

Aplicação tópica de ácido ascórbico em úlcera provocada na língua de cobaias (*Cavia porcellus*) estudo histológico

*Application of ascorbic acid in provoked ulceration on tongue of guinea pig (*Cavia porcellus*) – histological evolution*

Valmor Júnior Barbosa Ávila*
Gastão Pureza Duarte**
Íria Guimarães Machado***

Resumo

Este trabalho verifica, histologicamente, o processo de reparação tecidual em úlceras provocadas mecanicamente no dorso da língua de cobaias após aplicação tópica de ácido ascórbico em forma de pó. Utilizou-se uma população de vinte cobaias (*Cavia porcellus*) machos, jovens (três meses) com peso médio de 300g, divididos em dois grupos: Grupo II, de controle, e grupo I, experimental. Ambos os grupos se submeteram ao ato cirúrgico para confecção da úlcera, porém, somente o grupo I recebeu diariamente ácido ascórbico topicalmente. Dois animais de cada grupo foram sacrificados ao terceiro, quinto, sétimo, nono e décimo quarto dias pós-cirúrgicos. O exame histológico dos espécimes obtidos demonstrou que, nas etapas iniciais, o processo de reparação tecidual quantitativo e qualitativamente é favorecido pela aplicação tópica de ácido ascórbico quando comparados ambos os grupos. Observou-se um rápido decréscimo da resposta inflamatória, uma diferenciação intensa de células de síntese e dos respectivos produtos celulares. Em contrapartida, nas fases finais do processo de reparação, o ácido ascórbico aplicado topicalmente nas lesões dificultou ou retardou a reparação tecidual.

Palavras-chave: reparo tecidual, ácido ascórbico, regeneração, cicatrização.

Introdução

Um processo de cicatrização da ferida cirúrgica sem complicações é o principal objetivo do cirurgião no período pós-operatório. Tal processo biológico está diretamente relacionado não só ao potencial de reparação do órgão, à estrutura ou técnica cirúrgica, mas, também, à dieta (STANYA et al., 1984; ACEVEDO et al., 2001) e à terapêutica recomendadas (ANDREASEN, 1994; PETERSON, 1999), sendo o ácido ascórbico um dos componentes vitamínicos essenciais para tanto. Dingman e Natvig (1983) e Barros e Souza (2000) corroboram essa opinião e ressaltam a necessidade de uma alimentação balanceada, mesmo que seja líquida, como forma necessária, em certos pós-cirúrgicos, para uma melhor funcionalidade do aparelho mastigatório. Não basta apenas utilizar uma técnica cirúrgica eficiente: deve-se também proporcionar ao paciente um equilíbrio nutritivo para que o organismo, suprido de

suas necessidades básicas, possa responder ao trauma sofrido.

Trabalhos de Kramer et al., (1979) e Pinnell et al., (1987) administrando vitamina C pelas vias clássicas demonstraram que doses suplementares, como altas doses acima da ração diária recomendada, aplicadas em cobaias com escaras na pele propiciaram uma recuperação mais rápida das lesões do que naquelas em que havia carência de tal vitamina.

Segundo Kleiman et al. (1987) e Peterson (1999), os processos biológicos ainda suscitam dúvidas quanto a sua compreensão, sendo este o caso da reparação pós-lesão tecidual. Esta se inicia pelo processo inflamatório, que é a reação tecidual a todas as formas de lesão, envolvendo respostas vasculares, neuro-hormonais e celulares no local da lesão (ROBBINS et al., 2000). O reparo começa durante a fase ativa da inflamação e o seu término ocorre após a influência lesiva ter sido neutralizada. Goedmann e Gilmann (1991) comple-

* Professor Adjunto da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo / Mestre em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

