



**CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
CURSO DE ODONTOLOGIA**

CLARICE LIOBA DE ARAÚJO

**POLICAPROLACTONA E ÁCIDO POLI-L-LÁTICO: É POSSÍVEL OTIMIZAR E
REDUZIR CUSTOS DURANTE HARMONIZAÇÃO OROFACIAL COM
INDUTORES DE COLÁGENO? UM ESTUDO IN VIVO**

FORTALEZA

2024

CLARICE LIOBA DE ARAÚJO

POLICAPROLACTONA E ÁCIDO POLI-L-LÁTICO: É POSSÍVEL OTIMIZAR E
REDUZIR CUSTOS DURANTE HARMONIZAÇÃO OROFACIAL COM INDUTORES
DE COLÁGENO? UM ESTUDO IN VIVO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Odontologia do
Centro Universitário Christus, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel em
Odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Goberlânio de
Barros Silva

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D278p De Araújo, Clarice Lioba.
Policaprolactona e Ácido Poli-l-lático: : É possível otimizar e reduzir custos durante harmonização orofacial com indutores de colágeno? Um estudo in vivo / Clarice Lioba De Araújo. - 2024.
41 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário Christus - Unichristus, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.

1. Dermal fillers. 2. Colágeno. 3. Policaprolactona. 4. Ácido poli-l-lático. I. Título.

CDD 617.6

CLARICE LIOBA DE ARAÚJO

POLICAPROLACTONA E ÁCIDO POLI-L-LÁTICO: É POSSÍVEL OTIMIZAR E
REDUZIR CUSTOS DURANTE HARMONIZAÇÃO OROFACIAL COM INDUTORES
DE COLÁGENO? UM ESTUDO IN VIVO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Odontologia do
Centro Universitário Christus, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel em
Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de
Barros Silva

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva (Orientador)
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Antônio Ernando Carlos Ferreira Junior
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dayrine Silveira de Paula
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Dedico este trabalho a Deus, pois sem ele nada seria possível. Aos meus pais, **Hérton Abreu e Lima de Araujo e Valdelene Silva Lioba**, que sempre estiveram comigo, me apoiando, me dando forças, não medindo nenhum esforço para eu estar onde eu estou hoje. Ao meu namorado **Lucas Assunção Oliveira**, que sempre me apoia e me incentiva em tudo e me faz muito feliz. A **minha família Lioba**, que estão sempre comigo em tudo, nos momentos mais tristes aos mais felizes.

AGRADECIMENTOS

Para começar, queria começar a agradecendo a **Deus** pelo dom da vida que ele me deu, por ter me dado saúde, me ajudado a enfrentar os obstáculos, me ajudado a alcançar os meus sonhos durante todos estes anos, por me trazer fé quando muitas vezes eu não achava que eu não iria conseguir e ficava conversando com Deus, obrigada por me fortalecer e me transformar.

Aos meus pais, **Hérton Abreu e Lima de Araujo e Valdelene Silva Lioba**, por sempre tudo para mim, por nunca desistirem de mim, sempre serem os meus maiores incentivadores, sempre me mostrando que eu sou capaz que qualquer coisa. Obrigada por entrarem nesse sonho comigo e fazer o possível e o impossível para tudo ocorrer da melhor forma possível. Vocês dois são o meu maior orgulho, amor e inspiração. Espero que um dia eu possa retribuir todo o amor e tudo que vocês me proporcionam. Amo muito vocês;

Ao meu namorado, **Lucas Assunção Oliveira**, que está comigo desde o início da faculdade, que sonho comigo e faz muito dos meus sonhos virarem realidade .Obrigada por ser essa pessoa incrível que você é, obrigada por ter paciência comigo, por me ouvir, me respeitar e simplesmente ser o amor da minha vida. Amo você;

Aos meus avós, **Maria Aedna Silva Lioba, Raimundo Renato Lioba, e Andrea Araújo**, tudo o que eu sou hoje foi base dos ensinamentos de vocês, obrigada ao meu avô por ser meu padrinho, por sempre me apoiar, com o seu sorriso e gargalhadas, a minha avó Aedna, por ser essa excelente avó, presente em tudo, sempre me apoiando, dando risadas, e por sinal uma super avó de internet, a minha outra avó Andrea, por ser uma avó que sempre me ajudou muito nos ensinamentos, sempre me apoiando e estando presente. Amo vocês.

A minha Tia, **Vanadia Silva Lioba**, que pra mim não é só minha tia, mas sim outra mãe, que muitas vezes eu ligo quando eu estou triste ou tenho algo super interessante para contar, se dá muito apoio, me incentiva em todas as formas. Amo você.

Aos meus primos, **Asley Lioba Caldas, Wesley Lioba Caldas e Odmir Caldas Filho** , por sempre estarem presente em todo os momentos, por sempre os melhores primos que eu poderia ter e além de tudo serem meus amigos. Amo vocês.

Ao meu grupinho de faculdade, **Bruna Leticia, Gabriel batista, Wendy Silva, Ana Karolina Cabral, Isabella Moreira , Sophya Lima** por estarem sempre comigo me apoiando, me ajudando , me incentivando, obrigada por toda a ajuda e paciência que vocês tiveram comigo durante esse período de faculdade, vocês foram essenciais. De forma especial

a minha **dupla Gabriel Batista** que segurou minha mão muitas vezes e me fez acreditar em mim mesma quando eu achei que eu não conseguiria, obrigada por ser meu melhor amigo. A minha amiga **Bruna Saraiva**, que foi minha primeira dupla que me fez crescer, amadurecer, me escutar, e hoje ser uma melhor amiga para mim. A minha amiga **Lorena Freitas**, que hoje também é minha melhor amiga, obrigada por estar comigo nos piores e melhores momentos, vocês são essenciais na minha vida. Amo vocês.

A minha parceira de experimento, **Julia Gonçalves**, que esteve ali comigo em todos os momentos, obrigada por embarcar nessa comigo, não soltar a minha mão em nenhum momento, obrigada pelas as risadas e por toda a ajuda. Amo muito você.

Aos meus colegas de **turma, 2024.1 manhã** pelo convívio durante esses 5 anos, pelas brincadeira, onde aprendemos a lidar com as diferenças um dos outros.

Ao meu orientador, **Dr. Paulo Goberlânio**, que uma pessoa extremamente incrível, obrigada por ter me puxado lá no S3, me dado à oportunidade de ter sido sua aluna de Iniciação Científica. Obrigada pelos seus auxílios, obrigada por confiar em mim, por ser além de orientador um amigo, um pai. Obrigada por toda a paciência do mundo comigo e obrigada por confiar em mim, quando muitas vezes eu não achei que eu poderia ser capaz.

À minha banca, **Ernando e Dayrine**, obrigada por ter aceitado o convite de estarem presente neste dia e por todo o apoio, paciência e contribuição neste trabalho.

Ao grupo **GEMP**, que me apoiaram e me receberam de braços abertos quando eu entrei, me proporcionaram a conhecer pessoal incríveis dentro desse projeto.

A todo o corpo docente da UNICHRISTUS, que foram essencial no meu crescimento acadêmico e pessoal. E também aos funcionários.

A todos os pacientes da Clínica Escola de Odontologia, que confiaram no meu trabalho e fizeram parte de todo o meu aprendizado e amadurecimento.

E, a todos que fizeram parte da minha história tanto de forma acadêmica, como pessoal, vocês foram essenciais para o meu crescimento acadêmico.

RESUMO

Tem sido sugerido que o Ellansé, composto por microesferas de policaprolactona (PCL) em solução aquosa de gel de carboximetilcelulose (CMC), seja diluído como forma de aumentar seu rendimento e que o Sculptra®, um polímero sintético apresentado na forma de um pó liofilizado que após reconstituição gera uma matriz que estimula a colagênese, seja reconstituído em períodos menor que o indicado pelo fabricante. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar o percentual de indução de neocolagênese dos preenchedores Ellansé® e Sculptra® em diferentes formas de apresentação e reconstituição. Para isso, foram utilizado 270 camundongos da linhagem Swiss (*Mus musculus*) machos entre quatro e seis semanas em cujos subcutâneo do dorso foram aplicados 0,1 ml de solução salina contendo 5% de anestésico local subcutânea; 0,1 ml de Ellansé® sem nenhuma diluição ou diluído 1:1 (50%), 1:2 (66%) e 1:4 (83%) ou Sculptra® reconstituído imediatamente antes da aplicação, 2h, 24h ou 72h antes da administração e foram eutanasiados após 15, 30 e 60 dias da administração do material em número de 10/grupo/dia. Foram removidos seus dorsos para análise histológica da quantidade de colágeno utilizando a coloração de Picrosirius Red e imunoexpressão para alfaactina de músculo liso. Teste ANOVA/Bonferroni foi utilizado ($p < 0,05$, GraphPad Prism 5.0). Após 15 dias de administração não houve diferença significativa entre os grupos estudados ($p = 0,955$). Após 30 dias da administração do Ellansé® 83% e 100% ($p < 0,001$) e o grupo Sculptra 72h ($p = 0,016$) apresentaram maior formação de colágeno que o grupo salina. Após 60 dias os grupos com Ellansé® 83% e 100% também apresentaram maior formação de colágeno que o grupo salina ($p = 0,012$) bem como os grupos Sculptra 24h, 48h e 72h ($p = 0,025$). Após 30 dias da administração os grupos Sculptra 24h e 72h apresentam maior imunoexpressão para α -AML ($p = 0,001$), bem como após 60 dias da administração Ellansé® 100% ($p = 0,012$) e Sculptra 24h e 72h ($p < 0,001$). Dessa forma, a mistura da solução de lidocaína com o material de preenchimento inibe a necessidade de bloqueios nervosos ou infiltração local, diminuindo assim a dor relacionada ao tratamento e evitando a distorção tecidual que pode ser provocada pela injeção de anestésicos locais. Ademais, pode ter um impacto positivo no tratamento, melhorando a qualidade do atendimento e a satisfação do paciente. Dessa forma, com a finalidade de neocolagêse a diluição de Ellansé® ou reconstituição de Sculptra® em períodos inferiores às 24h são contraindicados.

Palavras-chave: Dermal fillers. Colágeno. Policaprolactona. Ácido poli-L-láctico.

