

FACULDADE SETE LAGOS
INSTITUTO BRAGA DE ODONTOLOGIA E PESQUISA
Pós-graduação em Harmonização Orofacial

Thalita Tayná Henrique Dourado

**DURABILIDADE E EFETIVIDADE DE MATERIAIS INJETÁVEIS
MIXADOS: ÁCIDO HIALURÔNICO E HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO,
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

São Paulo-SP

2022

Thalita Tayná Henrique Dourado

**DURABILIDADE E EFETIVIDADE DE MATERIAIS INJETÁVEIS
MIXADOS: ÁCIDO HIALURÔNICO E HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO,
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia apresentada a pós-graduação em Harmonização Orofacial da Faculdade Sete Lagoas - FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Harmonização Orofacial.

Orientador: Prof. Alexandre Morita

Área de concentração: odontologia

São Paulo-SP

2022

Thalita Tayná Henrique Dourado

**DURABILIDADE E EFETIVIDADE DE MATERIAIS INJETÁVEIS
MIXADOS: ÁCIDO HIALURÔNICO E HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO,
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia apresentada a pós-graduação em Harmonização Orofacial da Faculdade Sete Lagoas - FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Harmonização Orofacial.

Área de concentração: Odontologia.

Aprovada em ___/___/___ pela banca constituída dos seguintes professores:

Prof.: Alexandre Morita

Prof. Rogério Marques

Prof.

São Paulo-SP

Junho, 2022

Ao meu padrasto Allyson Lameira, por ser sempre incentivador de sonhos e por sempre acreditar em mim. Você é o pai que eu nunca tive a chance de ter.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha família pelo apoio em absolutamente tudo que eu faço, às minhas colegas de turma que tronaram esse caminho mais leve, em especial: Mari, Camila, Anninha, Thaís e Gui; levarei vocês com carinho no meu coração. Aos professores do IBOP que contribuíram para minha formação e aprendizado, bem como toda a equipe.

RESUMO

A procura por procedimentos estéticos que retardem o processo de envelhecimento ou até mesmo que diminua a aparência dos anos refletidos na qualidade da pele, vem crescendo cada vez mais no mundo inteiro. A harmonização orofacial trabalha com diversos materiais que têm efeitos e resultados diferentes, quando combinados podem entregar melhorias na autoestima dos pacientes. Almejando analisar acerca do uso de materiais preenchedores como o ácido hialurônico e o bioestimulador de colágeno, bem como a sua combinação, para inferirmos sobre sua durabilidade, funções e protocolos, foi realizada uma busca na plataforma Pubmed, como resultado obtivemos 134 artigos dos quais foram selecionados 20, usando como critérios: abrangência do tema, uso dos materiais em regiões faciais, artigos dos últimos 5 anos que foram publicados. Após leitura e análise das metodologias de cada trabalho, pode-se inferir que: a durabilidade e eficácia dos materiais se dá devido a suas características reológicas, porém ainda há muito empirismo acerca do uso combinado e pré-mixado desses dois materiais, sendo tal técnica adaptada de acordo com o profissional, o que traz ainda inseguranças sobre o seu uso e manipulação, devendo assim haver mais pesquisas clínicas com um número amostral maior, para assim conseguirmos aplicar de forma segura essa técnica.

Palavras-chave: ácido hialurônico; colágeno tipo III; preenchedores dérmicos.

ABSTRACT

The search for aesthetic procedures that delay the aging process or even reduce the appearance of the years reflected in the quality of the skin, has been growing more and more worldwide. Orofacial pairing works with different materials that have different effects and results, when combined can deliver improvements in patients' self-esteem. Aiming to analyze the use of filling materials such as hyaluronic acid and collagen biostimulator, as well as their combination, in order to infer about their durability, functions and protocols, a search was carried out on the Pubmed platform, as a result we obtained 134 articles of which 20 were selected, using as criteria: scope of the topic, use of materials in facial regions, articles from the last 5 years that were published. After reading and analyzing the methodologies of each work, it can be inferred that: the durability and effectiveness of the materials is due to their rheological characteristics, but there is still a lot of empiricism about the combined and pre-mixed use of these two materials, being such a technique adapted according to the professional, which still brings insecurities about its use and handling, so there should be more clinical research with a larger sample number, so that we can safely apply this technique.

Key words: hyaluronic acid; collagen type III; dermal fillers.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. JUSTIFICATIVA.....	13
3. OBJETIVOS.....	14
4. METODOLOGIA.....	15
5. REVISÃO.....	16
5.1-HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO.....	16
5.2-PREENCHEDOR.....	18
5.3-DUOBLEND.....	18
6. DISCUSSÃO.....	24
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
8. REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

O conceito de beleza é algo relativo, sendo definido por aspectos individuais e culturais; entretanto, alguns padrões tornaram-se comuns ao que diz respeito à sua definição, rostos mais quadrados, simétricos e lábios carnudos tornaram-se mais atrativos. Com o aumento da expectativa de vida, bem como a mudança dos padrões da sociedade acerca do envelhecimento, a procura por procedimentos estéticos que retardassem esse processo biológico, aumentou. O envelhecimento ocorre devido a fatores intrínsecos do indivíduo, com interferências ambientais, havendo alterações físico-químicas e biológicas, havendo uma degradação e diminuição das fibras colágenas, bem como uma alteração estrutural na sua conformação, ocorrendo então a perda de volume facial e o surgimento de rítes e sulcos (VASCONCELOS et al., 2020). Sugere-se na literatura que existem quatro pilares estéticos interligados ao processo de envelhecimento facial – remodelação óssea, perda de gordura subdérmica, ação muscular e envelhecimento da pele.