** Livre docente da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

*** Doutora em Histologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

Recebido: 09.01.2004 Aceito: 13.04.2004

mentam que, se a reposição for feita com células de morfofuncionalidade semelhantes às que já existiam, a reparação denominar-se-á “regeneração”; já a cicatrização é a substituição celular por tecido conjuntivo fibroso, denominado “tecido cicatricial”. No que se refere à função da vitamina C na cicatrização, foi possível verificar a utilização de diversos métodos para testar o efeito desta vitamina no metabolismo do colágeno dos diferentes tecidos. Jeffrey e Martin (1986) avaliaram o efeito adicional do ácido ascórbico na biossíntese do colágeno realizando o cultivo de ossos longos de embrião de pinto na presença e na ausência de ácido ascórbico. Pinnel et al. (1987) utilizaram-se de uma cultura de fibroblastos de pele humana. Kraemer et al. (1979) implantaram esponjas de polivinil-álcool no tecido conjuntivo subcutâneo de porquinhos-da-índia e avaliaram a síntese de colágeno por método histológico e histoquímico. Diaz (1990) avaliou histológica e radiologicamente o efeito do ácido ascórbico em dose suplementar por via oral sobre reparo ósseo em cobaia. Silva (1981) testou medicamentos em conjuntiva de olhos de animais. Pfister et al., referidos por Ringsdorf e Cheraskin (1982), provaram que a vitamina C cura queimadura em olhos sem complicações – administrando vitamina C por via oral e por instilação em úlcera provocada por queimadura cáustica na córnea de coelhos.

Foi constatado por Bartlett et al. (1972) que, após um tratamento na pele, os níveis sanguíneos de ácido ascórbico diminuem sensivelmente e, segundo ABT et al. (1961), parece haver um aumento na concentração de ácido ascórbico na área que está sofrendo o processo de reparação. Com o incremento de vitamina C, pode haver um aumento de quimiotaxia dos leucócitos entre 100% e 300%. Já a deficiência de ácido ascórbico causa a degeneração das células com funções especializadas, com odontoblastos, condroblastos, osteoblastos e fibroblastos (HOJER, 1924; ACEVEDO et al., 2001).

Resultados clínicos surpreendentes obtidos com o uso tópico de vitamina C em úlceras provocadas em córnea de coelhos por Pfister et al., citados por Ringsdorf et al., (1982), foram os motivos que impulsionaram a realização do presente experimento. O propósito deste estudo é analisar histologicamente o processo de reparação de úlceras provocadas na língua de cobaias sob a aplicação tópica de ácido ascórbico.

Materiais e método

Foram utilizados vinte animais de laboratório, cobaias *Castor porcellus*, machos, jovens (três meses), com peso médio de aproximadamente 300 g. Mantidos em gaiolas próprias, arejadas, recebendo ração balanceada sólida¹ e água *ad libitum*. O medicamento administrado foi ácido ascórbico², apresentado na forma de pó. Os animais foram manipulados sob anestesia intraperitoneal com tiopental sódico³. Para que fosse possível a aplicação tópica do ácido ascórbico, os animais foram sedados pela inalação de éter sulfúrico.

Todos os animais (Grupo I e II) foram submetidos, no mesmo dia, a uma intervenção, assim descrita:

- a) anestesia para procedimento cirúrgico – utilizou-se tiopental sódico, via intraperitoneal, proporcionando tempo suficiente para intervenção e tranqüilidade no transoperatório. A dosagem foi de 20 mg por kg de peso e, em poucos minutos (3 a 5 min), o animal estava em condições de manuseio;
- b) posicionamento – colocou-se o animal na prancheta cirúrgica de tal forma que proporcionasse um bom acesso à cavidade bucal, que permaneceu aberta, através de tração elástica (Fig. 1);
- c) exposição e pinçamento da língua – depois de pinçada, com o auxílio de um bisturi tipo *punch*, realizou-se uma úlcera no dorso (região mediana) de, aproximadamente, 3 mm de

diâmetro, atingindo em profundidade a camada muscular. O tecido foi desprendido de sua base por meio de secção com um bisturi de lâmina nº 11 (Fig. 2);

d) contenção de hemorragia – teve-se a hemorragia por meio de compressão com gaze.

Após o ato cirúrgico os animais foram divididos em dois grupos: dez serviram de grupo de controle e dez foram utilizados como grupo de experimento. Os dois grupos continuaram recebendo rações balanceadas, sólidas e água *ad libitum*.

Cada grupo proporcionou duas amostras de população a serem avaliadas no que se refere ao reparo da lesão. Imediatamente à hemostasia, foi aplicado, topicalmente, ácido ascórbico (vitamina C) em forma de pó sobre a lesão, em intervalo de 24 horas. Para tanto, os animais foram sedados (anestesia superficial com éter sulfúrico) e, com espátula 7A, depositou-se o medicamento (vitamina C) sobre a lesão. O grupo de controle não recebeu medicação alguma (Fig. 3) sobre a lesão.