ABSTRACT

It has been suggested that Ellansé®, composed of polycaprolactone (PCL) microspheres in an aqueous solution of carboxymethyl cellulose (CMC) gel, be diluted as a way of increasing its yield and that Sculptra®, a synthetic polymer presented in the form of a powder freeze-dried product that, after reconstitution, generates a matrix that stimulates collagenesis, must be reconstituted in periods shorter than that indicated by the manufacturer. Therefore, the objective of the present work is to evaluate the percentage of neocollagenesis induction of Ellansé® and Sculptra® fillers in different forms of presentation and reconstitution. For this, 270 male Swiss mice (*Mus musculus*) aged between four and six weeks were used, to which 0.1 ml of saline solution containing 5% local anesthetic was applied subcutaneously; 0.1 ml of Ellansé® without any dilution or diluted 1:1 (50%), 1:2 (66%) and 1:4 (83%) or Sculptra® reconstituted immediately before application, 2h, 24h or 72h before administration and were euthanized after 15, 30 and 60 days of administration of the material in a number of 10/group/day. Their backs were removed for histological analysis of the amount of collagen using Picrosirius Red staining and immunoexpression for alpha-smooth muscle actin. ANOVA/Bonferroni test was used ($p < 0.05$, GraphPad Prism 5.0). After 15 days of administration there was no significant difference between the groups studied ($p = 0.955$). After 30 days of administration of Ellansé®, 83% and 100% ($p < 0.001$) and the Sculptra 72h group ($p = 0.016$) showed greater collagen formation than the saline group. After 60 days, the groups with Ellansé® 83% and 100% also showed greater collagen formation than the saline group ($p = 0.012$) as well as the Sculptra 24h, 48h and 72h groups ($p = 0.025$). After 30 days of administration, the Sculptra 24h and 72h groups showed higher immunoexpression for α -AML ($p = 0.001$), as well as after 60 days of administration Ellansé® 100% ($p = 0.012$) and Sculptra 24h and 72h ($p < 0.001$). In this way, mixing the lidocaine solution with the filling material inhibits the need for nerve blocks or local infiltration, thus reducing treatment-related pain and avoiding tissue distortion that can be caused by the injection of local anesthetics. Furthermore, it can have a positive impact on treatment, improving the quality of care and patient satisfaction. Therefore, for the purpose of neocollagenesis, dilution of Ellansé® or reconstitution of Sculptra® in periods of less than 24 hours are contraindicated.

Keywords: Dermal fillers. Collagen. Polycaprolactone. Poly-L-lactic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - Esquema de divisão dos animais por grupo de estudo e dias de eutanásia.....	22
FIGURA 1 - Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansè® em diferentes diluições. Picrosirius-Red (400x).....	25
FIGURA 2 - Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansè® em diferentes diluições.	26
FIGURA 3 - Imunoexpressão para α -AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansè® em diferentes diluições. DAB-hematoxilina (400x).....	27
FIGURA 4 - Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansè® em diferentes diluições.....	27
FIGURA 5 - Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições. Picrosirius-Red (400x).....	28
FIGURA 6 - P Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições.....	29
FIGURA 7 - Imunoexpressão para α -AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições DAB-hematoxilina (400x).....	30
FIGURA 8 - Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições.....	30

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

CMC	Gel de carboximetilcelulose
PLLA	cido poli-l-láctico
PCL	Policaprolactona
α -SMA	Alfa Actina de Músculo Liso
PBS	Soluo Tampo de Fosfato
AH	cido Hialurnico
CaHA	Hidroxiapatita de cálcio
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
CO ₂	Dióxido de carbono
H ₂ O	gua
GRAS	Generally Recognized As Safe
FDA	US Food and Drug Administration
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentao Animal
TGF- β 1	Fator de crescimento transformador do tipo β
CTGF	Fator de crescimento do tecido conjuntivo
HCl	Cloridrato de lidocaína

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais ...	20
4.2 Protocolo experimental Ellansé® e do Sculptra®	20
4.3 Processamento histológico e avaliação histomorfométrica da colagênese	22
4.4 Técnica e análise imuno-histoquímica.....	22
4.5 Análise estatística	23
5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	24
5.1 Análise histológica perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições	24
5.2 Análise histológica da imunexpressão para α-AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições	25
5.3 Análise histológica perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições.....	27
5.4 Análise histológica da imunexpressão para α-AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições.....	28
6. DISCUSSÃO	30
7. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
ANEXO I- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	40
ANEXO II - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	41

1. INTRODUÇÃO

O Sculptra® é um indutor da formação de colágeno que há décadas vem sendo aplicado após uma reconstituição e hidratação cautelosa, com tempos de repouso que variam entre 24h e 72h. No entanto, recentemente a fabricante do Sculptra® divulgou que o produto pode ser usado imediatamente após a reconstituição, diferente desse preconizado há décadas.

Como o Sculptra® não mudou de composição, apenas a sugestão para o uso imediato pós reconstituição, a presente pesquisa tem como objetivo avaliar influência dos diferentes tempos de reconstituição e hidratação na neoformação, deposição e maturação de colágeno, bem como observar a possibilidade e eventuais efeitos adversos, como a formação de pápulas, nódulos ou granulomas.

Esse estudo permite determinar a quantidade e qualidade da neocolagênese induzida pelo preenchedor e bioestimulador Policaprolactona (PCL) e do ácido – poli- l- láctico (PLLA) na sua forma original e em diferentes diluições, bem como estimar a propensão a formação de granulomas nas doses resposta estudadas. A fim de proporcionar uma utilização nas diversas camadas da face sem a tendência de formação de granulomas pelo excesso de material ou uso indevido do mesmo em determinadas áreas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar colagênese e fibroplasia de dois diferentes bioestimuladores faciais em camundongos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a colagênese e fibroplasia após administração subcutânea do bioestimulador Ellansé® em diferentes concentrações no dorso de camundongos;
- Avaliar a colagênese após administração subcutânea do bioestimulador Sculptra® em diferentes protocolos de reconstituição no dorso de camundongos;
- Comparar a colagênese e fibroplasia dos protocolos de diluição do Ellansé® e do Sculptra®.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Até os anos 90, o conceito de rejuvenescimento facial era limitado a uma visão bidimensional, e a abordagem era focada na redução de rugas e sulcos. Com o aprimoramento do conhecimento anatômico da face, esse conceito foi expandido e agora abrange uma visão tridimensional, que reconhece como sinais de envelhecimento não só a perda da textura cutânea e as rugas de expressão, mas também as perdas volumétricas secundárias à remodelação óssea e a redistribuição da gordura facial. Assim, uma abordagem que reconheça o equilíbrio entre as várias estruturas faciais, respeitando sexo, etnia e objetivos de cada paciente, permite resultados mais naturais e harmoniosos no tratamento. Atualmente, estão disponíveis diversos produtos e estratégias terapêuticas para rejuvenescimento facial (HADDAD *et al.*, 2017).

O conhecimento da relação entre as várias camadas da pele, principalmente derme e hipoderme, e das mudanças que elas sofrem durante o envelhecimento é fundamental para a compreensão da flacidez cutânea, do mecanismo de ação e das indicações dos diferentes materiais bioestimuladores de colágeno hoje disponíveis. No envelhecimento cronológico, a espessura da derme diminui em consequência de mudanças bioquímicas e estruturais das fibras colágenas e elásticas, bem como da substância fundamental. Há redução na síntese de colágeno e aumento de sua degradação, devido ao aumento dos níveis de colagenase. O conteúdo cutâneo de colágeno é reduzido em cerca de 1% ao ano ao longo da vida adulta, iniciando-se ao redor dos 30 anos na mulher e um pouco mais tardiamente nos homens. As fibras de colágeno remanescentes apresentam-se desorganizadas, mais compactas e fragmentadas. As fibras elásticas diminuem em número e diâmetro. A quantidade de ácido hialurônico endógeno está reduzida. Essas mudanças influenciam negativamente o turgor da pele e o colágeno. A hipoderme apresenta afinamento ocasionado pelo envelhecimento, pelo emagrecimento ou por práticas desportivas de alta performance em que há redução do índice de massa corporal. À palpação, esses pacientes referem sentir a pele fina e sem consistência, com falta de “enchimento”. As mudanças que ocorrem nesses tecidos podem ter grande influência nas áreas vizinhas, levando a uma cascata de eventos secundários. Embora as principais queixas que levam o paciente a procurar o tratamento sejam rugas e sulcos, é importante considerar que essas alterações são resultado da lenta e progressiva mudança que se instala em todas as estruturas da face (HADDAD *et al.*, 2017).

A remodelação óssea craniofacial é um importante contribuinte para o envelhecimento facial (SHAW; KAHN, 2007). Shaw e Kahn (2007) encontraram alterações no contorno da órbita (remodelação superomedial e inferolateral), reabsorção da glabella e alargamento da fossa piriforme, entre outras alterações. Em relação aos músculos, ainda não está claro se ocorre envelhecimento histológico com a idade ou se sofrem alterações fisiológicas em resposta ao processo de envelhecimento das estruturas subjacentes (LE LOUARN; BATHIAU; BUIS, 2007). Le Louarn e colaboradores (2007) propuseram que os coxins de gordura profundos, abaixo dos músculos da mímica facial, seriam responsáveis pelas formas curvilíneas desses músculos e contribuiriam para a projeção anterior característica de um rosto juvenil. Também sugeriram que a perda volumétrica abaixo desses músculos, que ocorre durante o envelhecimento, levaria a um encurtamento e aplainamento dessas estruturas, contribuindo assim para as mudanças que caracterizam o envelhecimento facial (LE LOUARN; BATHIAU; BUIS, 2007). O rosto jovem apresenta maior quantidade de gordura, distribuída uniformemente, permitindo uma transição suave de uma área para outra e conferindo uma topografia tridimensional mais arredondada, delineada por uma série de arcos e convexidades (HADDAD *et al.*, 2017).

