,2 ± 482,6
Dia 5	447,5 ± 367,2	999,1 ± 681,7
Dia 10	644,3 ± 330,1	760,4 ± 772,0
Dia 15	637,8 ± 273,7	880,1 ± 873,2
Transferrina (mg/dl)		
Dia 1	134,1 ± 108,3	120,8 ± 25,1
Dia 5	167,8 ± 66,0	120,2 ± 35,4
Dia 10	164,8 ± 69,6	127,8 ± 35,6
Dia 15	148,4 ± 45,9	121,6 ± 33,6

* Letras iguais indicam diferença significativa

Na tabela 4 observam-se a frequência de casos, no início do estudo, com exames laboratoriais referentes à resposta de fase aguda, abaixo (níveis séricos de proteínas totais, albumina, ferro e transferrina) ou acima (proteína C reativa, $\alpha 1$ glicoproteína ácida e ferritina) da faixa de normalidade.

Tabela 4. Frequência (%) de pacientes dos grupos Controle ou suplementados com vitamina C com exames laboratoriais fora da faixa de normalidade no início do estudo.

	Controle (n=7)	Vitamina C (n=6)
Proteínas totais [§]	71,4	66,7
Albumina [§]	71,4	83,3
Proteína C reativa ^{§§}	85,7	100
$\alpha 1$ glicoproteína ácida ^{§§}	100	100
Ferro [§]	85,7	83,3
Ferritina ^{§§}	50	80
Transferrina [§]	83,3	100

[§]Níveis séricos abaixo dos valores normais de referência

^{§§} Níveis séricos acima dos valores normais de referência

Na tabela 5 observam-se os valores de hemoglobina, de leucócitos e de linfócitos totais no sangue periférico em pacientes alocados para o grupo controle ou vitamina C. Na tabela 6 observam-se a frequência de casos com anemia, leucocitose, linfopenia e níveis elevados de velocidade de hemossedimentação, VHS.

Tabela 5. Níveis de hemoglobina, leucócitos e linfócitos no sangue periférico de pacientes dos grupos Controle e Vitamina C, nos períodos de estudo.

	Controle (n=7)	Vitamina C (n=6)
Hemoglobina (g/dl)		
Dia 1	10,7 ± 2,5	10,5 ± 2,2
Dia 5	10,6 ± 1,8	10,8 ± 2,3
Dia 10	11,3 ± 1,4	10,2 ± 2,6
Dia 15	10,6 ± 1,9	10,3 ± 2,8
Leucócitos (x 10 ³ /mm ³)		
Dia 1	11,9 ± 5,5	13,0 ± 6,2
Dia 5	11,0 ± 2,2	14,5 ± 11,9
Dia 10	11,5 ± 5,8	10,8 ± 3,6
Dia 15	10,6 ± 2,9	10,5 ± 3,4
Linfócitos totais (células/mm ³)		
Dia 1	1.127 ± 448 ^{a c d}	1.783 ± 507 ^a
Dia 5	2.323 ± 1.160 ^c	2.292 ± 1.146
Dia 10	1.314 ± 621 ^{b e}	2.600 ± 852 ^b
Dia 15	2.110 ± 353 ^{d e}	2.614 ± 1.597
VHS (mm)		
Dia 1	62,4 ± 28,6 ^a	68,2 ± 42,6
Dia 5	63,0 ± 20,7 ^b	88,0 ± 29,4
Dia 10	84,0 ± 32,1	93,0 ± 39,0
Dia 15	100,6 ± 15,4 ^{a b}	84,8 ± 20,8

Letras iguais indicam diferença significativa

VHS = Velocidade de hemossedimentação

Tabela 6. Frequência (%) de pacientes dos grupos Controle ou suplementados com vitamina C com exames hematológicos fora da faixa de normalidade.

	Controle (n=7)	Vitamina C (n=6)
Anemia	71,4	83,3
Leucocitose	57,1	50
Linfopenia	85,7	66,7
VHS elevado	100	83,3

VHS = Velocidade de hemossedimentação

Na figura 1 está apresentada a frequência de pacientes, nos grupos Controle e Vitamina C, com quadro de kwashiorkor, caracterizado pela presença de edema associado a baixos níveis séricos de albumina (3,0 mg/dl).

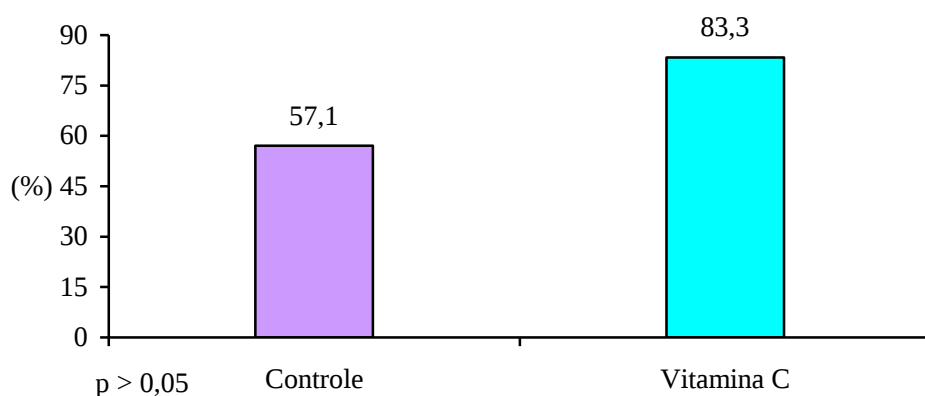
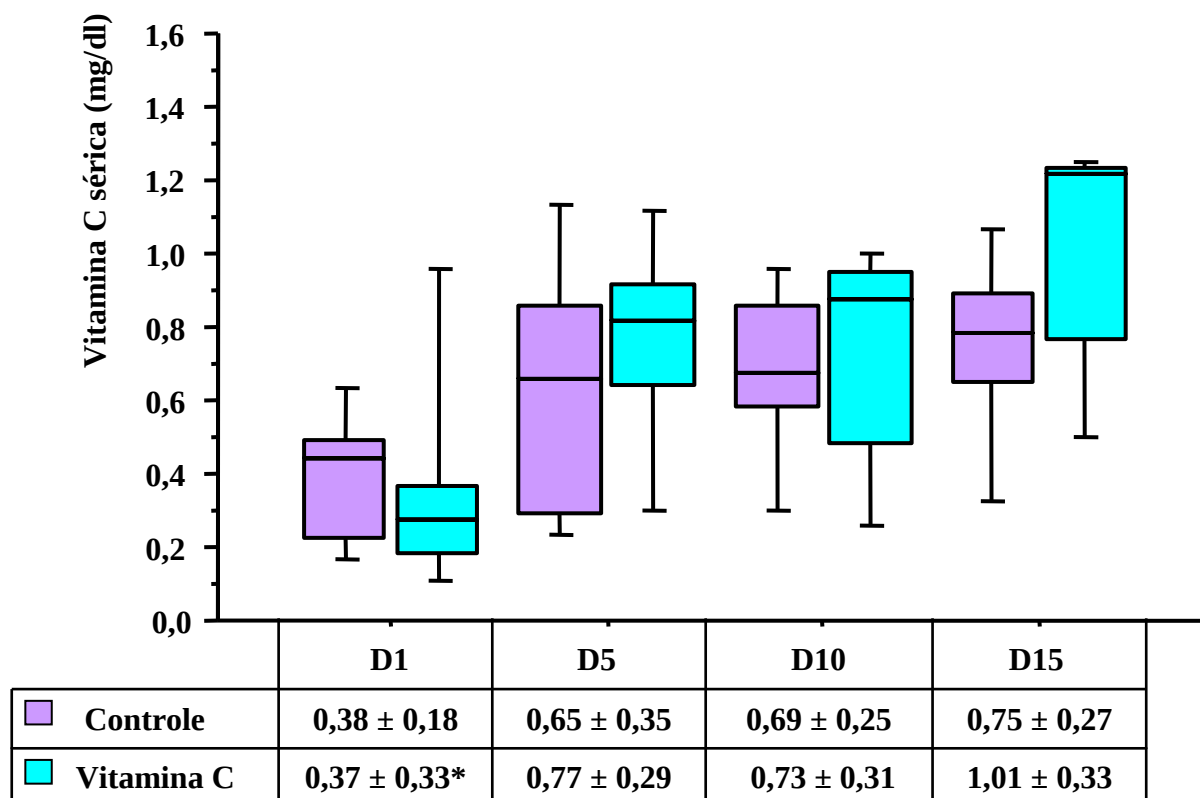


Figura 1. Frequência (%) de pacientes com *kwashiorkor* nos grupos Controle ou Vitamina C.

Na figura 2 são mostrados os níveis séricos de vitamina C dos pacientes alocados para o grupo Controle ou suplementados com Vitamina C, observando-se tendência ao aumento nos dois grupos, com aumento significativo no grupo Vitamina C.



*p < 0,05 em D1 vs. D15

Figura 2. Níveis séricos de vitamina C nos grupos controle e vitamina C, nos períodos estudados.

Em comparação com o grupo controle, o grupo suplementado com vitamina C apresentou, no décimo dia, níveis significativamente menores de TNF- α e IL-6 obtidos de leucócito do sangue total em solução salina (Tabela 7 e Tabela 9). A produção de IL-6 estimulada com PHA demonstrou aumento significativo no grupo controle do primeiro para o décimo quinto dia de estudo (Tabela 9).

