

AÇÃO DA VITAMINA C NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO CELULAR

THE ACTION OF VITAMIN C IN THE CELLULAR HEALING PROCESS.

ESTER, Leticia; CAMPOS, Nayhara;

ALVAREZ DE PRAX, Marisa Professora Doutora do Curso de Biomedicina da Universidade
São Francisco;

RESUMO. A vitamina C tem sido amplamente utilizada nos últimos anos como ativo em produtos de dermocosméticos devido a sua capacidade oxidante que oferece à pele um aspecto mais jovial e iluminado, tornando seu uso cada vez mais popular na rotina de cuidados de milhares de pessoas. Pensando na acessibilidade desse ativo e em suas propriedades conhecidas, o presente trabalho visa testar a capacidade dessa vitamina no processo de regeneração celular, quando utilizada de forma tópica, e avaliar a possibilidade de sua utilização no tratamento de cicatrizes. Para tal, foi utilizada a técnica de migração celular, onde fibroblastos cultivados em placas foram tratados com o Ácido Ascórbico e incubados por um período aproximado de 48 horas. O resultado foi avaliado por microscopia e os dados foram contabilizados, resultando em um aumento de 260% de migração celular com o uso da vitamina C e de 465,22% com a utilização de Bepantol referente ao controle positivo, demonstrando uma melhora significativa do produto para os devidos fins pesquisados.

Palavras-chave: fibroblasto; cicatrização; regeneração celular; vitamina C; bepantol; ácido ascórbico; dermocosméticos.

ABSTRACT. Vitamin C has been widely used in recent years as an active ingredient in dermocosmetic products due to its oxidizing capacity, which gives the skin a more youthful and radiant appearance, making its use increasingly popular in the skincare routines of thousands of people. Considering the accessibility of this active ingredient and its well-known properties, the present study aims to test the ability of this vitamin in the process of cell regeneration when applied topically and assess the possibility of its use in scar treatment. To do so, the cell migration technique was employed, where fibroblasts were fortified with Ascorbic Acid, cultured in plates, and incubated for an approximate period of 48 hours. The results were evaluated through microscopy, and the data were quantified, resulting in a 260% increase in cell migration with the use of vitamin C and a 465.22% increase with the use of Bepantol, demonstrating a significant improvement of the product for the intended research purposes.

Keywords: Fibroblast; cell regeneration; vitamin C; Bepantol; ascorbic acid; dermocosmetics.

INTRODUÇÃO

A vitamina C, também chamada de ácido ascórbico (AA), é uma vitamina hidrossolúvel, termolábil e encontrada principalmente em frutas cítricas, que ganhou notoriedade desde o século 16 devido à onda de escorbuto que ocorreu durante as grandes navegações marítimas por conta da má alimentação adotada pelos navegadores da época (Azulay, Mônica M. et al. 2003). Segundo Guadalupe Fernández Morente e Ignacio Fernández Via, historiadores e repórteres da National Geographic Portugal, estima-se que só na primeira navegação de Vasco da Gama à Índia, ele tenha perdido cerca de dois terços de sua tripulação devido a essa doença, que apesar de conhecida desde a antiguidade, não havia sido relacionada até o momento com a deficiência de ácido ascórbico.

Foi apenas em 1747, com os experimentos realizados pelo médico escocês James Lind, que a cura do escorbuto foi associada à ingestão de frutas cítricas (White, Marcus. 2016). Hoje em dia, sabe-se que, além da prevenção dessa patologia, a AA é fundamental para a integridade das paredes dos vasos sanguíneos e, devido a sua propriedade oxidante, é um poderoso auxiliador do sistema de defesa e da produção das células colágenas, principais protagonistas no processo de cicatrização celular, ou seja, do reparo de tecidos lesionados (Azulay, Mônica M. et al. 2003).

