Artigo Original

Autores:
Emerson de Andrade Lima[1]
Mariana de Andrade Lima[1]
Cláudio Eduardo Cavalcante de Araújo[2,3]
Yara Maria Maia Nakasawa[2,3]
Nilma Cintra Leal[2,3]

[1] Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia do Recife – Recife (PE), Brasil.
[2] Instituto Aggeu Magalhães (IAM), Fundação Oswaldo Cruz(FIOCRUZ) – Recife (PE), Brasil.
[3] Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife (PE), Brasil.

Correspondência para:
Emerson de Andrade Lima
Av. Agamenon Magalhães, 2939/401 - Espinheiro
52020 000 - Recife - PE, Brasil
E-mail: emersonderma@terra.com.br

Data de submissão: 20/10/2017
Data de aprovação: 12/01/2018

Trabalho realizado no Instituto Aggeu Magalhães (IAM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) – Recife (PE), Brasil.

Suporte Financeiro: Nenhum
Conflito de Interesses: Nenhum

CC BY

Investigação sobre o uso do ácido retinoico a 3% e a 5% em soluções para peeling como agente para drug delivery após indução percutânea de colágeno com agulhas (IPCA®): perfil de segurança e protocolo de uso

Investigation on the use of 3% and 5% retinoic acid in peeling solutions as a drug delivery agent after percutaneous induction of collagen with needles (IPCA®): safety profile and application protocol

DOI: http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201810104

RESUMO

Introdução: O ácido retinoico em solução para peelings é amplamente usado no tratamento do fotoenvelhecimento. Até o presente momento não conhecemos o grau de esterilidade dessas soluções ou a segurança de seu uso em peles cuja integridade tenha sido perdida por intervenções com microagulhas.

Objetivos: Avaliar o potencial bactericida do ácido retinoico 3% e 5% em soluções para peelings com e sem tonalizante, bem como a segurança e tolerância de sua administração imediatamente após o tratamento com microagulhas.

Metódos: Amostras de solução de ácido retinoico 3% e 5%, com e sem tonalizante, oriundas de duas farmácias de manipulação (A e B) foram expostas a colônias de Pseudomonas aeruginosa e Staphylococcus aureus. Essas soluções foram usadas como drug delivery após indução percutânea de colágeno com agulhas.

Resultados: As amostras avaliadas em D0, D30, D60 e D90 mostraram capacidade bactericida sobre os agentes testados. O uso das soluções após a intervenção com microagulhas foi bem tolerado e apresentou resultados satisfatórios.

Conclusão: A solução de ácido retinoico para peelings pode ser utilizada com segurança após procedimentos que levem à perda da integridade da barreira cutânea.

A ausência de efeitos adversos e os bons resultados do procedimento permite sugerir a associação de microagulhamento e peeling de ácido retinoico como uma proposta inovadora, reproduzível e segura.

Palavras-chave: Abrasão química; Terapêutica; Tretinoína

ABSTRACT

Introduction: *Retinoic acid in peeling solution is widely used in the treatment of photoaging. To date, the degree of sterility of these solutions or the safety of their use in skins whose integrity has been lost through microneedling interventions is unknown.*

Objectives: *To evaluate the bactericidal potential of 3% and 5% retinoic acid in peeling solution, with and without a colored vehicle, as well as the safety and tolerance to its administration immediately after application with microneedles.*

Methods: *Samples of 3% and 5% retinoic acid solution, with and without a colored vehicle, prepared by two dispensing pharmacies (A and B) were exposed to Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus colonies. These solutions were used as drug delivery agents after percutaneous induction of collagen with needles.*

Results: *The samples evaluated in D0, D30, D60 and D90 indicated the presence of bactericidal capacity of the tested agents. The use of the solutions following intervention with microneedles was well tolerated and yielded satisfactory results.*

Conclusion: *The retinoic acid peeling solution can be safely used following procedures that lead to a loss of integrity of the skin barrier. The absence of adverse effects and good results yielded by the procedure suggest that the association of microneedling and retinoic acid peeling is an innovative, reproducible and safe proposal.*