Procedimentos estéticos minimamente invasivos, como os preenchimentos faciais e bioestimuladores de colágeno, aumentaram exponencialmente em 2021. Foram realizados cerca de um milhão de tratamentos apenas nos EUA. Sabemos que o crescimento desses procedimentos se deve a constante procura por métodos anti-envelhecimento, objetivando retardar a reabsorção óssea, perda de colágeno, bem como a mudança (hiperplasia ou atrofia) dos coxins gordurosos da face (CASABONA, 2021).

O ácido hialurônico (AH) é uma glicosaminoglicano composto de unidades alternadas e repetitivas de ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina com propriedades hidrofílicas, as quais provocam aumento do volume tecidual; é um dos preenchedores mais utilizados na correção de rítes e sulcos, sendo seguro, reversível e eficaz. O mesmo faz parte do organismo humano, sendo constituinte de 50% da matriz extracelular, tendo como funções: volumização, hidratação, sustentação e elasticidade. Existem várias marcas comerciais e os produtos variam de acordo com a sua densidade, tais características influenciam na indicação de uso,

bem como região a ser aplicado. Sabemos que a eficácia na restauração de tecidos, volumização e suporte de tecidos moles, se deve a sua reologia e a capacidade de induzir ou não a neocolagenase, dependendo da razão da sua diluição e quantidade de partículas em contato com os fibroblastos. A consistência do AH é gelatinosa, possuindo uma alta viscoelasticidade devido a sua característica molecular. O AH imobiliza a água no tecido, alterando o volume dérmico e a viscoelasticidade da matriz extracelular (NOWAG et al., 2019).

O AH sintético foi produzido em 1989 por Endre Balazs, possuindo biocompatibilidade e ausência de imunogenicidade, porém o mesmo só durava 24h nos tecidos, tinha origem animal (crista de galinha). Com o passar dos anos e evolução industrial, o AH mais utilizado passou a ser o de origem bacteriana (sintética), extraído do *Streptococcus*, e é metabolizado pelo fígado, em dióxido de carbono e água (CROCCO et al., 2012). As características variáveis do AH se deve a: concentração total do ácido, tamanho das partículas, pureza, porcentagem de reticulação (quantidade de BDDE) e força de extrusão (EDSMAN et al., 2012). O BDDE é uma molécula de 1,4 - butanediol diglicidil éter, que em conjunto com a divinilsulfona, reage com os grupos hidroxílicos do AH, aumentando o tempo de duração e estabilidade química, sendo resistentes ao calor e degradação enzimática. Seu uso difere de acordo com as regiões de aplicação, sendo os volumizadores indicados para devolução de contorno e volume de regiões ósseas (CARRUTHERS et al., 2003).

O envelhecimento extrínseco, também denominado de fotoenvelhecimento, se deve às repetidas exposições a raios ultravioleta (UVA, UVB e luz visível), bem como: poluição, tabagismo, álcool e hábitos alimentares. O que chamamos de efeito cascata neste processo, nos mostra que se atuamos em uma região, também melhoramos outra, porém o aspecto da pele com manchas e sulcos profundos são características mais difíceis de serem tratadas. Objetivando a melhoria do aspecto cutâneo, a introdução de materiais injetores que induzem a produção de colágeno, foi essencial para o tratamento de flacidez, agindo na derme e refletindo no aspecto da epiderme (LIMA e SOARES, 2020).

A hidroxiapatita de cálcio foi inicialmente aprovada pela US Food and Drug Administration (FDA), em 2001, como um implante injetável para ser um marcador radiográfico em tecido mole. Mas em 2006, a FDA aprovou Radiesse® (Merz Aesthetics, Raleigh, NC) como um preenchedor à base de hidroxiapatita de cálcio para uso em sulcos naso-labiais e em pacientes com vírus HIV associados com lipoatrofia facial. Radiesse® consiste em osso sintético não imunogênico, composto em 30% por microesferas de hidroxiapatita de cálcio de 25 a 45 um de diâmetro, que se encontram mergulhadas na abundante matriz, equivalente a 70% do produto, do gel de carboxi-metilcelulose de sódio. A Hidroxiapatita de Cálcio é considerada um material preenchedor semi-permanente e quando diluído é essencialmente um bioestimulador de colágeno (GOLDBERG et al., 2018).

Os bioestimuladores são classificados quanto à durabilidade e a absorção pelo organismo, existindo os biodegradáveis, que tem sua absorção pelo próprio organismo, através de mecanismos fagocitários naturais, e semipermanentes, que possuem duração entre 18 meses e 5 anos, se degrada em íons cálcio e fosfato, sendo excretado lentamente pelo corpo. Dentro dessa categoria estão o ácido PoliL - láctico (PLL A), hidroxiapatita de cálcio (CaHA), e a policaprolactona (PCL). Também existe o bioestimulador classificado como não biodegradável, que não é fagocitado e permanece indefinidamente no organismo. Nessa categoria está o polimetilmetacrilato (PMMA) (CARRUTHERS et al., 2003).

O bioestimulador não é injetado diretamente em rugas, sulcos ou linhas, mas difusamente em áreas côncavas ou de sombras, causadas por perda de gordura hipodérmica e/ou subcutânea, não tendo seu efeito imediato e sim devido a uma resposta inflamatória gerada pelo material injetor, não tendo função de reestabelecer volume de forma direta, exceto a hidroxiapatita de cálcio que pode volumizar a região (LOGHEM et al., 2015). Com uma duração de cerca de 18 meses, o bioestimulador de colágeno tem seu pico da produção de colágeno tipo I no sétimo mês após a aplicação, podendo o paciente ver seus resultados a partir de 30 dias após o procedimento.

