

MIGLIACCI, Livia

Avaliação da capacidade de cicatrização da epiderme e derme de *Rattus norvegicus albinus* submetidos à emulsão de Vitamina K a 10% após lesão cutânea induzida.

Orientadora: Jeanete Moussa Alma
Co-Orientadora: Adriana I.C. de Carvalho

São Paulo
2005

Avaliação da capacidade de cicatrização da epiderme e derme de *Rattus novergicos albinos* submetidos à emulsão de Vitamina K a 10% após lesão cutânea induzida.

Resumo

Introdução: A vitamina K é um cofator lipídico necessário para a coagulação sanguínea normal, pode ser encontrado na forma de K1 (filoquinona), K2 (menaquinona) e K3 (forma sintética). Na pele acelera a cicatrização de lesões, promovendo queda nos níveis dos ácidos mucopolissacarídeos e do colágeno sem interferir nos níveis de elastina. A vitamina k na cosmetologia auxilia rejuvenescimento da pele. **Objetivo:** Avaliar a capacidade de cicatrização da epiderme e derme de *Rattus novergicos albinus* submetidos à emulsão de Vitamina K a 10% após lesão cutânea induzida. **Metodologia:** Foram utilizados 08 ratos machos da espécie *Rattus novergicos albinus* da linhagem Wistar, com aproximadamente 24 a 26 semanas de idade, e peso de 350 gramas em média. Mantidos no biotério da instituição segundo o que preconiza o COBEA. Distribuídos em dois grupos: Grupo 1 controle (lesionados de forma induzida e tratados com emulsão placebo) e Grupo 2 propósito (lesionados de forma induzida e tratados com emulsão de vitamina K).As aplicações ocorreram durante 21 dias consecutivos, ao 21º dia foram sacrificados e retirados fragmentos que foram fixados e incluídos.Lâminas foram montadas através, de bateria de coloração para Hematoxilina e Eosina (HE). **Resultados:** Ambos os grupos foram lesionados na epiderme, no grupo 1 a cicatrização é imperfeita; possui hiperpigmentação,a estrutura arquitetônica esta desorganizada enquanto que a derme apresenta infiltrado leucocitário, nota-se numerosas glândulas , granulações e fibras desorganizadas na epiderme. Há formação incorreta de tecido conjuntivo. No grupo 2 nota-se organização arquitetônica da epiderme e há completa reparação de todo o tecido de epiderme até adiposo.**Conclusão:**O uso tópico de emulsão de vitamina K 10%, aplicada em lesão cutânea induzida, apresentou-se satisfatória no que se refere ao processo de cicatrização de epiderme e derme de *Rattus novergicos albinos*.

Unitermos: Cicatrização, Vitamina K, senil.

1.0 Introdução

De modo geral as vitaminas são substâncias orgânicas de complexidade variável, composta por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio. Funcionam como catalisadores bioquímicos, e são necessárias em quantidades pequenas (CHAMPE, 1996). Das vitaminas lipossolúveis, a vitamina K é a única que possui função de coenzima na carboxilação de certos resíduos de ácido glutâmico presente em algumas proteínas responsáveis pela coagulação sangüínea. (PARADA,2003). Esta vitamina é liberada, absorvida e transportada com a gordura da dieta. Elas não são facilmente excretadas na urina, em quantidades significativas são armazenadas no fígado e tecido adiposo. (CHAMPE, 1996). A vitamina K é encontrada em vegetais clorofilados, tais como alface, espinafre, couve-flor e repolho. (PARADA,2003). O principal papel da vitamina K é a modificação pós-traducional de vários fatores de coagulação do sangue. (CHAMPE, 1996).

A vitamina K apresenta-se de diversas formas, a principal é a filoquinona ou vitamina K1 encontrada em folhas verdes dos vegetais, menaquinona ou vitamina K2 que é sintetizada por bactérias intestinais, e a menadiona ou vitamina K3, composto semelhante à série da vitamina K, mas não é encontrada naturalmente, porém se administrada é alquilada in vivo a uma das menaquinonas. (MURRAY, 1998). No homem, quando em baixas concentrações, exerce funções na biossíntese da protrombina no fígado. (CHAMPE, 1996).

A protrombina é uma enzima proteolítica que hidrolisa ligações peptídicas específicas na proteína sangüínea fibrinogênio, convertendo-o em fibrina, a proteína fibrosa insolúvel que mantém a estrutura do coágulo. (LEHNINGER, 1995).