Keywords: *Chemexfoliation; Therapeutics; Tretinoin*

INTRODUÇÃO

A proposta de tratamentos ablativos visando ao estímulo e remodelamento do colágeno é há muito tempo preconizada pela dermatologia. Sabidamente, a remoção da epiderme de forma mecânica ou química favorece a liberação de citocinas e a migração de células inflamatórias que culminam na substituição do tecido danificado por um tecido remodelado.[1] A utilização do ácido retinoico como agente para peelings tem sido proposta para clareamento, rejuvenescimento e melhora da textura e do aspecto da pele.[2]

Ao estimular *o turn over* celular, a eliminação transcutânea de pigmentos e um moderado remodelamento colagênico, o ácido retinoico possibilita também a atenuação de rugas finas, o tratamento do melasma e a superficialização de cicatrizes rasas, bem como melhora do aspecto de estrias. Esse agente é utilizado convencionalmente em concentrações que variam de 3% a 5%, isolado ou em associação com outras substâncias para peelings como a solução de Jessner, aplicadas imediatamente antes. Classificado como peeling superficial, objetiva a remoção da camada córnea, com injúria à epiderme, atingindo a membrana basal, e provocando repercussões na derme. A grande vantagem do peeling de ácido retinoico é sua relativa segurança em todos os fototipos, com limitado risco de complicações, considerando-se todas as recomendações necessárias para uma intervenção ablativa.[1,2]. A epiderme com sua membrana basal removida é substituída por um tecido considerado cicatricial com retificação das papilas dérmicas. Uma resposta inflamatória na derme é desencadeada pela destruição da epiderme, ocasionando a produção de feixes espessos de colágeno orientados paralelamente, diferentemente da rede de colágeno entrelaçado encontrada na pele normal.[3] Estudos têm revelado que o fator de crescimento de transformação-β (TGF-β) desempenha um papel significativo nas primeiras 48 horas de formação da cicatriz. Enquanto o TGF-β1 e o TGFβ2 promovem a formação do colágeno cicatricial, o TGF-β3 parece promover a regeneração e cura da ferida à custa de um colágeno mais próximo do fisiológico, praticamente sem as características do anterior. Na busca de um tempo de recuperação mais curto nos pós-procedimentos e risco diminuído de complicações, observa-se atualmente uma tendência à indicação de procedimentos que evitem a desepitelização.[4,5] A indução percutânea de colágeno com agulhas traz uma proposta de estímulo na produção de colágeno, poupando a pele da desepitelização. A *Percutaneuos Collagen Induction*, avaliada inicialmente pelo cirurgião plástico africano Des Fernandes,[6] cujos estudos com 480 pacientes portadores de cicatrizes, rugas e flacidez ofereceram bons resultados, vem sendo praticada no mundo todo. No Brasil, Emerson Lima[7] registrou o nome indução percutânea de colágeno com agulhas (IPCA®). Essa intervenção que produz centenas de microlesões por meio de um rolo dotado de microagulhas, resulta na perda parcial da integridade da barreira cutânea, tendo como alvo a dissociação dos queratinócitos, e estimula a liberação de citocinas tais como a interleucina - 1α, predominantemente, além da interleucina-8, interleucina-6, TNF-α e GM-CSF. Esse processo resulta em vasodilatação dérmica e migração de queratinócitos para restaurar o dano epidérmico.[4-6] Lima EVA et al[7] avaliaram, em estudo experimental, a relação entre o comprimento da agulha e a profundidade do dano provocado, utilizando pele de porco vivo, considerada um modelo que se aproxima da pele humana.[7] A partir dos resultados, os autores propuseram uma classificação da injúria em leve, moderada e profunda, relacionando-a ao comprimento da agulha e a sua capacidade de provocar o trauma planejado (Quadro 1).[7] Considerando o eritema difuso com poucos pontos petequiais observado na injúria moderada, condição propícia à recepção de um ativo, este artigo propõe a utilização da técnica de IPCA® associada ao peeling de ácido retinoico como *drug delivery*, com o objetivo da otimização dos resultados de procedimentos para melhora da qualidade da pele. Partimos do pressuposto de que um ativo para ser depositado sobre a pele que perdeu a integridade por uma intervenção prévia, com a proposta de *drug delivery*, precisa ser estéril. Trabalhos publicados até o momento não nos oferecem respaldo sobre a segurança da utilização da solução de ácido retinoico comumente usada para peelings após a IPCA®. Iniciamos, assim, nossa investigação, com a avaliação desse ativo.