O uso de materiais para preenchimento de tecidos moles aumentou dramaticamente nas últimas décadas progressivamente, suplantando a cirurgia, como resultado da melhoria da segurança e eficácia desses materiais, o curto tempo de recuperação e os menores custos de tratamento. Diferentes tipos preenchimentos de tecido mole podem ser distinguidos: não biodegradáveis (por exemplo, polimetil metacrilato [PMMA]) e produtos biodegradáveis (por exemplo, ácido hialurônico [HA]). Mais recentemente, surgiu uma nova geração de produtos biodegradáveis: os preenchimentos de tecidos moles, hidroxapatita de cálcio (CaHA) e ácido poli- L- láctico (PLLA), ambos os quais possuem propriedades bioestimuladoras. No entanto, CaHA carece de resultados de longa duração e o PLLA não tem efeito imediato (DE MELO *et al.*, 2017).

Os preenchedores faciais são divididos quanto a sua durabilidade e absorção pelo organismo, em permanentes, semi-permanentes e não permanentes: os biodegradáveis, que tem sua absorção pelo próprio organismo através de mecanismos fagocitários naturais (não permanentes), os que possuem duração entre 18 meses e 5 anos (semi-permanentes) e o não biodegradável (permanente), que não é fagocitado e permanece indefinidamente no organismo, respectivamente (BORBA; MATAYOSHI, 2018; DE LIMA; SOARES, 2020; KWON *et al.*, 2019; VARGAS; AMORIM; PINTAGUY, 2009).

Vários preenchedores e bioestimuladores de tecidos moles injetáveis estão atualmente disponíveis no mercado para fornecer volume facial, como o ácido hialurônico (AH), um material não permanente, a hidroxiapatita de cálcio (CaHa), o ácido poli-L-láctico (PLLA) e a policaprolactona (PCL), representando os bioestimuladores semipermanentes, e o polimetilmetacrilato (PMMA), um material considerado permanente. Os preenchedores de ácido hialurônico por sua característica de reversibilidade e biodegradação, não são permanentes e a cada dia são mais utilizados (HADDAD *et al.*, 2017; CABRAL *et al.*, 2020; KWON *et al.*, 2019). Outra forma de preenchimento também pode ser realizada por meio da aplicação subcutânea de gordura autóloga, o único preenchimento permanente não sintético. Todavia seu efeito “semipermanente” pode sofrer ao longo do tempo em virtude da taxa de integração (“pega”) do enxerto e do grau de absorção imprevisível que o tecido vivo sofre (WORTSMAN; QUEZADA, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020).

O Ácido Poli-L-Láctico (PLLA) foi aprovado na Europa como preenchedor em 1999, com o nome comercial de New-Fill® (Biotech Industry SA). Em 2004, foi aprovado pela agência Food and Drug Administration para tratamento da lipoatrofia associada ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), com o nome de Sculptra® (Dermik Laboratories, Sanofi Aventis, USA); em 2009, a indicação foi expandida para tratamentos com finalidade estética em pacientes imunocompetentes e off label para finalidades estéticas (HADDAD *et al.*, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020; GOLDBERG *et al.*, 2013; LAM; AZIZZADEH; GRAIVIER, 2006; RAYESS *et al.*, 2018).

O PLLA é um polímero sintético, biocompatível e biodegradável, proveniente do açúcar do milho, e tem amplas aplicações na cicatrização de feridas, implantes, tratamento dermatológico e dispositivos médicos. É um produto biodegradável, tendo sua degradação por hidrólise não enzimática, onde os polímeros poliláticos são transformados em monômeros de ácido láctico que são metabolizados em dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O), ou incorporados à glicose, sendo totalmente eliminado do organismo em aproximadamente 18 meses, através da urina, fezes e sistema respiratório (HADDAD *et al.*, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020; RAYESS *et al.*, 2018; CABRAL *et al.*, 2020).

O Sculptra® encontra-se comercialmente disponível na forma de um pó liofilizado, composto por micropartículas de PLLA entre 40-63 µm de diâmetro, sendo o ingrediente ativo do produto, carboximetilcelulose de sódio, que age como um emulsificante para melhorar a reidratação, e manitol não pirogênico, que ajuda na liofilização das partículas. Cada frasco de Sculptra® contém 150mg de PLLA, 90mg de carboximetilcelulose, 127,5 mg

de manitol não pirogênico e custa em torno de R\$1.325,00 (HADDAD *et al.*, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020; LAM; AZIZZADEH; GRAIVIER, 2006; BRAVO; CARVALHO, 2021; CHEN; LIN; LIN, 2020a).

O mecanismo de ação do PLLA é considerado uma reação de corpo estranho, uma resposta inflamatória subclínica localizada, caracterizada por aumento de macrófagos, mastócitos e linfócitos. Este influxo leva à degradação lenta do produto e ativação de uma atividade fibroblástica aumentada, levando a neocolagênese gradual, especialmente do colágeno tipo I (HADDAD *et al.*, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020; LAM; AZIZZADEH; GRAIVIER, 2006; RAYESS *et al.*, 2018; BRAVO; CARVALHO, 2021; CABRAL *et al.*, 2020). Narins *et al.* (2010) identificaram níveis aumentados de colágeno tipo I em estudos histológicos de pele tratada. O novo colágeno começa a se formar no primeiro mês e continua a aumentar por 9 meses a um ano. As partículas de PLLA mostram sinais de decomposição por volta de 6 meses e desaparecem em 9 meses. O colágeno neoformado pode ser observado por cerca de 24 meses (HADDAD *et al.*, 2017; DE LIMA; SOARES, 2020; LAM; AZIZZADEH; GRAIVIER, 2006; RAYESS *et al.*, 2018; BRAVO; CARVALHO, 2021; CABRAL *et al.*, 2020).

Eventos adversos como os nódulos não inflamatórios, pápulas, granulomas e eventos vasculares são mencionados na literatura, no entanto, complicações sistêmicas potencialmente mais sérias são muito raras. O desenvolvimento de nódulos e pápulas são mais frequentes, mas relativamente incomuns, e acredita-se que estejam relacionados a considerações técnicas, como acúmulo do material, devido reconstituição inadequada do produto, técnica de injeção em um plano superficial, localização ou falta de cuidados pós procedimento (HADDAD *et al.*, 2017; VARGAS; AMORIM; PINTAGUY, 2009; BELJAARDS; DE ROOS; BRUINS, 2005; WORTSMAN; QUEZADA, 2017; LAM; AZIZZADEH; GRAIVIER, 2006; RAYESS *et al.*, 2018; CHEN; LIN; LIN, 2020a; CHEN; LIN; LIN, 2020b).

Até o presente ano, 2021, as instruções de reconstituição seguiam o consenso de que sua hidratação fosse feita em água estéril para injeção, em temperatura ambiente e que o frasco repousasse de 24 a 72h para sua total hidratação. Um novo protocolo foi proposto, indicando que o Sculptra® pode ser usado imediatamente após a reconstituição, ignorando o longo tempo de repouso sugerido por décadas (HADDAD *et al.*, 2017; DE MELO; MARIJNISSEN-HOFSTÉ, 2012; FITZGERALD; VLEGGAAR, 2011; GALADARI *et al.*, 2015).

Tendo em vista que se desconhece a eficácia desse material em induzir a colagênese após diferentes tempos de reconstituição, o objetivo desse trabalho é avaliar a influência dos diferentes tempos de repouso pós reconstituição e hidratação, na neoformação, deposição e maturação de colágeno, bem como observar a possibilidade e eventuais efeitos adversos (formação de pápulas, nódulos ou granulomas).

Um novo estimulador de colágeno biodegradável, Ellansé® (Sinclair Pharmaceuticals, Londres, Reino Unido), que combina durabilidade e resultados imediatos estão agora disponíveis. Este produto único é composto por microesferas de um totalmente bio-polímero reabsorvível, policaprolactona (PCL), em uma solução aquosa de gel de carboximetilcelulose (CMC). Este bioestimulador baseado em PCL com uma marcação CE [Conformidade Europeia] foi introduzido no mercado europeu de estética em 2009 e desde então, está disponível em mais de 80 países. Os componentes CMC e PCL são bem conhecidos e foram classificados como Generally Recognized As Safe (GRAS) pelo US Food and Drug Administration (FDA). As microesferas de PCL têm 25–50 µm de tamanho e, portanto, estão protegidas da fagocitose. São totalmente esféricos, perfeitamente lisos e perfeitamente adaptados para uso em tratamentos estéticos. Sua biocompatibilidade e biodegradação têm sido amplamente estudadas. A biodegradação e biorreabsorção do PCL ocorrem por meio da hidrólise das ligações éster, levando aos produtos finais CO₂ e H₂O que são totalmente eliminados do corpo (NARINS *et al.*, 2010).

Uma característica importante deste estimulador baseado em PCL é sua capacidade de estimular a síntese de novo colágeno. Enquanto o carreador do gel CMC é gradualmente reabsorvido pelos macrófagos em 6–8 semanas, as microesferas PCL estimulam a neocolagênese. A deposição de colágeno recém-sintetizado em torno das microesferas de PCL foi demonstrada por análise histológica e histoquímica de biópsias de pele de animais tratados, mostrando que o colágeno tipo I se torna progressivamente predominante sobre o colágeno tipo III, alcançando resultados qualitativos mais precoces e superiores do que outros produtos reabsorvíveis com um efeito duradouro. O efeito estimulador do colágeno foi recentemente confirmado em seres humanos em biópsias de pele de indivíduos tratados (DE MELO *et al.*, 2017).

As complicações das injeções de preenchimento são classificadas como precoces ou tardias. Complicações tardias podem ocorrer de seis semanas a vários anos após a injeção, e incluem inflamação crônica, reações alérgicas tardias, migração de preenchimento, cicatrizes hipertróficas, telangiectasia e granuloma. A eficácia e a satisfação do paciente com

o preenchimento PCL Ellansé® tem sido relatado, e nenhum efeito colateral, como formação de granuloma ou reações de início tardio foram descritas, portanto, PCL é considerado seguro e bem tolerado (NARINS *et al.*, 2010).