A coagulação do sangue é um processo bioquímico complexo. A vitamina K não participa da coagulação, mas é imprescindível na biossíntese da protrombina e da proconvertina. (LEHNINGER, 1995). Não estão ainda determinadas as doses mínimas diárias necessárias para manter a normalidade da coagulação. Admite-se como sendo 0,5 a 1 microgramas por kg de peso o mínimo necessário. (EYE,

2002). No homem, os sintomas de deficiência são muito raros, porque a flora intestinal produz a vitamina em quantidades suficientes para contribuir significativamente para o seu fornecimento. (KARLSON, 1967).

A vitamina K combate às doenças de pele e previne e ameniza as características do envelhecimento, acelera a cicatrizações de lesões, pois no tecido conjuntivo promove queda nos níveis dos ácidos mucopolissacarídeos e do colágeno sem interferir com os níveis de elastina. Este fato indica a terapia da vitamina K na cosmetologia para rejuvenescimento da pele. (EYE, 2002).

A cicatriz é uma reparação conjuntiva e epitelial da pele ulcerada, ou destruída. É lisa, sem poros, pêlos e saliências da pele normal; rósea, hiperpigmentada ou hipocrômica, plana saliente ou deprimida, móvel ou aderente e retrátil. (BECHELLI, 1975) Pode assumir aspecto e cor da pele normal ou torna-se retraída, irregular, espessa, saliente e consistente ao tato como na *cicatriz queloidiana*. O valor das cicatrizes para diagnóstico retrospectivo é pequeno, pois indicam grosseiramente a forma, extensão e profundidade da lesão original. (BECHELLI, 1975)

O processo de cicatrização exige nutrientes específicos e um bom estado nutricional geral do indivíduo. A fase inicial é chamada de inflamatória e caracteriza-se pela homeostase, coagulação, ativação da resposta imune local, fagocitose e a migração celular, sendo a vitamina K fundamental neste momento, tanto isso é verdade que em estados de carência de vitamina K há um aumento no tempo de cicatrização. (SOUZA, 2003).

Visto que é comprovada a ação da Vitamina K, em terapia sistêmica no que se refere à cicatrização; o presente estudo se propõe a observar micro e macroscopicamente a epiderme de *ratos novergicos albinos* quando submetida à ação tópica da vitamina K imediatamente após lesão provocada na epiderme e derme.

2.0 Objetivo

Avaliar a capacidade de cicatrização da epiderme e derme de *Rattus norvegicus albinus* submetidos à emulsão de Vitamina K a 10% após lesão cutânea induzida.

3.0 Metodologia e desenvolvimento

3.0 Metodologia e Desenvolvimento

3.1 Amostra

Foram utilizados 08 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus albinus* da linhagem Wistar, com aproximadamente 24 a 26 semanas de idade, e peso de 350 gramas em média. Mantidos no biotério da instituição, segundo o que preconiza o COBEA¹.

3.2 Emulsão de vitamina K e placebo

Origem: Manipulação

Farmácia: Manipularis

Farmacêutico Responsável: Theóphilo Marinho Neto

3.3 Procedimento

Os 08 ratos foram distribuídos em dois grupos denominados: Grupo 1 controle e Grupo 2 propósito. Ambos os grupos, após sedação e verificação da ausência de reflexos, foram submetidos a corte longitudinal da epiderme e derme, com aproximadamente 3,5 centímetros. Todos receberam desde o primeiro dia dipirona sódica, diluída em água, para eliminar a sensação de dor. O controle foi tratado com emulsão placebo e propósito com emulsão de vitamina K a 10%.