Tabela 7. Níveis basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de TNF- α produzido por leucócito obtido do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, nos dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	TNF- α (pg/ml)		
	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)			
Dia 1	182,2 $\pm$ 190,9	1107,5 $\pm$ 931,5	507,8 $\pm$ 486,0
Dia 5	284,2 $\pm$ 240,4	1080,2 $\pm$ 990,4	543,3 $\pm$ 384,0
Dia 10	760,4 $\pm$ 128,3 ^a	1391,4 $\pm$ 1338,7	982,1 $\pm$ 547,1
Dia 15	389,1 $\pm$ 391,3	1102,4 $\pm$ 991,5	797,4 $\pm$ 869,8
Vitamina C (n=6)			
Dia 1	66,4 $\pm$ 51,3	2879,8 $\pm$ 2240,5	1065,4 $\pm$ 782,65
Dia 5	164,5 $\pm$ 218,0	1330,4 $\pm$ 899,9	635,2 $\pm$ 1013,3
Dia 10	97,3 $\pm$ 177,2 ^a	3454,6 $\pm$ 2037,5	862,2 $\pm$ 1000,9
Dia 15	116,6 $\pm$ 100,2	2302,4 $\pm$ 1764,0	921,1 $\pm$ 719,1

Letras iguais indicam diferença significativa

Testes similares de estímulo e produção de IFN- γ (Tabela 8), IL-10 (Tabela 10) e IL-13 (Tabela 11) não mostraram diferenças entre os grupos tanto com condições basais (salina) como após estímulo com LPS ou PHA, por quatro ou 24 horas.

Tabela 8. Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IFN- γ produzido por leucócito obtido do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	IFN- γ (pg/ml)		
	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)			
Dia 1	1718,8 $\pm$ 225,0	2329,1 $\pm$ 2415,6	278,7 $\pm$ 2263,9
Dia 5	1959,7 $\pm$ 464,5	3383,5 $\pm$ 604,2	2818,5 $\pm$ 3333,9
Dia 10	1994,0 $\pm$ 147,8	2162,5 $\pm$ 79,8	3656,3 $\pm$ 2572,1
Dia 15	2595,8 $\pm$ 0,0	2262,8 $\pm$ 890,2	4600,2 $\pm$ 4421,9
Vitamina C (n=6)			
Dia 1	1243,4 $\pm$ 947,9	1467,1 $\pm$ 521,0	2719,3 $\pm$ 3222,6
Dia 5	1487,0 $\pm$ 1707,5	1347,8 $\pm$ 1454,8	3597,7 $\pm$ 4521,2
Dia 10	1630,9 $\pm$ 1832,7	3041,0 $\pm$ 3641,6	3833,1 $\pm$ 4546,3
Dia 15	604,7 $\pm$ 93,3	1065,0 $\pm$ 259,7	3849,9 $\pm$ 3242,9

Não houve diferença significativa entre os grupos

Tabela 9: Níveis basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de IL-6 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	IL-6 (pg/ml)		
	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)			
Dia 1	264,8 $\pm$ 191,9	8631,5 $\pm$ 4145,6	4179,1 $\pm$ 2519,8 ^b
Dia 5	455,1 $\pm$ 459,4	12043,4 $\pm$ 4862,3	7055,8 $\pm$ 3148,6
Dia 10	739,2 $\pm$ 327,5 ^a	11391,8 $\pm$ 4914,9	7521,6 $\pm$ 3352,6
Dia 15	751,3 $\pm$ 519,8	11779,3 $\pm$ 4766,3	10288,0 $\pm$ 3634,5 ^b
Vitamina C (n=6)			
Dia 1	163,1 $\pm$ 157,4	9415,4 $\pm$ 4016,2	7215,6 $\pm$ 4015,2
Dia 5	508,9 $\pm$ 664,9	13040,7 $\pm$ 7655,7	7239,4 $\pm$ 5027,4
Dia 10	103,4 $\pm$ 80,7 ^a	13836,2 $\pm$ 5101,3	10342,1 $\pm$ 5687,5
Dia 15	320,9 $\pm$ 205,8	12305,5 $\pm$ 5558,1	12100,4 $\pm$ 10001,7

Letras iguais indicam diferença significativa

Tabela 10. Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IL-10 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	IL-10 (pg/ml)		
	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)			
Dia 1	504,3 ± 128,0	315,9 ± 389,3	237,8 ± 270,2
Dia 5	1298,0 ± 341,9	647,0 ± 350,9	517,5 ± 331,3
Dia 10	949,5 ± 307,1	429,3 ± 438,1	925,7 ± 758,7
Dia 15	786,2 ± 905,7	581,2 ± 648,5	876,1 ± 794,4
Vitamina C (n=6)			
Dia 1	117,3 ± 149,8	428,6 ± 383,3	142,6 ± 47,0
Dia 5	411,3 ± 511,7	559,2 ± 537,1	353,0 ± 514,9
Dia 10	1027,0 ± 1431,2	706,5 ± 708,2	558,0 ± 834,7
Dia 15	90,0 ± 141,0	285,6 ± 204,4	277,1 ± 323,7

Não houve diferença significativa entre os grupos

Tabela 11: Níveis basais (salina) e após estímulo de 24 horas (LPS ou PHA), de IL-13 produzido por leucócito obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	IL-13 (pg/ml)		
	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)			
Dia 1	215,1 ± 153,1	199,8 ± 185,4	431,5 ± 497,3
Dia 5	569,1 ± 296,5	440,9 ± 284,3	508,1 ± 371,1
Dia 10	523,1 ± 423,2	655,5 ± 608,1	624,2 ± 431,6
Dia 15	367,5 ± 240,2	448,2 ± 336,3	551,6 ± 263,6
Vitamina C (n=6)			
Dia 1	316,6 ± 85,3	387,5 ± 71,0	268,1 ± 107,5
Dia 5	288,8 ± 240,8	351,0 ± 419,2	232,8 ± 176,4
Dia 10	368,5 ± 363,7	222,0 ± 84,3	321,6 ± 176,5
Dia 15	209,1 ± 22,9	201,7 ± 28,4	320,2 ± 119,1

Não houve diferença significativa entre os grupos

Os níveis de óxido nítrico no soro foram similares entre os grupos Controle e Vitamina C em todos os dias do estudo (Tabela 13). O grupo controle mostrou aumento dos níveis basais (salina) de óxido nítrico no 5º dia, reduzindo-se nos dias 10 e 15, em

contraste com a redução gradativa dos níveis de óxido nítrico observada no grupo suplementado com vitamina C.

Os resultados dos níveis de óxido nítrico estão apresentados nas tabelas 12 (a) e 12 (b). Embora os números sejam os mesmos, para facilitar a leitura, cada tabela mostra a estatística de forma diferente, seja na comparação dos grupos entre si (12a) ou na comparação entre os tempos de avaliação de um mesmo grupo (12b).

Observa-se que os níveis séricos de óxido nítrico são similares entre os grupos, que não mudam significativamente no decorrer do estudo. Já com a estimulação por salina e com LPS, observa-se que o grupo suplementado com vitamina C apresentou maiores níveis de NO que os do grupo controle (Tabela 12a). O grupo suplementado apresentou redução progressiva dos níveis de NO tanto na estimulação com salina como após adição de LPS ou PHA (Tabela 12b).

Tabela 12a. Níveis séricos, basais (estimulação com salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de óxido nítrico produzido por leucócitos obtido do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	Óxido Nítrico (pg/ml)			
	Soro	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)				
Dia 1	32,0 (22,5-98,0)	5,3 (3,5-7,1) ^a	6,2 (3,1-8,9) ^b	6,2 (4,4-21,6)
Dia 5	42,8 (20,2-136,8)	14,1 (0,0-26,6)	11,9 (0,0-42,4)	7,4 (0,3-79,9)
Dia 10	46,9 (26,6-63,2)	3,5 (1,7-17,5)	6,2 (3,1-10,3) ^c	4,4 (1,7-7,6)
Dia 15	39,7 (26,6-46,9)	2,6 (1,7-6,2)	2,6 (2,2-8,0)	1,7 (0,8-8,0)
Vitamina C (n=6)				
Dia 1	43,7 (29,7-77,6)	15,7 (2,6-20,2) ^a	16,8 (2,6-20,7) ^b	16,8 (4,0-22,0)
Dia 5	49,1 (37,4-71,3)	14,4 (9,4-17,5)	8,5 (8,0-10,3)	5,8 (4,0-7,6)
Dia 10	43,3 (23,8-80,3)	4,4 (1,7-7,1)	3,5 (2,2-4,4) ^c	4,4 (2,6-8,0)
Dia 15	36,5 (24,3-73,1)	4,4 (3,5-24,7)	5,8 (4,9-10,7)	5,3 (4,0-10,7)

Letras iguais indicam diferença significativa

Tabela 12b. Níveis séricos, basais (salina) e após estímulo de 4 horas (LPS ou PHA), de Óxido Nítrico produzido por leucócitos obtidos do sangue total de pacientes dos grupos Controle ou Vitamina C, no dias de estudo 1, 5, 10 e 15.