Após o sacrifício dos animais, por meio de punção cardíaca, foi feita a coleta dos espécimes, obedecendo ao seguinte critério: duas amostras do grupo experimental e duas do grupo de controle, nos dias pós-operatórios, terceiro, quinto, sétimo, nono e décimo quarto. As peças obtidas foram fixadas em formol a 10%, incluídas em parafina, cortadas com 7 µm de espessura e coradas com hematoxilina-eosina e com tricômio de picrossírius-hematoxilina, para posterior exame histopatológico.

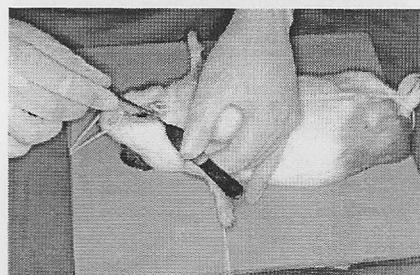


Figura 1 - Disposição do animal na prancheta cirúrgica com pinçamento e realização da úlcera no dorso da língua

¹ Marca do Sítio.

² Laboratório De La Ware.

³ Thionembutal da Abbott.

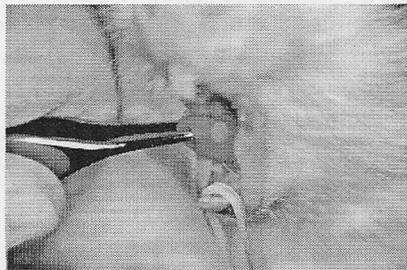


Figura 2 - Aspecto final da úlcera com, aproximadamente, 3mm de diâmetro

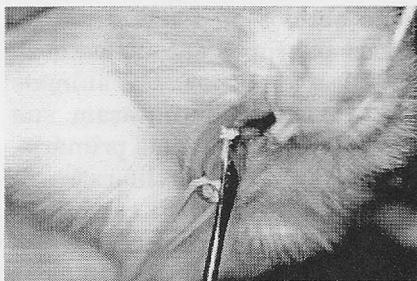


Figura 3 - Aplicação tópica de ácido ascórbico com auxílio de uma espátula 7 A

Resultados

A avaliação histológica comparativa do processo de reparação tecidual de úlceras provocadas no dorso da língua de cobaias (*Cavia porcellus*), tratadas com a aplicação tópica de ácido ascórbico e não tratadas, evidenciou os seguintes resultados:

Aos três dias, os espécimes removidos dos animais tratados com vitamina C (Fig. 4), em comparação com o grupo de controle (Fig. 5), revelaram regressão do processo inflamatório, recomposição do epitélio superficial, organização dos fibroblastos ativos, além da presença de alguns vasos sanguíneos dilatados contendo sangue.

Aos cinco dias, nos animais do grupo experimental, foi bastante evidente a diminuição da vascularização na lâmina própria; epitélio e conjuntivo interdigitam-se num arranjo bem característico. Observou-se não só um maior número de fibroblastos como também o crescimento das fibras musculares esqueléticas em direção ao centro da lesão (Fig. 6).

Verificou-se no grupo de controle a permanência do infiltrado inflamatório; os vasos sanguíneos encontravam-se dilatados e com sangue, havendo também extravasamento de eritrócitos entre as células epiteliais (Fig. 7).

Aos sete dias, parece ter havido uma estagnação na evolução do reparo nos animais tratados com vitamina C topicalmente. Nessa fase, segundo Gregori (1996), está ocorrendo plena deposição extracelular de ácido hialurônico e colágeno por parte dos fibroblastos (Fig. 8 e 9).

Aos nove dias, notou-se que houve um processo maior na reparação tecidual nos animais do grupo de controle (Fig. 10). O tecido lesado dos animais do grupo experimental apresentava-se mais estável no que se refere à produção de células e de seus produtos celulares (Fig. 11). No grupo de controle, o início da remodelação estava mais adiantado do que no grupo experimental.

Aos quatorze dias, notou-se, ainda, nos animais tratados com vitamina C, a presença de processo inflamatório na lâmina própria, assim como foram visualizados inúmeros vasos sanguíneos (Fig. 12).