3.4 Aplicação

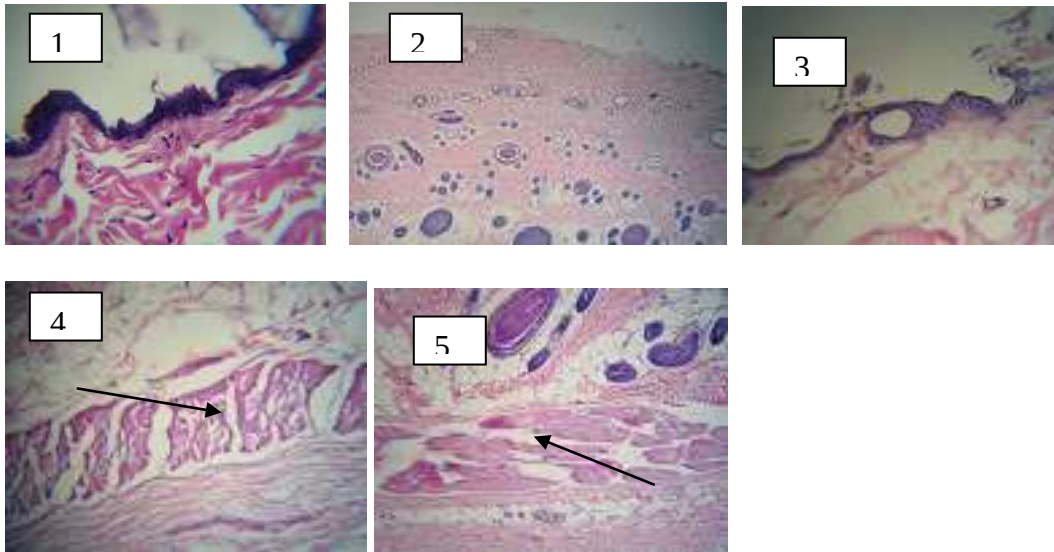
Feita diariamente em um período de 20 dias por um mesmo pesquisador no mesmo horário. Tomou-se a região da coxa posterior esquerda e direita, respectivamente controle e propósito em um mesmo animal. O parâmetro de delimitação adotado foi a coluna vertebral correspondente ao metâmero lombar.

3.5 Obtenção da Biopsia e coleta de dados.

No 21º dia de tratamento, os animais foram induzidos em câmara de inalação, e verificada a diminuição dos reflexos sacrificados por injeção de 0,4ml de Pentobarbital 118mg/Kg. (DL₅₀ - Merck Index). Por meio de material cirúrgico esterilizado, foi removido fragmento do tecido tratado. Os fragmentos retirados foram fixados e incluídos, e lamínas foram montadas através de bateria de coloração para Hematoxilina e Eosina (HE).

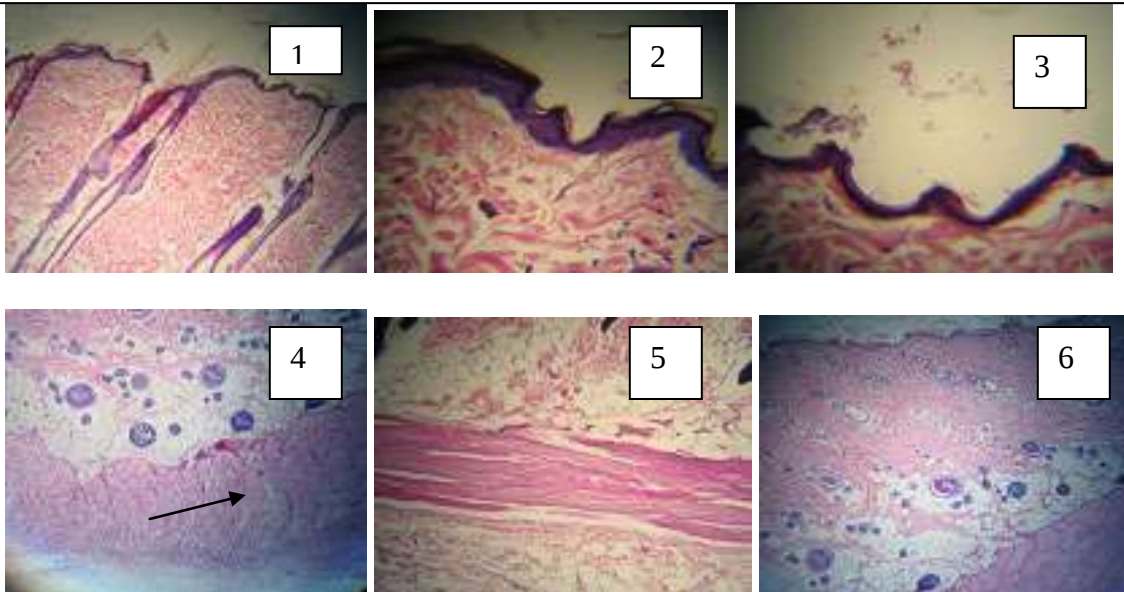
¹ Colégio Brasileiro de Experimentação animal.