	Óxido Nítrico (pg/ml)			
	Soro	Salina	LPS	PHA
Controle (n=7)				
Dia 1	32,0 (22,5-98,0)	5,3 (3,5-7,1) ^{a b}	6,2 (3,1-8,9) ^e	6,2 (4,4-21,6) ^{k l}
Dia 5	42,8 (20,2-136,8)	14,1 (0,0-26,6) ^a	11,9 (0,0-42,4) ^{e f}	7,4 (0,3-79,9)
Dia 10	46,9 (26,6-63,2)	3,5 (1,7-17,5)	6,2 (3,1-10,3)	4,4 (1,7-7,6) ^k
Dia 15	39,7 (26,6-46,9)	2,6 (1,7-6,2) ^b	2,6 (2,2-8,0) ^f	1,7 (0,8-8,0) ^l
Vitamina C (n=6)				
Dia 1	43,7 (29,7-77,6)	15,7 (2,6-20,2) ^c	16,8 (2,6-20,7) ^{g h i}	16,8 (4,0-22,0) ^{m n o}
Dia 5	49,1 (37,4-71,3)	14,4 (9,4-17,5) ^d	8,5 (8,0-10,3) ^g	5,8 (4,0-7,6) ^m
Dia 10	43,3 (23,8-80,3)	4,4 (1,7-7,1) ^{c d}	3,5 (2,2-4,4) ^{h j}	4,4 (2,6-8,0) ⁿ
Dia 15	36,5 (24,3-73,1)	4,4 (3,5-24,7)	5,8 (4,9-10,7) ^{i j}	5,3 (4,0-10,7) ^o

Letras iguais indicam diferença significativa

Dados de uma análise de correlação de Pearson feita *post-hoc* estão apresentados nas tabelas 13 e 14, onde se verifica que os níveis séricos de vitamina C têm correlação positiva e significativa com os níveis de ferro sérico e hemoglobina, enquanto apresenta correlação negativa com os níveis séricos de α 1-glicoproteína ácida, proteína C reativa e leucócitos. Os níveis séricos de vitamina C mostraram correlação positiva e significativa tanto com os níveis plasmáticos de IL-6 ou de IFN- γ após estímulo com PHA (Figura 3 e Figura 4). Não se evidenciou correlação significativa entre os níveis de vitamina C e óxido nítrico, ou vitamina C e IL-13, IL-10 e TNF- α .

Tabela 13. Matriz de correlação entre variáveis numéricas de 44 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo de pacientes com úlcera de pressão.

Variáveis	PCR	α -1 glicoproteína ácida	Vitamina C sérica
α -1 glicoproteína ácida	0,76*		
Vitamina C sérica	-0,43*	-0,35*	
Albumina	-0,45*	-0,61*	0,21
Ferro sérico	-0,51*	-0,56*	0,37*
Transferrina	-0,09	-0,40*	-0,14
Ferritina	0,61*	0,85*	-0,22

*p<0,05

Tabela 14. Matriz de correlação entre variáveis numéricas de 44 resultados de hemoglobina, velocidade de hemossedimentação, leucócitos e dosagens bioquímicas realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo de pacientes com úlcera de pressão.

Variáveis	Hemoglobina	VHS	Leucócitos
VHS	-0,40*		
Leucócitos	-0,05	-0,05	
Proteína C reativa	-0,36*	0,36*	0,47*
α -1 glicoproteína ácida	-0,51*	0,56*	0,32*
Ferritina	-0,63*	0,54*	0,31*
Vitamina C sérica	0,31*	0,10	-0,34*
Albumina	0,80*	-0,41*	-0,28*
Ferro sérico	0,41*	-0,35*	-0,43*
Transferrina	0,59*	-0,45*	0,05

*p<0,05; VHS = Velocidade de hemossedimentação.

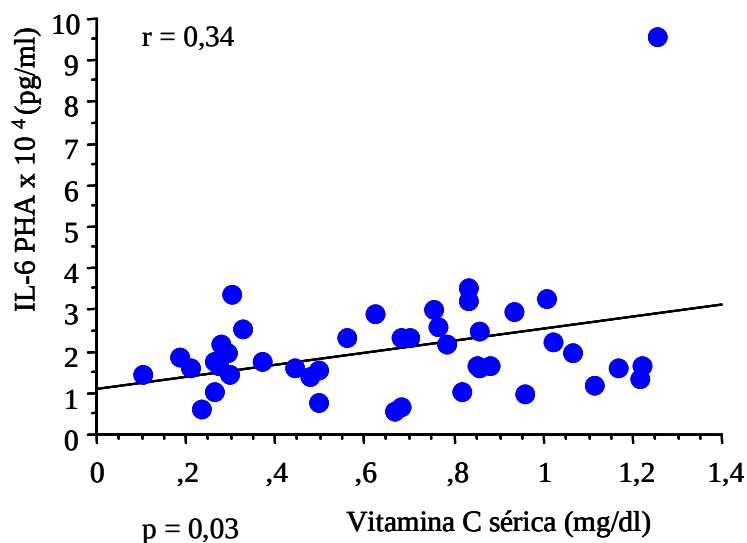


Figura 3. Correlação positiva (Pearson) entre níveis séricos de vitamina C e IL-6, estimulada com PHA, de 44 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo dos pacientes com úlcera de pressão.

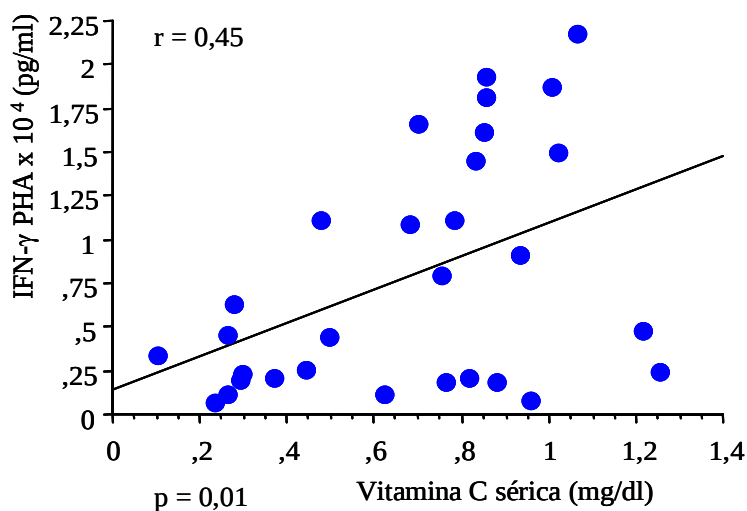


Figura 4. Correlação positiva (Pearson) entre níveis séricos de vitamina C e IFN- γ , estimulado com PHA, de 30 resultados de exames realizados no 1º, 5º, 10º e 15º dias de estudo dos pacientes com úlcera de pressão.

5. DISCUSSÃO

A maioria dos pacientes estudados apresentou critérios para subnutrição, principalmente do tipo *kwashiorkor*, em que ocorre edema associado à hipoalbuminemia, além de anemia associada à síndrome da resposta de fase aguda (CUNHA & CUNHA, 2007). Os dados de antropometria também sugerem algum comprometimento nutricional crônico, já que na média, pacientes dos grupos controle e vitamina C apresentaram prega cutânea tricipital e circunferência do braço e muscular do braço abaixo dos valores normais de referência. Os grupos estavam pareados em sua condição nutricional de base, o que fortalece as eventuais conclusões acerca do efeito da suplementação de vitaminas para esses pacientes.

O fato de os valores de antropometria não mudarem de forma significativa durante as duas semanas de estudo está em acordo com a experiência clínica que não registra mudança na antropometria de pessoas com subnutrição crônica num prazo inferior a quatro semanas (KEYS, 1950; TAYLOR & KEYS, 1950) e também com a própria fisiopatologia da subnutrição crônica, que afeta inicialmente o componente bioquímico dos órgãos, depois surgem alterações funcionais, e finalmente, alterações anatômicas. Durante a recuperação nutricional, seqüência similar pode ser observada, com mudanças iniciais no componente bioquímico, laboratorial, e alterações subseqüentes nos componentes funcionais, culminando na recuperação dos parâmetros antropométricos (CUNHA & CUNHA, 2007).

O registro de ingestão alimentar realizado no início do estudo documentou ingestão de energia pouco acima dos valores de gasto energético basal de um adulto idoso, o que está em acordo com o comprometimento do estado nutricional observado na maioria dos pacientes. Ao contrário, a ingestão de proteínas, na média em torno de 60g por dia, cobre as necessidades de 0,8g de proteínas por quilo de peso corporal por dia da maioria das

pessoas adultas, o que sugere um componente não-primário na gênese da subnutrição protéica.

Os dados obtidos no registro de ingestão alimentar no início do estudo também sugerem que os níveis reduzidos de vitamina C no soro não decorriam de ingestão insuficiente, mas de um processo de maior perda (renal) ou aumento de consumo provocado pela maior produção e necessidade de neutralização de radicais livres (CORDEIRO et al, 2005).

Diferente do que ocorre em crianças, em adultos o diagnóstico de subnutrição protéica está associado menos à carência alimentar de proteínas e mais ao estresse orgânico grave que desencadeia a síndrome da resposta de fase aguda.

Pacientes com úlceras de pressão desenvolvem uma resposta inflamatória sistêmica, caracterizada pelo aumento dos níveis de interleucinas (BONNEFOY et al, 1995) e aumento da peroxidação lipídica, com redução dos níveis séricos de nutrientes antioxidantes, incluindo ácido ascórbico e α -tocoferol (CORDEIRO et al, 2005).

O aumento da síntese e expressão de citocinas pró-inflamatórias manifesta-se clinicamente pela presença de anorexia, febre, leucocitose com presença de neutrófilos jovens (metamielócitos, mielócitos, bastonetes), redução de linfócitos na circulação e redução dos níveis de hemoglobina. A anemia da RFA caracteriza-se por redução dos níveis séricos de ferro e transferrina, com aumento dos níveis de ferritina, fenômeno documentado nos pacientes deste estudo.