A segurança do estimulador baseado em PCL foi avaliada ao longo de seu desenvolvimento, investigando a tolerabilidade de seus componentes e do produto pronto para uso acabado. Biocompatibilidade, biodegradação e biorresorção foram amplamente demonstradas. O bom perfil de segurança também foi demonstrado em estudos de eficácia e segurança clínica. Desde que recebeu a licença de comercialização, um sistema de farmacovigilância foi configurado para registrar AEs em todo o mundo. Mais de 490.000 seringas foram usadas desde o lançamento em 2009 até dezembro de 2016, e a taxa de EA é baixa, em 0,049% (um evento por 2.055 seringas), indicando que o estimulador baseado em PCL é bem tolerado (DE MELO *et al.*, 2017).

Os casos relatados estão relacionados ao próprio procedimento de injeção, como o edema que desaparece espontaneamente após alguns dias. Os nódulos ou endurecimentos parecem estar geralmente associados a erros técnicos, como injeções muito superficiais ou injeções em bolus (DE MELO *et al.*, 2017).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais

Este estudo foi submetido à Comissão Ética no Uso de Animais da Unichristus, sendo protocolado com o número 014/21 (Anexo I) e número 023/21 (Anexo II). Todos os experimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos para Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A fim de estimar a amostra necessária nos baseamos no estudo de KIM *et al.* (2020) que avaliou as características reológicas, bem como a neocolagênese logo após e 4, 8, 12 e 24 semanas após a injeção de 2 tipos diferentes de preenchedores a base de PCL administrado no dorso de ratos. Nesse estudo KIM *et al.* (2020) demonstrou que o módulo de complexidade reológica, principal parâmetro que influencia na neocolagênese, de um material a base de PCL poroso e o não poroso (Ellansé). Ambos demonstraram indução de formação de colágeno tipo I e II, mas o material poroso foi superior a um material sem PCL (983 ± 577 vs. 364 ± 178) estimando-se necessário avaliar 10 animais por grupo de estudo por dia a fim de obter uma amostra que represente com 90% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa deste estudo (teste t de Student).

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 Protocolo experimental Ellansé® e do Sculptra®

Duzentos e setenta camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos, entre quarto e seis semanas de idade, pesando entre 20 e 22 g foram utilizados nesse estudo. Os animais foram armazenados individualmente em caixas de polipropileno dispostas em salas com temperatura e umidade controlada e receberão água e comida ad libitum.

Os animais tiveram seu dorso tosado e foram submetidos à antissepsia com clorexidina 2%. Após a antissepsia os camundongos foram anestesiados com xilazina (10mg/kg) e quetamina (90mg/kg) e foram aplicados diferentes materiais no seu dorso: 30 camundongos receberam 0,1 ml de solução **salina** contendo 5% de anestésico local (solução diluente) subcutânea; 30 camundongos receberam 0,1 ml de **Ellansé®** sem nenhuma diluição; 30 camundongos 0,1 ml de Ellansé® diluído **1:1**, 30 camundongos 0,1ml de Ellansé® **1:2** e 30 camundongos 0,1ml de Ellansé® diluído **1:4**.

Da mesma perspectiva, 30 animais receberam 0,1 ml de Sculptra® com reconstituição imediata em igual solução, após reconstituição feita 2h antes, 24h antes e 72h antes (como recomenda o fabricante).

A eutanásia foi realizada com sobredose de xilazina (60mg/kg) e quetamina (240mg/kg) intraperitoneal após 15, 30 e 60 da administração, os dorsos foram excisados cirurgicamente e fixados em solução de formol neutro a 10% por 24h e depois seguiram para processamento histológico.

Dessa forma, os animais serão distribuídos da seguinte forma:

Quadro 1: Esquema de divisão dos animais por grupo de estudo e dias de eutanásia.

	Dias de eutanásia			
	D15	D30	D60	
Salina	n=10	n=10	n=10	n=30
Ellansé puro	n=10	n=10	n=10	n=30
Ellansé 1:1	n=10	n=10	n=10	n=30
Ellansé 1:2	n=10	n=10	n=10	n=30
Ellansé 1:4	n=10	n=10	n=10	n=30
Sculptra imediato	n=10	n=10	n=10	n=30
Sculptra 2h	n=10	n=10	n=10	n=30
Sculptra 24h	n=10	n=10	n=10	n=30
Sculptra 72h	n=10	n=10	n=10	n=30
	n=90	n=90	n=90	n=270

Fonte: Dado da pesquisa.

4.3 Processamento histológico e avaliação histomorfométrica da colagênese

Após fixação as amostras foram desidratadas em séries alcoólicas graduadas, diafanizadas em xilol e impregnadas com parafina. As amostras foram cortadas em lâminas de vidro com 3 μm de espessura para serem coradas com Picrosirius Red. Serão fotografados com uma câmera (U-TV0.63XC, Olympus®) acoplada ao microscópio cinco microcampos em aumento de 400x usando um microscópio óptico (BX43, Olympus® com o software Olympus Soft Imaging LCMicro software utilizando ampliação 400 \times e exportado para o ImageJ® (National Institutes of Health, EUA). Após a calibração usando o comando Limite de cores (Imagem > Ajustar > Limite de cores), a função RGB foi ajustada em imagens por microscopia de luz convencional (vermelho = mínimo 71, máximo 255; verde = mínimo 0, máximo 69; azul = mínimo 0, máximo 92) e por microscopia de luz polarizada (vermelho = mínimo 0, máximo 255; verde = mínimo 0, máximo 255; azul = mínimo 0, máximo 32) para determinar a porcentagem da área total de colágeno e da área de colágeno tipos I e III (MESQUITA *et al.*, 2020).

4.4 Técnica e análise imuno-histoquímica

Os blocos de parafina foram cortados em seções de 3 μm de espessura para serem colocadas em lâminas silanizadas. As amostras foram desparafinizadas, reidratadas e submetidas a recuperação de antígeno usando um tampão de tris-EDTA citrato (pH 9,0). Para inativar a peroxidase endógena, as amostras foram incubadas (30 min) com H₂O₂ a 3% em solução tampão de fosfato (PBS), lavadas em PBS e incubadas durante a noite com anticorpos primários direcionados contra α -actina do músculo liso (α -SMA) (Dako®, pronto para uso).

Após lavagens em PBS, as amostras foram incubadas em Envision Plus HRP antiIgG-coelho / camundongo por 45 min (pronto para uso; monoclonal; Dako® K4065), lavadas novamente em PBS e aplicado o cromogênio diaminobenzidina (Dako® K3469) por 5 min. A hematoxilina de Harris foi usada como contra-coloração (10 s), e as amostras foram desidratadas (usando etanol e xilol) e montadas usando um meio de montagem permanente (Enthelam®). Seções paralelas de controle negativo foram tratadas com diluente de anticorpo em vez de um Ab primário.

A mesma metodologia de captura de imagens da análise histológica foi realizada para contagem do número de células imunopositivas (coloração marrom) para os marcadores

estudados. A imunocoloração para α -SMA foi analisada identificando miofibroblastos como células com uma morfologia fusiforme (células não vasculares e não inflamatórias) mostrando coloração citoplasmática marrom. (MESQUITA *et al.*, 2020).

A mesma metodologia de captura de imagens da análise histológica foi realizada e após edição da imagem para apagar as células fusiformes imunopositivas para α -SMA foi utilizado o comando de segregação de cores do ImageJ® na função DAB-hematoxilina (*Image > color deconvolution > HDAB*). A imagem resultante da segregação de cores do DAB foi submetido a binarização (*Image > Binary > Make Binary*) e análise do percentual de área marcado (*Analyse > Measure particles*). A média das cinco mensurações (%) foi a unidade da amostra (MESQUITA *et al.*, 2020).

4.5 Análise estatística

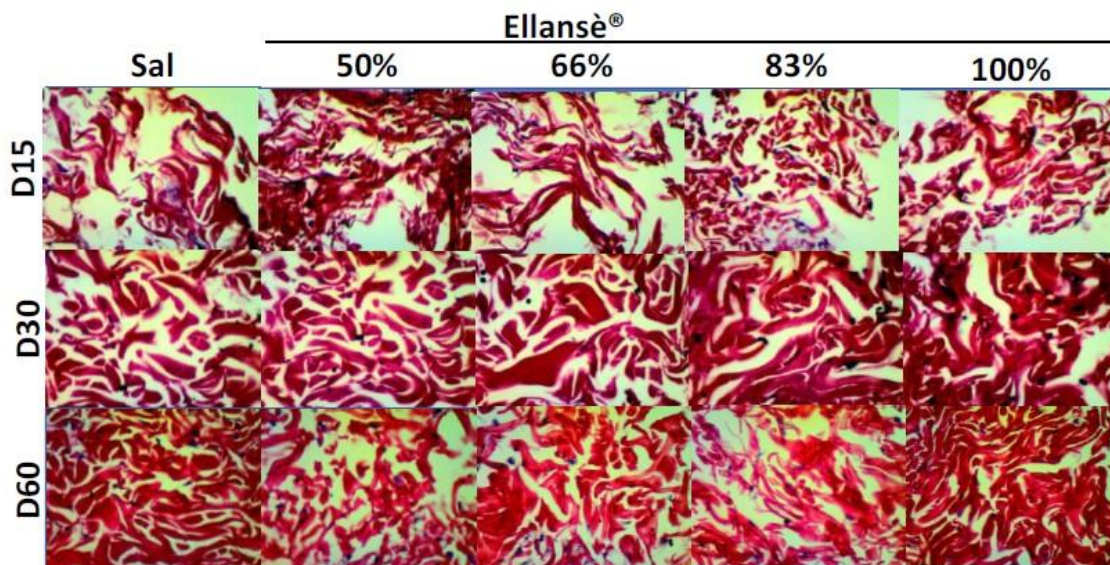
Os resultados foram expressos como os valores médios \pm erro padrão. Para comparações múltiplas de dados paramétricos, foi realizada uma análise de variância (ANOVA, unidirecional ou bidirecional), com o teste post hoc de Bonferroni. Todas as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95% no software GraphPad Prism 5.0.

5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Análise histológica perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições

Após 15 dias de administração do Ellansé® no subcutâneo dos animais não houve diferença significativa entre os grupos estudados ($p=0,955$). Após 30 dias da administração do Ellansé® 83% ($68,40\pm 1,66\%$) e 100% ($60,55\pm 3,00\%$) apresentaram maior percentual de área marcada por colágeno que o grupo salina ($45,91\pm 4,91\%$) ($p<0,001$). Tanto o grupo Ellansé® 83% ($p=0,002$), como o grupo Ellansé® 100% ($p=0,035$) apresentaram aumento na área de colágeno a partir desse dia.