4.0 Resultados



CORTES HISTOLÓGICOS DE PELE DE RATO COM LESÃO INDUZIDA E TRATADA COM EMULSÃO PLACEBO

Figura 1 epiderme de rato com lesão induzida cuja cicatrização é imperfeita, pois se observa que a epiderme possui hiperpigmentação e sua estrutura arquitetônica esta desorganizada enquanto que a derme apresenta infiltrado leucocitário. Na figura 2 a derme apresenta-se desorganizada na região onde foi induzida a lesão, numerosas glândulas e granulações. Na figura 3 observa-se a fibras desorganizadas na epiderme. A seta na figura 4 mostra a formação incorreta de conjuntivo e tecido muscular comprometido (próximo às células adiposas) o mesmo observa-se na figura 5, onde a desordem do conjuntivo é notada (seta).



CORTES HISTOLÓGICOS DE PELE DE RATO COM LESÃO INDUZIDA E TRATADA COM EMULSÃO DE VITAMINA K

As Figuras 1, 2 e 3 mostram a epiderme com cicatrização após utilização de emulsão de vitamina K, note que a organização arquitetônica da epiderme foi completamente restabelecida. Na figura 4 (seta) nota-se a formação de fibras conjuntivas completamente reparadas. O mesmo observa-se na figura 5. Na figura 6 observa-se todo o tecido de epiderme até adiposo completamente integro.

5.0 Considerações finais e Conclusão

O processo de cicatrização exige nutrientes específicos e um bom estado nutricional geral do indivíduo. A fase inicial é chamada de inflamatória e caracteriza-se pela homeostase, coagulação, ativação da resposta imune local, fagocitose e a migração celular. A vitamina K é fundamental neste momento. (SOUZA, 2003).

Tal processo ocorre de duas formas específicas ditas, primeira e segunda intenção. A **primeira intenção** refere-se ao tipo de reparação nas quais as bordas do tecido dilacerado ficam relativamente próximas, podendo-se fechar mecanicamente, com certa facilidade, a brecha produzida pela injúria através do mecanismo reparativo, iniciado pela hemorragia e seguido pela inflamação e cicatrização. A partir do coágulo e do tecido lesado, são liberados fatores quimiotáticos e vasoativos que promovem a exsudação de fagócitos do sangue para as margens da lesão. Após 6 horas, a margem da ferida já contém fagócitos, com 24 horas há o predomínio dos neutrófilos, e com 48 horas o número de fagócitos decresce enquanto que o de macrófagos apresenta-se aumentando (BOGLIOLLO, 1998).

Nesse intervalo, as células da camada basal da epiderme entram em mitose, migrando sobre a superfície do coágulo, visando recompor o epitélio. Os fibroblastos presentes nas margens são ativados, proliferam-se e migram em direção ao coágulo, passando assim a sintetizar os elementos da matriz extracelular. O endotélio dos capilares adjacentes emite filopódos, que digerem a lamina basal, para alongar-se no espaço intersticial, formando prolongamentos que formem uma nova célula endotelial. Após diversas mitoses, formam-se brotos em direção ao coágulo. O tecido conjuntivo frouxo é formado, rico em capilares sangüíneos contendo leucócitos e matriz extracelular composta de fibras colágenas (Tipo III), que recebe o nome de tecido de granulação. Esse tecido é edemaciado, já que não apresenta estruturas juncionais e permite a passagem de lipídios para o interstício. Em cerca de 5 dias, o tecido de granulação já ocupa

toda a ferida e a epiderme retorna a espessura normal e inicia a queratinização. (ROBBINS, 1996).

Com o tempo, o colágeno tipo I passa a predominar em relação ao tipo III e as fibras colágenas tornam-se mais grossas e compactas. Nas semanas seguintes, os fibroblastos sintetizam actina causando a contração da cicatriz, aproximando as bordas da ferida (ROBBINS, 1996).

Já a chamada cicatrização por segunda intenção, refere-se à reparação, na qual as bordas ficam muito afastadas para que o processo primário de reconstrução mecânica permita uma reparação *ad integrum*, ou existam corpos estranhos ou agentes infecciosos que impeçam ou compliquem a inflamação ou reparação para atingir a recuperação total.

Nestes casos pode existir uma inflamação exsudativa ou produtiva mais prolongada ou crônica, bem como um franco predomínio da permanência do tecido de granulação, até chegar à restauração total do tecido, e o coágulo formado fica sujeito a infecções. Surge reação inflamatória exuberante e uma intensa exsudação de fagócitos causando uma formação abundante de tecido granuloso. (BOGLIOLLO, 1998)

Como as bordas da ferida são distantes, a regeneração é lenta. As células da epiderme proliferam-se a partir das margens, onde ocorre hiperplasia devido a grande quantidade de fatores de crescimento liberados. (ROBBINS, 1996)

Este tipo de ferida sofre as mesmas transformações que a cicatrização de primeira intenção, mas é muito mais intensa e evidenciável a retração da cicatriz pelos miofibroblastos. A resistência da cicatriz aumenta com o passar do tempo, mas não retorna ao original.