A cicatrização celular é um processo fundamental para a integridade do nosso corpo, pois é nela que ocorre o reparo de tecidos lesionados, evitando sangramentos excessivos, infecções, entre outros (Falanga, 2005). A cicatrização se refere a uma sequência de reparos no tecido lesionado, composta por inflamação, proliferação celular de fibroblastos, remodelação, contração da ferida e epitelização (Humbert, P. et al. 2018). Nesse processo, as proteínas atuaram firmemente na síntese de colágeno, um componente da matriz extracelular central que atua sustentando e mantendo os tecidos e células unidas e, para sua formação é necessário a presença de aminoácidos, vitaminas e minerais. As vitaminas do complexo B, Tiamina (vitamina B1) e Riboflavina (vitamina B2), são utilizadas como cofator no metabolismo de colágeno. A Piridoxina (vitamina B6), como coenzima na ativação da síntese proteica e a Cobalamina (vitamina B12), como coenzima na síntese de DNA e proteínas (BOTTONI et al., 2011). A vitamina C (ácido ascórbico) é essencial para a síntese de colágeno e para a produção de n-acetil galactosamina, um componente de matriz e tecido de granulação. As deficiências de vitamina C diminuem a resistência da ferida à tensão e atrasam a cicatrização da lesão (HALLORAN; SLAVIN, 2002). Sendo assim, a Vitamina C é considerada uma grande aliada do nosso organismo, auxiliando e sustentando diversos processos metabólicos, incluindo o processo de cicatrização (Pullar, Juliet M. et al. 2017).

Ao que se refere a seu uso tópico, estudos clínicos realizados por um dermatologista, em um ensaio prospectivo, aberto e não controlado, demonstram que após 12 semanas utilizando um sêrum que continha ácido ascórbico, foi observado a diminuição nas rugas, aumento da firmeza cutânea e redução da vermelhidão (Gondelberg, DJ. et. al. 2019). Já em um ensaio randomizado, controlado, foi avaliado o microagulhamento combinado à vitamina C, onde metade da face dos participantes era utilizada o sêrum de Vitamina C e a outra metade não. Foram realizadas quatro sessões de tratamento e notou-se a melhora da hidratação e da firmeza cutânea, melhora na elasticidade e diminuição do eritema para os participantes que

utilizaram o s rum. Nos participantes que não o utilizaram, observou-se apenas uma melhora da hidratação cutânea (Zasada, M. et al. 2019).

Esses estudos demonstram que a Vitamina C é um grande aliado da pele e sua utilização poderia ser uma grande aliada aos tratamentos de cicatrização, principalmente no âmbito dos dermocosméticos, a fim de tratar lesões causadas por acne, cirurgias, tratamentos est ticos e muitos outros. Ao que se refere ao campo da skincare, a vitamina C já vem sendo utilizada para deixar a pele mais iluminada e com um aspecto mais jovial e devido a sua popularização, tornou-se um produto mais acessível aos diversos públicos.

Nesse contexto, este trabalho se propõe a realizar uma análise comparativa da eficácia da vitamina C como agente de cicatrização de uso t pico, utilizando o teste de migração celular, a fim de averiguar a possibilidade da utilização de vitamina C como substituto ou tratamento complementar durante o processo de cicatrização. Como escolha de comparação, foi utilizado o Bepantol  Derma Creme Multi Restaurador. Seu princípio ativo é o dexpantenol, que possui ação comprovada no processo de reparação celular. O dexpantenol, atua penetrando as camadas internas da pele e transformando-se em vitamina B5, deixando a pele nutrida e fortalecida, estimulando a formação e regeneração natural da pele (Anvisa, 2022).

Para realizar tal comparação, foi utilizada a técnica de migração celular, esse ensaio consiste em criar uma "ferida" linear em uma monocamada celular e acompanhar, por meio de imagens, o preenchimento dessa lacuna ao longo do tempo. O ensaio   útil para tipos celulares como queratinócitos e fibroblastos da pele e permite estudar a migração coletiva de células em condições altamente controladas. No processo de cicatrização de feridas, as células desempenham papéis distintos em fases como coagulação, inflamação, migração-proliferação e remodelação. A migração celular é essencial para a restauração da estrutura e função da pele, especialmente dos queratinócitos, que migram para preencher a ferida. Em suma, o ensaio de cicatrização de feridas in vitro é uma ferramenta valiosa para entender e quantificar a migração celular coletiva em diferentes contextos experimentais, particularmente em processos fisiológicos e patológicos relacionados à pele (Falanga, 2005).