A história dos preenchedores faciais, bem como sua evolução, se deve principalmente a experiência clínica de profissionais injetores e acompanhamento pós clínico desses pacientes. A pesquisa clínica dentro da harmonização facial é algo recente, dado seu crescimento e necessidade de aperfeiçoamento dos materiais injetores, para aplicabilidade clínica com intuito de: restaurar osso reabsorvido, volumizar e reestabelecer tecidos ptosados e promover produção de colágeno e elastina; sabemos que o uso do material correto e da técnica adequada se faz necessária para obter êxito no tratamento (CARRUTHERS et al., 2003). Sabemos que não há no mercado um único produto que promova todas as propriedades anti-envelhecimento que foram citadas anteriormente, mas que a combinação de tratamentos é efetiva (CASABONA et al., 2017).

Dada a necessidade de complementação de tratamentos com os materiais a base de AH, e a alta estabilidade da Hidroxiapatita de Cálcio quando utilizada como volumizador, profissionais da área injetora mixaram os dois materiais, a fim de garantir que não haja migração, bem como promover uma neocolagenase. O preenchimento de hidroxiapatita de cálcio é um preenchimento dérmico popular, pois fornece resultados duradouros. No entanto, às vezes sofre perda inesperada de volume precoce, devido à rápida absorção do gel antes da neocolagênese. Para compensar esse fenômeno, o preenchimento de ácido hialurônico foi adicionado ao preenchimento de hidroxiapatita de cálcio para injeção como uma mistura (CHANG et al., 2020). Tal técnica ficou conhecida como duoblend. O intuito desse trabalho é revisar e analisar de acordo com os achados na literatura, as vantagens e durabilidade dessa técnica na promoção do rejuvenescimento facial.

2.JUSTIFICATIVA

Faz-se importante dada a relevância e aumento do uso de materiais injetáveis para a promoção de saúde e prevenção do envelhecimento, bem como durabilidade do material.

3.OBJETIVOS

Realizar um levantamento bibliográfico acerca do uso de ácido hialurônico, bioestimulador de colágeno e o mix dos dois produtos. Com intuito de avaliar seu uso e durabilidade.

4.METODOLOGIA

Através de uma busca na plataforma Pubmed, com as palavras-chave: ácido hialurônico e bioestimulador de colágeno, encontramos 134 artigos científicos, dos quais 20 foram selecionados para serem utilizados nessa revisão de literatura. Os critérios de seleção foram: artigos publicados nos últimos 5 anos, relacionados com o tema e pesquisas científicas.

5. REVISÃO DE LITERATURA

5.1- HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO

A hidroxiapatita de cálcio é utilizada em tratamentos faciais, mas também em tratamentos corporais. Casabona et al. (2017) pesquisaram o uso da hidroxiapatita de cálcio diluída 1:1 associada com microagulhamento e ácido ascórbico tópico 20% em estrias brancas e vermelhas. Com amostra de n=35, sendo 25 de estrias vermelhas e 10 de estrias brancas. Foram realizadas 3 sessões, sendo que na primeira foi feita a aplicação de CaHA diluída 1:1 seguida de vigorosa massagem e microagulhamento (agulha de 2mm) com Dermapen (Dermapen Fractional Micro Needle System; DermapenWorld Fort Lauderdale, Fla.) com aplicação tópica de ácido ascórbico 20%. Na segunda sessão (1 mês após a primeira) e na terceira sessão (2 meses após a primeira) apenas o microagulhamento e aplicação tópica do ácido ascórbico foram realizados. A avaliação foi feita 1 mês após a última sessão do tratamento. Uma das pacientes que foi submetida ao tratamento ia fazer uma abdominoplastia e concordou em fazer biopsia de tecido para análise histológica. Com o intuito de comparação, ela recebeu o tratamento proposto numa área e em outra área foi feito apenas microagulhamento e ácido ascórbico tópico. Foram removidas 3 amostras: uma da área tratada com CaHA, microagulhamento e ácido ascórbico tópico, outra da área onde foi feita apenas microagulhamento e ácido ascórbico tópico e outra de uma área que não recebeu tratamento. Histologicamente, observou-se que a área que recebeu CaHA, microagulhamento e ácido ascórbico tópico teve uma melhora na qualidade e na quantidade de colágeno e fibras elásticas na derme, quando comparada com a área que foi submetida apenas ao microagulhamento e ácido ascórbico tópico e à área que não recebeu tratamento. Nas papilas dérmicas (subepiderme) também se observou aumento da quantidade de colágeno na área que recebeu microagulhamento e ácido ascórbico tópico quando comparada com a área não tratada. Com estes resultados, a autora concluiu que esta associação pode produzir aumento de colágeno na pele