Objetivos

Essa investigação teve o objetivo de avaliar a capacidade bactericida de soluções de ácido retinoico a 3% e 5%, formuladas para uso na execução de peelings superficiais, por duas farmácias de manipulação independente, bem como se a esterilidade dessas soluções seria afetada pela adição de tonalizante, pelo tempo após a fabricação ou pelas condições de conservação.

Outro objetivo foi avaliar a segurança das soluções acima referendadas na utilização de procedimentos em que a integridade da epiderme foi perdida, permitindo propor seu uso para *drug delivery*

Metodologia

Avaliação da segurança do ácido retinoico a 3% e 5% como agentes de *drug delivery*

Foram avaliadas soluções de ácido retinoico em concentrações de 3% e 5%, em veículo alcoólico, sem tonalizante e com tonalizante, manipuladas em duas farmácias diferentes: A (Roval) e B (Pharmapele), ambas em Recife (PE), Brasil), com prazo de validade de 90 dias, mantidas em temperatura ambiente (TA) e a 4°C. O objetivo foi investigar esterilidade e ação bactericida.

A esterilidade das quatro soluções de cada farmácia foi avaliada no mesmo dia da fabricação, sendo que uma alíquota de 100µL de cada amostra foi semeada em placa de meio BHI agar (Brain Heart Infusion) e incubada a 37°C durante 24 horas, observando-se o crescimento bacteriano.

Na mesma ocasião, a ação bactericida foi testada inicialmente com uma alíquota de 100µL do ácido retinoico de cada embalagem, diluída em 480µL de meio BHI acrescido de 20µL de uma cultura de 24 horas de *Pseudomonas aeruginosa*. O mesmo

QUADRO 1: Classificação da intensidade da injúria provocada pelo microagulhamento

Característica do estímulo	Comprimento da agulha
Injúria leve	0,25 e 0,5mm
Injúria moderada	1 e 1,5mm
Injúria profunda	2 e 2,5mm

experimento foi repetido com *Staphylococcus aureus* (Figura 1). Nesse procedimento o ácido retinoico foi diluído cinco vezes. A ação bactericida do ácido retinoico foi também avaliada no segundo e no terceiro mês de validade. Dessa vez foi utilizado o produto sem diluição, na forma em que é empregado para peelings e recomendado pelos fabricantes, a 3% e 5%, com e sem tonalizante, acondicionado à TA e a 4°C (temperatura de geladeira recomendada pelas farmácias para a conservação do produto). Uma alíquota de 500µL de cada frasco, foi colocada em microtubos estéreis, inoculados com uma colônia de *P. aeruginosa*