METODOLOGIA

Desenho Experimental

Os fibroblastos humanos (ATCC SCRC-1041 Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ)) foram incubados com 3 concentrações não-citotóxicas dos produtos avaliados e submetidos ao teste de migração celular (scratch assay) para posterior avaliação da migração celular. Como controle positivo para estimular essa migração, utilizou-se TGF- 1- R&D na concentração de 10 ng/mL.

Cultura de fibroblastos humanos

Fibroblastos humanos primários foram semeados em garrafas de 75cm , cultivados e expandidos em incubadora a 37  C em presença de 5% de CO , utilizando meio de cultura

suplementado (Dulbecco's Modified Eagle Medium- DMEM (Lonza) suplementado com 10% soro fetal bovino, 0,1% de Amphotericin B e 0,5% de Penicilina-estreptomicina(Gibco). Ao atingirem confluência, as células foram semeadas em placas de 96 poços a 1×10^4 para determinação das concentrações não citotóxicas dos produtos avaliados e para posterior incubação com o produto avaliado no ensaio de migração celular.

Determinação das concentrações não citotóxicas para ensaio de eficácia

Vinte e quatro horas após semear o plaqueamento, cada poço contendo 1×10^4 , as placas foram tratadas com oito contrações distintas da Vitamina C utilizando o fator de diluição de 3,16(100mg/ml - 0,03 mg/ml). Para a realização do ensaio, foi utilizado o serum de Vitamina C 22% da marca Cetopic. O mesmo foi feito com o Bepantol Derma, mas a uma concentração inicial de 50mg/mL, fator de diluição de 3,16 (50mg/mL a 0,015 mg/mL). A viabilidade celular foi determinada pelo método colorimétrico que utiliza o corante MTT ((3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide; Sigma, St. Louis, Mo.).

A placa foi incubada por um período de 48 horas, o meio foi removido e a placa foi lavada com PBS 1X. O MTT foi adicionado à cultura na concentração de 0,75mg/mL (100 μ L/poço) e incubado por 2 horas adicionais. O conteúdo do poço foi removido e 100 μ L de isopropanol com HCL a 0.004N foi adicionado com o propósito de solubilizar os cristais de formazan formados. A absorbância de cada poço foi determinada a 570nm no monocromador Multiskan GO (Thermo Scientific, Finlândia). A viabilidade celular foi expressa em porcentagem e calculada conforme a equação:

$$\% \text{ Células Viáveis} = \frac{\text{absorbância do produto com as células}}{\text{absorbância do controle}} \times 100$$

Protocolo de tratamento das culturas celulares

Foram semeadas em placas de 24 poços, 5×10^4 células por poço, as culturas celulares foram incubadas em 3 concentrações não-citotóxicas do produto diluídas em meio de cultura suplementada. As concentrações dos produtos avaliados Vitamina C foram 1,0; 0,32 e 0,10 mg/mL e do Bepantol foram 0,1; 0,032 e 0,01 mg/mL. As células foram mantidas em contato com o produto avaliado por 48 horas.

Ensaio de migração celular

Após o tratamento, o meio de cultura foi removido e o scratch foi realizado com auxílio de uma ponteira de 1000 μ L. As células foram mantidas em 500 μ L de meio de cultura suplementado por adicionais 24 horas e, em seguida, fixadas com 400 μ L de paraformaldeído ao 4% e coradas com 300 μ L de cristal violeta por 15 minutos (Xenometrix In Cytotox CVDE – Cristal Violet Dye Elution – Newpeov Cat. KCV96.1200). Os poços foram fotografados

utilizando microscópio óptico invertido (Nikon) e o software ImagePro®. A avaliação da migração celular e sua semi-quantificação foi feita através do software de análise de imagens ImageJ (versão 1,48).

Análise estatística

Na avaliação estatística utilizou-se o teste ANOVA que permitiu mensurar a variação dos resultados, comparando os dados entre os grupos. Em seguida foi aplicado o pós-teste Bonferroni, que reforçou e tornou ainda mais preciso o resultado apresentado no teste ANOVA. Foi utilizado o nível de significância de 5% (GraphPad Prism v6).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade celular

Após o ensaio de MTT podemos observar nas Figuras 1 e 2, que os produtos avaliados Vitamina C 22% e Bepantol® apresentaram concentrações não citotóxicas a partir da diluição 1,0 mg/mL e 0,50 mg/mL respectivamente.