Desta forma os pesquisadores avaliaram que a vitamina K, poderia agir sobre o processo de cicatrização, visto a vasta literatura sobre os efeitos benéficos da Vitamina K em processos de cicatrização. Pareceu-nos interessante pesquisar suas ações tópicas e sua aplicabilidade principalmente se tal vitamina mantiver sua ação anti-hemorrágica sobre a superfície da pele lesada, por exemplo, em pós-operatório e como auxiliar no processo de reparação. Além disso o custo da

vitamina K possibilita sua utilização por vários extratos sociais, pois quando comparada aos similares cosmecêuticos ou medicamentosos oferecidos em farmácias com a finalidade de cicatrização, nota-se que também a via de administração tópica favorece seu uso pelo paciente.

A vitamina k é encontrada com facilidade em qualquer vegetal clorofilado, o estudo, portanto sua extração e manipulação tornam-se fácil, e sua aplicabilidade na clínica de reabilitação de pacientes com problemas de cicatrização é viável.

Ao comparar as laminas de ratos submetidos à lesão induzida e tratados com emulsão de vitamina K e emulsão placebo nota-se que os tecidos tratados desenvolveram a cicatrização e a reparação de forma mais efetiva, pois observados a luz da microscopia apresentam-se com sua organização histológica semelhante a tecidos não lesionados. Em contrapartida, os tecidos não tratados com vitamina k, ou seja, tratados com emulsão placebo apresentam desordem na estrutura arquitetônica da derme e da epiderme.

Concluimos então, que o uso tópico de emulsão de vitamina K 10%, aplicada em lesão cutânea induzida, apresentou-se satisfatória no que se refere ao processo de cicatrização de epiderme e derme de *rattus novergicos albinus*, pois o tempo e a reparação do tecido comparado ao controle ocorreram de modo mais rápido e mais próximo de um tecido normal.

6.0 Referências Bibliográficas.

KARLSON, Peter. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1967. Cap XXII. p.465.

CHAMPE, Pamela. **Bioquímica Ilustrada**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. Cap 28. p. 344-6.

LEHNINGER, L. Albert; NELSON, L. David; COX, M. Michael. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. Cap. 9. p. 194

PARADA, Carlos Ferreira (coordenador) et al. **Bioquímica Básica 2003**. São Paulo: MNP, 2003. Cap.IV.

EYE, Guenther Von. **Vitaminas Lipossolúveis**. Disponível em: <<http://abcdocorposalutar.com.br/artigo.php?codArt=380#vk>>. Acesso em : 05 fev. 2005.

SOUZA, Thelma Theodoro. **Vitamina K**. Disponível em: <<http://nutricaoempauta.com.br/novo/47/entparent.html>>. Acesso em: 05 fev. 2005.

ALMA, Jeanete Moussa; VIEIRA, A.M; AMORIM, C.R.; ALVES, D.O; OLIVEIRA, K.C.R; ALVES, F.O. **Aparelho de Anestesia Para Ratos: Sistema Anti- Poluição**, Catanduva, SP; III Congresso Médico Acadêmico; Inst. Promotora/financiadora: Faculdade de Medicina de Catanduva, 1999.

MURRAY, Robert K. et al. **Harper: Bioquímica**. São Paulo: Atheneu, 1998. Cap. 53

ALMA, Jeanete Moussa. **A importância dos Métodos de Coloração Histológicas para Identificação de Lesões de Pele**, como método que auxilia na Formulação precisa de Cosmecêuticos, 1999.

BECELLI, L. M.; CURBAN, G. V. **Compêndio de Dermatologia**. São Paulo: Atheneu, 1975. p.35

ROBINS, S. L, et al, **Patologia Estrutural e Funcional**, 5 ed., Rio de Janeiro, RJ, Ed. Guanabara Koogan, 1996, p. 76-78

BRASILEIRO FILHO, G.; BOGLIOLO, **Patologia Geral**, 2 ed., Rio de Janeiro, RJ, Ed. Guanabara Koogan, 1998, p. 62-64