Com a intenção de examinar os efeitos do tratamento com CaHA na organização molecular do colágeno, Zerbinati e Calligaro (2018), utilizaram uma combinação de coloração com picrossirius red e microscopia de luz circularmente polarizada. Selecionaram cinco indivíduos, os quais receberam injeção subdérmica de 0,3 mL de CaHA em tecidos programados para remoção durante abdominoplastia 2 meses depois. Amostras de tecido do local da injeção de CaHA e uma área de controle não tratada foram obtidas da pele excisada no momento da cirurgia. Cortes de tecido processado foram corados com solução de picrossirius red 0,1% e visualizados sob microscopia de luz circularmente polarizada para identificação de fibras colágenas espessas maduras (tipo I) e finas recém-formadas (tipo III). Os sinais de pixel das áreas de controle e tratadas com CaHA foram extraídos das imagens e a análise de matiz computadorizada morfométrica foi realizada para fornecer uma avaliação quantitativa das fibras de colágeno maduras e recém-formadas. Sob coloração com picrossirius red e microscopia de luz circularmente polarizada, áreas verdes/amarelas (colágeno fino recém-formado tipo III) foram visíveis entre as fibras de colágeno em cortes de tecido da área de injeção de CaHA. Em contraste, a maioria das fibras de colágeno parecia vermelha (colágeno maduro espesso tipo I) nos tecidos de controle. A análise morfométrica confirmou que, após o tratamento com CaHA, a proporção de fibras representadas por colágeno fino neoformado tipo III aumentou significativamente ($p < 0,01$) em comparação com a proporção de fibras de colágeno maduro espesso tipo I. Em contraste, o conteúdo de colágeno dos tecidos de controle consistiu quase exclusivamente em fibras de colágeno maduro tipo I. Podendo inferir que a injeção subdérmica de CaHA estimula a formação de novo colágeno e a remodelação dérmica.

Com o intuito de comparar a melhora estética alcançada com 3 cc de hidroxiapatita de cálcio com lidocaína integral CaHA(+) ou VYC-20L no terço médio da face, Durkin e colaboradores (2021), selecionaram 17 pacientes com perda de volume do terço médio da face para receberem 3 cc de CaHA(+) ou VYC-20L. Os resultados nos dias de pós-tratamento 1, 7, 30, 90, 180 e 365 foram medidos pelo sujeito e pelo médico cego usando a Escala de Melhoria Estética Global (SGAIS e PGAIS). Foi determinado o custo por ponto de melhoria no SGAIS ao longo do tempo. Os resultados foram globalmente positivos, com a grande maioria dos indivíduos pelo

menos melhorando em todos os momentos. Uma proporção maior de indivíduos foi pelo menos "muito melhor" no grupo de tratamento com CaHA(+) em cada ponto de tempo, uma diferença que atingiu significância no dia 90 (100% vs 50%, $P = 0,02$), dia 180 (89 % vs 37,5%, $P = 0,03$) e dia 360 (89% vs 37,5%, $P = 0,03$). Tanto para SGAIS quanto para PGAIS, apenas os indivíduos da coorte VYC-20L tiveram aparência "inalterada" em 1 ano. Em 1 ano, o custo médio por ponto de melhoria SGAIS para VYC-20 foi aproximadamente o dobro do CaHA-20L. Os resultados deste estudo indicam que o CaHA(+) suporta resultados melhores e mais duradouros do que um volume igual de VYC-20L no terço médio da face, proporcionando um valor maior ao paciente.

5.2- PREENCHEDOR

Lee e Lorenc (2016), em seu artigo, relataram que o Radiesse (hidroxiapatita de cálcio) tem um alto módulo de elasticidade. Considerando que módulo de elasticidade é a habilidade que um material tem de resistir deformação quando uma pressão é aplicada sobre ele, quanto maior o módulo de elasticidade, maior sua resistência, e menor sua capacidade de deformar quando submetido à pressão. Esta propriedade confere à hidroxiapatita de cálcio um melhor efeito lift quando injetado sob a pele como preenchedor. Além do módulo de elasticidade, Lorenc, et al., (2018) também estudaram outras características físico-químicas do preenchedor CaHA, como a sua viscosidade, sua reologia e o seu efeito bioestimulador. Baseado em seus estudos, ele declara que em seu perfil reológico, a CaHA apresenta um módulo de elasticidade e viscosidade maior que o preenchedor à base de ácido hialurônico. Esta conclusão oferece bases científicas para considerar a CaHA um preenchedor que serve como um implante líquido e um excepcional tecido de suporte para revolumização facial.

5.3- DUO BLEND

Com o objetivo de testar a bioestabilidade e bioatividade de hidrogéis compostos de ácido hialurônico (HAc)-hidroxiapatita (HAp), Jeong et al. (2016) geraram dois tipos de cargas compostas HAc-HAp: HAcmicroHAp e HAc-nanoHAp.

HAc-microHAp foi fabricado misturando microesferas de HAp com hidrogéis de HAc, e HAc-nanoHAp foi feito por precipitação *in situ* de partículas de HAp de tamanho nano em hidrogéis de HAc. A ênfase foi colocada no efeito da HAp na durabilidade e bioatividade das cargas. Em comparação com a carga HAc pura, todas as cargas compostas HAc-HAp exibiram melhorias significativas na manutenção volumétrica com base em testes *in vivo* devido ao seu teor de água reduzido e maior grau de biointegração entre a carga e os tecidos circundantes. Os preenchedores compósitos HAc-HAp também mostraram notável melhora na recuperação da derme, promovendo a formação de colágeno e fibras elásticas. Com base em sua durabilidade e bioatividade de longa duração, as cargas compostas HAc-HAp têm grande potencial para aumento de tecidos moles com multifuncionalidade.

Jeong e colaboradores (2017), com o intuito de avaliar um hidrogel, fabricaram um nanocompósito de ácido hialurônico (HAc)-hidroxiapatita (HAp) (HAc-nanoHAp) através de um processo de precipitação *in situ* para aprimoramento mecânico e biológico como um produto de aumento de tecido mole. Neste estudo, esses enchimentos compostos de hidrogel foram analisados a partir de três perspectivas diferentes e comparados com hidrogel HAc puro para aplicação de aumento de tecido mole: (1) comportamentos reológicos, (2) difusão lateral *in vivo* sob a pele de camundongo e (3) melhora de rugas em um modelo de rato fotoenvelhecido. Como resultado, puderam observar que o HAc-nanoHAp proporcionou grande melhora nas rugas devido à sua maior rigidez e coesividade do gel em comparação com o HAc puro. O HAc-nanoHAp também apresentou grande potencialização no fortalecimento da matriz dérmica por estimular a síntese de colágeno e elastina. Assim, o preenchedor HAc-nanoHAp tem grande potencial como produto de aumento de tecidos moles, melhorando o desempenho biofísico e biológico no tecido da pele.