Nos animais do grupo de controle, a interface epitélio-conjuntivo tinha aspecto normal; eram visíveis algumas células inflamatórias ocupando o tecido conjuntivo papilar. No conjuntivo subjacente, o tecido muscular estriado tende à normalização (Fig. 13).

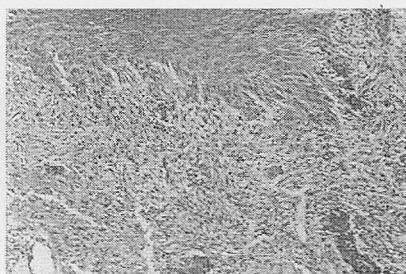


Figura 4 - Três dias com vitamina C (H E 40x) observar a lâmina própria da mucosa com a presença de vasos e de infiltrado inflamatório diminuídos

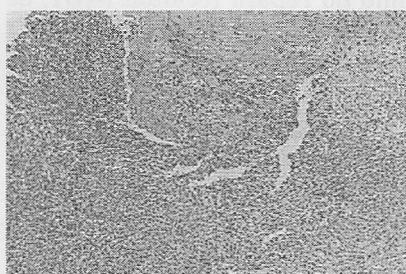


Figura 5 - Três dias sem vitamina C (H E 100x) observar o tecido epitelial remanescente ocupado por células inflamatórias



Figura 6 - Cinco dias com vitamina C (H E 100x) observar a organização do colágeno da lâmina própria e a interface epitélio/conjuntivo de aspecto normal. Presença de vasos sanguíneos ainda hiperêmicos

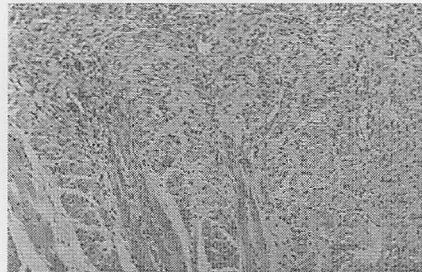


Figura 7 - Cinco dias sem vitamina C (H E 40x) observar a presença de células inflamatórias e de fibroblastos dispersos



Figura 8 - Sete dias com vitamina C (H E 100x) observar o crescimento de fibras musculares estriadas em direção ao centro da lesão

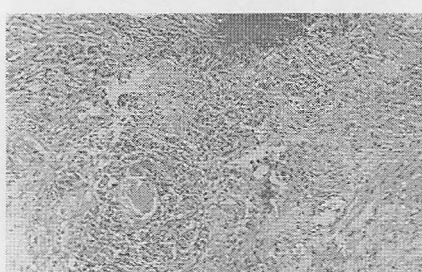


Figura 9 - Sete dias sem vitamina C (H E 100x) mostrando infiltrado inflamatório, fibroblastos dispersos e áreas de crescimento de fibras musculares estriadas

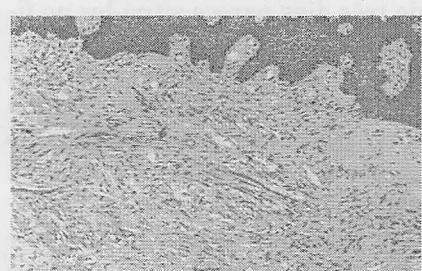


Figura 10 - Nove dias sem vitamina C (P S H 100x) a coloração evidencia a presença de fibras colágenas convergindo para o centro da lesão

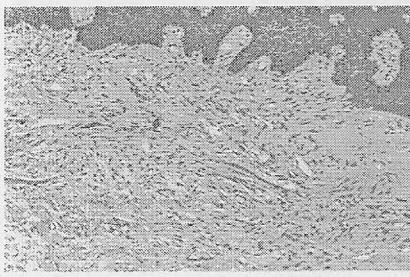


Figura 11 – Nove dias com vitamina C (H E 100x) interface epitélio/conjuntivo de aspecto normal fibroblastos e fibras musculares em crescimento para o centro da lesão notar a presença de alguns vasos sanguíneos



Figura 12 – Quatorze dias com vitamina C (H E 40x) processo inflamatório ainda presente na lámina própria da mucosa. Apresenta irregularidade da interdigitação epitélio/conjuntivo.