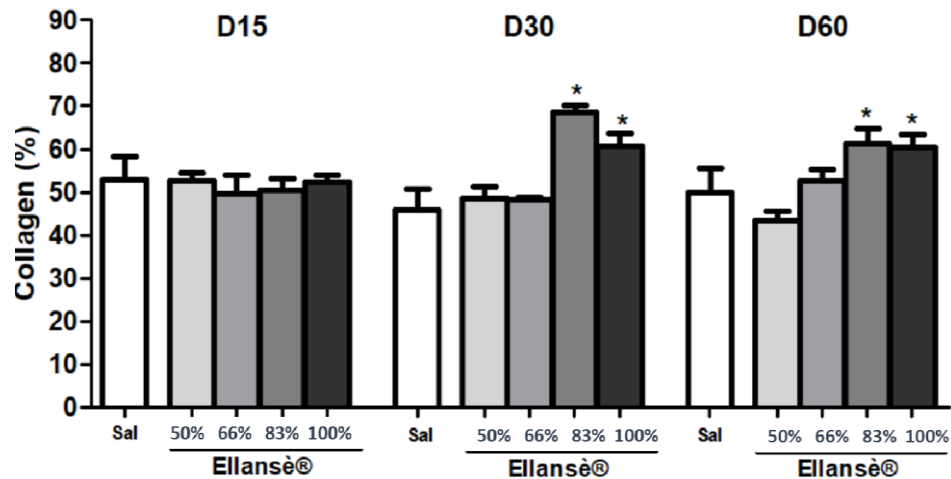
Figura 1: Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições. Picrosirius-Red (400x).



Fonte: Dados da pesquisa.

Após 60 dias da administração do preenchedor, não houve aumento significativo em relação do dia 30 em nenhum grupo experimental, mas tanto os grupos Ellansé® 83% ($61,09\pm 3,56\%$) como Ellansé® 100% ($60,45\pm 3,05\%$) apresentaram maior formação de colágeno que o grupo salina ($49,91\pm 5,66\%$) ($p=0,001$).

Figura 2: Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições. * $p < 0,05$ versus salina (teste ANOVA/ Bonferroni, média \pm EPM).

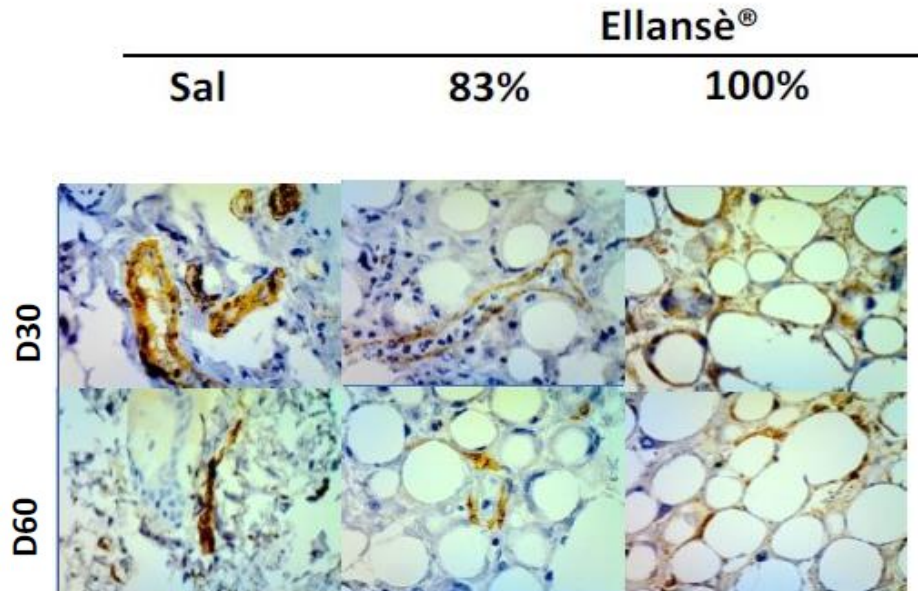


Fonte: Dados da pesquisa.

5.2 Análise histológica da imunoposição para α -AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições

Com relação à imunoposição para α -AML, após 30 dias de administração do Ellansé® no subcutâneo dos animais não houve diferença significativa entre os grupos estudados ($p=0,800$).

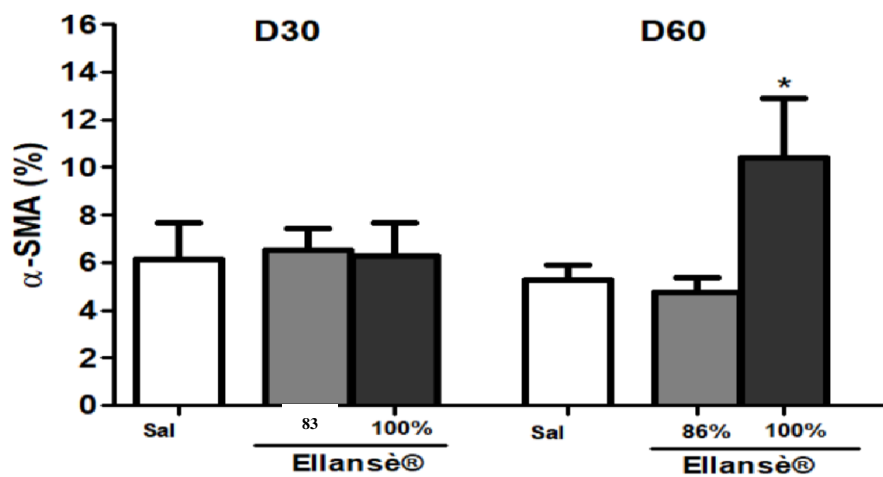
Figura 3: Imunoexpressão para α -AML em camundongos submetidos a administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições. DAB-hematoxilina (400x).



Fonte: Dados da pesquisa.

Após 60 dias da administração do Ellansé® 100% ($10,38 \pm 2,55$ %) apresentou maior percentual de área marcada que o grupo acréscimo da solução salina ($5,29 \pm 0,59$ %) ($p=0,012$).

Figura 4: Perfil de colagênese em camundongos submetidos a administração subcutânea de Ellansé® em diferentes diluições. * $p < 0,05$ versus salina (teste ANOVA / Bonferroni, média \pm EPM).

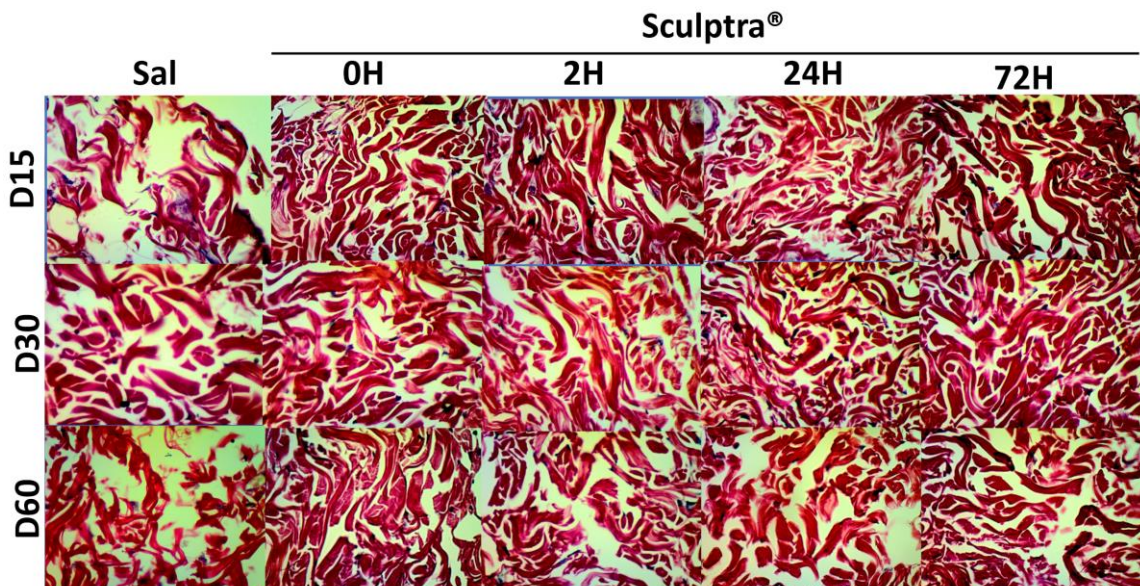


Fonte: Dados da pesquisa.

5.3 Análise histológica perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições

Após 15 dias de administração do Sculptra® no subcutâneo dos animais não houve diferença significativa entre os grupos estudados ($p=0,220$). Após 30 dias, o grupo Sculptra® reconstituído 72H ($51,28\pm 2,97\%$) antes apresentaram formação de colágeno superior ao controle ($41,03\pm 2,95\%$) ($p=0,016$) (Figura 5).

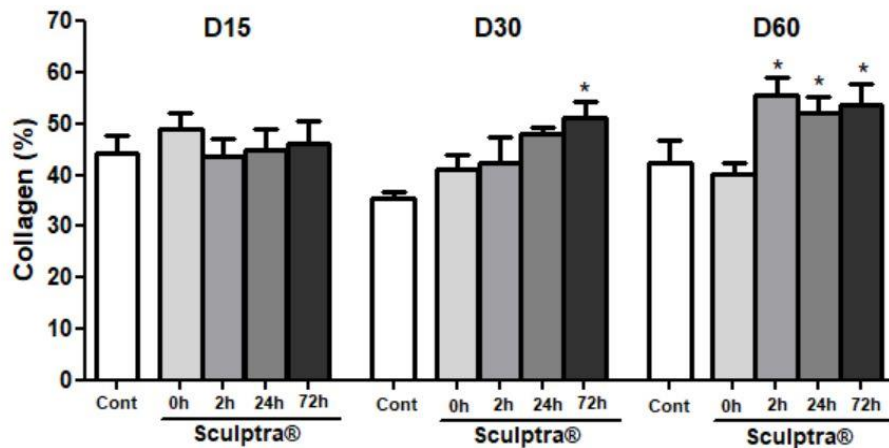
Figura 5: Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições. Picrosirius-Red (400x).