O aumento das interleucinas circulantes também pode explicar algumas alterações observadas no presente estudo, incluindo o aumento da velocidade de hemossedimentação e dos níveis séricos de α -1 glicoproteína ácida e proteína C reativa.

Além disso, na síndrome da resposta de fase aguda há maior produção de radicais livres, com maior consumo corporal e redução dos níveis séricos de vitamina C

(CORDEIRO et al, 2005), o que está em acordo com os níveis séricos observados no início do estudo, em que todos os pacientes tinham níveis séricos de ácido ascórbico menores que o limite inferior da normalidade, de 0,8mg/dl (TSUJI et al., 1993; COSTA et al., 2001).

Estudos clínicos documentaram menores níveis de ácido ascórbico no soro (CORDEIRO et al, 2005) e no interior de leucócitos obtidos de pacientes com úlceras de pressão (GOODE et al, 1992; SKEIL & SPEED, 1992; SELVAAG et al, 2002), fato que está relacionado tanto à ingestão insuficiente de vitamina C (SELVAAG et al, 2002) como ao aumento do consumo pelo organismo (LONG et al, 2003; SELVAAG et al, 2002; CORDEIRO et al, 2005).

No presente estudo, observou-se que os pacientes, controle ou suplementados, apresentaram aumento gradativo dos níveis de ácido ascórbico no soro, sendo este aumento significativo no grupo vitamina C no 15º dia. Dessa forma, pode-se concluir que a terapia nutricional (suplementos ou dieta enteral) também foi capaz de aumentar os níveis séricos de vitamina C, e que a suplementação diária com 1g de ácido ascórbico aumentou os níveis para valores considerados normais.

Alterações significantes não foram observadas nos níveis de IFN- γ , IL-10 e IL-13, tanto no grupo controle como no grupo suplementado com vitamina C durante 15 dias. Os níveis de TNF- α produzidos em estímulo com LPS e PHA não apresentaram mudanças significativas durante o período de estudo. No décimo dia do estudo os níveis de TNF- α e IL-6 produzidos em salina foram significativamente menores no grupo suplementado com vitamina C comparado ao controle. Os níveis de IL-6 produzidos em estímulo com PHA aumentaram significativamente do primeiro para o décimo quinto dia no grupo controle. Esses resultados são de difícil interpretação, podendo dever-se a diversos fatores, incluindo (a) variações individuais, (b) a dinâmica do processo inflamatório sistêmico associado às úlceras de pressão e (c) aspectos da farmacocinética da vitamina C suplementada por via

oral ou enteral. Além disso, estudos realizados no Laboratório de Imunologia da UFTM (RODRIGUES et al, 2005; RODRIGUES et al, 2003) e estudos de pacientes com doença cardiovascular (BRUUNSGAARD et al, 2003), ou com escaras de decúbito (BONNEFOY et al, 1995), mostram grande variação na distribuição de números que representam os níveis plasmáticos de citocinas. Essa grande variação também é o motivo de se ter apresentado as variáveis relativas ao óxido nítrico em termos de mediana e faixa de variação e realizada estatística não-paramétrica, mais exigente quando o número de casos é pequeno (NOETHER, 1983).

Em conjunto, esses dados sugerem que eventuais efeitos da suplementação de 1g/dia de vitamina C sobre os níveis de citocinas (pró ou antiinflamatórias) podem não ocorrer durante todo o período de duas semanas, e que essas alterações são precoces, não se mantendo depois de 5-7 dias.

A hipótese de que o ácido ascórbico tenha sido absorvido e exercido pequeno efeito sobre os níveis de citocinas devido à pronta excreção renal (BRUUNSGAARD et al, 2003) também não parece razoável, já que os níveis séricos dessa vitamina aumentaram de forma significativa ao final do estudo.

O fato de que os níveis de óxido nítrico tenham sido maiores no primeiro dia de estudo no grupo de pacientes sorteados para receberem suplementação com vitamina C não está claro. É improvável que essa diferença se deva a pareamento inadequado, já que no início do estudo os grupos mostraram-se estatisticamente similares em parâmetros como idade, sexo, ingestão de nutrientes, estado nutricional e dados bioquímicos da resposta de fase aguda, incluindo citocinas. Apesar dessa diferença inicial, o grupo suplementado apresentou redução progressiva dos níveis de NO tanto na estimulação com salina como após adição de LPS ou PHA, o que sugere possível ação da vitamina C suplementada para esse grupo.

Escaras de decúbito podem estar associadas à subnutrição tanto como causa quanto consequência (ALLMAN et al, 1986; ALLMAN et al, 1995; CORDEIRO et al, 2005). Embora uma tentativa de realização de metanálise não tenha conseguido demonstrar os efeitos benéficos da terapia nutricional enteral ou parenteral (LANGER et al, 2003) geralmente se considera que suplementos orais ou dieta enteral são importantes para a recuperação do paciente. Além de proteínas, arginina e zinco, a vitamina C estaria particularmente implicada no processo de regeneração tecidual, já que na deficiência de ácido ascórbico há retardo no processo de cicatrização, reversível com a administração desse nutriente, sendo também bem conhecida sua função como promotora de hidroxilação de lisina e prolina, aminoácidos que compõem o colágeno, componente fundamental no processo de cicatrização (LONG et al, 2003).

O ácido ascórbico também estimula a migração *in vitro* de monócitos e neutrófilos, e aumenta a resistência do organismo contra patógenos oportunistas (ANDERSON et al, 1990). Experimentos *in vitro* feitos com linfócitos periféricos de seres humanos expostos ao ascorbato mostram maior produção de anticorpos induzidos por mitógenos (TANAKA et al, 1994), e KENNES et al (1983) descreveram um aumento da resposta mitogênica de células T em pessoas idosas suplementadas com vitamina C. A suplementação de ácido ascórbico para crianças associou-se à redução tanto da intensidade como do número de crises asmáticas (ANAH et al, 1980).

Até a presente data nenhum estudo tinha avaliado o efeito da suplementação de vitamina C sobre parâmetros da função Th1 ou Th2 (LONG & SANTOS, 1999). Trabalhos feitos na década de 1970 mostraram maior produção *in vitro* de IFN- γ por linfócitos expostos a altos níveis de ascorbato em cultura (SIEGEL, 1974) e, mais recentemente, mostrou-se, num modelo experimental com camundongos Balb/c, que megadoses de vitamina C estimulam maior produção de IL-2, TNF- α e IFN- γ (resposta Th1) e menor

produção de IL-4 (resposta Th2) apenas durante a ativação das células T (NOH et al, 2005). Esses dados estão em acordo com os estudos de correlação entre os níveis séricos de vitamina C com citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IFN- γ realizados no presente estudo, sugerindo que maiores níveis de vitamina C estimulam o componente TH1 da resposta imune. Entretanto, essas observações não estão em acordo com a correlação negativa observada entre os níveis séricos de vitamina C com proteínas de fase aguda, incluindo α 1-glicoproteína ácida e proteína C reativa. Finalmente, embora não se possa explicar adequadamente a correlação positiva entre níveis séricos de ferro e vitamina C, pode-se especular que teria havido maior absorção de ferro em pacientes com maiores níveis de vitamina C (CUNHA & CUNHA, 1998; PADAYATTY & LEVINE, 2001).

Embora utilizando modelo de estresse muito diferente daquele associado às úlceras de pressão, verificou-se que crianças obesas com sinais bioquímicos de inflamação crônica associada à síndrome metabólica não mudam seus níveis séricos de proteína C reativa, IL-6 ou TNF- α com a maior ingestão de nutrientes antioxidantes como o β -caroteno e a vitamina C (AEBERLI et al, 2006). Também em acordo com os dados do presente estudo, HAGOBIAN et al (2006) mostraram, num modelo de estresse associado ao exercício físico extenuante, que a suplementação de antioxidantes como β -caroteno, α -tocoferol, ácido ascórbico, selênio e zinco não afeta o padrão de aumento de proteína C reativa ou de IL-6 e TNF- α que geralmente ocorre em paralelo ao aumento do estresse físico (HAGOBIAN et al, 2006). No entanto, um estudo mostrou que atletas suplementados com vitamina C apresentaram aumento dos níveis de IL-6 causada pelo exercício físico associado à lesão muscular (THOMPSON et al, 2004).

Dessa forma, a não-mudança no padrão de produção de citocinas pró ou antiinflamatórias com a administração de 1g de vitamina C parece não estar coerente com a noção de que essa vitamina afeta o processo de cicatrização (MACKAY & MILLER,

2003), e de que pesquisas controladas com placebo sugerem que pacientes que recebem suplementação de vitamina C (TAYLOR et al, 1974), ou vitamina C com zinco e arginina apresentam cicatrização mais eficiente das úlceras de pressão que os casos alocados para o grupo controle (DESNEVES et al, 2005). Outra possibilidade seria que a terapia antioxidante no presente estudo afetou apenas a produção local de citocinas e isso não foi detectado na circulação.

Os achados deste estudo são aparentemente paradoxais, já que geralmente há paralelo entre a síntese e expressão de citocinas com os níveis de óxido nítrico (LIEW, 1995). No entanto, sabemos que as células CD₄ são divididas em Th1 e Th2, duas linhagens que atuam de maneira diferente nos diversos processos infecciosos, sendo que seu balanço determina o curso de muitas infecções e doenças auto-imunes (LIEW, 1995). No caso das úlceras de pressão o comportamento dessas duas linhagens de células, na produção de citocinas que agravam ou amenizam o processo inflamatório, ainda permanece não elucidado.