Para avaliar a possível modulação da síntese de colágeno após o tratamento de fibroblastos humanos cultivados *in vitro* com o produto Neuvia Stimulate (Lot. 160517-26-1/2 PEG), Zerbinati e colaboradores (2017) desenvolveram um modelo experimental que permite a derivação de informações úteis para prever a possível atividade do produto em outras aplicações *in vivo*. Fibroblastos humanos (células PEU) foram tratados com o produto por 24 h em concentrações crescentes em

comparação com o controle (células não tratadas). A modulação da síntese de colágeno foi avaliada por meio de um kit colorimétrico específico (Sircol, Soluble Collagen Assay Kit). O incremento da produção de colágeno, 37,62% e 97,39% nas concentrações de 1,25 mg/ml e 2,5 mg/ml de produto, respectivamente, foi considerado estatisticamente significativo (*p valores $\leq 0,05$ e **p valores $\leq 0,01$) quando comparado com controle (células não tratadas). Concluíram que o Hidrogel de Ácido Hialurônico 26 mg/ml PEG reticulado com hidroxiapatita de cálcio em baixas concentrações (1%) determina um incremento estatístico na neocolagênese.

Com o objetivo de avaliar a indução de osteogênese, Faruk e colaboradores (2017), incorporaram hidrogel de ácido hialurônico-gelatina a grânulos de fosfato de cálcio bifásicos microcanalizados como um transportador para melhorar a adesão e proliferação celular através de uma estrutura porosa altamente interconectada. Este sistema híbrido é composto por grânulos cerâmicos de fosfato de cálcio bifásico de 1 mm de diâmetro com sete orifícios e hidrogel de ácido hialurônico-gelatina. Esta combinação de fosfato de cálcio bifásico e gelatina de ácido hialurônico manteve características adequadas para a regeneração óssea. A estrutura resultante tinha uma porosidade de 56% com tamanhos de poros adequados. A resistência mecânica do grânulo de fosfato de cálcio bifásico aumentou após o carregamento de ácido hialurônico-gelatina de $4,26 \pm 0,43$ para $6,57 \pm 0,25$ MPa, o que é altamente recomendado para substituição de osso esponjoso. As taxas de inchaço e degradação diminuíram no material híbrido em comparação com o hidrogel devido à presença de grânulos. Estudos de citocompatibilidade in vitro foram observados pela linhagem celular de pré-osteoblastos (MC3T3-E1) e o resultado revelou que o fosfato de cálcio bifásico/gelatina de ácido hialurônico aumentou significativamente o crescimento e a proliferação celular em comparação com os grânulos de fosfato de cálcio bifásico. A análise dos dados da microtomografia computadorizada e dos cortes de tecido corado das amostras implantadas mostrou que o scaffold híbrido teve boa osseointegração e melhor formação óssea no scaffold um e dois meses após a implantação. O corte histológico confirmou a formação de tecido colagenoso denso e osso novo em amostras bifásicas de fosfato de cálcio/ácido hialurônico-gelatina em dois meses. Concluindo que esse scaffold híbrido bifásico de fosfato de cálcio/ácido hialurônico-gelatina é um sistema promissor para regeneração óssea.

Objetivando a comparação entre ácido hialurônico (HAc) e a hidroxiapatita de cálcio (HAp), Fan e colaboradores (2019) desenvolveram cargas compostas de HAc-hidroxiapatita (HAp). Compararam sistematicamente o aumento do nível de proteína e a expressão gênica entre HAc-micro-HAp e HAc-nano-HAp em camundongos e determinaram os mecanismos subjacentes às respostas biológicas a HAc e HAp. Camundongos BALB/c-nude fêmeas de cinco semanas de idade foram classificados em cinco grupos: pele normal, Radiesse, Restylane, HAc-nano-HAp e HAc-micro-HAp. Enchimentos (200 µl) foram injetados para preencher uniformemente as costas dos camundongos. Biópsias de pele foram realizadas para investigar a síntese de colágeno e fibras elásticas após injeções de preenchimento. Análise de Western blot, análise de reação em cadeia da polimerase em tempo real e imuno-histoquímica foram realizadas para investigar alterações de expressão de proteínas e genes. A toxicidade de órgãos (fígado, pulmão, baço e rim) de HAc-nano-HAp foi determinada por coloração com hematoxilina e eosina após 12 semanas. As análises de expressão de proteínas e genes indicaram que, em comparação com cargas puras, os hidrogéis HAc-nano-HAp e HAc-micro-HAp promoveram preferencialmente a formação de colágeno e fibras elásticas pela via do TGF- β . As cargas compostas também não apresentaram evidência de toxicidade de órgãos. O preenchimento HAc-HAp pode desempenhar um papel importante na regeneração de colágeno e fibras elásticas. O preenchimento HAc estimula a síntese de colágeno tipo 1 e fibras elásticas através da via TGF- β /Smad. O papel das cargas compostas HAc-HAp no fotoenvelhecimento em modelos animais e seus efeitos na pele, incluindo elasticidade e resistência à tração, devem ser investigados.

Chang e colaboradores (2020) selecionaram vinte e cinco pacientes que pontuaram 1 ou 2 na escala Merz de 5 pontos para o sulco nasolabial e linha da mandíbula. Foram injetados com 3,0 mL da mistura de AH e hidroxiapatita de cálcio. A mistura foi preparada com 1,0 mL de preenchedor de ácido hialurônico, 0,5 mL de lidocaína e 1,5 mL de preenchedor de hidroxiapatita de cálcio. A escala visual analógica (VAS) e a escala de satisfação global de 5 pontos (GSS) foram utilizadas para avaliações objetivas e subjetivas. Em um subgrupo de pacientes, para análise histológica, 0,1 mL da mistura e 0,1 mL de apenas hidroxiapatita de cálcio foram injetados nas áreas retroauricular direita e esquerda, respectivamente. A análise

histológica foi realizada 6 meses após o implante. As pontuações médias VAS e GSS para ambos os conjuntos de rugas estavam acima de "regular" em todos os acompanhamentos, inclusive em períodos de curto e longo prazo. As biópsias de pele de ambas as áreas retroauriculares de pacientes selecionados mostraram aumento dos feixes de colágeno dérmico sem inflamação. A mistura de enchimento de hidroxiapatita de cálcio e enchimento de ácido hialurônico manteve o volume constante com alta satisfação, pois o enchimento de ácido hialurônico compensou a perda inesperada de volume precoce do enchimento de hidroxiapatita de cálcio.

Segundo Fakin-Gomez e Kaudoch, (2021) muitos medicamentos são usados off-label e o uso do ácido hialurônico (AH) e da hidroxiapatita de cálcio (CaHA) na mesma sessão é um caso desses. Eles podem ser injetados separadamente ou misturados previamente à injeção. Quando usados no mesmo plano porém com injeções diferentes, eles mantêm suas propriedades reológicas. Quando misturados previamente e aplicados na mesma injeção, suas propriedades reológicas são alteradas e ainda não foram definidas. O presente estudo avaliou se o resultado foi mais eficaz e qual foi a duração do resultado obtido. Eles concluíram que a mistura do ácido hialurônico e da hidroxiapatita de cálcio foi eficaz para volumizar e dar um efeito lifting na mandíbula e no queixo. Os resultados sugerem que a satisfação com 3 meses após o tratamento, foi maior com o uso da mistura de AH e da CaHA do que quando o AH foi usado sozinho. Com 12 meses, esta maior satisfação desaparece, talvez pelo efeito final do AH.

Bravo e colaboradores (2022) com o objetivo de avaliar as melhorias clínicas e ultrassonográficas na flacidez da pele facial usando uma técnica que combina a injeção de HA e CaHA, realizaram um estudo quase experimental de 120 dias de duração, com quinze mulheres (36 a 47 anos) com escores de flacidez facial leve. Elas foram submetidas a injeção subcutânea de até 3 mL de AH (zigomático-malar região, abertura piriforme, região temporal e mandíbula) seguido de 3 mL de CaHA diluído 1:1 usando uma técnica de leque (regiões temporais, zigomático-malar e mandíbula). Os efeitos adversos foram registrados e os desfechos avaliados mensalmente incluíram melhora clínica, satisfação e parâmetros de ultrassonografia de alta frequência (espessura dérmica). Aos 120 dias, a avaliação clínica por médicos

cegos resultou em seis (40%) pacientes muito melhorados e nove (60%) pacientes excepcionalmente melhorados. Todos os participantes ficaram muito satisfeitos com os resultados e relataram uma melhora excepcional. A espessura dérmica aumentou 11,1% (8,8-13,4%), e a homogeneidade dérmica aumentada foi evidenciada pela ultrassonografia. Os efeitos adversos locais foram leves e transitórios. Em conclusão, a técnica combinada com preenchedores de HA e CaHA foi bem tolerada e produziu alta satisfação e melhora segura na flacidez da pele facial e espessura dérmica em mulheres com envelhecimento médio da face.

Fakih-Gomez e Kadouch (2022) realizaram uma revisão retrospectiva de prontuários de pacientes injetados com uma combinação pré-misturada de Hidroxiapatita de Cálcio (CaHA) e uma matriz polidensificada coesiva (CPM) composta por ácido hialurônico (CaHA:CPM-HA), a face média e face inferior receberam o material injetor. Registros de pacientes foram avaliados, e os resultados do tratamento foram pontuados usando o Merz Aesthetics Scale para a linha do maxilar (classificada pelo médico, CR-MASJ). Foram incluídos 41 pacientes, todos do sexo feminino com média de idade de 47,5 anos (variação de 21 a 63 anos). Como resultado observaram que a pontuação média do CR-MASJ melhorou de 2,12 na linha de base para 0,68 em t = 3 meses (SD = 0,69, IC 95% 1,28-1,60) e 1,27 em t = 12 meses (SD = 0,74, IC 95% 0,43–0,74). 100% dos sujeitos experimentaram um ponto C1 de melhora na pontuação CR-MASJ em t = 3 meses, versus 85% em t = 12 meses. Nenhum evento adverso foi relatado, podendo inferir que os resultados deste estudo suportam o potencial de volume e lifting da mistura híbrida CaHA:CPM HA para tratamento de bochechas e mandíbula.

6.DISSCUSSÃO

A literatura mostra que a hidroxiapatita de cálcio tem se apresentado clinicamente bem-sucedida ao longo dos últimos 14 anos. A FDA aprovou o Radiesse® (Merz Aesthetics, Raleigh, NC) em 2006 como um preenchedor á base de hidroxiapatita de cálcio, com indicação de uso em sulcos naso-labiais e em pacientes com lipoatrofia facial, porém ela também tem sido usada na forma diluída como estimulador da neocolagenase. Muitos autores concordam com a eficácia da hidroxiapatita de cálcio como promotor da produção de colágeno, melhorando as propriedades do tecido.

Zerbinati e Calligaro (2018) compararam amostras de tecidos que receberam hidroxiapatita de cálcio com amostras de tecidos, na mesma paciente, que não receberam hidroxiapatita de cálcio. Apesar da amostra ter sido pequena, pois foram apenas 5 pacientes, eles encontraram uma proporção relativamente maior de colágeno novo (colágeno tipo III) nas amostras de tecido que receberam a hidroxiapatita de cálcio e nas amostras do grupo controle, eles encontraram uma quantidade maior de colágeno maduro, que é o colágeno tipo I, confirmando assim que a hidroxiapatita de cálcio estimula a formação de colágeno tipo III.

Casabona e Marchese (2017) compararam amostras de tecidos que receberam tratamento com injeções de hidroxiapatita de cálcio diluída 1:1, microagulhamento e ácido ascórbico tópico, com amostras de tecido que receberam apenas microagulhamento e ácido ascórbico tópico, com amostras de tecido que não receberam tratamento algum. A amostra também é pequena, pois das 35 pacientes que foram submetidas ao tratamento, apenas uma consentiu com a remoção do tecido para estudo comparativo. Entretanto, as análises histológicas revelaram um aumento na quantidade e na qualidade de colágeno e fibras de elastina nas áreas tratadas com hidroxiapatita de cálcio, microagulhamento e ácido ascórbico em comparação com as amostras que receberam apenas tratamento com microagulhamento e ácido ascórbico e com as amostras de tecido que não receberam tratamento. Também devemos considerar, que das 35 pacientes, 25 tinham estrias vermelhas, ou seja, estrias mais recentes, o que favorece uma resposta positiva ao tratamento. Desta forma, o estudo de Casabona e Marchese (2017) consolida o que Zerbinati e Calligaro (2018) haviam concluído: que o uso da hidroxiapatita de cálcio diluída aumenta a produção de colágeno.

Ao selecionar e avaliar 17 pacientes durante 365 dias após tratamento com ácido hialurônico e bioestimulador de colágeno, Durkin e colaboradores (2021), chegaram a conclusão de que os resultados a longo prazo observados nas amostras de bioestimulador de colágeno foram mais satisfatórias do que quando utilizados apenas o ácido hialurônico. Em contrapartida, Lee e Lorenc (2016) ao utilizar a Hidroxiapatita de cálcio puderam observar que muitas vezes o volume gerado sumia antes mesmo de promover a neocolagenase, havendo assim a necessidade de melhoria na estabilidade a longo prazo desse material.

Jeong et al. (2016), testaram hidrogéis com ácido hialurônico puro e com hidroxiapatita de cálcio misturada e assim como Jeong e colaboradores (2017), Zerbinati e colaboradores (2017), observaram que o HAc puro foi degradado de forma mais rápida e todas as cargas compostas HAc-HAp exibiram melhorias significativas tanto na durabilidade, quanto na manutenção volumétrica dos tecidos, apresentando-se assim como um produto multifuncional.

Estudos como o de Faruk e colaboradores (2017), Fan e colaboradores (2019), Chang e colaboradores (2020) e Fakh-Gomez e Kadouch (2022) ao analisarem os meios de indução da neocolagenase, bem como a possível biocompatibilidade desse composto, chegaram a conclusão que a junção da hidroxiapatita de cálcio e ácido hialurônico apresentou maior estabilidade dimensional, dado ao fato de que a aplicação da HAc de forma isolada era biodegradado de forma mais rápida e muitas vezes antes da bioestimulação de colágeno. Além disso não demonstraram reação inflamatória generalizada, havendo assim uma característica de biocompatibilidade. Entretanto, segundo Fakh-Gomez e Kadouch (2021), ainda existem respostas a serem obtidas sobre a interação desses materiais e das suas capacidades biológicas quando utilizados como material mixado, apesar de termos pesquisas consolidadas acerca das características desses materiais quando utilizados de forma isolada, ainda não sabemos a longo prazo quais as suas propriedades. Apesar de não sabermos, os pacientes desta pesquisa relataram melhoras, porém após um ano observaram efeitos menores de satisfação, talvez, segundo os autores, devido ao desaparecimento do preenchedor a base de ácido hialurônico.

O uso combinado de ácido hialurônico na mesma sessão que o bioestimulador de colágeno também é comum, Bravo e colaboradores (2022) utilizaram 3mL de ácido

hialurônico que foram distribuídos em toda a face das pacientes, em seguida foram utilizados também 3mL de Hidroxiapatita de cálcio, diluída de 1:1, apesar do número amostral ser pequeno, ao analisar após 120 dias foi observado um aumento de espessura dérmica, bem como a percepção dessas mulheres frente ao espelho também foi satisfatório. Podemos assim inferir que também é eficaz o uso combinado desses dois materiais de forma não mixada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Acerca da pesquisa bibliográfica realizada sobre o uso combinado ou separado de materiais preenchedores como o ácido hialurônico e a hidroxiapatita de cálcio, podemos inferir que:

- Sua aplicabilidade clínica se mostrou eficaz no tratamento de rugas e ríides, melhorando a qualidade global da pele, bem como sua espessura dérmica;
- É fato que sabemos das propriedades químicas, físicas e biológicas do uso desses materiais injetores de forma separada, porém falta respaldo científico de longo prazo sobre seus efeitos;
- O uso isolado da Hidroxiapatita de cálcio como material preenchedor semi-permanente não se mostrou tão eficaz, pois há uma rápida absorção biológica antes mesmo da colagenase;
- O ácido hialurônico utilizado de maneira isolada se mostra efetivo para volumização, porém não trata flacidez e há uma baixa indução de neocolagenase, sendo assim incapaz de tratar aspecto global de derme, ou seja, para peles mais maduras há a necessidade da combinação dele com o bioestimulador de colágeno;
- O uso combinado das técnicas em mesma sessão sem mixar o material se mostrou eficaz;
- A pré-mixagem pode ser feita e apresenta bons resultados clínicos, porém não há um protocolo embasado na literatura científica que guie o profissional sobre a forma correta de realizá-lo, bem como não há nada na bula dos fabricantes que permita seu uso.

Ainda há muito empirismo acerca do uso combinado desses dois materiais, sendo tal técnica adaptada de acordo com o profissional, o que traz ainda inseguranças sobre o seu uso e manipulação, devendo assim haver mais pesquisas clínicas com um número amostral maior, para assim conseguirmos aplicar de forma segura essa técnica.

REFERÊNCIAS

- Casabona G, Kaye KO. **Invited Discussion on: Combining Calcium Hydroxylapatite and Hyaluronic Acid Fillers for Aesthetic Indications: Efficacy of an Innovative Hybrid Filler.** *Aesthetic Plast Surg.* 2022 Feb;46(1):382-384. doi: 10.1007/s00266-021-02548-1. Epub 2021 Aug 25. PMID: 34435222.
- Chang JW, Koo WY, Kim EK, Lee SW, Lee JH. **Facial Rejuvenation Using a Mixture of Calcium Hydroxylapatite Filler and Hyaluronic Acid Filler.** *J Craniofac Surg.* 2020 Jan/Feb;31(1):e18-e21. doi: 10.1097/SCS.0000000000005809. PMID: 31403504.
- Durkin A, Lackey A, Tranchilla A, Poling M, Glassman G, Woltjen N. **Single-center, prospective comparison of calcium hydroxylapatite and Vycross-20L in midface rejuvenation: Efficacy and patient-perceived value.** *J Cosmet Dermatol.* 2021 Feb;20(2):442-450. doi: 10.1111/jocd.13881. Epub 2020 Dec 15. PMID: 33320420.
- Felix Bravo B, Bezerra de Menezes Penedo L, de Melo Carvalho R, Amante Miot H, Calomeni Elias M. **Improvement of Facial Skin Laxity by a Combined Technique With Hyaluronic Acid and Calcium Hydroxylapatite Fillers: A Clinical and Ultrasonography Analysis.** *J Drugs Dermatol.* 2022 Jan 1;21(1):102-106. doi: 10.36849/JDD.2022.6333. PMID: 35005868.
- Fan Y, Choi TH, Chung JH, Jeon YK, Kim S. **Hyaluronic acid-cross-linked filler stimulates collagen type 1 and elastic fiber synthesis in skin through the TGF- β /Smad signaling pathway in a nude mouse model.** *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2019 Aug;72(8):1355-1362. doi: 10.1016/j.bjps.2019.03.032. Epub 2019 Apr 11. PMID: 31036501.
- Fakih-Gomez N, Kadouch J. **Combining Calcium Hydroxylapatite and Hyaluronic Acid Fillers for Aesthetic Indications: Efficacy of an Innovative Hybrid Filler.** *Aesthetic Plast Surg.* 2022 Feb;46(1):373-381. doi: 10.1007/s00266-021-02479-x. Epub 2021 Aug 2. PMID: 34341855; PMCID: PMC8831259.
- Faruq O, Kim B, Padalhin AR, Lee GH, Lee BT. **A hybrid composite system of biphasic calcium phosphate granules loaded with hyaluronic acid-gelatin hydrogel for bone regeneration.** *J Biomater Appl.* 2017 Oct;32(4):433-445. doi: 10.1177/0885328217730680. Epub 2017 Sep 24. PMID: 28944711.
- Goldberg, D. J. et al (2018). **Expanding Treatment Options for Injectable Agents.** *Aesthetic Surg J.* 38(S1): S1-S7.
- Jeong SH, Fan Y, Cheon KH, Baek J, Kim S, Kim HE. **Hyaluronic acid-hydroxyapatite nanocomposite hydrogels for enhanced biophysical and biological performance in a dermal matrix.** *J Biomed Mater Res A.* 2017 Dec;105(12):3315-3325. doi: 10.1002/jbm.a.36190. Epub 2017 Sep 19. PMID: 28865186.

Kadouch, J. A., (2017). **Calcium hydroxylapatite: A review on safety and complications.** J Cosmetic Dermatol.16(2).152-161.

Zerbinati N, Calligaro A. **Calcium hydroxylapatite treatment of human skin: evidence of collagen turnover through picosirius red staining and circularly polarized microscopy.** Clin Cosmet Investig Dermatol. 2018 Jan 15;11:29-35. doi: 10.2147/CCID.S143015. PMID: 29391818; PMCID: PMC5772396.

Zerbinati N, Capillo MC, Sommatitis S, Maccario C, Alonci G, Rauso R, Galadari H, Guida S, Mocchi R. **Rheological Investigation as Tool to Assess Physicochemical Stability of a Hyaluronic Acid Dermal Filler Cross-Linked with Polyethylene Glycol Diglycidyl Ether and Containing Calcium Hydroxyapatite, Glycine and L-Proline.** Gels. 2022 Apr 23;8(5):264. doi: 10.3390/gels8050264. PMID: 35621562; PMCID: PMC9140203.