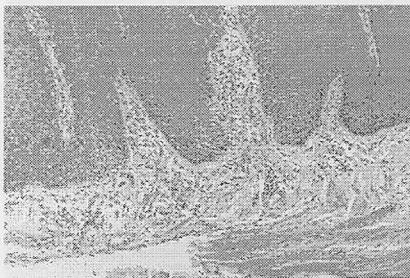


Figura 13 – Quatorze dias sem vitamina C (H E 40x) interface epitélio/conjuntivo de aspecto normal e tecido muscular organizado

Discussão

A avaliação histológica das amostras obtidas dos animais tratados com vitamina C no período de três dias parece situá-los no final da fase III (proliferativa) das etapas de reparação, referidas por Carvalho e Okamoto, (1987) e Gregori (1996), equivalente ao sexto dia, permanecendo ainda alguns vasos sanguíneos dilatados, contendo sangue e fibroblastos ativos. Apesar de a regularização da quantidade depositada de colágeno não estar completamente esclarecida, é possível, se-

gundo Burnett et al. (1978), que a persistência da infecção seja um fator que estimule a formação de um tecido fibroso cicatricial, além da incapacidade de o tecido regenerar-se, determinando um reparo por cicatrização.

Conforme Vianna (1974), a ativação do sistema-complemento tem importante participação em várias reações flogísticas. Após sua ativação, esse sistema desempenha funções em várias reações biológicas como citólise imunoaderência, fagocitose e inflamação. Pela via clássica, a ativação do complemento faz-se através do primeiro componente C1q, cujo protótipo é a citólise levada pelo complexo antígeno-anticorpo (Ag/ Ac), da qual participam todos os elementos do complemento. A proteína C1q, de acordo com Burnett et al. (1978), identifica e combina região específica da(s) molécula(s) de imunoglobulinas. Somente a IgM e várias subclasse de IgG podem combinar-se com C1q. Segundo Levine (1986), o C3 tem seu aumento incrementado (em quantidade) juntamente com a IgM, *in vitro*, pela ação da vitamina C.

Sendo a cavidade bucal possuidora de microbiota residente, a qual, eventualmente, pode desencadear infecções oportunistas ou simples contaminação nos casos de comprometimento da mucosa, como, por exemplo, ulcerações, infere-se que neste experimento poderia ter havido a ativação do complemento tanto pela via clássica como pela via alternativa, a qual se realiza independentemente da presença do complexo Ag/ Ac. É relevante a ação da vitamina C nos diversos processos fisiológicos, como no reparo tecidual (ABT, et al., 1961; DIAZ, 1990; ACEVEDO et al., 2001), na síntese do colágeno e na atividade eritropoética, ossos e capilares (DIAZ, 1990; RANG e DALE, 1993).

Talvez o ácido ascórbico tenha provocado, como numa ação concomitante, o aumento de motilidade dos leucócitos, favorecendo a diapedese, como sugerido por estudos *in vitro* realizados por Levine (1986).

Soma-se ainda, neste estudo, a possibilidade da aceleração da síntese do cimento intercelular do endotélio capilar, que ocorre quando da administração de vitamina C por via sistêmica (GOODMAN e GILMAN, 1991).

Avaliando-se as fases do processo de reparação conforme Carvalho e Okamoto (1987) e Gregori (1996), observa-se que os espécimes obtidos ao terceiro dia de ambos os grupos encontravam-se em fases distintas. Os animais não tratados apresentaram sua lesão num estágio mais primário, entre a fase I (não proliferativa) e a fase III (de ativação), comprovação feita às 72 horas. Pode-se considerar como o início da formação de tecido de granulação (fase III).

Se a fase III (ativação) não é considerada pelos autores como “não proliferativa”, nem como “proliferativa”, é “dedutiva”, pois, se for de ativação, levar-se-á em conta o estímulo, que não pode ser visualizado. Este estímulo se retrata pela proliferação inicial de células, vasos e substância intersticial amorfa, segundo Gregori (1996), que, ao atingirem um volume significativo, determinariam a fase de proliferação.