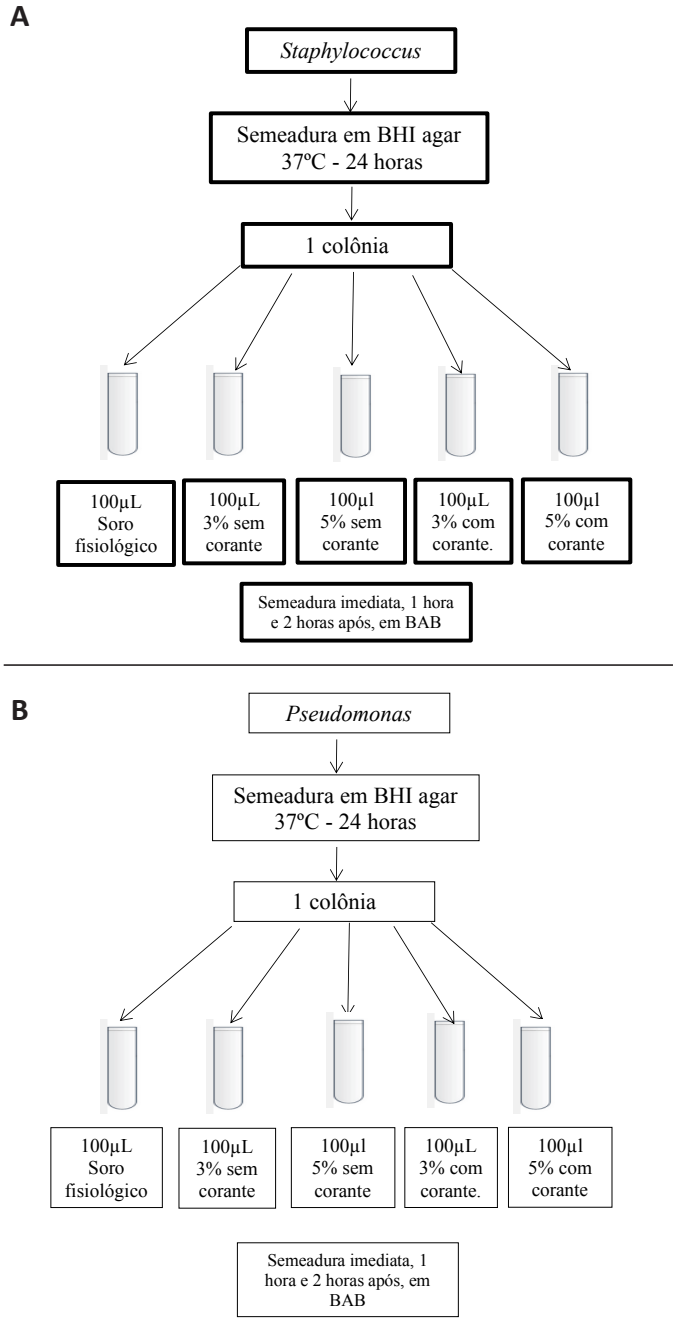

Figura 1: Algoritmo para teste da capacidade bactericida de soluções de ácido retinoico. **A –** Teste com *Staphylococcus* aureus; **B –** Teste com *Pseudomonas aeruginosa*

ou *S. aureus*, e uma alça do produto homogeneizado foi semeada em placas de BHI agar em três situações: logo após a homogeneização, uma e duas horas após. Como controle, as bactérias foram inoculadas também em uma alíquota de soro fisiológico estéril. As placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas, sendo então observado o crescimento da bactéria (Figura 2).

Resultados

Na primeira semeadura para avaliação da esterilidade do produto, não foi observado crescimento bacteriano em nenhuma das placas semeadas, o que confirmou a esterilidade em todas as embalagens testadas. Nos testes realizados no primeiro mês, quando foi feita a diluição do produto, observou-se crescimento bacteriano em diversas situações. Diante disso, no segundo e no terceiro mês de validade do produto foram feitos os testes com os produtos conforme recomenda o fabricante e como é utilizado convencionalmente para a realização de peelings. A partir da semeadura logo após a homogeneização do inóculo foi observado que apenas houve crescimento bacteriano a partir do soro fisiológico e da semeadura de alguns frascos do ácido retinoico. A semeadura na primeira e na segunda hora só apresentou crescimento bacteriano a partir do soro fisiológico (Figura 2), confirmando o poder bactericida do ácido retinoico a 3% e 5% com e sem tonalizante, preconizado para o uso. Também foi observado que o produto não sofre alteração se acondicionado à temperatura ambiente ou a 4°C (Tabela 1). Relevante é a observação do efeito bactericida dos agentes testados sobre o *S. aureus*, mesmo considerando que essa bactéria apresenta a parede celular mais espessa e supostamente mais resistente.

Protocolo proposto para associação de IPCA® com peeling de ácido retinoico

Diante da capacidade bactericida comprovada pelas soluções de ácido retinoico nas concentrações de 3% e 5% com e sem tonalizante, propusemos sua utilização como agente de *drug delivery* em associação com IPCA®. Para tanto foi proposta a injúria moderada (Figura 3) para a administração do ácido retinoico 5% tonalizado (Figura 4), considerando que com esse *end point* a pele estaria sujeita à recepção do ativo, sem que o procedimento sofresse a interferência de sangramento mais intenso, como o observado na injúria profunda. Da avaliação dessa associação participaram 12 voluntárias com queixas de cicatrizes de acne e fotoenvelhecimento, com idade entre 21 e 38 anos, provenientes do Ambulatório de Cosmiatria da Santa Casa de Misericórdia do Recife. O estudo foi conduzido de acordo com as recomendações da declaração de Helsinki de 1996, modificada em 2013, tendo sido autorizado pelo Comitê de Ética da instituição. O procedimento foi realizado sob anestesia tópica com creme de lidocaína 4% (Dermomax® Aché, São Paulo, Brasil) aplicado 40 minutos antes da intervenção. Foi utilizado um instrumento com comprimento das agulhas de 1,5mm (Dr.Roller® Mooham Enterprise Co. Gyeonggi-do South Korea, Anvisa n. 80669600001). Procedeu-se a movimentos de vai e vem, construindo faixas horizontais, posteriormente intercruzadas por faixas verticais e diagonais até resultar em um eritema difuso em