É possível que a principal influência da vitamina C sobre o processo inflamatório se deva não necessariamente a mudanças mensuráveis no padrão de produção de citocinas, mas em outros mediadores da resposta imune, incluindo prostaglandina F e óxido nítrico (DAS, 2001; DAS, 2000; FREI, 1999).

De fato, além de sua ação antioxidante, o ácido ascórbico pode aumentar a síntese ou preservar os níveis de óxido nítrico por mecanismos que incluem a redução direta do nitrito a nitrato e a ativação da NO sintase pela manutenção da tetrahidrobiopterina, cofator essencial da NO sintase, em sua forma ativa (FREI, 2003; KUZKAYA et al, 2003; D'USCIO et al, 2003; HELLER et al, 2001; HUANG et al, 2000; HELLER et al, 1999). Dessa forma, é possível que os maiores níveis de óxido nítrico observado nos pacientes

suplementados com vitamina C exerçam algum efeito benéfico no processo de cicatrização.

Este estudo é o primeiro a avaliar o padrão de produção de citocinas por células mononucleares obtidas de pessoas com úlceras de pressão que foram ou não suplementadas com altas doses (1000mg) de vitamina C. Os grupos estavam bem pareados do ponto de vista clínico e os pacientes relativamente estáveis, sem indícios de infecções oportunistas. Além disso, as dietas (suplementos orais ou dieta enteral) forneceram nutrientes em quantidades adequadas.

Limitações desse estudo incluem a não-manutenção dos níveis de vitamina C compatíveis com níveis séricos considerados farmacológicos, situação em que, pelo menos teoricamente, a ação da vitamina C seria máxima. É provável que esse fato decorra da própria farmacodinâmica do ácido ascórbico administrado por via oral, que induz um pico de vitamina C no soro, com redução gradativa devido ao aumento da excreção renal (PADAYATTY et al, 2004). Formas de obtenção de altos níveis séricos de vitamina C, como a infusão intravenosa contínua não seriam práticas do ponto de vista clínico. Também teria sido desejável um tempo maior de avaliação dos pacientes, dosagens dos níveis de vitamina C em células como leucócitos e linfócitos, e determinação dos níveis de fatores de crescimento, incluindo o GM-CSF (Granulocyte-macrophage/Colony-Stimulating Factor) e o bFGF (Basic fibroblast growth factor) (ROBSON et al, 2000).

A análise dos dados numéricos referentes aos níveis de interleucinas não permite inferir que um estudo mais longo ou com maior número de casos mostraria resultados diferentes. BRUUNSGAARD et al (2003) suplementaram ácido ascórbico e tocoferol para 55 pacientes e concluíram, ao final de três anos, que embora tenha ocorrido menor grau de inflamação subclínica – verificada pela progressão da aterosclerose das artérias carótidas –

que nos pacientes tratados com placebo (n=52), os grupos apresentaram níveis séricos similares de TNF-alfa, IL-6 e proteína C reativa.

Os resultados do presente estudo induzem perguntas de grande interesse clínico. Além de identificação de pacientes com maior perspectiva de boa resposta, da via (oral ou venosa) e do tempo ótimo de administração da vitamina C, também seria interessante verificar o efeito da suplementação de outros antioxidantes, incluindo o beta-caroteno e a vitamina E.

6. CONCLUSÕES

1. Todos os pacientes estudados manifestaram a síndrome da resposta de fase aguda e 69,2% apresentou subnutrição protéica aguda (kwashiorkor).
2. A maioria dos pacientes (92,3%) apresentou níveis séricos de ácido ascórbico inferiores ao normal, no início do estudo. Os níveis séricos de ácido ascórbico aumentaram progressivamente até o 15º dia de estudo, com normalização dos níveis séricos no grupo suplementado com vitamina C.
3. Não se observou diferença significativa entre grupos controle e vitamina C em relação aos níveis de IL-10, IL-13 (resposta Th2), IFN- γ (resposta Th1).
4. Os pacientes suplementados com ácido ascórbico apresentaram redução dos níveis de TNF- α e IL-6, em paralelo à diminuição dos níveis de óxido nítrico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. National Pressure Ulcer Advisory Panel. Pressure ulcers prevalence, cost and risk assessment: consensus development conference statement. *Decubitus*. 1989;2(2):24-8.
2. Rocha ABL. Tradução para a língua portuguesa, adaptação transcultural e aplicação clínica da escala de Waterlow para avaliação de risco de desenvolvimento de úlcera de decúbito [Dissertação de Mestrado]. São Paulo (SP): Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina, 2003.
3. Orlando PL. Pressure ulcer management in the geriatric patient. *Ann Pharmacother*. 1998;32:1221-7
4. Natinal Pressure Ulcer Advisory Panel. Statement on pressure ulcer prevention [homepage na Internet]. Washington; 1992 [acesso em 2006 Dez 12]. Disponível em: <http://www.npuap.org/positn1.html>
5. Allman RM, Laprade CA, Noel LB, Walker JM, Moorer CA, Dear MR, Smith CR. Pressure sores among hospitalized patients. *Ann Intern Med*. 1986;105:337-42.
6. Allman RM. Pressure ulcers among the elderly. *New England J Med*. 1989;320:850-3.
7. Vohra RK, McCollum CN. Fortnightly Review: Pressure sores. *BMJ*. 1994;309:853-7.
8. Bours GJ, Halfens RJ, Lubbers M, Haalboom JR. The development of a national registration form to measure the prevalence of pressure ulcers in The Netherlands. *Ostomy Wound Manage*. 1999;45(11):28-40.
9. Rogenski NM, Santos VL. Incidência de úlceras de pressão num hospital universitário. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2005;13(4):474-80.
10. Thomas DR, Goode PS, Tarquine PH, Allman RM. Hospital-acquired pressure ulcers and risk of death. *J Am Geriatr Soc*. 1996;44:1435-40.
11. Allman RM, Goode PS, Patrick MM, Burst N, Bartolucci AA. Pressure ulcer risk factors among hospitalized patients with activity limitation. *JAMA* 1995;273(11):865-70.

12. Cunha DF, Frota RB, Arruda MS, Cunha SF, Teixeira VP. Pressure sores among malnourished necropsied adults: preliminary data. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. 2000;55:79-82.
13. Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR). Pressure ulcers in adults: prediction and prevention. Clinical Practice Guideline Number 3. Rockville (MD). United States:1992.
14. Haalboom JR. A new century without pressure ulcers?. *Br J Nurs*. 2000;9(6 Suppl 1):S4-6.
15. Bennett G, Dealey C, Posnett J. The cost of pressure ulcers in the UK. *Age Ageing*. 2004;33(3):230-5.
16. Hibbs P. The economics of pressure ulcer prevention. *Decubitus*. 1988;1(3):32-8.
17. Waterlow J. Tissue viability. Prevention is cheaper than cure. *Nurs Times* 1988;84:69-70.
18. Longe RL. Current concepts in clinical therapeutics: pressure sores. *Clin Pharm*. 1986;5(8):669-81.
19. Allman RM. Pressure ulcers among the elderly. *New England J Med*. 1989;320:850-53.
20. Bourdel-Machasson I, Barateau M, Rondeau V, Dequae-Merchadou L, Salles-Montaudon N, Emeriau JP, Manciet G, Dartigues JF. A multi-center trial of the effects of oral nutritional supplementation in critically ill older inpatients. *Nutrition*. 2000;16:1-5.
21. Silva MSML. Fatores de risco para úlceras de pressão e pacientes hospitalizados [Dissertação de Mestrado]. Paraíba (PB): Universidade Federal da Paraíba; 1998. 89p.
22. Bregstrom N, Braden BJ, Laguzza A, Holman V. The Braden scale for predicting pressure sore risk. *Nurs Res*. 1987;36:205-210.
23. Rowland J. Pressure ulcers: a literature review and a treatment scheme. *Australian Family Physician*. 1993;22(10):1819-27.

24. Norton D. Calculating the risk: reflections on the Norton Scale. *Decubitus*. 1989;2:24-31.
25. Thomas DR. Improving outcome of pressure ulcers with nutritional interventions: a review of the evidence. *Nutrition*. 2001;17(2):121-5.
26. Goldstone LA, Goldstone J. The Norton score: an early warning of pressure sores? *J Adv Nurs*. 1982;7(5):419-26.
27. Gosnell DJ. An assessment tool to identify pressure sores. *Nurs Res*. 1973;22(1):55-9.
28. Goode PS, Thomas DR. Pressure ulcers. Local wound care. *Clin Geriatr Med*. 1997;13(3):543-52.
29. Evans JM, Andrews KL, Chutka DS, Fleming KC, Garness SL. Pressure ulcers: prevention and management. *Mayo Clin Proc*. 1995;70(8):789-99.
30. Witkowski JA, Parish LC. Histopathology of the decubitus ulcer. *Am Acad Dermatol*. 1982;6(6):1014-21.
31. Bryan CS, Dew CE, Reynolds KL. Bacteremia associated with decubitus ulcers. *Arch Intern Med*. 1983;143(11):2093-5.
32. Berlowitz DR, Wilking SV. The short-term outcome of pressure sores. *J Am Geriatr Soc*. 1990;38(7):748-52.
33. Bergstrom N, Braden B. A prospective study of pressure sore risk among institutionalized elderly. *J Am Geriatr Soc*. 1992;40:747-758.
34. Graff MK, Bryant J, Beinlich N. Preventing heel breakdown. *Orthop Nurs*. 2000;19:63-69.
35. Armstrong D, Bortz P. An integrative review of pressure relief in surgical patients. *AORN J*. 2001;73:645-648, 650-653, 656-657.