Aos cinco dias, o grupo tratado apresentou-se, histologicamente situado na fase IV do processo de reparação, sendo evidente a diminuição da vascularização na lámina própria. A quantidade do tecido conjuntivo fibroso aumenta e as necessidades metabólicas, consequentemente, diminuem, tornando muitos vasos sanguíneos desnecessários. Tal fenômeno ocorre no estágio final da fase de síntese (ANDERSON, 1957). Esta fase teria início ao sexto dia e perduraria até a posição total dos tecidos lesados, estando diretamente relacionada com os fatores interferentes (GREGORI, 1996; PETERSON, 1999).

Os animais do grupo de controle, no quinto dia, apresentaram ainda em evidência o infiltrado inflamatório com vasos dilatados e com sangue, bem como células, a exemplo dos fibroblastos. Esse tecido especializado que, para Robbins et al. (2000), se forma

entre o terceiro e o quinto dias da lesão e, para Carvalho e Okamoto (1987), pode-se prolongar até o sexto dia, indica, para o primeiro autor, a marca registrada da cicatrização na inflamação, ou seja, o tecido de granulação. No sétimo dia, parece ter havido uma estagnação na evolução do reparo nos animais do grupo experimental. Nessa fase, segundo Gregori (1996), está ocorrendo plena deposição extracelular de ácido hialurônico e colágeno, pelos fibroblastos. No nono dia, nota-se que houve um processo bem maior na reparação tecidual dos animais do grupo de controle. O tecido lesado dos animais do grupo experimental apresenta-se mais estável no que se refere à produção de células e de seus produtos celulares. No décimo quarto dia, apesar de a interface epitelio-conjuntivo estar aparentemente normal, ou seja, bem definida, nota-se que as digitações da lâmina própria não se encontram tão uniformes no grupo experimental quanto no grupo controle. Se for avaliado o grau de evolução do reparo, quer por regeneração, quer por cicatrização, perceber-se-á que o grupo de controle, nesses termos, teve seu reparo predominantemente por regeneração e pouco por cicatrização. Apesar de ambos os grupos terem sofrido reparação tanto por regeneração quanto por cicatrização, o que, segundo Robbins et al. (2000), é o processo que mais comumente ocorre, o grupo experimental apresentou uma proporção bem maior de tecido cicatricial (Fig. 12), ao passo que, no grupo de controle foi evidente o aumento quantitativo de células semelhantes às do tecido original (Fig. 13).

Conclusão

A partir das observações que a metodologia utilizada proporcionou, pode-se afirmar que:

- a) o ácido ascórbico em forma de pó aplicado topicalmente em úlcera traumática na cavidade bucal promoveu, nas fases iniciais do processo de reparação, um melhor reparo tecidual tanto quantitativo como qualitativo, talvez em razão da sua maior concentração local;
- b) a aplicação tópica do ácido ascórbico demonstrou promover um reparo predominantemente cicatricial;
- c) a aplicação tópica do ácido ascórbico dificultou as fases finais do reparo tanto na formação tecidual, necessária para desenvolver a continuidade do tecido, como na remodelação;
- d) finalmente, poder-se-ia indicar a aplicação tópica do ácido ascórbico em ferida traumática da cavidade bucal nos primeiros três dias do processo de reparação, associado a um veículo que permitisse maior tempo de contato com o local afetado visto sua característica hidrossolúvel.

Abstract

The purpose of the present work was to histologically verify the capacity of tissue repair in response to topical application of ascorbic acid (C vitamin) in provoked ulceration on the central dorsum of the tongue, in *Cavia porcellus* (guinea pig.). Twenty (20) animals were used in the experiment, divided into Control group (10 animals) and experimental group (10 animals) which received ascorbic acid topically. Each group was sacrificed at the 3th, 5th, 7th, and 14th day of the experiment and the specimens were histologically evaluated after the surgery. The histological exam of the specimens showed that in the beginning of the tissular repair is qualitatively and quantitatively improved with the topical application of ascorbic acid application in both of the groups. A fast decrease of inflammatory answer was observed, as well as an intense transformation of the cells and their products. On the other hand, on the final stages of the reparation process, the topically applied ascorbic acid on the ulceration made difficult or delayed the tissular reparation.

Key words: tissue repair, ascorbic acid, tissular regeneration, cicatrization.