Fonte: Autoria própria (2023).

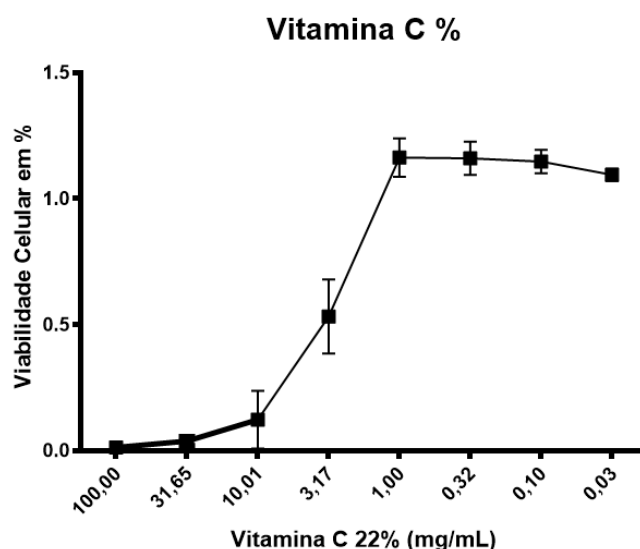


Figura 1- Gráfico de Avaliação das concentrações não-citotóxicas do produto avaliado Vitamina C 22% em fibroblastos humanos após 48 horas de incubação pelo método do MTT.

Fonte: Autoria própria (2023)

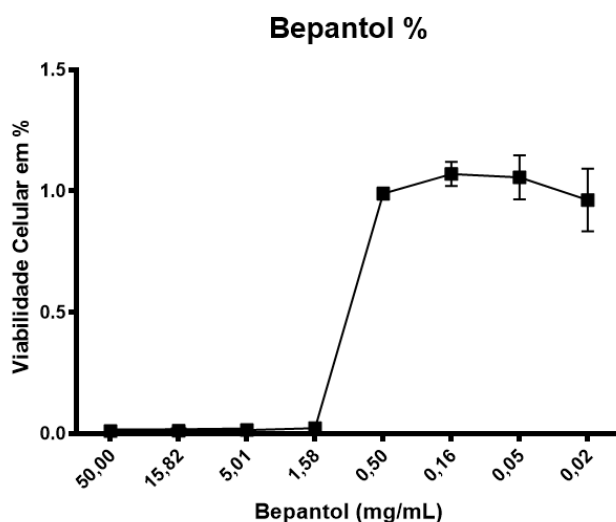


Figura 2- Gráfico de Avaliação das concentrações não-citotóxicas do produto avaliado Bepantol® em fibroblastos humanos após 48 horas de incubação pelo método do MTT.

De acordo com resultados obtidos, foram utilizados três concentrações não citotóxicas, que correspondem a 1 mg/ml, 0,32 mg/ml e 0,10 mg/ml da solução de vitamina C 22%, e as concentrações equivalentes de 0,50 mg/ml, 0,16 mg/ml e 0,05 mg/ml da solução de Bepantol, nos ensaios de migração celular com fibroblastos.

Ensaio de migração celular

O controle positivo em testes de migração celular desempenha um papel crucial ao estabelecer uma referência de comparação. Ele permite avaliar o potencial migratório das células em estudo, fornecendo uma base para determinar se um tratamento, composto ou condição está aumentando ou diminuindo essa migração. Foi utilizado o TGF- β 1- R&D na concentração de 10 ng/mL como controle positivo desse ensaio. Estudos anteriores evidenciam que o TGF- β 1, quando presente em sua forma ativa, desempenha um papel crucial na formação de fibrose na pele. Isso foi comprovado pela capacidade dos fibroblastos em expressar significativamente mais TGF- β 1 quando expostos a essa forma ativa da proteína, devido a isso é possível utilizar o TGF como controle positivo, pois ele é expresso em maior quantidade em uma maior concentração de fibroblastos. (Cunha, M. et al, 2015)