36. Houwing R, Overgoor M, Kon M, Jansen G, van Asbeck BS, Haalboom JR. Pressure-induced skin lesions in pigs: reperfusion injury and the effects of vitamin E. *J Wound Care*. 2000;9(1):36-40.
37. Guyton AC. Tratado de fisiologia médica. 6ªed. Kraemer A, Esbérard CA, tradutores. Rio de Janeiro (RJ): Interamericana; 1984. Cap. 19: 189-198.
38. Bryant R. Acute and Chronic Wounds: Nursing Management. St. Louis (Mo): Mosby Year Book;1992.
39. Maklebust J, Sieggreen MY. Attacking on all fronts. How to conquer pressure ulcers. *Nursing*. 1996;26(12):34-9.
40. Bergstrom N, Braden BJ, Laguzza A, Holman V. The Braden Scale for Predicting Pressure Sore Risk. *Nurs Res*. 1987;36(4):205-10.
41. Gilchrist T, Martin AM. Wound treatment with Sorbsan--an alginate fibre dressing. *Biomaterials*. 1983;4(4):317-20.
42. Bendich A. Antioxidant micronutrients and immune responses. *Ann N Y Acad Sci*. 1990;587:168-80.
43. Janeway CA, Travers PW, Mark SM, editores. The Adaptive Immune Response. Immunobiology. 5ªed. New York & London: Garland Publishing; 2001.
44. Nwomeh BC, Yager DR, Cohen IK. Physiology of the chronic wound. *Clin Plast Surg*. 1998;25:341-56.
45. Cordeiro MB, Antonelli EJ, Cunha DF, Junior AA, Junior VR, Vannucchi H. Oxidative stress and acute-phase response in patients with pressure sores. *Nutrition*. 2005;21(9):901-7.
46. Bonnefoy M, Coulon L, Bienvenu J, Boisson RC, Rys L. Implication of cytokines in the aggravation of malnutrition and hypercatabolism in elderly patients with severe pressure sores. *Age Ageing*. 1995;24:37-42.
47. Cunha DF, Santos VM, Monteiro JP, Cunha SFC. Hypophosphatemia in acute-phase response syndrome patients. Preliminary data. *Miner Electrolyte Metab*. 1998;24:337-40.

48. Breslow R. Nutritional status and dietary intake of patients with pressure ulcers: review of research literature 1943 to 1989. *Decubitus*. 1991;4(1):16-21.
49. Maklebust J, Magnan MA. Risk factors associated with having a pressure ulcer: a secondary data analysis. *Adv Wound Care*. 1994;7:25-8.
50. Breslow RA, Bergstrom N. Nutritional prediction of pressure ulcers. *J Am Diet Assoc*. 1994;94:1301-1304.
51. Breslow RA, Hallfrisch J, Guy DG, Crawley B, Goldberg AP. The importance of dietary protein in healing pressure ulcers. *J Am Geriatr Soc*. 1993;41(4):357-62.
52. Breslow RA. Nutrition and air-fluidized beds: a literature review. *Adv Wound Care*. 1994;7(3):57-8, 60, 62.
53. Strauss EA, Margolis DJ. Malnutrition in patients with pressure ulcers: morbidity, mortality, and clinically practical assessments. *Adv Wound Care*. 1996;9(5):37-40.
54. Gray M, Whitney JD. Does vitamin C supplementation promote pressure ulcer healing?. *J WOCN*. 2003;30:245-249.
55. Poulsen HE, Weimann A, Salonen JT, Nyssonen K, Loft S, Cadet J, Douki T, Ravanat JL. Does vitamin C have a pro-oxidant effect?. *Nature*. 1998;395(17):231-2.
56. Ringsdorf Jr WM, Cheraskin E. Vitamin C and human wound healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982;53(3):231-6.
57. Taylor TV, Rimmer S, Day B, Butcher J, Dymock IW. Ascorbic acid supplementation in the treatment of pressure-sores. *Lancet*. 1974;2(7880):544-6.
58. Goode HF, Burns E, Walker BE. Vitamin C depletion and pressure sores in elderly patients with femoral neck fracture. *BMJ*. 1992;305(17):925-7.
59. Ayello EA, Thomas DR, Litchford MA. Nutritional aspects of wound healing. *Home Healthc Nurse*. 1999;17(11):719-29.

60. Schorah CJ, Downing C, Piripitsi A, Gallivan L, Al-Hazaa AH, Sanderson MJ, Bodenham A. Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients. *Am J Clin Nutr.* 1996;63(5):760-5.
61. Galloway P, McMillan DC, Sattar N. Effect of inflammatory response on trace element and vitamin status. *Ann Clin Biochem.* 2000;37:289-97.
62. Winklehofer-Roob BM, Ellemunter H, Fruhwirth M, Schlege-Haueter SE, Khoschsorur G, Van't Hoff MA. Plasma vitamin C concentrations in patients with cystic fibrosis: evidence of associations with lung inflammation. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:1858-1866.
63. Khaw KT, Woodhouse P. Interrelation of vitamin C, infection, haemostatic factors, and cardiovascular disease. *BMJ.* 1995;310:1559-1563.
64. Liew FY. Interactions between cytokines and nitric oxide. *Adv Neuroimmunol.* 1995;5(2):201-9.
65. Eckman KL. The prevalence of dermal ulcers among persons in the U.S. who have died. *Decubitus.* 1989;2:36-40.
66. Frisancho AR. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. *Am J Clin Nutr.* 1984;40(4):808-19.
67. Fediuk K. Vitamin C in the Inuit diet: past and present [Dissertação de Mestrado]. Montreal: School of Dietetics and Human Nutrition McGill University; 2000.
68. Dodd KW, Guenther PM, Freedman LS, Subar AF, Kipnis V, Midthune D, Tooze JA, Krebs-Smith SM. Statistical methods for estimating usual intake of nutrients and foods: a review of the theory. *J Am Diet Assoc.* 2006;106(10):1640-50.
69. Buzzard M. 24-Hour dietary recall and food records methods. In: Willett W, editor. *Nutritional Epidemiology*. 2^a ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 50-73.
70. Savi MGM, Machado MSE. Como elaborar referências bibliográficas, segundo o estilo de vancouver [homepage na Internet]. São Carlos (SP): Universidade Federal de São Carlos; 2006 [acesso em 2007 Fev 06]. Disponível em: <http://www.bu.ufsc.br/bccsm/vancouver.html>.

71. Cunha DF, Cunha SFC. Subnutrição protéico-energética. In: Vannucchi H, Marchini JS, coordenadores. *Nutrição Clínica: nutrição e metabolismo*. Vannucchi H, editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007. p. 23-48.
72. Keys A. The residues of malnutrition and starvation. *Science*. 1950;112(29):371-3.
73. Taylor HL, Keys A. Adaptation to caloric restriction. *Science*. 1950;112(25):215-8.
74. Tsuji H., Seabra MEG, Matsubara BB, Burini RC. Efeito de idade, sexo e estresse físico sobre os níveis séricos de vitamina C em indivíduos sadios. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*. 1993;29(3):83-6.
75. Costa MJC, Terto ALQ, Santos LMP. Supplementation with West Indian cherry and its effects on the blood levels of vitamin C and hemoglobin in preschool children. *Rev Nutr*. 2001;14(1):13-20.
76. Skeil DA, Speed C. Vitamin C depletion and pressure sores. *BMJ*. 1992;305(6859):925-7.
77. Selvaag E, Bohmer T, Benkestock, K. Reduced serum concentrations of riboflavine and ascorbic acid, and blood thiamine pyrophosphate and pyridoxal-5-phosphate in geriatric patients with and without pressure sores. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(1):75-7.
78. Long CL, Maull KI, Krishnan RS, Laws HL, Geiger JW, Borghesi L, Franks W, Lawson TC, Sauberlich HE. Ascorbic acid dynamics in the seriously ill and injured. *J Surg Res*. 2003;109(2):144-8.
79. Rodrigues DBR, Correia D, Marra MD, Giraldo LER, Lages-Silva E, Silva-Vergara ML, Barata CH, Rodrigues Junior V. Cytokine serum levels in patients infected by human immunodeficiency virus with and without *Trypanosoma cruzi* coinfection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(6):483-7.
80. Rodrigues DBR, Paschoini G, Pereira SAL, Reis MA, Teixeira VPA, Rodrigues Junior V. High levels of interleukin-1 in patients with endemic pemphigus foliaceus. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(5): 741-3.