Referências

- ABT, F. A. et al. *Relation of dietary and tissue levels of ascorbic acid to the healing of surgically – induced wounds in guinea pigs*. Johns Hos., 1961. p. 104-163.
- ACEVEDO, R. A. et al. Tratamento periodontal no idoso. *RFOUPF*, v. 6, n. 2, p. 57-62, jul./dez., 2001.
- ANDERSON, D. J. Regeneração de tecido mole. In: *Fisiologia para dentista*. Rio de Janeiro: Científica, 1957. cap. 36.
- ANDREASEN, J. O. *Atlas de reimplante e transplante de dentes*. São Paulo: Panamericana, 1994.
- BARROS, J. J.; SOUZA, L. C. M. *Traumatismo bucomaxilofacial*. 2. ed. São Paulo: Roca Ltda. 2000.
- BARTLETT, M. K. et al. Vitamin C and wound healing II. Ascorbic acid content and tensile strength of healing wounds in human beings. *N. Engl. J. Med.*, v. 226, p. 474-481, 1972.
- BURNETT, G. W. et al. *A microbiologia oral e doenças infecciosas* (defesas inatas ou não adquiridas). 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. p. 161-181.
- CARVALHO, A. C. P.; OKAMOTO, T. *Cirurgia bucal - fundamentos experimentais aplicados à clínica*. São Paulo: Panamericana, 1987. p. 31-36.
- DIAZ, H. R. A. *Estudo histológico e radiológico do efeito do ácido ascórbico em dose suplementar sobre o reparo ósseo em cobais*. Dissertação (mestrado), Ciências da Saúde na área de cirurgia e traumatologia buco-
- maxilofacial, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, 1990.
- DINGMAN, R. O.; NATVIG, P. In: PINGMAN, R. O. e NATRIG, P. *Cirurgia das fraturas faciais*. São Paulo: Santos, Parma, 1983. cap. 3. p. 43-95.
- GOODMAN, A.; GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
- GREGORI, C. *Cirurgia odontológica para o clínico geral*. São Paulo: Sarvier, 1996.
- HOJER, J. A. Ascorbic acid in guinea pigs. *Acta Pediatr.*, v. 3, p. 8-14, 1924.
- JEFREY, J. J.; MARTIN, B. R. The role of ascorbic acid em the biosynthesis of collagen II site and nature of ascorbic acid requirement by embryo chick tibia in tissue culture. *Bioch. Biophys. Acta*, v. 121, p. 269-280, 1986.
- KLEIMAN, I. et al. Aspectos atuais do processo de reparação tecidual. *Acta Cirurg. Bras.*, v. 2, p. 19-20, 1987.
- KRAMER, C. M. et al. Ascorbic acid treatment on early collagen production and wound healing in the guinea pig. *J. Periodontology*, v. 50, p. 182-192, 1979.
- LEVINE, M. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N. Engl. J. Med.*, v. 14, p. 892-902, 1986.
- PETERSON, L. J. *Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- PINNELL, S. R. et al. Introduction of collagen synthesis by ascorbic acid: a possible mechanism. *Arch. Dermatol.*, v. 123, p. 1684-1686, Dec. 1987.
- RANG, H. P.; DALE M. M. *Farmacologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- RINGSDORF, M. W. JUNIOR; CHERASKIN, E. Vitamin C and human wound healing. *Oral Surg.* v. 53, p. 231-236, Mar. 1982.
- ROBBINS, S. L. et al. *Patologia estrutural e funcional*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- SILVA, R. M. *Respostas do tecido conjuntivo subcutâneo de rato sob ação do paramonoclofenol canforado e paramonoclofenol aquoso a 2%*. Dissertação (mestrado em Ciências na área de Endodontia), Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1981.
- STANYA, A. E. et al. The effects of various levels of ascorbic acid intake upon growth and organ weights of guinea pigs. *Int J. Vitam. Nutr. Res.*, v. 54, n. 2/3, p. 237-243, 1984.
- VIANNA, V. Estudo clínico dos níveis séricos do terceiro componente do complemento em lúpus eritematoso sistêmico. Rio de Janeiro. Dissertação (livre docência em Reumatologia) Faculdade de Medicina, 1974.

Endereço para correspondência

Valmor Júnior B. Ávila
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Odontologia de Passo Fundo
Campus I - Bairro São José - Br-285
99001-970 - Passo Fundo - RS