Fonte: Dados da pesquisa.

Após 60 dias, o grupo Sculptra® reconstituído 2H ($55,51\pm 3,38\%$), 24H ($52,20\pm 2,97\%$) e 72H ($53,79\pm 4,00\%$) apresentaram formação de colágeno superior ao controle ($42,41\pm 4,45\%$) ($p=0,025$) (Figura 5).

Figura 6: Perfil de colagênese em camundongos submetidos a administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições. * $p < 0,05$ versus salina (teste ANOVA/ Bonferroni, média \pm EPM).

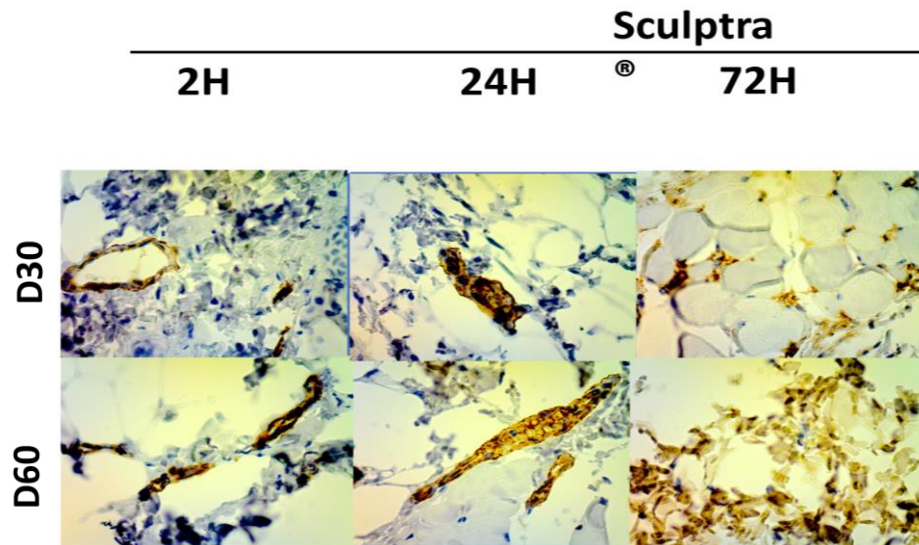


Fonte: Dados da pesquisa.

5.4 Análise histológica da imunoposição para α -AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições

Com relação a imunoposição para α -AML, após 30 dias de administração do Sculptra® no subcutâneo dos animais pode-se observar uma diferença significativa entre os grupos, no qual pode-se observar Sculptra® 24H ($11,01 \pm 1,30$ %) e 72H ($14,12 \pm 0,95$ %) apresentaram maior percentual de área marcada que o grupo da solução salina ($5,71 \pm 1,26$ %) ($p=0,001$).

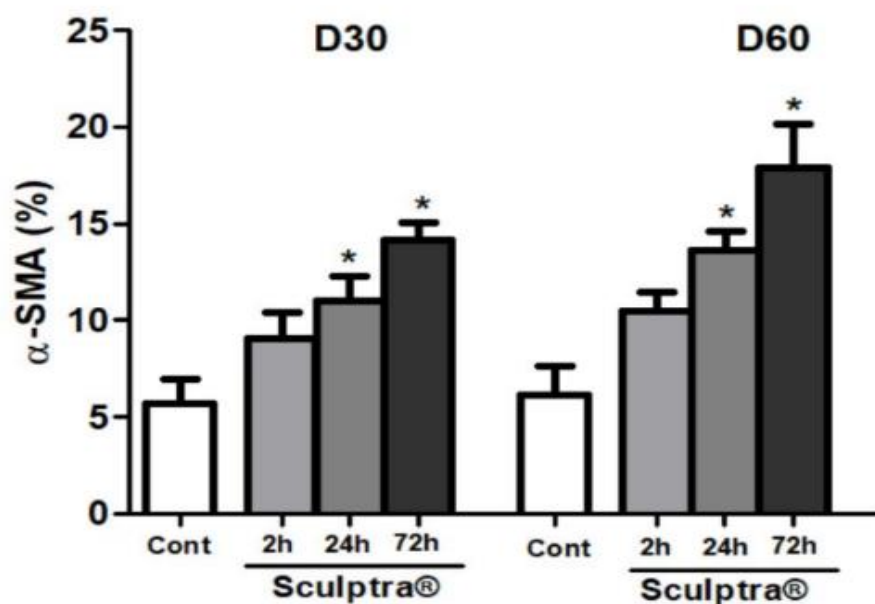
Figura 7: Imunoexpressão para α -AML em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições. DAB-hematoxilina (400x).



Fonte: Dados da pesquisa.

Após 60 dias da administração do Sculptra® 24H ($13,66 \pm 0,94$ %) e 72H ($17,92 \pm 2,24$ %) apresentaram maior percentual de área marcada que o grupo da solução salina ($6,15 \pm 1,53$ %) ($p < 0,001$).

Figura 8: Perfil de colagênese em camundongos submetidos à administração subcutânea de Sculptra® em diferentes diluições. * $p < 0,05$ versus salina (teste ANOVA/ Bonferroni, média \pm EPM).



Fonte: Dados da pesquisa.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo foi observado que as diluições do Ellansé® 83 % e 100 % levaram uma maior percentual de área de colágeno em relação ao grupo salina, na mesma perspectiva pode ser observado no Sculptra® reconstituído 24H e 72H antes apresentaram formação de colágeno superior ao controle.

O colágeno é uma proteína fibrosa numerosa em mamíferos. Sendo responsável por 25-30% do conteúdo total de proteínas do corpo com alguns tipos de colágeno mais presentes do que outros (KEDE; SABATOVICH, 2009). Entre os diferentes tipos de colágeno, o colágeno tipo 1 é o tipo mais presente e é responsável por cerca de 80 % do colágeno do corpo, em razão às suas propriedades naturais que incluem baixa alergenicidade, antigenicidade e alta biocompatibilidade (KEDE; SABATOVICH, 2009). Essa proteína é, portanto, usada como matéria-prima para a produção de biomateriais nas mais diversas formas (KEDE; SABATOVICH, 2009). Devido à sua capacidade de impulsionar a formação de novo colágeno por meio de um processo inflamatório local, os bioestimuladores de colágeno têm sido recomendados na literatura como uma das melhores escolhas de tratamento facial para possibilitar a regeneração e uma melhoria dos contornos da face (HADDAD *et al.*, 2017). Esse mecanismo de ação dos bioestimulantes tem sido estudado por diversos autores, todos concordando que se trata de uma resposta tecidual humana mediada pela produção de neocolágeno, que esses produtos têm a capacidade de conduzir como resposta tecidual à sua presença (GOLDBERG *et al.*, 2013).

Um dos moduladores mais essenciais da expressão gênica do tecido conjuntivo é o fator de crescimento transformador do tipo β (TGF- β), um membro da família dos fatores de crescimento liberado pelos macrófagos. que impulsiona a expressão de vários genes da matriz extracelular incluindo aqueles que codificam os colágenos I, III, IV e V, provavelmente causados pela conversão de TGF- β em fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) em fibroblastos. Esses fatores de crescimento têm seus níveis diminuídos durante o processo de envelhecimento (VERHAEGEN *et al.*, 2009). A liberação desses fatores pelos macrófagos seria o mecanismo apresentado para estimular a produção de colágeno, tanto no processo de cicatrização quanto após tratamentos com aplicação de bioestimuladores, que age por meio da indução de uma resposta inflamatória nos tecidos (FITZGERALD; VLEGGAAR, 2011; QUAN *et al.*, 2010; SCHIERLE; CASAS, 2011).

As microesferas de policaprolactona são suspensas homogeneamente em gel carboximetilcelulose, e este gel possibilita um efeito de preenchimento instantâneo na área de tratamento com sua alta viscosidade e elasticidade. Conforme esse gel é absorvido gradativamente, seis a oito semanas após a inserção do produto as microesferas de PCL impulsiona a produção de novo colágeno, por meio da neocolagênese induzida por polímero (LIN, 2018).

Após a injeção, as micropartículas de ácido poli-L-lático (PLLA) desencadeiam uma resposta inflamatória levando ao encapsulamento das micropartículas, seguida de fibroplasia e deposição de colágeno tipo I na matriz extracelular. Inicialmente, observa-se um aumento de volume no rosto, mas isso dura de dois a três dias até que os diluentes sejam completamente absorvidos. Esse hematoma pode ser utilizado como parâmetro para o resultado final após o tratamento (DE LIMA; SOARES, 2020; FITZGERALD; VLEGGAR, 2011; HADDAD *et al.*, 2017).

O novo colágeno é formado dentro de um mês e continua a aumentar durante um período de 9 meses a 1 ano. As partículas sólidas de PLLA mostram sinais de deterioração após cerca de 6 meses e somem dentro de um ano (LACOMBE, 2009).

Quanto ao seu efeito após injeção em tecidos moles, a correção é instantânea na área, mas essa magnitude ameniza com o passar das semanas, à medida que o gel de carreador de carboximetilcelulose é reabsorvido pelos macrófagos. Porém, as microesferas de policaprolactona permanecem produzindo colágeno, deslocando gradativamente o volume criado pelo gel carreador (CHRISTEN; VERCESI, 2020).

Em outra perspectiva, o mecanismo de ação do ácido poli-L-Lático é estimular os fibroblastos em resposta à inflamação subclínica do tecido. Novo colágeno começa a aparecer após um mês de uso e continua a se formar durante um período de nove meses a um ano. A decomposição dos produtos ocorre por hidrólise não enzimática em monômeros de ácido lático metabolizado na forma de dióxido de carbono e água (DE LIMA; SOARES, 2020).

De acordo com o mercado atual, conforme os bioestimuladores presentes, o Ácido Poli-L-Lático foi o primeiro a entrar no mercado há pouco mais de 15 anos, tendo suas primeiras indicações ligadas ao tratamento da lipoatrofia facial ligada ao HIV, então sua indicação foi direcionada no tratamento estético da face (DE MELO *et al.*, 2017).