81. Bruunsgaard H, Poulsen HE, Pedersen BK, Nyyssonen K, Kaikkonen J, Salonen JT. Long-term combined supplementations with alpha-tocopherol and vitamin C have no detectable anti-inflammatory effects in healthy men. *J Nutr.* 2003;133(4):1170-3.
82. Noether GE. *Introdução à Estatística: uma abordagem não paramétrica*. 2ªed. Rio de Janeiro:Guanabara Dois; 1983.
83. Langer G, Schloemer G, Knerr A, Kuss O, Behrens JN. Nutritional interventions for preventing and treating pressure ulcers. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(4):CD003216.
84. Anderson R, Smit MJ, Joone GK, Van Staden AM. Vitamin C and cellular immune functions. Protection against hypochlorous acid-mediated inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and ATP generation in human leukocytes as a possible mechanism of ascorbate-mediated immunostimulation. *Ann N Y Acad Sci.* 1990;587:34-48.
85. Tanaka M, Muto N, Gohda E. Enhancement by ascorbic acid 2-glucoside or repeated additions of ascorbate of mitogen-induced IgM and IgG productions by human peripheral blood lymphocytes. *Jpn J Pharmacol.* 1994;66:451-6.
86. Kennes B, Dumont I, Brohee D, Hubert C, Neve P. Effect of vitamin C supplements on cell-mediated immunity in old people. *Gerontology.* 1983;29(5):305-10.
87. Anah CO, Jariki LN, Bang HA. High dose ascorbic acid in Nigerian asthmatics. *Trop Geogr Med.* 1980;32:132-7.
88. Long KZ, Santos JJ. Vitamins and the regulation of the immune response. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18(3):283-90.
89. Siegel BV. Enhanced interferon response to murine leukemia virus by ascorbic acid. *Infect Immun.* 1974;10:409-10.
90. Noh K, Lim H, Moon SK, Kang JS, Lee WJ, Lee D, Hwang YI. Mega-dose Vitamin C modulates T cell functions in Balb/c mice only when administered during T cell activation. *Immunol Lett.* 2005;98(1):63-72.
91. Cunha DF, Cunha SFC. Microminerais. In: Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS, eds. *Ciências Nutricionais*. São Paulo: Sarvier; 1998. p. 141-66.

92. Hagobian TA, Jacobs KA, Subudhi AW, Fattor JA, Rock PB, Muza SR, Fulco CS, Braun B, Grediagin A, Mazzeo RS, Cymerman A, Friedlander AL. Cytokine responses at high altitude: effects of exercise and antioxidants at 4300 m. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(2):276-85.
93. Thompson D, Bailey DM, Hill J, Hurst T, Powell JR, Williams C. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2004;92(1-2):133-8.
94. MacKay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev.* 2003;8(4):359-77.
95. Desneves KJ, Todorovic BE, Cassar A, Crowe TC. Treatment with supplementary arginine, vitamin C and zinc in patients with pressure ulcers: a randomised controlled trial. *Clin Nutr.* 2005;24(6):979-87.
96. Padayatty S, Levine M. New insights into the physiology and pharmacology of vitamin C. *CMAJ.* 2001;164(3):353-5.
97. Das UN. Exploring the actions of vitamin C. *CMAJ.* 2001;165(1):13-14.
98. Das UN. Hypertension and ascorbic acid. *Lancet.* 2000;355(9211):1273.
99. Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222:196-204.
100. Frei B. To C or not to C, that is the question! *J Am Coll Cardiol.* 2003;42(2):253-5.
101. Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem.* 2003;278(25):22546-54.
102. d'Uscio LV, Milstien S, Richardson D, Smith L, Katusic ZS. Long-term vitamin C treatment increases vascular tetrahydrobiopterin levels and nitric oxide synthase activity. *Circ Res.* 2003;92(1):88-95.
103. Heller R, Unbehauen A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem.* 2001;276(1):40-7.

104. Huang A, Vita JA, Venema RC, Keaney JF Jr. Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem.* 2000;275(23):17399-406.
105. Heller R, Munscher-Paulig F, Grabner R, Till U. L-Ascorbic acid potentiates nitric oxide synthesis in endothelial cells. *Biol Chem.* 1999;274(12):8254-60.
106. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewitt SM, Katz A, Wesley RA, Levine M. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Annals of Internal Medicine.* 2004;140(7):533-7.
107. Robson MC, Hill DP, Smith PD, Wang X, Meyer-Siegler K, Ko F, VandeBerg JS, Payne WG, Ochs D, Robson LE. Sequential cytokine therapy for pressure ulcers: clinical and mechanistic response. *Ann Surg.* 2000;231(4):600-11.
108. Heymsfield SB, Tighe A, Wang Z. Nutritional assessment by anthropometric and biomedical methods. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1994. p. 812-41.
109. Rose RC, Bode AM. Analysis of water-soluble antioxidants by high-pressure liquid chromatography. *Biochem J.* 1995;306:101-5.

8. ANEXO

Anexo 1. Composição nutricional do suplemento alimentar e da dieta enteral utilizados no estudo:

	Resource Plus®	FiberSource®
Prescrição (ml)	500,0	1200,0
Valor energético (Kcal)	760	1440
Proteínas (g)	27,5	51,6
Carboidratos (g)	110,0	204,0
Lipídeos (g)	23,0	49,2
Água (ml)	382	984
Osmolaridade (mOsm/Kg de H ₂ O)	600	390
Fibras (g)	0	12
Sódio (mg)	655	1320
Potássio (mg)	970	2160
Cálcio (mg)	635	804
Fósforo (mg)	530	804
Magnésio (mg)	210,0	324,0
Zinco (mg)	12,5	20,4
Ferro (mg)	9,5	14,4
Selênio (µg)	37	120
Crômio (µg)	65	120
Vitamina A (µg)	2640	3960
Vitamina D (µg)	210	324
Vitamina E (mg)	16	36
Vitamina C (mg)	75	240
Ác. Fólico (µg)	210	324
Vitamina B1 (mg)	1,3	2,4
Vitamina B2 (mg)	1,5	2,8
Vitamina B6 (mg)	1,7	3,2
Vitamina B12 (µg)	5,0	9,6
Niacina (mg)	17,0	32,4
Biotina (µg)	160	480
Ác. Pantotênico (mg)	5,5	15,6

Anexo 2. Escala de risco de Norton:

Escala de Avaliação de Risco de Norton						
Nome do paciente		Nome do examinador		Data da avaliação		
Condição Física	Estado Mental	Atividade	Mobilidade	Incontinência	Total de Pontos	
Bom 4pts.	Alerta 4	Deambulante 4	Total 4	Não 4		
Regular 3pts.	Apático 3	Caminha com ajuda 3	Ligeiramente 3	Ocasionalmente 3		
Ruim 2pts.	Confuso 2	Limitado à cadeira 2	Muito limitada 2	Usualmente/Urina 2		
Muito Ruim 1pt.	Estupor 1	Acamado 1	Imóvel 1	Dupla 1		

Norton D. Calculatin the risk: reflections on the Norton Scale. Decubitus. 1989; 2:24-31.

Anexo 3. Formulários utilizados para caracterização, anotação dos dados laboratoriais e recordatório alimentar de vinte e quatro horas dos pacientes alocados para o estudo:



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – HE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
DISCIPLINA DE NUTROLOGIA

Formulário de Avaliação de Pacientes com Escara de Decúbito

Nome:	Procedência:	Admissão:	Reg Same:
Leito:	Cor: branca ☐ não branca ☐	Sexo: masc ☐ fem ☐	Idade:
Procedente: casa ☐ asilo ☐	Estágio da Escara: ☐ I ☐ II ☐ III ☐ IV		

História Médica e Exame Físico

Osteomielite	Insuf. Cardíaca Congestiva grave	Doença glomerular + Hipoalbuminemia	Insuf. Hepática + Hipoalbuminemia	Injúria de medula	Cardiomegalia
Insuf. Renal Crônica	Corticosteróides	Hipoalbuminemia		Suplement. Vit. C e E	Infecção
Febre	Náuseas	Vômitos	Dispepsia	Dor abdominal	
Disfagia	Regurgitação	Edema	Desidratação	Diarréia	Fumante

Diagnóstico 1
Diagnóstico 2
Diagnóstico 3
Diagnóstico 4
Diag. Nutricional 1
Diag. Nutricional 2

Parâmetros Antropométricos e Laboratoriais

Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	CB (cm)
PCT (mm)	CMB (mm)		
Sódio (mEq/l)	Potássio (mEq/l)	Magnésio (mg/dl)	Cálcio (mg/dl)
Fósforo (mg/dl)	Glicemia (mg/dl)	PT (g/dl)	Albumina (g/dl)
Globulinas (g/dl)	Hcias (mm ³)	Hb (g/dl)	Hto (%)
Sat Fe (%)	Leuco (mm ³)	()	
VCM(mm ³)	HCM (pg)	CHCM (g/dl)	Plaquetas (mm ³)
PCR (mg/dl)	α1-glico (mg/dl)	Fosf. Alc. (U/l)	VHS (mm)
CTLF (mg/dl)	Ferro (mcg/dl)	Ferritina (ng/ml)	Transferrina (mg/dl)
Colesterol (mg/dl)	Trigl (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)
Ác. Úrico (mg/dl)	BT (mg/dl)	BD (mg/dl)	BI (mg/dl)
TGO (U/l)	TGP (U/l)	Vit C (mg/dl)	Vit E (μmol/l)
SRATB (μmol/l)	TNF-α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-13 (pg/ml)
NO (mMol)	IFN-γ (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	

Medicamentos:



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – HE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
DISCIPLINA DE NUTROLOGIA

Recordatório de 24h

Nome: _____ RG: _____
Data: ____/____/____ Número do Inquérito: ____

Refeições	Alimentos	Medida Caseira	Quantidade (g;ml)
Café da Manhã			
Colação			
Almoço			
Lanche			
Jantar			
Ceia			

Anexo 4. Quadro para conversão das medidas caseiras em gramas:

Alimento	Medida caseira e correspondente peso em grama por unidade
Cereais, pães, massas	
Arroz	Colher sopa = 20 / colher grande = 45 / escumadeira média 85 / prato fundo = 290
Aveia	Colher de sopa cheia = 16g/ rasa = 10g
Batata cozida	Colher sopa = 16 / fatia média = 14 / un peq = 68 / un méd = 112 / un grande = 160
Batata frita	Unidade = 5 / colher de sopa = 10 / pires de café = 30 / pires de chá = 45
Batata doce	Xícara de chá = 200
Biscoito maria	Unidade = 4
Biscoito polvilho	Unidade = 5
Bolacha <i>cream-cracker</i>	Unidade = 7
Bolacha doce	Unidade = 6
Bolacha recheada	Unidade = 12
Bolacha wafflers	Unidade = 25
Cará/Inhame	Colher de sopa = 25 / xícara = 136
Ervilha	Colher de sopa = 20
Farinha de mandioca	Colher de sopa = 10
Farinha de trigo	Colher de sopa cheia = 24g / colher de sopa rasa = 13g / xícara rasa = 120/ cheia = 160
Feijão	Colher sopa = 18g / concha pequena = 60g / concha média = 117g / concha grande = 194
Fubá	Colher de sopa = 15
Lazanha	Pedaço pequeno = 130
Macarrão cozido	Colher sopa = 15 / prato sobremesa = 95 / prato raso = 125 / prato fundo = 230
Maizena	Colher de sopa rasa = 11/ colher de sopa cheia = 14 / xícara rasa = 110
Mandioca frita	Pedaço médio = 50
Mandioca cozida	Pedaço médio = 50
Mandioquinha/Aipo	Colher de sopa = 15 / unidade média 114 / fatia = 10
Milho	Colher sopa = 20 / espiga média = 65
Pamonha	Unidade média = 150
Pão de forma	Fatia = 22
Pão de hamburger	Unidade = 80
Pão francês	Unidade = 50
Rosca	Fatia média = 30 / unidade média 63 / unidade grande = 160 / do HE = 63
Pipoca	Xícara de chá rasa = 10

Verduras	
Abóbora moranga	Colher de sopa = 25 / pedaço médio = 20 / pires de chá = 105
Abobrinha	Colher de sopa = 14 / unidade pequena = 72 / média = 110 / grande = 250
Acelga crua	Prato de sopa = 100
Acelga cozida	Colher de sopa = 35 / pires de chá = 70
Agrião	Pires de chá = 15 / prato de sobremesa = 60 / prato sopa cheio = 50
Alface	Folha peq = 3 / média = 6 / grande = 15 / pires chá = 22 / prato de sobremesa = 36 / prato de sopa = 50
Almeirão	Prato de sopa cheio = 50 / xícara = 180
Berinjela	Colher sopa = 27 / escumadeira = 108
Beterraba	Colher de sopa = 14 / fatia fina = 15 / fatia média 20 / unidade média 192
Brócoli	Ramo = 30
Cebola	Cabeça pequena = 26 / cabeça média = 57 / cabeça grande = 98
Cenoura	Fatia = 4 / Colher de sopa = 13 / Unidade média = 75
Chuchu	Colher de sopa = 23 / escumadeira média = 102 / pires de chá = 179
Couve	Colher de sopa = 35 / prato fundo = 88
Couve flor	Colher de sopa = 10
Escarola	Folha = 5 / colher de sopa = 4,5 / pires de chá = 30
Espinafre ref.	Colher de sopa = 30
Jiló	Unidade = 25 / colher de sopa = 16 / colher de arroz = 46 / concha média = 59
Pepino	Colher de sopa = 11 / fatia média = 12 / unidade média = 395
Pimentão	Unidade média = 73
Quiabo	Unidade = 20 / colher de sopa = 16
Rabanete	Unidade = 20
Repolho	Colher de sopa = 22
Rúcula	Prato de sopa = 50
Tomate	Fatia média = 18 / unidade média = 90
Vagem	Colher sopa = 16
Frutas	
Abacate	Unidade pequena = 145 / média = 290 / grande = 394
Abacaxi	Fatia fina = 70 / média = 100 / grossa = 150
Ameixa	Unidade pequena = 30 / média = 37 / grande = 47
Banana	Unidade pequena = 40 / média = 60 / grande = 80
Cana de açúcar	Gomo médio = 86 / caldo, copo médio = 200
Caqui	Unidade pequena = 100 / média = 168
Carambola	Unidade média = 128
Coco seco ralado	Colher de sobremesa = 9 / colher de sopa = 13

Coco verde água	Unidade pequena = 318 / média = 365 / grande = 500
Coco verde polpa	Unidade pequena = 12 / média = 40 / grande = 95
Figo	Unidade pequena = 40 / média = 60
Goiaba	Unidade pequena = 60 / média = 90
Kiwi	Unidade = 70
Laranja	Unidade pequena = 125 / média = 150 / grande = 170
Limão	Unidade grande = 60
Maça	Unidade pequena = 100 / média = 150 / grande = 190
Mamão	Fatia fina = 80 / média = 100 / grossa = 150
Manga	Unidade média = 150
Maracujá	Unidade pequena = 31 / média = 38 / grande = 75
Melancia	Fatia fina = 120 / média = 150 / grossa = 180
Melão	Fatia fina = 100 / média = 170 / grossa = 200
Mexirica	Unidade média = 120 / grande = 150
Morango	Unidade pequena = 3 / média = 10 / grande = 12
Nectarina	Unidade média = 60
Pêra	Unidade média = 140 / grande = 170
Pêssego	Unidade pequena = 70 / média = 87
Pitanga	Unidade média = 5
Salada de frutas	Taça = 100
Tamarindo	Unidade média = 15
Uva	Cacho pequeno = 80 / médio = 130 / grande = 230
Carnes, ovos, peixes	
Atum ou sardinha	Filé = 30 / lata = 135
Bacalhau cozido	Concha média = 90
Bife de fígado	Unidade grande = 130
Bife de vaca	Unidade pequena = 60 / média = 90 / grossa = 120
Cabrito	Pedaço médio com osso = 110
Camarão frito	Unidade grande = 48
Camarão seco	Xícara de chá = 128
Carne de vaca cozida	Fatia fina = 40 / média = 75 / grossa = 130
Carne de vaca moída	Colher de sopa = 30
Frango	Asa = 33 / Coxa = 46 / Sobrecoxa = 65 / File de peito = 125 / Peito com osso = 164
Hamburger	Unidade pequena = 40 / unidade média = 85
Lingüiça	Unidade média = 60 / Sadia (15cm) = 89
Mortadela/Salame	Fatia fina = 10 / média = 12 / grossa = 40
Omelete	Unidade média = 64
Ovo cozido	Galinha = 50 / Codorna = 9

Peixe	Posta média = 100
Porco	Bisteca = 100 / Costela 115
Presunto/Apresuntada	Fatia fina = 12 / média = 24 / grossa = 44
Salaminho	Fatia fina = 5 / média = 10 / grossa = 20
Salsicha	Unidade Frankfurt = 29 / Viena = 23
Queijos	
Iogurte	Pote = 120
Leite	Copo americano = 150 / Xícara de chá = 160 / Copo de requeijão = 250
Queijo minas	Fatia média = 45
Queijo mussarela	Fatia fina = 10 / média = 15 / grossa = 43
Queijo parmesão ralado	Colher de sopa = 25 /
Requeijão	Colher de sobremesa = 20 / Colher de sopa = 40
Ricota	Fatia média = 40
Doces	
Açúcar	Colher de café = 2 / chá = 3,5 / sobremesa = 10 / sopa = 15
Bacon	Fatia = 17
Bala/ pirulito	Unidade = 5
Bolo	Pedaço médio = 40 / grosso = 60
Chiclete	Unidade = 5,5
Chocolate	Pedaço pequeno = 20
Chocolate em pó	Colher de sopa
Creme de leite	Colher de sopa cheia = 15 / lata = 300
Doce de frutas	Fatia pequena = 37/ média = 45
Doce de leite	Colher de sopa = 50
Gelatina	Colher de sopa = 30 / tigela pequena = 100
Manteiga/margarina	Colher de chá = 5 / colher de sopa cheia = 30 /
Mel	Colher de sopa cheia = 25
Óleo	Colher de sopa = 12 / chá = 4
Pudim	Colher de sopa = 30 / tigela = 124
Refrigerante/Cerveja	Copo americano = 150 / copo requeijão = 250 / garrafa média = 290 / lata = 350
Sorvete bola	Bola pequena = 30 / bola média = 60 / xícara de chá = 133 / Sundae Kibon = 90
Sorvete palito (picolé)	Unidade = 66
Diversos	
Amendoim/Castanha	Unidade = 1,5 / xícara de chá = 160
Aveia/Neston/Farinha láctea/Mucilon	Colher de chá = 1,8 / sobremesa = 5,5 / sopa = 11

Azeitona	Unidade = 5
Catchup/ mostarda/ maionese	Colher de chá = 2 / colher de sopa = 12
Coxinha	Unidade média = 98
Empada	Unidade média = 57
Enroladinho (massa de pão com salsicha)	Unidade pequena = 85
Mini-pizza (mussarela + tomate)	Unidade = 98
Pastel	Unidade pequena = 50
Pão de queijo	Unidade pequena = 60 / unidade grande 88
Pizza	Fatia média = 120 / pedaço pequeno = 98
Quibe	Unidade média = 80
Flocos salgado de milho	1 pires de chá cheio = 18 / 1 prato fundo raso = 29 / 1 xícara de chá = 14
Sopa liquidificada	* marmitex = 450
Sopa macarrão/batata/cenoura/ carne	Marmitex raso = 522
Steak de frango	Unidade = 77
Flocos de milho com açúcar	1 pires de chá cheio = 32 / 1 prato fundo raso = 58 / 1 xícara de chá = 36
Sustagen/Ensure/Sustacal	Medida da lata = 9,8

http://www.uftm.edu.br/instpub/fmtm/nutrologia/tabela_de_medidas_caseiras.htm