A Figura 3 representa o efeito do produto avaliado Vitamina C 22% no processo de migração celular em cultura de fibroblastos humanos. Nesta figura, podemos observar o Controle Basal sem Scratch (A), o Controle Scratch (B), Controle Positivo Scratch (C) e a migração em cultura previamente tratada com o produto avaliado Vitamina C 22%. Conforme podemos observar na Figura 4, o produto avaliado Vitamina C 22% promoveu um aumento

significativo no processo de migração celular de 265,26% na concentração de 0,1mg/mL, quando comparado ao grupo controle ($P<0,01$).

Fonte: Autoria própria (2023).

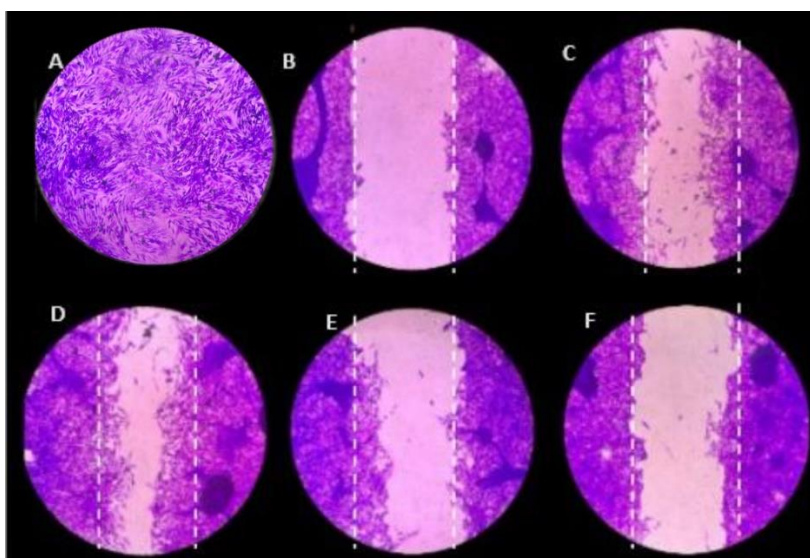


Figura 3- Efeitos do produto avaliado Vitamina C 22% no processo de migração celular em cultura de fibroblastos humanos, avaliados após um período de 24 horas. (A). Controle Basal sem Scratch. (B). Controle Scratch. (C).Controle Positivo Scratch (D).Scratch + 0,1mg/mL. (E). Scratch + 0,032mg/mL. (F). Scratch + 0,01 mg/mL. Aumento de 10x em microscopia óptica.

Fonte: Autoria própria (2023).

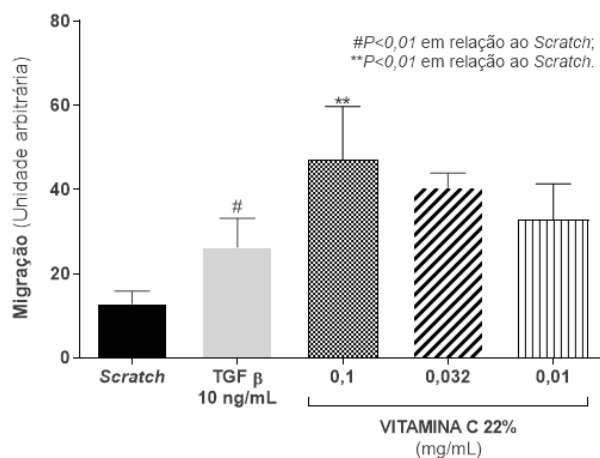


Figura 4- Semi-quantificação do processo de migração celular de fibroblastos tratados com o produto avaliado Vitamina C 22% por 24 horas. Os dados representam a média $\pm$ desvio padrão de triplicata experimental (Anova, Bonferroni).

Figura 6 representa o efeito do produto avaliado Bepantol® no processo de migração celular em cultura de fibroblastos humanos. Conforme podemos observar na Figura 7, o produto avaliado Bepantol® promoveu um aumento significativo no processo de migração celular de 465,22% na concentração de 0,016 mg/mL, quando comparado ao grupo controle ($P < 0,01$).

Fonte: Autoria própria (2023).

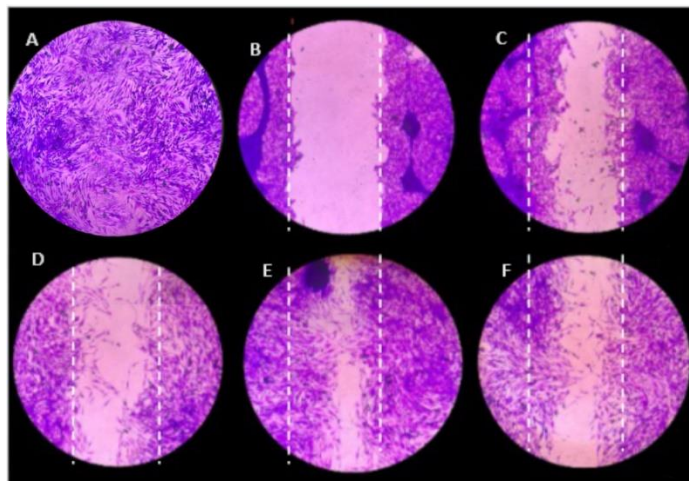


Figura 6 - Efeitos do produto avaliado Bepantol® no processo de migração celular em cultura de fibroblastos humanos, avaliados após um período de 24 horas. (A). Controle Basal sem Scratch. (B). Controle Scratch. (C). Controle Positivo (D). Scratch + 0,05mg/mL. (E). Scratch + 0,016mg/mL. (F). Scratch + 0,005 mg/mL. Aumento de 10x em microscopia óptica.

Fonte: Autoria própria (2023).

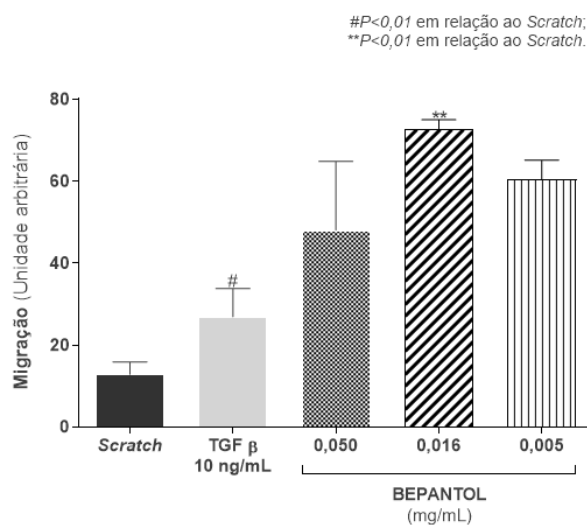


Figura 7 - Semi-quantificação do processo de migração celular de fibroblastos tratados com o produto Bepantol® por 24 horas. Os dados representam a média $\pm$ desvio padrão de triplicata experimental (Anova, Bonferroni).

A vitamina C 22% demonstrou um efeito positivo no processo de reparo e regeneração tecidual, auxiliando na cicatrização celular. De acordo com a literatura, esse resultado se dá, principalmente, devido a capacidade do ácido ascórbico de combater os radicais livres que são produzidos em altos níveis durante o reparo do dano cutâneo e que, quando não controlados, podem prejudicar o processo de reparação celular (Viana, A. et al. 2022) e também a função da vitamina C como co-fator da síntese de colágeno e para a produção de n-acetil galactosamina, um componente de matriz e tecido de granulação. Vale ressaltar também que a deficiência de vitamina C diminui a resistência da ferida à tensão e atrasa a cicatrização da lesão (HALLORAN; SLAVIN, 2002).

É possível destacar também que houve uma diferença significativa nas pontuações totais médias do teste de migração celular entre os dois grupos avaliados, mas que não anulam o resultado positivo da vitamina C. No entanto, o Bepantol se destacou, mostrando um impacto ainda maior no processo de regeneração tecidual e no auxílio à cicatrização celular.

O dexpanntenol que é o principal componente do Bepantol ao entrar em contato com a pele, é convertido em vitamina B5 que atua como agente hidratante e nutritivo, melhorando a hidratação cutânea, reduzindo a perda transepidérmica de água, mantendo a maciez, elasticidade da pele e fornecendo nutrientes para o processo de cicatrização. A ativação da proliferação de fibroblastos, que é relevante na cicatrização de feridas, foi observada tanto *in vitro* como *in vivo* com dexpanntenol. Também foi observada reepitelização acelerada na cicatrização de feridas, monitorada por meio da perda de água transepidérmica como indicador da função de barreira epidérmica intacta (Ebner; Heller; Rippke; 2002).

Vale ressaltar que estudos adicionais são necessários para que se confirmem os efeitos do ácido ascórbico e as possibilidades de sua utilização como princípio ativo ou agente auxiliar em produtos dermocosméticos, incluindo ensaios pré clínicos e clínicos, a fim de validar completamente seus mecanismos, explorar seus potenciais efeitos e garantir a qualidade em sua utilização.

CONCLUSÃO

Concluímos que os resultados da migração celular do ácido ascórbico em uma concentração de 22% foram muito satisfatórios e que o mesmo pode ser considerada um agente auxiliar na cicatrização celular na produção de novos produtos e como tratamento complementar, podendo contribuir e muito no campo dos dermocosméticos, não apenas para a iluminação da pele, mas também para o tratamento de rugas, cicatrizes de acnes, lesões geradas por tratamentos estéticos e afins. Com isso, espera-se que o potencial dessa molécula seja cada vez mais explorado e combinado com outros agentes para melhora de sua eficácia.

É essencial destacar também que o produto Bepantol demonstrou um desempenho superior na regeneração tecidual, exibindo uma diferença de até 465,22% em comparação com o controle basal. Esta descoberta é significativa, especialmente considerando a aplicação do Bepantol na cicatrização tecidual em diversos casos.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de expressar nossos sinceros agradecimentos a Deus e também a todas as pessoas que tornaram possível a realização deste trabalho:

À nossa orientadora/professor(a) Marisa Alvarez e Victor França, pela orientação dedicada e paciência em nossas diversas dúvidas e trajetória

A nossos familiares, pelo amor incondicional, apoio emocional e incentivo constante durante nossa jornada acadêmica.

Aos amigos e colegas, Gabriela Leite, Gustavo Henrique, Matheus Henrique, Giovanna Valim e Gustavo Facchini pelo suporte, discussões de pensamentos e momentos de descontração que ajudaram a aliviar o peso das responsabilidades acadêmicas.

À instituição de ensino a Universidade São Francisco e o Laboratório de Pesquisa Kosmoscience, pelos recursos disponibilizados e pelo ambiente propício ao aprendizado.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho, nossos mais profundos agradecimentos. Suas influências foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Muito obrigado(a) por fazerem parte desta conquista.

REFERÊNCIAS

- MONTAGNER, S.; COSTA, A. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 84, n. 3, p. 263–269, jul. 2009.
- YUN YR, WON JE, JEON E, et al. Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *J Tissue Eng* 2010; 1 DOI: 10.4061/2010/218142.
- SORRELL JM, CAPLAN AI. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *J Cell Sci* 2004; 117:667- 75.
- OECD (2010). In Vitro NRU Cytotoxicity Test. OECD Guideline documents on using cytotoxicity tests to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests No. 129, OECD, Paris. Available at: <http://www.oecd-ilibrary.org>.

- CAMPANER, Anelisa Bittencourt. TGF-beta 1 ativo na formação de fibrose de pele em camundongos atímicos. 2005. 113 f. Tese (Doutorado) - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2005.
- Research Techniques Made Simple: Analysis of Collective Cell Migration Using the Wound Healing Assay. January 19, 2018. Journal of Investigative Dermatology. Volume 137, Issue 2, fevereiro de 2017.
- "Vitamin C and Immune Function" (Hemilä, Harri. 2017).
- "Vitamin C in Disease Prevention and Cure: An Overview" (Padayatty, Sebastian J. et al. 2003).
- "Vitamin C in Human Health and Disease: Effects of Vitamin C Supplementation" (Carr, Anitra C., Maggini, Silvia. 2017).
- "The Role of Vitamin C in Skin Health" (Pullar, Juliet M. et al. 2017).
- MANELA-AZULAY, M. et al. Vitamina C. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 78, p. 265–272, 1 jun. 2003.
- WHITE, M. James Lind: The man who helped to cure scurvy with lemons. BBC News, 3 out. 2016.
- As viagens do navegador Vasco da Gama para a terra das especiarias. Disponível em: <https://www.nationalgeographic.pt/historia/as-viagens-do-navegador-vasco-da-gama-para-a-terra-das-especiarias_3325>. Acesso em: 29 nov. 2023.
- PINNEL SR, MURAD S, AND DARR D, Induction of collagen synthesis by ascorbic acid. A possible mechanism. Arch Dermatol, 1987;23(12):1684-6.
- NISHIKIMI MR, FUKUYAMA S, MINOSHIMA N, SHIMIZU AND K, YAGI. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. J Biol Chem, 1994; 269(18):13685-8.
- HORNIG D. Metabolism and requirements of ascorbic acid in man. S Afr Med J, 1981;60(21)818-23.
- SCHECTMAN G. Estimating ascorbic acid requirements for cigarette smokers. Ann N Y Acad Sci, 1993;686:335-45;discussion 345-6.
- WELCH RW, WANG YA, CROSSMAN JB JR, PARK KL, KIRK AND M, LEVINE. Accumulation of vitamin C (ascorbate) and its oxidized metabolite dehydroascorbic acid occurs by separate mechanisms. J Biol Chem, 1995;270(21):12584-92.

- SHARMAN IM. Vitamin C: Historical aspects, in Vitamin C, Recent Aspects of its Physiological and Technological Importance, GG Birch and KJ Parker, Editors. 1974;Halsted Press Book, Wiley:New York.1-15.
- Carpenter KJ. The history of scurvy and vitamin C. 1986; Cambridge: Cambridge University Press. 423.
- CARVALHO, Katharina Barros de; GOMES, Nair Augusta de Araújo Almeida. A nutrição no processo de cicatrização: um estudo de revisão. Trabalho de Conclusão de Curso – Pontifícia Universidade Católica de Goiás. 2021.
- Deficiência da vitamina C e a molécula do colágeno no escorbuto. Capítulo 3. Livro “Biomoléculas e metabolismo celular”.
- HUJOEL, PHILIPPE P.; HUJOEL, MARGAUX LA. Vitamin C and scar strength: analysis of a historical trial and implications for collagen-related pathologies. The American journal of clinical nutrition, v. 115, n. 1, p. 8-17, 2022.
- PALMIERI, Beniamino; VADALÀ, Maria; LAURINO, Carmen. Nutrition in wound healing: investigation of the molecular mechanisms, a narrative review. Journal of Wound Care, v. 28, n. 10, p. 683-693, 2019.
- BARBOSA, E.; FAINTUCH, J.; MACHADO MOREIRA, E.A.; GONCALVES DA SILVA, V.R.; LOPES PEREIRA, M.J.; MARTINS FAGUNDES, R.L.; FILHO, D.W. Supplementation of vitamin E, vitamin C, and zinc attenuates oxidative stress in burned children: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. J. Burn Care Res. 2009, 30, 859–866.
- EBNER, F., HELLER, A., RIPPKE, F. ET AL. Uso tópico de Dexpanthenol em doenças de pele. Am J Clin Dermatol 3 , 427-433 (2002).
- CUNHA, M. G. DA; PARAVIC, F. D.; MACHADO, C. A. Histological changes of collagen types after different modalities of dermal remodeling treatment: a literature review. Surgical & Cosmetic Dermatology, v. 7, n. 4, 2015.
- SOUZA, ADRIANE VIANA DE, ET AL. “O Efeito Do Ácido Ascórbico Tópico Na Cicatrização Cutânea.” *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica (RBCP) – Brazilian Journal of Plastic Surgery*, vol. 37, no. 03, 2022,

www.scielo.br/j/rbcp/a/SyKSRqX4Q8kt6wTXJNbKm9y/?format=pdf&lang=pt,
<https://doi.org/10.5935/2177-1235.2022rbcp.592-pt>. Accessed 9 September 2023.