Num estudo in vivo conduzido pela BAE *et al.* (2016), a lidocaína foi combinada com um preenchimento dérmico PCL para fornecer uma concentração de 0,3 %. Tal como acontece com os preenchimentos de AH mesclados com lidocaína, desejávamos que a menor

viscosidade, elasticidade e força de extrusão levassem a uma maior facilidade de moldagem e a um maior conforto do paciente. Descobriram que a obtenção de uma superfície lisa após a injeção facilita a moldagem (BAE *et al.*, 2016).

De Melo *et al.* (2012) 22 usaram essa técnica para misturar uma solução de preenchimento dérmico (PCL) com cloridrato de lidocaína (HCl) a 2 % em 0,19 mL de lidocaína usando uma seringa de preenchimento dérmico PCL de 1,1. ml. 0,19 ml de solução de lidocaína a 2,0 % misturada com 1,1 ml de preenchimento dérmico PCL dá uma concentração de lidocaína 53 de 0,3 %. Essa concentração é a mesma de outros preenchedores de tecidos moles, como Restylane e Juvederm (LEVY; BOULLE; RASPALDO, 2009). Alguns autores sugerem que a adição de até 0,3 % da anestesia lidocaína aos preenchedores à base de PCL não afeta significativamente suas propriedades, confirmando a utilidade dessa mistura na prática clínica (GOLDMAN, 2011).

A degradação da policaprolactona acontece por meio de hidrólise e esse processo ocorre em massa quando a água penetra nas microesferas, causando hidrólise progressiva das ligações de dentro para fora em toda a matriz polimérica (BORBA; MATAYOSHI, 2018).

Nas microesferas, a PCL apresenta regiões amorfas e cristalinas; as regiões amorfas são mais rapidamente hidrolisadas do que as regiões cristalinas. A duração das microesferas depende da degradação hidrolítica das regiões cristalinas do PCL. A mudança distintiva na linha de produtos Ellansé® é o comprimento da cadeia (peso molecular) das cadeias PCL iniciais dentro das microesferas (CHRISTEN; VERCESI, 2020).

As únicas mudanças entre as versões que resultam em diferenças no prazo de validade do produto são o comprimento médio inicial das cadeias poliméricas individuais dentro das microesferas e o número de ligações éster. Neste ponto as microesferas entram em colapso e o efeito de estrutura é perdido, perdendo assim o volume associado à formação de neocolágeno (GOODWIN, 2018; GALADARI H *et al.*, 2015; KIM; ABEL, 2015).

De acordo com Flores e González (2011) e Lam, Azizzadeh e Graivier (2006) afirmam que quando injetadas, as grandes partículas de PLLA atraem macrófagos (que não conseguem fagocitar as partículas e, assim, migram para outro tipo de célula inflamatória maior chamada de células gigantes multinucleadas), linfócitos e fibroblastos.

Na mesma perspectiva, de acordo com Bentkover (2009), a metabolização do PLLA resulta na formação de cápsulas ao redor das microesferas individuais e aumento da deposição de fibras de colágeno pelos fibroblastos, aumentando a espessura da pele. Após a aplicação, você pode ver uma pequena mudança dependendo da quantidade de diluente no

produto, mas desaparecerá em cerca de 23 dias até que o diluente seja totalmente absorvido. Isso porque o PLLA na verdade não é um agente de volume, mas sim um estimulador de colágeno do próprio hospedeiro, agindo de forma gradual e não imediata.

Tendo em vista um produto imunologicamente inerte e biocompatível, classificado como preenchedor semipermanente com a vantagem de não necessitar de testes de pré tratamento e resultados com duração aproximada de 2 meses. É um produto biodegradável que se decompõe por hidrólise não enzimática para converter o polímero de ácido polilático em monômero de ácido lático, que é metabolizado em dióxido de carbono e água e completamente excretado do corpo na urina e nas fezes (BORBA; MATAYOSHI, 2018).

Portanto, a mistura da solução de lidocaína com o material de preenchimento inibe a necessidade de bloqueios nervosos ou infiltração local, diminuindo assim a dor relacionada ao tratamento e evitando a distorção tecidual que pode ser provocada pela injeção de anestésicos locais. Ademais, pode ter um impacto positivo no tratamento, melhorando a qualidade do atendimento e a satisfação do paciente. Além disto, estudos anteriores demonstraram que a adição de lidocaína a preenchimentos dérmicos à base de colágeno resultou em menos inchaço e hematomas (BAUMANN, 2004) potencialmente por causa do efeito anti-histamínico da lidocaína nos mastócitos (LEVY; BOULLE; RASPALDO, 2009). Resultados semelhantes foram obtidos com preenchimento dérmico de ácido hialurônico misturado com lidocaína que mostrou que o inchaço, a vermelhidão e os hematomas diminuem (SMITH; COCKERHAM, 2011; CHEN; CHENG; ZHUO, 2011). Isso ocorre porque se acredita que a lidocaína reduz esses efeitos colaterais. O mesmo é esperado para preenchimentos dérmicos de PCL misturados com lidocaína.

7. CONCLUSÃO

O Ellansé® perde suas características de volumizador e indutor de neocolagênese ao ser diluído abaixo de 83 % com solução salina associada à lidocaína, da mesma forma que o Sculptra® quando reconstituídos com períodos inferiores 24h.

Já o Sculptra na forma reconstituído na mesma hora não conseguem produzir colágeno, somente 72hrs e 24hrs no dia 60.

REFERÊNCIAS

- BAE, B. *et al.* Safety and long-term efficacy of forehead contouring with a polycaprolactone-based dermal filler. **Dermatologic Surgery**, Seoul, v. 42, n. 11, p. 1256-1260, 2016. Disponível em: https://journals.lww.com/dermatologicsurgery/abstract/2016/11000/safety_and_long_term_efficacy_of_forehead.4.aspx. Acesso em: 16 jan. 2024.
- BAUMANN, L. Dermal fillers. **J Cosmet Dermatol.**, Miami, v. 3, n. 4, p. 249-250, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1473-2130.2004.00143.x>. Acesso em: 16 jan. 2024.
- BELJAARDS, R. C.; DE ROOS, K.P.; BRUINS, F.G. NewFill for skin augmentation: a new filler or failure?. **Dermatologic surgery**, Veghel, v. 31, n. 7, p. 772-777, 2005. Disponível em: https://journals.lww.com/dermatologicsurgery/abstract/2005/07000/newfill_for_skin_augmentation__a_new_filler_or.9.aspx. Acesso em: 16 jan. 2024.
- BENTKOVER, S.H. The biology of facial fillers. **Facial Plast Surg.**, Worcester, v. 25, n. 2, p. 73-85, 2009. Disponível em: <https://www.thiemeconnect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1220646>. Acesso em: 16 jan. 2024.
- BORBA, A.; MATAYOSHI, S. **Técnicas de rejuvenescimento facial: toxina botulínica e MD codes**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Buzz, 2018.
- BRAVO, B. S. F.; CARVALHO, R. M. Safety in immediate reconstitution of poly-L-lactic acid for facial biostimulation treatment. **Journal of Cosmetic Dermatology**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p. 1435-1438, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jocd.13597>. Acesso em: 18 jan. 2024.
- CABRAL, L. R. B. *et al.* Effect of hyaluronic acid and poly-L-lactic acid dermal fillers on collagen synthesis: An in vitro and in vivo study. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, São Paulo, v. 13, p. 701, 2020. Disponível em: <https://www.dovepress.com/effect-of-hyaluronic-acid-and-poly-l-lactic-acid-dermal-fillers-on-col-peer-reviewed-fulltext-a> <https://www.dovepress.com/effect-of-hyaluronic-acid-and-poly-l-lactic-acid-dermal-fillers-on-col-peer-reviewed-fulltext-article-CCID>. Acesso em: 18 jan. 2024.
- CHEN, S.I.; CHENG, S.X.; ZHUO, R.X. Self-assembly strategy for the preparation of polymer-based nanoparticles for drug and gene delivery. **Macromolecular bioscience**, Wuhan, v. 11, n. 5, p. 576-589, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mabi.201000427>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- CHEN, S.Y.; LIN, J.Y.; LIN, C.Y. The back-and-forth method: A quick and simple technique for reconstitution of injectable poly-D, L-lactic acid. **Archives of Aesthetic Plastic Surgery**, Taiwan, v. 26, n. 2, p. 79-83, 2020a. Disponível em: <https://e-aaps.org/journal/view.php?doi=10.14730/aaps.2019.01977>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CHEN, S.Y.; LIN, J.Y.; LIN, C.Y. Micro-Fisheyes of Carboxymethyl Cellulose: The Cause of Micro-Clumps in the Suspension of Injectable Poly-L-Lactic Acid. **Aesthetic Surgery Journal**, Taipei, v. 40, n. 6, p. NP409-NP411, 2020b. Disponível em: <https://academic.oup.com/asj/article/40/6/NP409/5805566?login=false>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CHRISTEN, M.O.; VERCESI, F. Polycaprolactone: How a well-known and futuristic polymer has become an innovative collagen-stimulator in esthetics. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, Paris, v. 13, p. 31-48, 2020. Disponível em: <https://www.dovepress.com/polycaprolactone-how-a-well-known-and-futuristic-polymer-has-become-an-peer-reviewed-fulltext-article-CCID>. Acesso em: 20 jan. 2024.

DE LIMA, N.B.; SOARES, M.L. Utilização dos bioestimuladores de colágeno na harmonização orofacial. **Clinical and Laboratorial Research in Dentistry**, Recife, p. 1-18, 2020. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/clrd/article/view/165832>. Acesso em: 21 jan. 2024.

DE MELO, F.; MARIJNISSEN-HOFSTÉ, J. Investigation of physical properties of a polycaprolactone dermal filler when mixed with lidocaine and lidocaine/epinephrine. **Dermatology and Therapy**, Dubai, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13555-012-0013-7>. Acesso em: 24 jan. 2024.

DE MELO, F. *et al.* Recommendations for volume augmentation and rejuvenation of the face and hands with the new generation polycaprolactone-based collagen stimulator (Ellansé®). **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, Paris, v. 10, p. 431- 440, 2017. Disponível em: <https://www.dovepress.com/recommendations-for-volume-augmentation-and-rejuvenation-of-the-face-a-peer-reviewed-fulltext-article-CCID>. Acesso em: 1 fev. 2024.