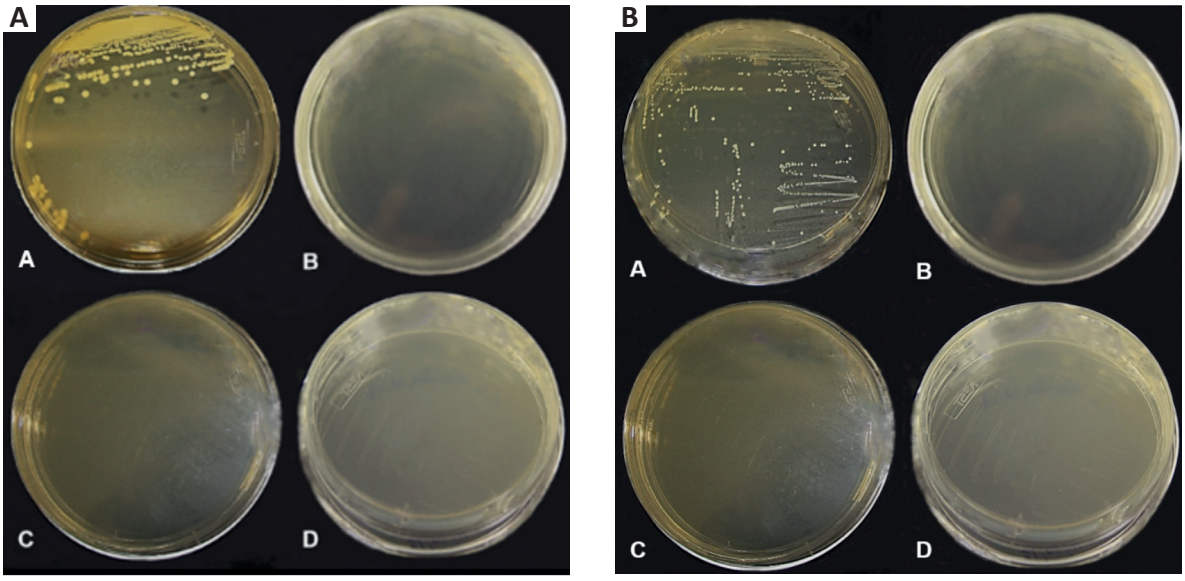

Figura 2: Crescimento bacteriano, no momento da diluição (imediato) na primeira e na segunda hora.
A: *Staphylococcus aureus* (**A:** crescimento bacteriano a partir do soro fisiológico; **B:** crescimento bacteriano a partir ácido retinoico logo após a semeadura; **C:** crescimento bacteriano a partir do ácido retinoico após a primeira hora da semeadura; **D:** crescimento bacteriano a partir do ácido retinoico após a segunda hora da semeadura;
B: *Pseudomonas aeruginosa* (**A:** crescimento bacteriano a partir do soro fisiológico; B: crescimento bacteriano a partir do ácido retinoico logo após a semeadura; **C:** crescimento bacteriano a partir do ácido retinoico após a primeira hora da semeadura; **D:** crescimento bacteriano a partir do ácido retinoico após a segunda hora da semeadura

Tabela 1: Crescimento bacteriano em amostras de ácido retinoico de duas farmácias de manipulação

Amostras	Identificação	Estocagem	TESTE 2° mês *S. aureus* Semeadura imediata	TESTE 2° mês *P. eruginosa* Semeadura imediata	TESTE 2° mês *S. aureus* Semeadura imediata	TESTE 2° mês *P. eruginosa* Semeadura imediata
1A	3% sem corante	TA	s/c	s/c	s/c	30UFC
2A	3% sem corante	4°C	s/c	25UFC	s/c	> 100UFC
3A	5% sem corante	TA	s/c	s/c	s/c	> 100UFC
4A	5% sem corante	4°C	s/c	100UFC	15UFC	s/c
5A	3% sem corante	TA	s/c	20UFC	s/c	s/c
6A	3% sem corante	4°C	2UFC	100UFC	s/c	s/c
7A	5% sem corante	TA	100UFC	7UFC	> 100UFC	s/c
8A	5% sem corante	4°C	100UFC	s/c	> 100UFC	s/c
1B	3% sem corante	TA	s/c	s/c	s/c	> 100UFC
2B	3% sem corante	4°C	s/c	s/c	20UFC	> 100UFC
3B	5% sem corante	TA	s/c	25UFC	s/c	> 100UFC
4B	5% sem corante	4°C	s/c	25UFC	> 100UFC	s/c
5B	3% sem corante	TA	s/c	100UFC	s/c	> 100UFC
6B	3% sem corante	4°C	s/c	50UFC	s/c	> 100UFC
7B	5% sem corante	TA	s/c	s/c	s/c	s/c
8B	5% sem corante	4°C	s/c	s/c	s/c	> 100UFC

toda a face com modesto sangramento pontuado, caracterizando a injúria moderada (Figura 3). Imediatamente após, uma solução de ácido retinoico 5% tonalizado foi aplicada com pincel estéril, em toda a extensão da área tratada (Figura 4) e deixada durante duas horas, quando foi removida com água corrente e sabonete líquido, em domicílio. Foi recomendado não aplicar nada sobre a pele nas oito horas seguintes, utilizando-se a seguir filtro solar FPS > 50. Todos os sujeitos da avaliação foram fotografados antes e após 30 dias da intervenção pelo mesmo investigador, com a mesma máquina fotográfica e usando a mesma incidência luminosa. Oito dias após a intervenção foi orientado o retorno ao ambulatório para avaliação de tolerabilidade da intervenção.

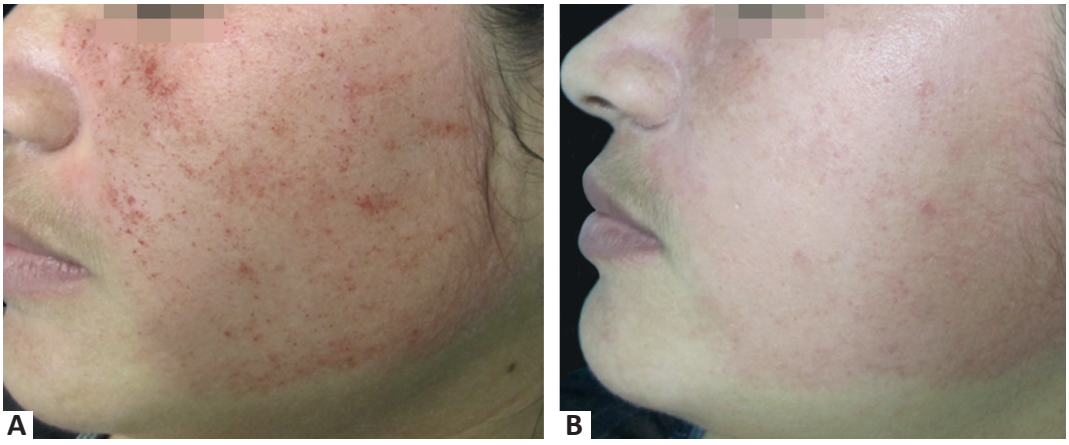

Figura 3: A - Paciente imediatamente após ter sido submetido à injúria moderada **B -** Paciente após a higienização da pele com soro fisiológico apenas para demonstrar o eritema uniforme da área tratada

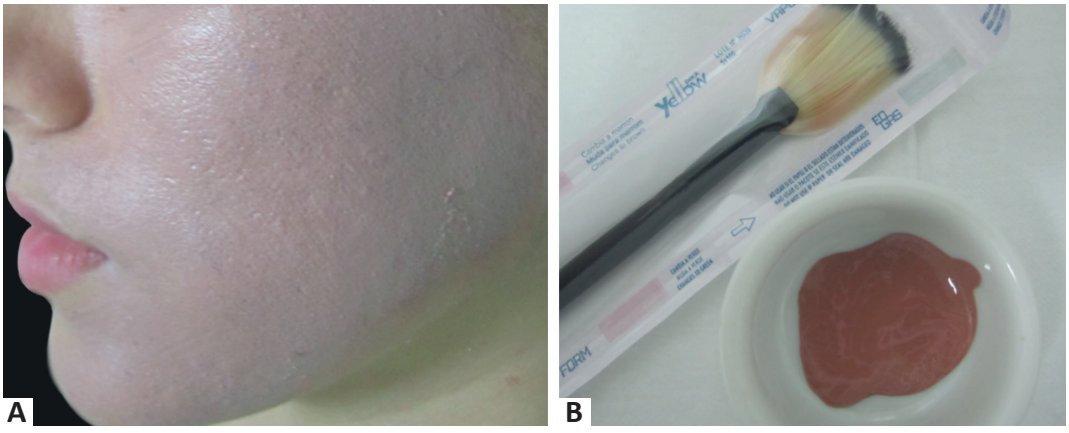

Figura 4: A - Paciente imediatamente após aplicação da solução de ácido retinoico 5% tonalizada **B:** Solução de ácido retinoico 5% tonalizado em cuba estéril e pincel estéril recomendados para o procedimento

RESULTADOS

No oitavo dia pós-procedimento não foram constatadas queixas de desconforto, ardor, vermelhidão ou descamação nas 12 pacientes tratadas. Duas referiram leve ardor entre 48 e 72 horas após a intervenção, e uma referiu descamação importante após 72 horas acompanhada de vermelhidão. Nenhum sujeito do grupo interrompeu suas atividades laborativas no período pós-procedimento, permanecendo em uso do filtro solar exclusivamente até o oitavo dia. Na consulta após 30 dias todas referiram clareamento, acentuação do brilho e viço com atenuação de cicatrizes rasas e rugas finas. Dois dermatologistas avaliadores independentes, analisando fotografias padronizadas, consideraram que a intervenção resultou em melhora global da qualidade da pele em todo o grupo tratado. Foram observados no exame físico clareamento, melhora da textura, aumento da luminosidade e fechamento de poros. A totalidade do grupo assinalou a opção muito satisfeito, ao responder ao questionário de avaliação que variava de pouco satisfeito, medianamente satisfeito ou muito satisfeito. Não foram observados efeitos adversos como eritema persistente, hipersensibilidade, irritação, prurido ou hiperpigmentação pós-inflamatória. Seis das 12 pacientes apresentaram moderada descamação mesmo após sete dias da intervenção. Nenhuma delas deixou de exercer suas atividades habituais em consequência da intervenção.

DISCUSSÃO

Os benefícios da IPCA® sobre a correção de cicatrizes, rugas e flacidez já estão bem esclarecidos, assim como o potencial do peeling de ácido retinoico, em oferecer melhora cosmética da qualidade da pele. Até o momento, o peeling de ácido retinoico vinha sendo proposto com a pele íntegra, não havendo necessidade de questionar sua esterilidade, muito menos seu potencial bactericida, dada a proteção pela barreira cutânea. De acordo com nosso conhecimento esse é o primeiro artigo de investigação que avaliou a competência destrutiva do ácido retinoico sobre duas bactérias comuns no meio ambiente, o *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Apesar de a viabilidade de micro-organismos em soluções vir sendo estudada, não foram encontrados relatos sobre a esterilidade das soluções de ácido retinoico usadas para peeling.[8,9] Diante dos nossos resultados foi possível utilizar com segurança esse ativo, mesmo após a ruptura da integridade da pele por uma injúria moderada desencadeada com microagulhas. Essa proposta oferece mais uma opção terapêutica de associação de técnicas na prática dermatológica. Os testes utilizando as soluções conservadas em geladeira e em temperatura ambiente, mesmo três meses depois da fabricação, evidenciando seu potencial bactericida, oferecem a segurança de uma formulação para *drug delivery* após a intervenção com a IPCA®. Também foi importante para os investigadores a avaliação de concentrações diferentes (3% e 5%), além da característica tonalizada das formulações, comprovando o mesmo potencial de

confiança. A IPCA® isoladamente produz a liberação de plaquetas e neutrófilos responsáveis pela disponibilização de fatores de crescimento, os quais atuam sobre os queratinócitos e os fibroblastos, tais como os fatores de crescimento de transformação α e β (TGF-α e TGF-β), o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), a proteína III ativadora do tecido conjuntivo e o fator de crescimento do tecido conjuntivo, seguido de neutrófilos, angiogênese, proliferação de fibroblastos e produção de colágeno tipo III, elastina, glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Paralelamente, o fator de crescimento dos fibroblastos, o TGF-α e o TGF-β são secretados pelos monócitos. Aproximadamente cinco dias depois da injúria, a matriz de fibronectina está formada, possibilitando o depósito de colágeno logo abaixo da camada basal da epiderme. Esse colágeno tipo III, vai sendo lentamente substituído pelo colágeno tipo I, mais duradouro. Para que toda essa cascata inflamatória se instale, o trauma provocado pela agulha deve atingir a pele em profundidade de 1mm a 3mm, resultando em colunas hemáticas na derme, acompanhadas de edema da área tratada e hemostasia praticamente imediata. A intensidade dessas reações é proporcional ao comprimento da agulha utilizada no procedimento.[10-14] A presente investigação propõe uma injúria moderada somada à ação do ácido retinoico 5% tonalizado para a otimização dos resultados, bem como objetivando mascarar as crostículas hemáticas resultantes da IPCA®. O retorno imediato às atividades laborativas de todo o grupo avaliado, apenas com a orientação de fotoproteção, oferece comodidade à intervenção que favorece sua aplicabilidade.

CONCLUSÕES

A solução de ácido retinoico para peelings pode ser utilizada com segurança após procedimentos que levem à perda da integridade da barreira cutânea.

A ausência de efeitos adversos e satisfação dos pacientes e dos avaliadores permite sugerir a associação de microagulhamento e peeling de ácido retinoico como uma proposta inovadora, reproduzível e segura. ●

REFERÊNCIAS

1. Jackson A. Chemical Peels. Facial Plast Surg. 2014; 30(1):26-34.
2. Kang HY, Valerio L, Bahadoran P, Ortonne JP. The role of topical retinoids in the treatment of pigmentary disorders: an evidence-based review. Am J Clin Dermatol 2009; 10(4):251-60.
3. Brody HJ. Trichloroacetic acid application in chemical peeling. Operative Techniques Plast Reconstr Surg. 1995; 2(2):127-8.
4. Aust MC. Percutaneous collagen induction: minimally invasive skin rejuvenation without risk of hyperpigmentation-fact or fiction?. Plast Reconstr Surg. 2008; 122(5):1553-63.
5. Camirand A, Doucet J. Needle dermabrasion. Aesthetic Plast Surg. 1997;21(1):48-51.
6. Fernandes D. Minimally invasive percutaneous collagen induction. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2005;17(1):51-63.
7. Lima EVA, Lima MA, Takano D. Microneedling experimental study and classification of the resulting injury. Surg Cosmet Dermatol. 2013;5(2):110-4.
8. Paris I, Paci A, Rey JB, Bourget P. Microbial growth tests in anti-neoplastic injectable solutions. J Oncol Pharm Practice. 2005; 11(1): 7-12.
9. Sarakbi I, Federici M, Krämer I. Viability of microorganisms in novel chemical and biopharmaceutical anticancer drug solutions. Eur J Parenteral Pharm Sci. 2015; 20(1): 5-12.
10. Fernandes D, Signorini M. Combating photoaging with percutaneuos collagen induction. Clin Dermatol. 2008; 26(2): 192-9.
11. Aust MC, Fernandes D, Kolokythas P, Kaplan HM, Vogt PM. Percutaneuos collagen induction therapy (pci)-an alternative treatment for scars. Wrinkles skin laxity. Plast Reconstr Surg. 2008;121(4):1421-9.
12. Bal SM, Caussian J, Pavel S, Bouwstra JA. In vivo assessment of safety of microneedle arrays in human skin. Eur J Pharm Sci. 2008; 35(3):193-202.
13. Cohen KI, Diegelmann RF, Lindbland WJ. Wound healing: biochemical and clinical aspects. Ann Surg. 1992; 216(5):613.
14. Fabroccini G, Fardella N, Monfrecola A, Proietti I, Innocenzi D. Acne scar treatment using skin needling. Clin Exp Dermatol. 2009; 34(8):874-9.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Emerson de Andrade Lima | ORCID 0000-0002-6132-5031
Avaliação clínica, revisão bibliográfica, escrita e correção do manuscrito

Mariana de Andrade Lima | ORCID 0000-0003-2499-0873
Avaliação clínica, revisão bibliográfica, escrita e correção do manuscrito

Cláudio Eduardo Cavalcante de Araújo | ORCID 0000-0001-7190-6625
Avaliação laboratorial das amostras

Yara Maria Maia Nakasawa | ORCID 0000-0002-0178-6522
Avaliação laboratorial das amostras

Nilma Cintra Leal | ORCID 0000-0001-9769-7630
Avaliação laboratorial das amostras