FITZGERALD, R.; VLEGGGAAR, D. Facial volume restoration of the aging face with poly-L-lactic acid. **Dermatologic therapy**, Los Angeles, v. 24, n. 1, p. 2-27, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1529-8019.2010.01375.x>. Acesso em: 1 fev. 2024.

FLORES, I.C.; GONZÁLEZ, J. L.M. Materiales de relleno en dermatología. **Dermat CMQ**, Monterrey, n. 9, v.4, p. 275-283, 2011. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2011/dcm114g.pdf>. Acesso em: 5 fev. 2024.

GALADARI, H. *et al.* A randomized, prospective, blinded, split-face, single-center study comparing polycaprolactone to hyaluronic acid for treatment of nasolabial folds. **Journal of cosmetic dermatology**, Al Ain, v. 14, n. 1, p. 27-32, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jocd.12126>. Acesso em: 10 fev. 2024.

GOLDBERG, D. *et al.* Single-arm study for the characterization of human tissue response to injectable poly-L-lactic acid. **Dermatologic Surgery**, New York, v. 39, n. 6, p. 915-922, 2013. Disponível em: https://journals.lww.com/dermatologicsurgery/abstract/2013/06000/single_arm_study_for_the_characterization_of_human.14.aspx. Acesso em: 10 fev. 2024.

- GOLDMAN, M. P. Cosmetic use of poly-L-lactic acid: my technique for success and minimizing complications. **Dermatologic surgery**, San Diego, v. 37, n. 5, p. 688-693, 2011. Disponível em: https://journals.lww.com/dermatologicsurgery/abstract/2011/05000/cosmetic_use_of_poly_l_lactic_acid_my_technique.19.aspx. Acesso em: 11 fev. 2024.
- GOODWIN, P. Collagen stimulation with a range of polycaprolactone dermal fillers. **Journal of Aesthetic Nursing**, [s. l.], v. 2S, p. 22-28, 2018. Disponível em: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/joan.2018.7.Sup2.22>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- HADDAD, A. *et al.* Conceitos atuais no uso do ácido poli-l-láctico para rejuvenescimento facial: revisão e aspectos práticos. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 60-71, 2017. Disponível em: <http://www.surgicalcosmetic.org.br/detalhe-artigo/552>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- KEDE, M.P.V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia estética**. 2. ed. rev. São Paulo: Atheneu, 2009.
- KIM, J.A.; ABEL, D.V. Neocollagenesis in human tissue injected with a polycaprolactone-based dermal filler. **J Cosmet Laser Ther.**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 99-101, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/14764172.2014.968586>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- KIM, J.S. *et al.* Comparative study of rheological properties and preclinical data of porous polycaprolactone microsphere dermal fillers. **Journal of Cosmetic Dermatology**, Korea, v. 19, n. 3, p. 596-604, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jocd.13076>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- KWON, T.R. *et al.* Biostimulatory effects of polydioxanone, poly-d, l lactic acid, and polycaprolactone fillers in mouse model. **Journal of Cosmetic Dermatology**, Korea, v. 18, n. 4, p. 1002-1008, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jocd.12950>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- LACOMBE, V. Sculptra: a stimulatory filler. **Facial Plastic Surgery**, Santa Rosa, v. 25, n. 02, p. 95-99, 2009. Disponível em: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1220648>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- LAM, S. M.; AZIZZADEH, B.; GRAIVIER, M. Injectable poly-L-lactic acid (Sculptra): technical considerations in soft-tissue contouring. **Plastic and reconstructive surgery**, [s. l.], v. 118, n. 3S, p. 55S-63S, 2006. Disponível em: https://journals.lww.com/plasreconsurg/abstract/2006/09011/injectable_poly_l_lactic_acid_sculptra__10.aspx. Acesso em: 12 fev. 2024.
- LE LOUARN, C.; BATHIAU, D.; BUIS, J. Structural aging: the facial recurve concept. **Aesthetic Plastic Surgery**, Paris, v. 31, n. 3, p. 213-218, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00266-006-0024-9>. Acesso em: 12 fev. 2024.

LEVY, P. M.; BOULLE, K.D.; RASPALDO, H. A split-face comparison of a new hyaluronic acid facial filler containing pre-incorporated lidocaine versus a standard hyaluronic acid facial filler in the treatment of naso-labial folds. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, Geneva, v. 11, n. 3, p. 169-173, 2009. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14764170902833142>. Acesso em: 12 fev. 2024.

LIN, S.L. Polycaprolactone facial volume restoration of a 46-year-old Asian women: a case report. **Journal of Cosmetic Dermatology**, New Taipei City, v. 17, n. 3, p. 328-332, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jocd.12482>. Acesso em: 12 fev. 2024.

MESQUITA, K. C. *et al.* Abatacept treatment impairs the cell migration and wound healing of oral ulcers in rats: Role of interleukin (IL)-1 β , -6 and -10 and CD8/CD30 cells: Influence of abatacept treatment on oral wound healing: Experimental model on rats. **Life sciences**, Fortaleza, v. 243, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320519311713?via%3Dihub>. Acesso em: 12 fev. 2024.

NARINS, R. S. *et al.* A randomized study of the efficacy and safety of injectable poly-L-lactic acid versus human-based collagen implant in the treatment of nasolabial fold wrinkles. **Journal of the American Academy of Dermatology**, New York, v. 62, n. 3, p. 448-462, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962209009621>. Acesso em: 20 fev. 2024.

QUAN, T. *et al.* Reduced expression of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates collagen loss in chronologically aged human skin. **Journal of Investigative Dermatology**, Michigan, v. 130, n. 2, p. 415-424, 2010. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15346984>. Acesso em: 22 fev. 2024.

RAYESS, H. M. *et al.* A cross-sectional analysis of adverse events and litigation for injectable fillers. **JAMA facial plastic surgery**, Detroit, v. 20, n. 3, p. 207-214, 2018.

Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1001/jamafacial.2017.1888>. Acesso em: 22 fev. 2024.

SCHIERLE, C. F.; CASAS, L. A. Nonsurgical rejuvenation of the aging face with injectable poly-L-lactic acid for restoration of soft tissue volume. **Aesthetic surgery journal**, Chicago, v. 31, n. 1, p. 95-109, 2011. Disponível em:

<https://academic.oup.com/asj/article/31/1/95/274078?login=false>. Acesso em: 22 fev. 2024.

SCULPTRA: suspensão. Responsável técnico: Thereana Rimerio. Hortolândia – Galderma, 2021.

SHAW, R.B.; KAHN, D.M. Aging of the midface bony elements: a three-dimensional computed tomographic study. **Plastic and reconstructive surgery**, Stanford, v. 119, n. 2, p. 675-681, 2007. Disponível em:

https://journals.lww.com/plasreconsurg/abstract/2007/02000/aging_of_the_midface_bony_elements__a.31.aspx. Acesso em: 25 fev. 2024.

SMITH, L.; COCKERHAM, K. Hyaluronic acid dermal fillers: can adjunctive lidocaine improve patient satisfaction without decreasing efficacy or duration?. **Patient preference and adherence**, Los Altos, n. 5, p. 133-139, 2011. Disponível em: <https://www.dovepress.com/hyaluronic-acid-dermal-fillers-can-adjunctive-lidocaine-improve-patient-peer-reviewed-fulltext-article-PPA>. Acesso em: 25 fev. 2024.

SUN, H. *et al.* The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant. **Biomaterials**, Tianjin, v. 27, n. 9, p. 1735-1740, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961205008604>. Acesso em: 25 fev. 2024.

TAGLE, J.M. *et al.* Clinical performance of a dermal filler containing natural glycolic Acid and a polylactic Acid polymer: results of a clinical trial in human immunodeficiency virus subjects with facial lipoatrophy. **J Clin Aesthetic Dermatol**, [s. l.], v. 3, n.2, p. 42-47, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2921761/>. Acesso em: 25 fev. 2024.

VARGAS, A.; DE AMORIM, N.G.; PINTANGUY, I. Complicações tardias dos preenchementos permanentes. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 1, p. 71-81, 2009. Disponível em: <http://www.rbc.org.br/details/447/pt-BR/complicacoes-tardias-dos-preenchimentos-permanentes>. Acesso em: 25 fev. 2024.

VERHAEGEN, P.D.H.M. *et al.* Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: an objective histopathological analysis. **Wound repair and regeneration**, Beverwijk, v. 17, n. 5, p. 649-656, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1524-475X.2009.00533.x>. Acesso em: 25 fev. 2024.

WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D.W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, Australia, v. 35, p. 1217–1256. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670010000419>. Acesso em: 25 fev. 2024.

WORTSMAN, X.; QUEZADA, N. Ultrasound morphology of polycaprolactone filler. **Journal of Ultrasound in Medicine**, Santiago, v. 36, n. 12, p. 2611-2615, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jum.14327>. Acesso em: 25 fev. 2024.

ANEXO I- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Título do Projeto: INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO PREENCHEDOR A BASE DE POLICAPROLACTONA ELLANSÉ® NA DEPOSIÇÃO E MATURAÇÃO DO COLÁGENO EM DORSO DE CAMUNDONGOS.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 8 (oito) de julho de 2021.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Swiss, 20-30 gramas, M.	Número Amostral:	150
----------	-------------------------	------------------	-----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 08/7/2022.

Fortaleza, 08 de julho de 2021.

Olga Vale Oliveira Machado
 Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE

ANEXO II - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS



Of. No. 023/21

Protocolo da CEUA: 023/21

Pesquisador Responsável: PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS SILVA

Título do Projeto: INFLUÊNCIA DO TEMPO DE REPOUSO PÓS RECONSTITUIÇÃO DO SCULPTRA® NA DEPOSIÇÃO E MATURAÇÃO DO COLÁGENO EM DORSO DE CAMUNDONGOS.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 24 (vinte e quatro) de setembro de 2021.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Camundongos Swiss Machos	Número Amostral:	120
----------	--------------------------	------------------	-----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 24/9/2022.

Fortaleza, 24 de setembro de 2021.

Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE