



PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
DIRETORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE BIOESTIMULADORES DE
COLÁGENO A BASE DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO**

VINICIUS OKANO

MARINGÁ

2023



PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
DIRETORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA

VINICIUS OKANO

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE BIOESTIMULADORES DE
COLÁGENO A BASE DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO**

Dissertação formato artigo apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Odontologia, do Centro Universitário Ingá - UNINGÁ, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Sundfeld Neto

MARINGÁ
2023

FOLHA DE APROVAÇÃO

Okano, Vinicius

Avaliação clínica do efeito dos bioestimuladores de colágeno a base de hidroxapatita de cálcio/ Vinicius Okano. – Maringá, 2023. 35 p.

Dissertação (Mestrado) – Centro Universitário Ingá – Unigá, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Sundfeld Neto.

VINICIUS OKANO

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO A BASE DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO

Dissertação em formato artigo apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Odontologia, do Centro Universitário Ingá UNINGÁ, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Implantodontia.

Maringá, 27 de Fevereiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel Sundfeld Neto

UNINGÁ – Centro Universitário Ingá - Orientador

Prof. Dr. Lucas Silveira Machado

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Profa. Dra. Fernanda Ferruzzi Lima

UNINGÁ – Centro Universitário Ingá

DEDICATÓRIA

Dedico a todas as pessoas, colegas e pacientes que se propuseram com idéias e ações a tornar esse trabalho uma realidade, sem o esforço conjunto não conseguiríamos chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, presentes de alguma forma por me educarem com bons exemplos e mostrarem que educação e conhecimento são a melhor herança que podemos ter em nossas vidas.

A minha família Okano pelos incontáveis exemplos de professores, muitos doutores e mestres que se dedicam na arte de educar seus alunos e formar pessoas melhores.

Ao meu orientador Dr. Daniel Sundfeld Neto, profissional exemplar que assumiu minha orientação no meio dessa caminhada do mestrado pelo apoio, empenho, dedicação e sábios ensinamentos.

A Dra. Polyane Mazucatto Quieroz, profissional dedicada que ajudou a desenhar esse trabalho e fez junto o planejamento transformando em realidade uma idéia que se concretizou, os caminhos se separaram mas sempre tive seu apoio e incentivo.

A meu tio Mario Halila pelo apoio na parte de informática e horas de auxílio para confecção desse trabalho.

A minha colega de mestrado Dra. Cíntia Simões Vale, pela sinergia e companheirismo, meu muito obrigado pelo aprendizado e profissionalismo de sempre, você

Aos médicos Dra. Marília Amarilis Ferreira Brasil e Dr. Mateus Mationi pelo esforço, empenho e dedicação na realização dos exames de ultrassom.

Aos muitos colegas que fizeram considerções e ajudaram direta e indiretamente nesse trabalho.

Aos colegas do mestrado, especialmente ao dr. Hermes Spanhol pelo companheirismo e troca de experiências.

A todos os professores, funcionários e colaboradores da Uningá pela oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente nesses 2 anos de mestrado.

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DOS BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO A BASE DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO

RESUMO

Objetivo: Comparar os bioestimuladores de colágeno a base de hidroxiapatita de cálcio na espessura de derme e hipoderme por meio do acompanhamento de exames de ultrassom no período de até 180 dias. **Material e Métodos:** Grupo de 20 pacientes, gênero feminino e masculino, distribuídos de maneira equivalente em relação a idade, formaram: grupo 1, utilizou-se a hidroxiapatita de cálcio – Radiesse, e grupo 2: utilizou-se a hidroxiapatita de cálcio associado ao ácido hialurônico – HarmonyCa, com acompanhamento de exames de ultrassom nos tempos inicial (antes da aplicação), 7, 90 e 180 dias da data de aplicação. **Resultados:** No grupo 1 constatou-se aumento linear da derme de 0,109 cm (DP= 0,0213 cm) para 0,1865 cm (DP= 0,0415 cm) com $p < 0,01$ e em hipoderme de 0,509 cm (DP= 0,117 cm) para 0,699 cm (DP= 0,179 cm) com $p < 0,01$ em 180 dias. No grupo 2 observou-se um aumento nas medidas da derme de 0,101 cm (DP= 0,0221) para 0,165 cm (DP= 0,272 cm) com $p < 0,01$ e em hipoderme de 0,438 cm (DP= 0,085 cm) para 0,758 cm (DP= 0,111) com $p < 0,01$ em 180 dias. Em derme não houve diferença estatística entre grupo 1 e 2 no ganho em espessura; no entanto, em hipoderme houve maior ganho no grupo 2 (p -valor= 0,0057) e não houve diferença estatística de aumento de densidade pelo histograma. **Conclusão:** O grupo 1 e grupo 2 apresentaram ganhos em espessura e aumento de densidade de colágeno em derme e hipoderme no período de 180 dias.

Palavras-chave: Bioestimulador, colágeno, hidroxiapatita de cálcio.

EVALUATION OF THE EFFECT OF COLLAGEN BIO-STIMULATORS BASED ON CALCIUM HYDROXYAPATITE

ABSTRACT

Objective: To compare collagen biostimulators based on calcium hydroxyapatite in the thickness of the dermis and hypodermis through the monitoring of ultrasound exams in a period of up to 180 days. **Material and Methods:** Group of 20 patients, male and female, distributed equally in terms of age, formed: group 1, calcium hydroxyapatite – Radiesse was used, and group 2: calcium hydroxyapatite associated with to hyaluronic acid – HarmonyCa, with monitoring of ultrasound exams at the initial times (before application), 7, 90 and 180 days from the date of application. **Results:** In group 1, there was a linear increase in the dermis from 0.109 cm (SD= 0.0213 cm) to 0.1865 cm (SD= 0.0415 cm) with $p<0.01$ and in the hypodermis from 0.509 cm (SD = 0.117 cm) to 0.699 cm (SD= 0.179 cm) with $p<0.01$ at 180 days. In group 2, there was an increase in dermal measurements from 0.101 cm (SD= 0.0221) to 0.165 cm (SD= 0.272 cm) with $p<0.01$ and in hypodermis from 0.438 cm (SD= 0.085 cm) to 0.758 cm (SD=0.111) with $p<0.01$ at 180 days. In the dermis, there was no statistical difference between groups 1 and 2 in terms of gain in thickness; however, in hypodermis there was greater gain in group 2 (p -value= 0.0057) and there was no statistical difference in density increase by histogram. **Conclusion:** Group 1 and Group 2 showed gains in thickness and increased collagen density in the dermis and hypodermis over a period of 180 days.

Keywords: Biostimulator, collagen, calcium hydroxyapatite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Hinderer's Vlines.....	página 13
Figura 2 - Referência para aplicação de bioestimulado.....	página 16
Figura 3 - Visão frontal, diagonal e lateral esquerda e direita.....	página 17
Figura 4 - Visão diagonal esquerda pontos de aplicação.....	página 18
Figura 5 - Visão frontal e diagonal pré e pós-procedimento	página 18
Figura 6 – US inicial.....	página 19
Figura 7 – Histograma inicial.....	página 19
Figura 8 - US 7 dias.....	página 19
Figura 9 - Histograma 7 dias.....	página 19
Figura 10 - US 90 dias.....	página 20
Figura 11 - Histograma 90 dias.....	página 20
Figura 12 - US 180 dias.....	página 20
Figura 13 - Histograma 180 dias.....	página 20

Legenda das Figuras:

*US – Ultrassonografia

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - RADIESSE (G1) DERME (MEDIDA 1)	página 22
Gráfico 2 - RADIESSE (G1) HIPODERME (MEDIDA 2).....	página 22
Gráfico 3 - RADIESSE (G1) HISTOGRAMA VALOR MÉDIO.....	página 23
Gráfico 4 - HARMONYCA (G2) DERME (MEDIDA 1).....	página 23
Gráfico 5 - HARMONYCA (G2) HIPODERME (MEDIDA 2).....	página 24
Gráfico 6 - HARMONYCA (G2) HISTOGRAMA VALOR MÉDIO.....	página 24
Gráfico 7 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) DERME (MEDIDA 1)TESTE t HISTOGRAMA.....	página 25
Gráfico 8 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) HIPODERME (MEDIDA 2) TESTE MANN WHITNEY.....	página 25
Gráfico 9 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) – HISTOGRAMA TESTE t.....	página 26

Legenda dos Gráficos:

*E1 – inicial pré-procedimento.

*E2 – 7 dias.

*E3 – 90 dias.

*E4 – 180 dias.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	página 12
2	MATERIAL E MÉTODOS	página 15
2.1	Material e Métodos.....	página 15
3.2	Análise Estatística.....	página 20
3	RESULTADOS	página 21
4	DISCUSSÃO	página 26
5	CONCLUSÕES	página 30
6	REFERÊNCIAS	página 31

1 INTRODUÇÃO

O belo é entendido como forma perfeita e proporções harmônicas que é agradável, elevado e sublime (SCHUBERT C, 2009). A busca atual do belo envolve diferentes áreas de conhecimento como a psicologia, antropologia, filosofia e medicina. Diferentes épocas e culturas têm seus modelos ou padrões específicos de beleza. A etimologia da palavra estética vem do grego *aisthesis* que define como “capacidade do ser humano de sentir a si próprio e ao mundo num todo integrado” (DUARTE JF, 2001).

A estética envolve a relação com o mundo e apresenta impacto nas interações sociais, laborais e no bem estar com o próprio indivíduo (HILLMAN J, 1993). Desde a antiguidade, existe um número que representa a idéia do belo, o número *phi* (ϕ) que equivale a 1,6180, também chamado de “número áureo” e refere-se a Phidias (490-430 a.C.). Estruturas da natureza e do corpo humano apresentam-se na proporção áurea, como observado por Leonardo da Vinci, em 1509. Assim, essa proporção é considerada divina. Esse número foi utilizado por muitos estudiosos e matemáticos para indicar proporções harmônicas de forma universal.

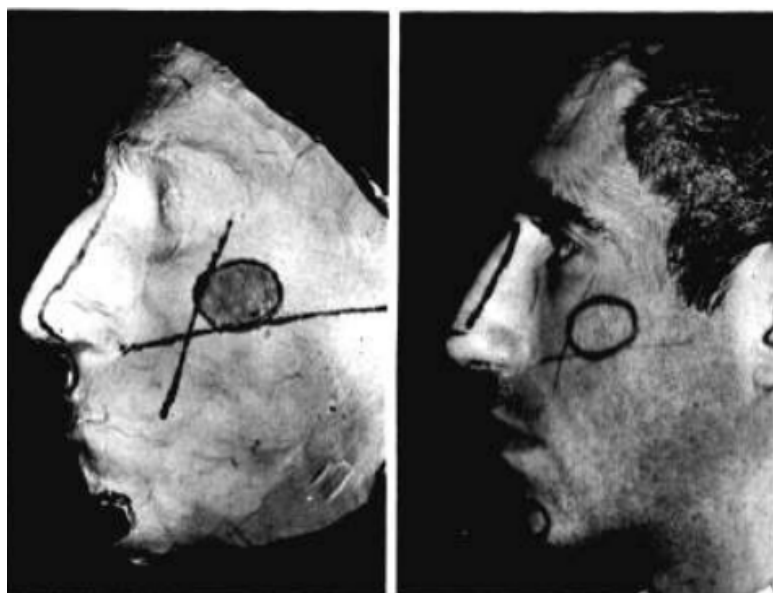
Essa proporção é empregada em pinturas e esculturas renascentistas com propósito de representar o belo, foi o padrão durante muitos séculos para determinar qual seria o ideal de beleza (FISCHER CJ, 2016). A importância da proporção áurea durante os séculos não se perdeu e ainda é utilizada nos cálculos de simetria e nos padrões de beleza da atualidade. Essa proporção harmônica garante um padrão esteticamente aceito pelo nosso cérebro (MONDELLI J, 2003).

Nesse contexto, houve um avanço na abordagem de procedimentos com a proposta de proporcionar harmonização orofacial. Cabe ao profissional, conhecedor dos fundamentos das proporções estéticas orofaciais, diagnosticar aspectos não estéticos, estudando recursos para reestabelecer o padrão de harmonização orofacial. As opções rejuvenescedoras atuais têm como princípio restaurar o equilíbrio natural entre as diferentes estruturas e camadas faciais devolvendo ao

rosto a harmonia que se perde durante os processos de envelhecimento (MOREIRA JÚNIOR et al, 2018; WONG CH, MENDELSON B 2015).

A necessidade de uma estruturação malar como base na estética facial, delimitada anatomicamente pelas Hinderer's lines (uma linha horizontal que une Tragus a cartilagem alar e outra linha unindo a margem óssea externamente ao exocântio com a comissura labial) descrita em 1975 pelo médico cirurgião-plástico Ulrich T. Hinderer, fica evidente sendo o traçado usado para identificar a área a ser valorizada (**Figura 1**). Outra delimitação semelhante anatomicamente seria medialmente pelo ligamento piriforme da base nasal, superiormente pelo ligamento de retenção orbicular do olho, e fica abaixo do músculo orbicular do olho, descrição do espaço piriforme profundo, descrito pelo médico cirurgião plástico Brunno von Buettner Ristow. Na harmonização orofacial usualmente é traçado uma linha de Tragus a cartilagem alar e outra linha do canto externo do olho até a comissura oral, localizando a intersecção o espaço de Ristow, espaço posterior e superior onde a voluminização apoiaria o rejuvenescimento facial (HINDERER UT,1975).

Figura 1 - Hindere's Line, 1975



Fonte - Hinderer UT.

A pele é o órgão mais extenso do corpo humano, composta pela epiderme, derme e hipoderme, sendo responsável por funções vitais por estar em contato direto com o meio externo, participando efetivamente do controle de temperatura e exposição a antígenos presentes no ambiente a que está sujeita. O envelhecimento é consequência de múltiplos fatores intrínsecos e extrínsecos que são inter-relacionados e que contribuem de forma significativa para a manifestação dos principais sinais do envelhecimento, como: as rugas, as manchas, alterações de textura, flacidez, sulcos ou queda da pálpebra superior, entre outros. O envelhecimento extrínseco, também chamado de fotoenvelhecimento, se deve às excessivas e repetitivas exposições aos raios ultravioletas (UVA, UVB e luz visível), que estimulam a formação dos radicais livres e de outros fatores como poluição, tabagismo, álcool e hábitos nutricionais. O envelhecimento intrínseco é influenciado por fatores genéticos, sendo natural e inevitável.

Com a idade, inicia-se um declínio das funções vitais do corpo, a redução das renovações celulares, os déficits hormonais, a diminuição de melanócitos, a deformação das fibras elásticas e redução da síntese da principal proteína responsável pela sustentação da pele, o colágeno, resultando em uma pele mais fina, com rugas e linhas (FRANZEN JM *et al* 2013; MONTEIRO EO, PARADA MOB 2010). A região malar manifesta alterações mais complexas de tecidos moles com envelhecimento. A maxila é o osso que sofre maior remodelamento com o envelhecimento, cujas consequências são observadas na bochecha. Os procedimentos de rejuvenescimento facial devem integrar todo o tecido facial em consideração para resultados naturais (MENDELSON B, WONG CH 2012; COTOFANA S *et al* 2016).

O uso de materiais de preenchimento a base de hidroxapatita de cálcio têm a proposta de, através de preenchimentos dérmicos, dar ao rosto uma aparência mais jovem, proporcionando aumento em áreas com perda de volume, defeitos de contorno, rugas, sinais resultantes do envelhecimento natural melhorando o prognóstico e previsibilidade dos tratamentos (LOGHEM JV 2013; CHANG JW *et al* 2020; DOWNIE JB 2013; KICHESE ALR 2019).

A hidroxapatita de cálcio é produzida no corpo humano, sendo um material biocompatível, apresenta alto grau de segurança devido à baixa resposta inflamatória, determinada pela característica de superfície lisa e tamanho regular das

micropartículas. Também, apresenta alta viscoelasticidade permanecendo no local da injeção sem que haja migração para outras áreas circundantes, sendo utilizado mais profundamente que o ácido hialurônico (TAGLE JM *et al* 2010). Uma remodelação fisiológica ativa da matriz extracelular com o uso da hidroxiapatita de cálcio estimula um processo de duas etapas pelo qual o colágeno tipo I substitui gradualmente o colágeno tipo III neoformado (YUTSKOVSKAYA YA, KOGAN E, LESHUNOV E 2014; YUTSKOVSKAYA Y, KOGAN EA 2017).

A ecografia surge como uma ferramenta de avaliação das camadas da pele pela facilidade de acesso, baixo preço, indolor, não radioativa e capaz de identificar o fluxo sanguíneo local e alterações patológicas, permitindo a visualização de tecidos moles, gerando imagens através de ecos sonoros que vão de áreas anecóicas passando por regiões hipoeecóicas até hiperecóicas (SAMPAIO EC 2018). Os preenchedores de hidroxiapatita de cálcio podem ser visualizados com o uso da ultrassonografia (US) de alta frequência acima de 20 MHz, com a qual a hidroxiapatita aparece como depósitos hiperecócicos com graus variáveis de sombreamento acústico posterior (LEE JC, LORENC ZP 2016; CAETANO LdVN *et al* 2016). A qualidade dos resultados da US de alta frequência depende das características do equipamento e do seu operador e exige conhecimento de anatomia, patologia e das técnicas permitidas pelo equipamento (FERRI M *et al* 2005).

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de analisar a eficácia da hidroxiapatita de cálcio enquanto bioestimulador de colágeno, usada de forma individual em comparação a uma associação de hidroxiapatita ao ácido hialurônico com acompanhamento através do uso de ultrassonografia de alta frequência (24 MHz) no intervalo de 180 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

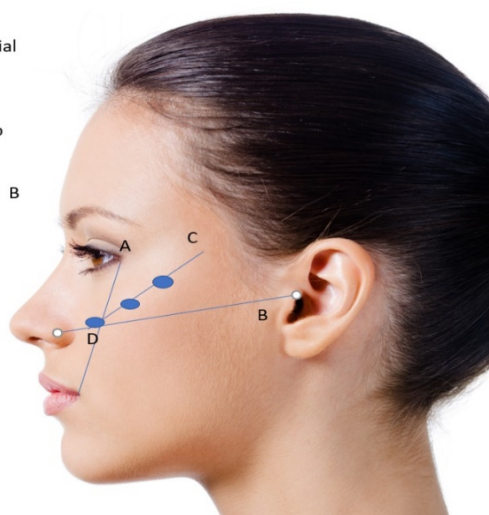
O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Ingá, Maringá, Paraná, sob o número 53089521.5.0000.5220. A amostra foi constituída pelas documentações de 20 pacientes.

Os seguintes critérios foram utilizados para a seleção dos pacientes da amostra (20 pacientes): gênero feminino e masculino, com faixa etária de 18 a 60 anos, que buscaram atendimento odontológico a fim de reestabelecer o volume da face para as quais tenham sido indicadas o uso de bioestimuladores de colágeno a base de hidroxiapatita de cálcio com ou sem associação ao ácido hialurônico. Foram excluídos pacientes que realizaram tratamento estético prévio nos últimos 18 meses, pacientes com comprometimento sistêmico e/ou com alteração dermatológica. Os grupos 1 e 2 foram distribuídos de forma aleatória. O n amostral de 20 participantes foi baseado na média do n amostral em estudos anteriores similares, devido ao pequeno número de estudos correlacionados.

Os pacientes foram submetidos ao procedimento estético de acordo com sua queixa e o protocolo de aplicação seguido será um protocolo padrão, proposto neste trabalho para padronização e sem interferência da pesquisa. O protocolo utilizado foi feito com aplicação bilateralmente em 3 lúpus de aplicação com 0,1 ml de bioestimulador de colágeno depositados em cada bolus com distância média de 1 cm entre cada bolus com retroinjeção de 0,1 ml entre cada bolus seguindo orientação da reta C, sendo homogenizados por manipulação manual. A reta C é gerada a partir da intersecção da reta A (canto externo de olho à comissura labial) com a reta B (Tragus à asa do nariz), sendo medida com transferidor o ângulo entre a reta B e a reta C para região do arco zigomático. **(Figura 2).**

Figura 2 – Esquema de referência para aplicação de bioestimulador

- A - Canto externo de olho à comissura labial
- B - Tragus à asa do nariz
- C - Bissetriz no quadrante superior externo das linhas A e B
- D - Ponto de Ristow, intersecção linha A e B



Fonte – Google fotos

Os 20 pacientes foram distribuídos em grupo 1 (G1) e grupo 2 (G2) de acordo com o material aplicado. No G1 utilizou-se Radiesse (Herz Aesthetic), implante injetável com 30% de hidroxapatita de cálcio por volume e 70% de gel como veículo por volume contendo carboximetilcelulose de sódio. No G2 utilizou-se HarmonyCa (Allergan Aesthetic), implante injetável composto de 70% de concentração de ácido hialurônico e 30% de microesferas de Hidroxapatita de Cálcio. As aplicações dos bioestimuladores foram realizados por profissional experiente e calibrado na técnica.

Todos os pacientes foram submetidos a quatro exames de ultrassonografia bilateralmente sendo: exame inicial pré-procedimento (E1), realizado antes da aplicação do material, e três exames após a aplicação nos tempos de: 7 dias (E2), 90 dias (E3) e 180 dias (E4). As imagens foram obtidas por médico radiologista experiente utilizando o aparelho GE Logiq P9 e transdutor linear de 24 MHz (Healthcare, Milwaukee, Wisconsin, USA). Foram realizadas medidas de derme (medida 1) e de hipoderme (medida 2) nos tempos E1, E2, E3 e E4. Foram realizadas imagens da região de arco zigomático, a considerar a reta C na áreas de aplicação dos bioestimuladores, com o transdutor perpendicular a referida reta do esquema (**Figura 2**).

As imagens foram avaliadas no momento da aquisição sendo realizadas as medidas lineares da região do osso zigomático considerando os pontos de referências e histograma das imagens. A **Figura 3** mostra o esquema das linhas de referências e de aplicação do procedimento do grupo 1 e do grupo 2 na face de paciente integrante do estudo. A **Figura 4** mostra o momento da aplicação do bioestimulador de colágeno seguindo esquema de aplicação. A **Figura 5** mostra a visão frontal e diagonal pré-procedimento e pós-procedimento imediato de paciente.

Figura 3 – Visão frontal, diagonal e lateral esquerda e direita.



Figura 4 – Aplicação do bioestimulador de colágeno - esquema de aplicação.



Fonte – o autor.

Figura 5 – Visão frontal e diagonal pré e pós-procedimento imediato.



Fonte – o autor.

Os exames de ultrassonografia de alta frequência obtidos (Figura 8) são em 8 bits, sendo transformados em histograma de intensidade dos tons de cinza com variação de 0 a 255 (Figura 9) pelo programa ImageJ (National Institute of Mental Health, USA), mostrando a intensidade de densidade nos exames nos tempos de 0 dias (inicial pré-procedimento), 7 dias, 90 dias e 180 dias pós-procedimento. Os resultados tabulados foram os valores médios dos tons de cinza das imagens de cada histograma para fins de análise estatística conforme descrito no item 3.2 Análise Estatística a seguir.

Figura 6 – US inicial

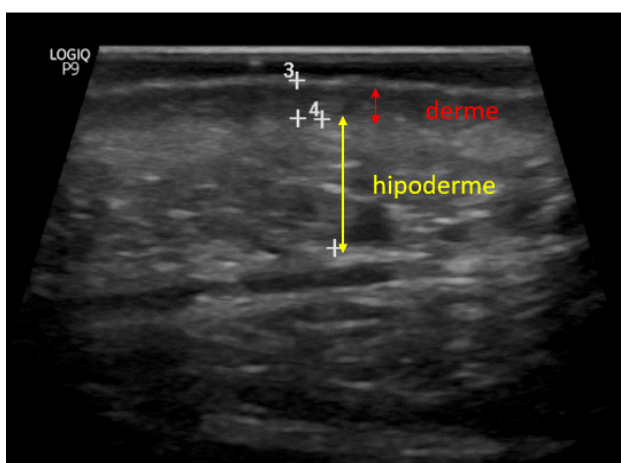


Figura 7 – Histograma inicial

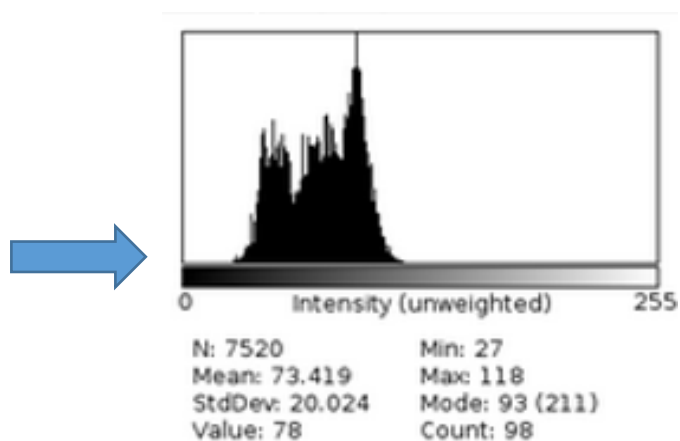


Figura 8 – US 7 dias

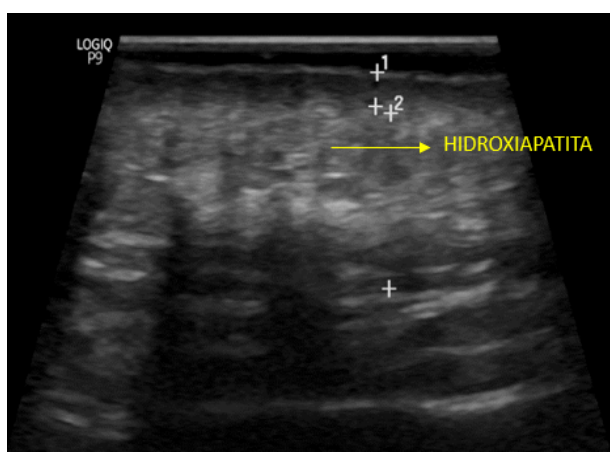


Figura 9 – Histograma 7 dias

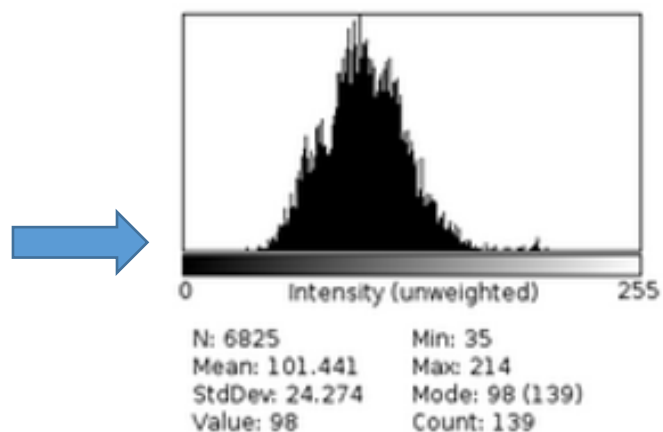


Figura 10 – US 90 dias

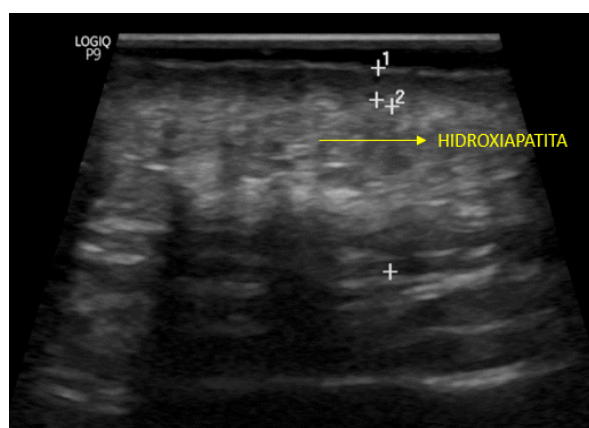


Figura 11 – Histograma 90 dias

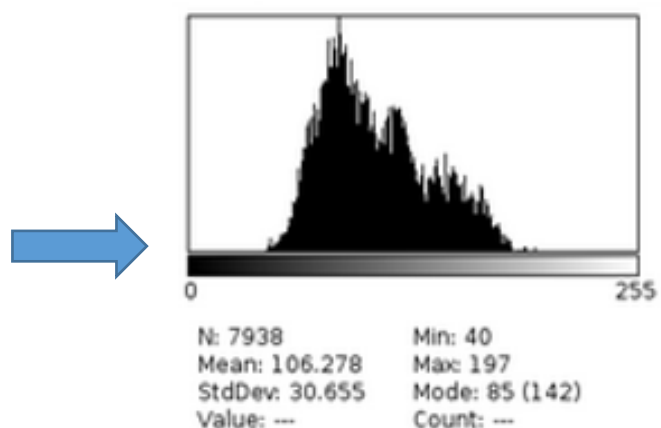


Figura 12 – US 180 dias

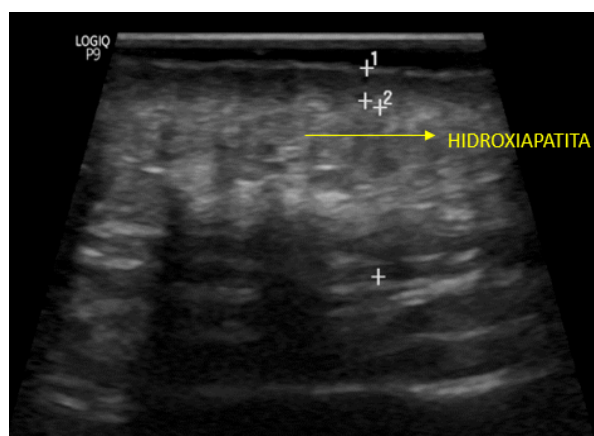
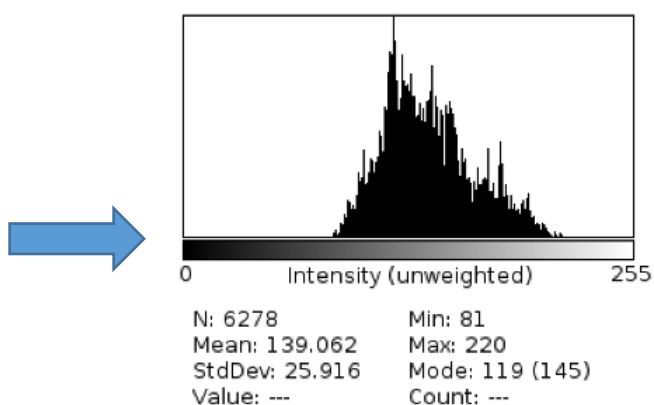


Figura 13 – Histograma 180 dias



2.2 Análise Estatística

Os dados foram tabulados e a análise estatística feita no *software* BioEstat (Instituto Mamirauá, Belém, Brasil). Realizado teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posterior análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas *one way* com teste *post hoc* de Tukey, considerando o nível de significância de 5%, comparando os dados obtidos nos exames realizados nos diferentes tempos. Para análise comparativa entre os grupos G1 e G2 do ganho em espessura nas medidas 1 e 2 (derme e hipoderme) foi utilizado teste t de student para a derme (medida 1) e teste de Mann-Whitney para hipoderme (medida 2). Os dados resultantes obtidos da subtração das medidas no tempo E4 (180 dias) descontados das medidas no tempo

E1 (pré-procedimento) foram utilizados na comparação das medida 1 e medida 2 para ganho de espessura. Para análise comparativa entre os grupos 1 e 2 (derme e hipoderme) da intensidade dos tons de cinza, os dados considerados nos histogramas foram o ponto médio dos tons de cinza das imagens de US foi utilizado teste t de student.

3 RESULTADOS

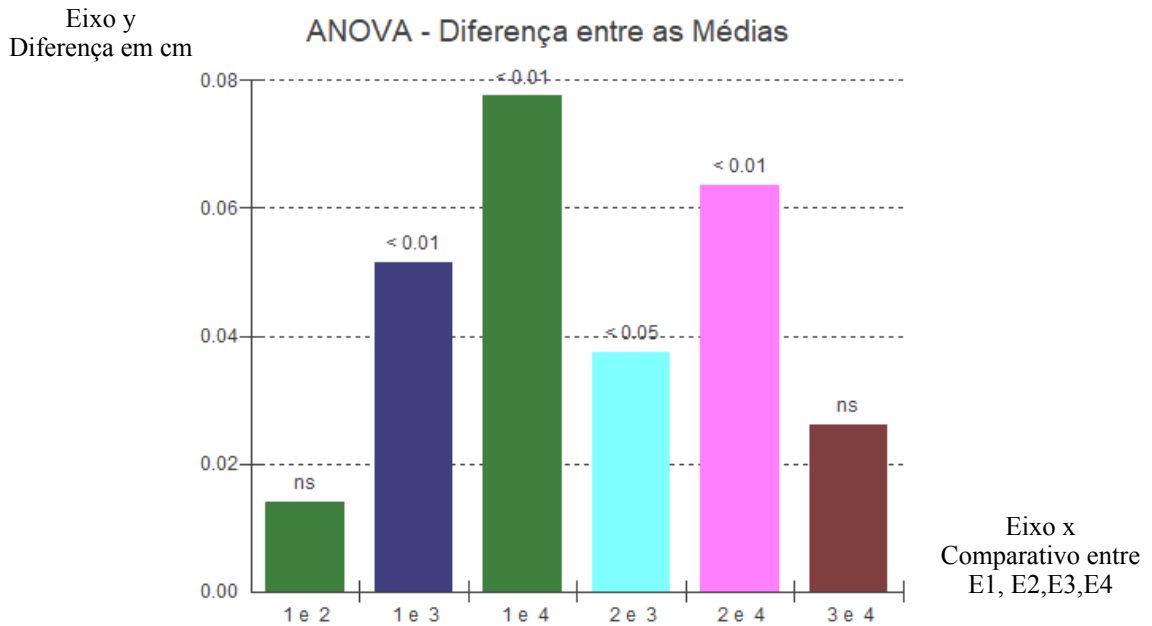
Os resultados obtidos das medidas lineares de derme (medida 1) e hipoderme (medida 2) nos grupos G1 e G2 nos exames de ultrassonografia se encontram nos gráficos 1, 2, 4 e 5. Os resultados foram divididos em E1 (inicial pré-procedimento), E2 (7 dias pós procedimento), E3 (90 dias pós procedimento) e E4 (180 dias pós procedimento).

Os resultados dos histogramas dos exames de ultrassonografia nos grupos G1 e G2 se encontram dispostos nas tabelas 3 e 6, conforme o ponto médio dos tons de cinza das imagens dos histogramas obtidos. Os resultados foram divididos em E1 (inicial pré-procedimento), E2 (7 dias pós-procedimento), E3 (90 dias pós-procedimento) e E4 (180 dias pós-procedimento).

Os resultados de G1 (Radiesse) mostraram um aumento progressivo nas médias das medidas lineares de derme de E1= 0,109 cm ($\pm 0,0213$) para E4=0,186 cm ($\pm 0,0415$); da hipoderme de E1=0,509 cm ($\pm 0,1170$) para E4=0,699 cm ($\pm 0,1798$) com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) para as medidas 1 e 2 (**Gráfico 1 e 2**). Os resultados dos histogramas da ultrassonografia do G1 mostram valor médio dos tons de cinza das imagens de E1=103,35 cm ($\pm 14,38$) para E4=125,875 cm ($\pm 13,72$) com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) (**Gráfico 3**).

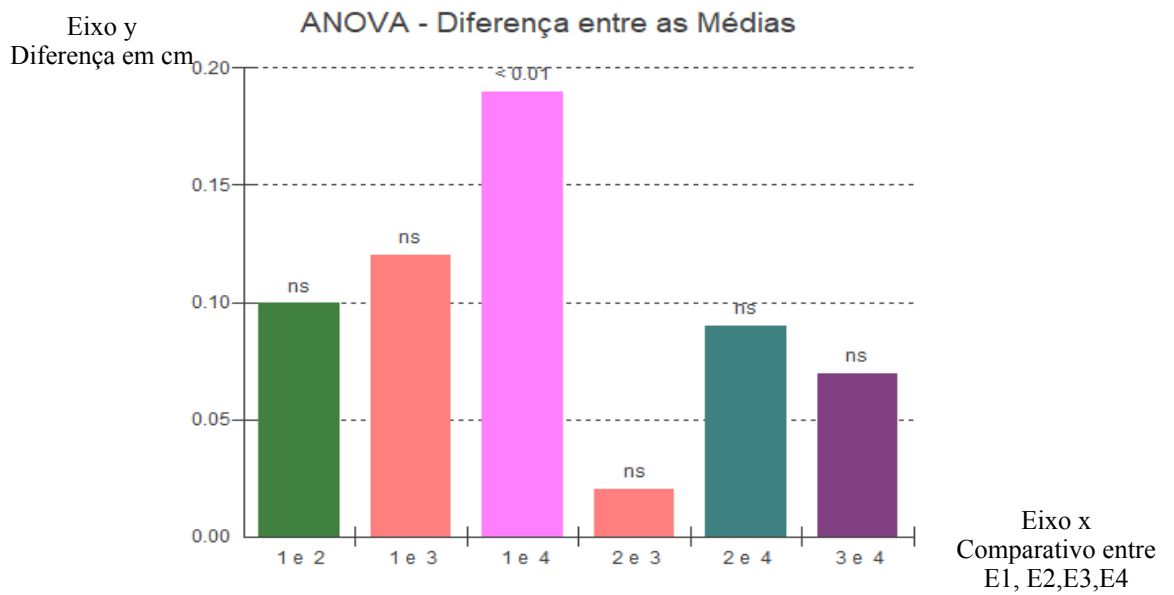
Os resultados de G2 (HarmonyCa) mostram um aumento progressivo nas médias das medidas lineares de derme de E1=0,101 cm ($\pm 0,0221$) para E4=0,165 cm ($\pm 0,272$); da hipoderme de E1=0,438 cm para E4=0,758 cm com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) para as medidas 1 e 2 (**Gráfico 4 e 5**). Os resultados dos histogramas da ultrassonografia do G2 mostram valor médio dos tons de cinza das imagens de E1=93,3 ($\pm 15,75$) para E4=129,7 cm ($\pm 17,78$) com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) (**Gráfico 6**).

Gráfico 1 - RADIESSE (G1) DERME (MEDIDA 1)



*ns – sem diferença estatística significativa

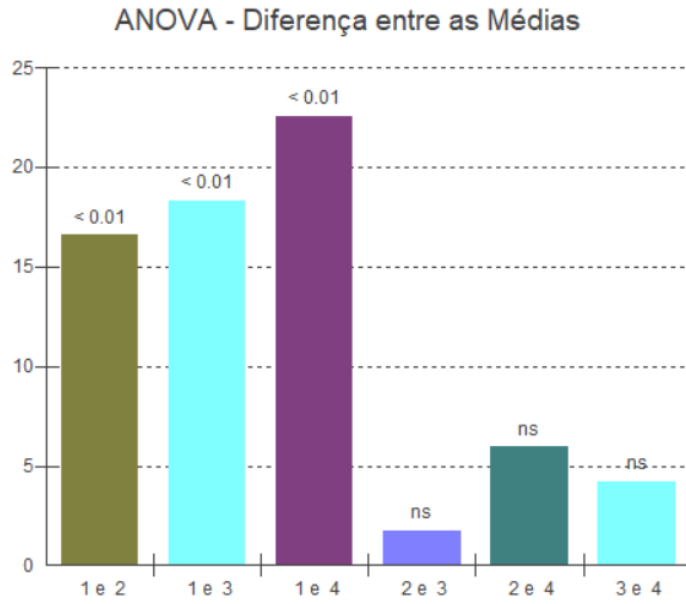
Gráfico 2 - RADIESSE (G1) HIPODERME (MEDIDA 2)



*ns – sem diferença estatística significativa

Gráfico 3 - RADIESSE (G1) HISTOGRAMA VALOR MÉDIO

Eixo Y
Diferença intensidade
tons de cinza

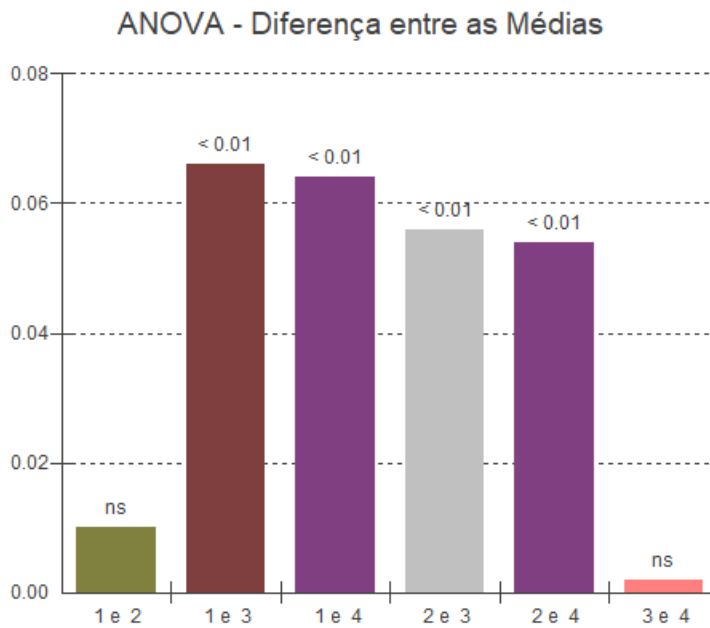


Eixo x
Comparativo entre
E1, E2, E3,E4

*ns – sem diferença estatística significativa

Gráfico 4 - HARMONYCA (G2) DERME (MEDIDA 1)

Eixo Y
Diferença em cm



Eixo x
Comparativo entre
E1, E2, E3,E4

*ns – sem diferença estatística significativa

Gráfico 5 - HARMONYCA (G2) HIPODERME (MEDIDA 2)

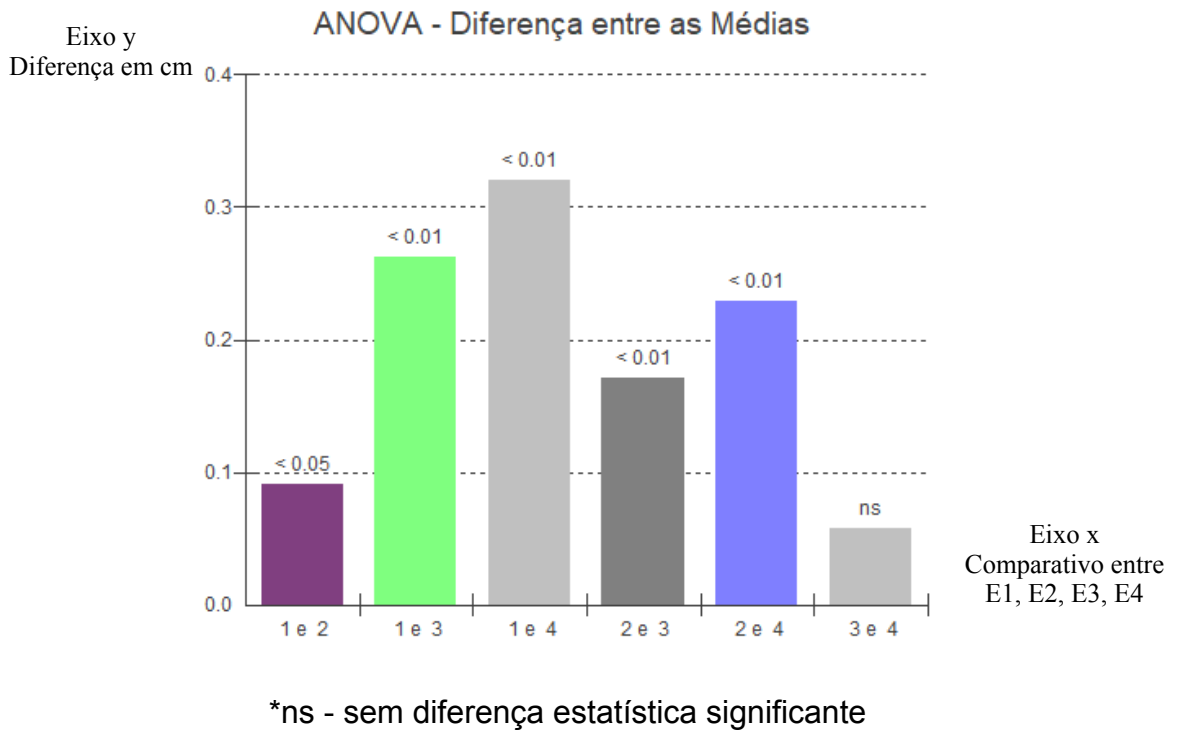


Gráfico 6 - HARMONYCA (G2) HISTOGRAMA VALOR MÉDIO

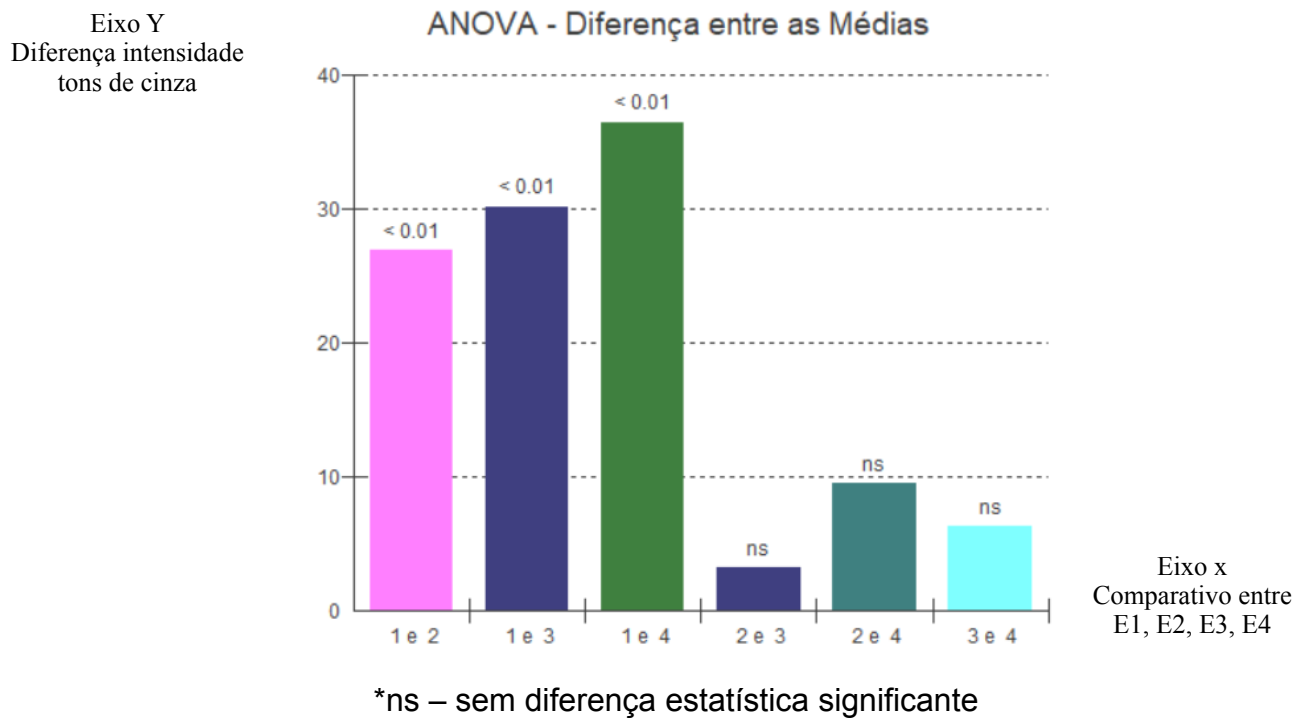
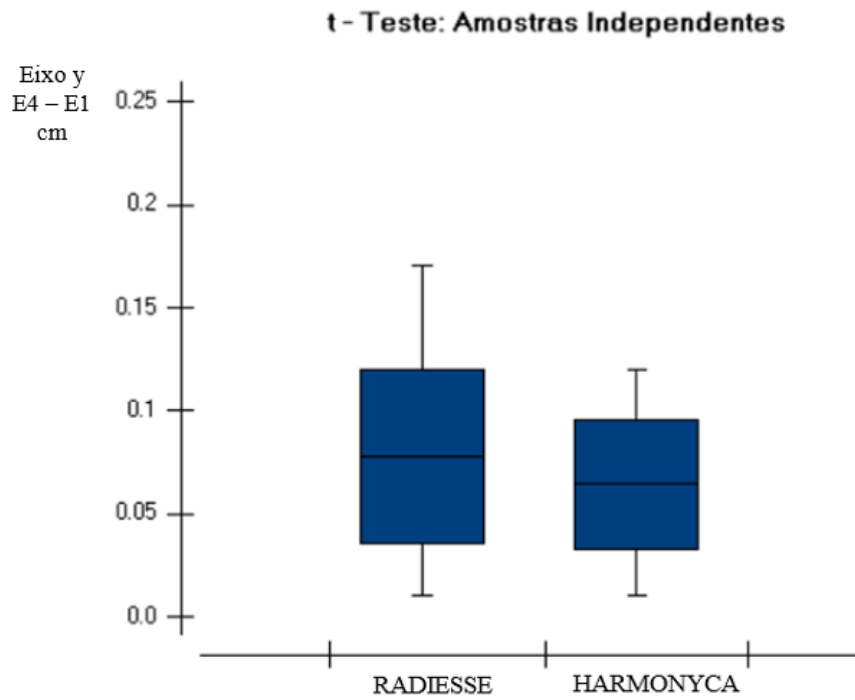


Gráfico 7 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) DERME (MEDIDA 1)

TESTE t

**Gráfico 8 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) HIPODERME (MEDIDA 2)**

TESTE MANN-WHITNEY

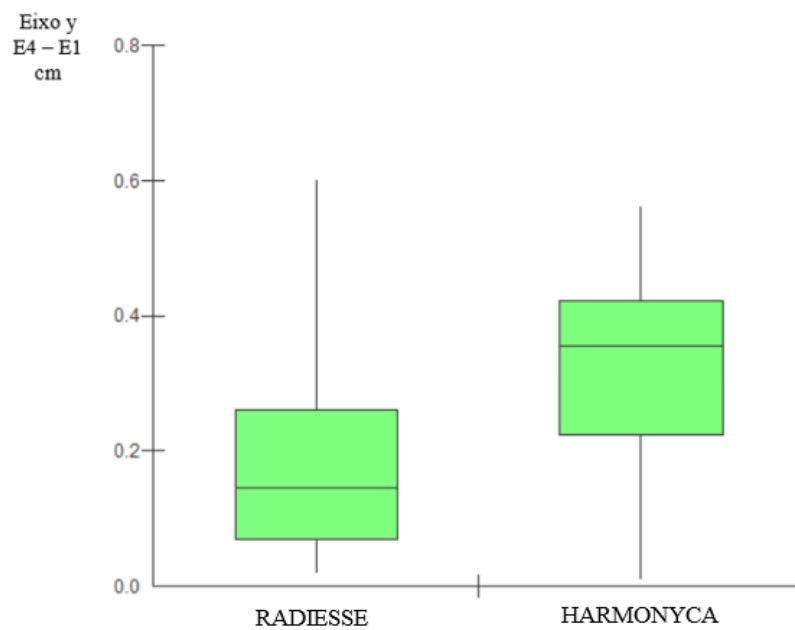
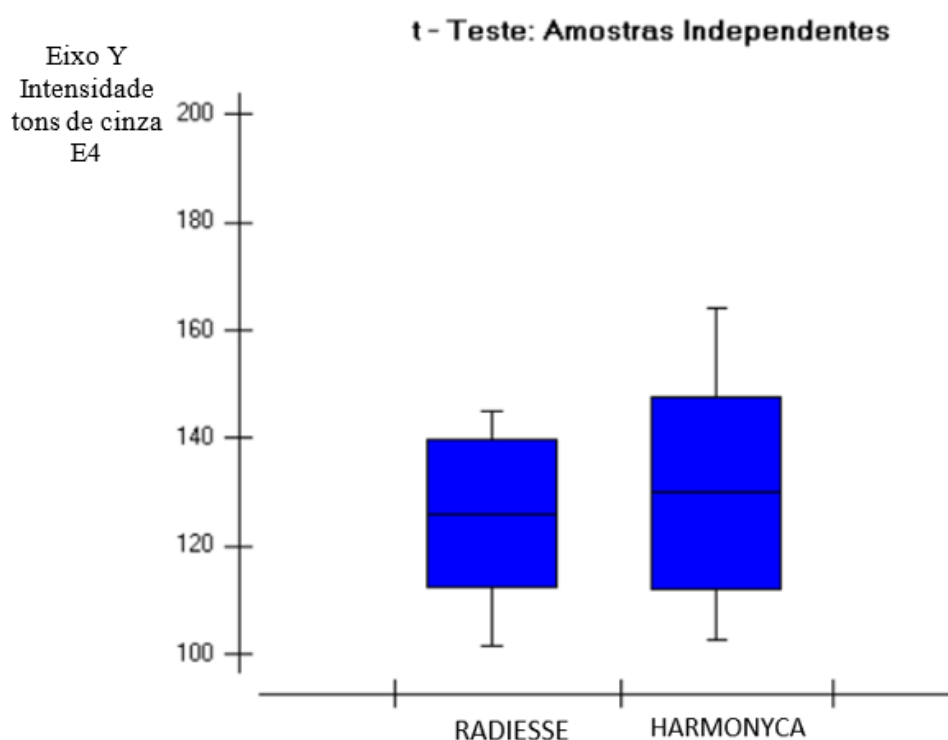


Gráfico 9 - RADIESSE (G1) X HARMONYCA (G2) – HISTOGRAMA TESTE t

Os resultados do test t obtidos na comparação de ganho de espessura em derme (medida 1) entre Radiesse (G1) e HarmonyCa (G2) não deram diferença significativa estatística ($p=0,1279$).

Os resultados do teste Mann-Whitney obtidos na comparação de ganho de espessura em hipoderme (medida 2) entre Radiesse (G1) e HarmonyCa (G2) deram diferença significativa estatística ($p=0,0057$) com mediana de $G1=0,15$ e mediana de $G2=0,36$ (Gráfico 8).

Os resultados do test t obtidos dos pontos médios dos tons de cinza de imagens da ultrassonografia dos histogramas entre Radiesse (G1) e HarmonyCa (G2) não deram diferença estatística significativa ($p=0,225$) (Gráfico 9).

4 DISCUSSÃO

A avaliação da pele é realizada por meio de suas três camadas: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme apresenta-se ecograficamente como uma linha hiperecogênica superficial; a derme como uma camada pouco menos ecogênica que a anterior, e a subcutânea como uma faixa hipoeecogênica, com presença de septos fibrosos hiperecogênicos em seu interior (BARCAUI *et al* 2015). A utilização da ultrassonografia de alta frequência se justifica pela ecografia ser uma ferramenta de avaliação das camadas da pele, pela facilidade de acesso, baixo preço, indolor, não radioativa e capaz de identificar o fluxo sanguíneo local e alterações patológicas. O ultrassom pode identificar com precisão agentes de preenchimento cosméticos, determinar a localização e o tamanho dos depósitos cutâneos, sua presença em locais ectópicos e também medir o fluxo sanguíneo local. Nenhuma outra tecnologia disponível atualmente fornecerá todos esses parâmetros de forma não invasiva, representando ferramenta no planejamento e acompanhamento dos preenchedores cosméticos *in situ* (WORTSMAN X *et al* 2012; SAMPAIO EC 2018; BARCAUI EO *et al* 2014 e FERNANDEZ CV *et al* 2015).

A ultrassonografia de alta frequência da derme pode ser analisada por um histograma e necessita de um software que quantifique os pixels com ausência de ecos. Varia de acordo com espessura da pele e com a configuração do aparelho (SAMPAIO EC 2018). No histograma, o valor de tom de cinza de um certo pixel após o processamento depende apenas de seu valor original, onde conta os pixels que vão de um alcance de 0 a 30^8 e o uso da escala de cinza tem se mostrado instrumento confiável na verificação de alterações estruturais, com valores de intensidade de tons de cinza variando entre 0 - anecóico a 255 - hiperecóico (SAMPAIO EC 2018; MENDONÇA JA 2017).

No grupo G1, conforme **Gráfico 1**, observou-se um aumento nas medidas da derme (medida 1) de médias iniciais pré-procedimentos de 0,109 cm para médias em 180 dias de 0,186 cm, com diferença estatística significativa ($p < 0,01$). Aos 90 dias, período em que ocorre a esperada degradação total da carboximetilcelulose presente em Radiesse e consequente esperada retração de medidas na área aplicada, comparando-se a média de medidas de 7 dias (0,123 cm) para média das medidas de 90 dias (0,160 cm) observa-se um aumento com diferença estatística significativa de ganho entre as médias entre E2 e E3 ($p < 0,05$), justificada pela formação de colágeno tipo III já iniciada no transcorrer do período em região de derme papilar e reticular.

No grupo G1 (Radiesse), conforme **Gráfico 2**, observou-se um aumento nas medidas da hipoderme (medida 2) com as médias das medidas pré-procedimentos (E1) de 0,509 cm para médias em 180 dias (E4) de 0,699 cm com diferença estatística significativa ($p < 0,01$), corroborando a ação de formação de colágeno de Radiesse. Os dados das médias dos histogramas no Grupo G1 demonstram um aumento progressivo das medidas de densidade nos exames de ultrassom com diferença estatística significativa entre E1 e E4 ($p < 0,01$) (**Gráfico 3**), corroborando com os dados das médias das medidas lineares devido ao aumento pela produção de colágeno no período de tempo.

No G2, conforme **Gráfico 4**, observou-se um aumento nas medidas da derme (medida 1) de médias iniciais pré-procedimentos (E1) de 0,1015 cm para médias em 180 dias (E4) de 0,1655 cm. Na comparação de E3 e E4, não observou-se diferença significativa estatística, mostrando uma estabilidade nas medidas com HarmonyCa no referido intervalo de tempo, mas com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) em relação a média inicial devido ao efeito da formação de colágeno. Também, conforme Gráfico 5, observou-se um aumento nas medidas de hipoderme (medida 2) de médias iniciais pré-procedimentos (E1) de 0,438 cm para médias em 180 dias (E4) de 0,758 cm, com diferente estatística significativa ($p < 0,01$). Na comparação do período de 90 dias (E3) e de 180 dias (E4) não observou-se diferença significativa estatística significativa, mostrando uma estabilidade nas medidas com HarmonyCa nesse intervalo de tempo.

Os dados dos histogramas no Grupo G2 (**Gráfico 6**) demonstram um aumento progressivo das médias do ponto médio dos histogramas de tons de cinza resultando em aumento de densidade nos exames de ultrassom com diferença estatística significativa ($p < 0,01$) entre as médias iniciais pré-procedimento (E1) para médias em 180 dias (E4), corroborando com os dados das médias das medidas lineares (**Gráficos 4 e 5**) devido ao aumento pela produção de colágeno no período de tempo.

Os resultados de aumento na espessura em derme (medida1) e hipoderme (medida 2) nos grupos G1 (Radiesse) conforme **Gráficos 1 e 2**, e G2 (HarmonyCa) conforme Gráficos 4 e 5, obtidos neste trabalho concordam com os resultados estatisticamente relevantes obtidos por Yutskovskaya e Kogan (2017) com as imagens ao ultrassom demonstrando aumento progressivo após 4 meses de 1462,33 mm na baseline para 1642,8 mm após 4 meses, e de 1865,9 mm aos 7

meses, mostrando que uma remodelação fisiológica ativa da matriz extracelular com o uso da hidroxiapatita de cálcio estimula um processo de duas etapas pelo qual o colágeno tipo I substitui gradualmente o colágeno tipo III neoformado, sugerindo que a hidroxiapatita de cálcio tem características mais desejáveis para um preenchedor dérmico do que o ácido hialurônico apenas, conforme os trabalhos de Yutskovskaya Y, Kogan E, Leshunov E 2014; Yutskovskaya Y, Kogan, EA 2017.

Os resultados obtidos neste estudo dos histogramas da ultrassonografia dos grupos G1 e G2 corroboram com os dados obtidos por outros estudos de que a hidroxiapatita de cálcio promoveu a intensificação da densidade dérmica e um aumento médio de 11% na espessura dérmica facial foi notado aos 120 dias pós procedimento; além disso, espera-se que a formação de colágeno progrida por pelo menos seis meses e forneça resultados duradouros conforme trabalhos de Figueiredo VO *et al* (2020); Marmur ES, Phelps DJ, Goldberg DJ (2004) e Shumaker PR *et al* (2009).

Os resultados obtidos no grupo G2 (HarmonyCa) que mostram estabilidade na comparação das médias de 90 dias (E3) e de 180 dias (E4) corroboram que a hidroxiapatita de cálcio proporciona resultados duradouros; entretanto, sofre uma inesperada perda precoce de volume antes da neocolagênese devido à rápida absorção do gel. Com o intuito de compensar esse fenômeno, a adição do ácido hialurônico à hidroxiapatita de cálcio teria o intuito de compensar esse fenômeno. Essa associação, em áreas pós-auriculares de pacientes mostraram um aumento do colégeno dérmico, sem inflamação, comprovado por meio de biópsias de pele de ambas áreas dos pacientes. Assim, aplicados de forma associada, a hidroxiapatita de cálcio mantém um volume constante e o ácido hialurônico compensa a perda precoce que ocorre com a aplicação da hidroxiapatita de cálcio de forma isolada conforme trabalhos de Chang JW *et al* (2020); Yutskovskaya YA, Kogan EA, Leshunov E (2014); Figueiredo VO *et al* (2020) e Kaudoch J, Fakin-Gomez N (2022).

Ambos grupos, Radiesse (G1) e HarmonyCa (G2), conforme **Gráfico 9**, apresentaram ganhos de densidade pela ação da hidroxiapatita de cálcio comprovados pelos histogramas de intensidade de tons de cinza; porém, não foi encontrado diferença estatística entre os grupos do estudo. Conforme **Gráfico 7**, em região de derme não foi encontrado diferença estatística significativa entre o grupo de Radiesse (G1) e Harmonyca (G2), sendo a derme reticular a região que ocorre a

maior concentração de formação de colágeno em comparação com a hipoderme que mesmo apresentando diferença estatística significativa é uma região com menos formação de colágeno pela composição maior de adipócitos (**Gráfico 8**) conforme Sampaio EC *et al* (2018).

No envelhecimento cronológico, o conteúdo de colágeno diminui ao longo da vida, há o afinamento da espessura dérmica, que ocorre por mudanças bioquímicas e estruturais das fibras colágenas, elásticas e da substância fundamental amorfa. Conforme **Gráficos 1, 2, 4 e 5**, houve ganho de espessura de derme e hipoderme nos grupos G1 (Radiesse) e G2 (HarmonyCa) e aumento de densidade pela formação de colágeno conforme **Gráfico 3 e 6** com o uso dos bioestimuladores a base de hidroxapatita de cálcio, proporcionando aumento em áreas de perda de volume melhorando o prognóstico e previsibilidades dos tratamentos conforme Loghem JV (2013); Chang JW *et al* (2020); Downie JB (2013) e Kichese ALR (2019).

Existem poucos estudos que fazem a correlação entre hidroxapatita de cálcio e sua ação utilizando-se ultrassonografia de alta frequência e a conversão em histogramas de tons de cinza; portanto, mais estudos se fazem necessários para um melhor entendimento das ações e melhorias dos tratamentos.

5 CONCLUSÃO

O uso dos bioestimuladores de colágeno a base de hidroxapatita de cálcio, Radiesse e HarmonyCa, mostraram-se eficazes e estáveis por meio dos exames de ultrassonografia de alta frequência e histogramas para a indução de formação de colágeno em derme e hipoderme, trazendo resultados positivos e progressivos durante o período de 180 dias de acompanhamento. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre os bioestimuladores de colágeno estudados.

ATTENELLO NH, MASS CS. **Injectable fillers: review of material and properties.** Facial Plastic Surgery. 2015; 31: 29-34.

BARCAUI EO et al. **Ultrassonografia de alta frequência (22MHz) na avaliação dos tumores malignos cutâneos.** Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto. 2014; 13: 1.

BARCAUI EO et al. **Study of the skin anatomy with high-frequency (22MHz) ultrasonography and histological correlation.** Colégio Brasileiro de Radiologia. 2015; 48: 5.

CAETANO LdVN, SOARES JLM, BAGATIN E, MIOT HA. **Reliable assessment of forearm photoageing by high-frequency ultrasound: a cross-sectional study.** International Journal of Cosmetic Science. 2016; 38:170-7.

CHANG, JW et al. **Facial Rejuvenation Using a Mixture of Calcium Hydroxylapatite Filler and Hyaluronic Acid Filler.** The Journal of Craniofacial Surgery. 2020; 31(1): 18-21.

COIMBRA DD, URIBE NC, OLIVEIRA BS. **“Quadralização facial” no processo de envelhecimento.** Surgery Cosmetic Dermatology. 2014; 6(1): 65-71.

COTOFANA S et al. **The Anatomy of the Aging Face: A Review.** Facial Plastic Surgery. 2016; 32:253-260.

Da SILVA WF, BARRETO G. **Contributions to Eliminate Distortions in Medical Images.** 9th Brazilian Conference on Dynamics Control and their Applications. 2010; June; 811-816.

De RIGAL J et al. **Assessment of Aging of the Human Skin by In Vivo Ultrasonic Imaging.** Journal of Investigative Dermatology. 1989; 93 (5): 621-625.

DUARTE JF. **O sentido dos sentidos: a educação (do) sensível.** Curitiba: Criar Edições, 2001.

DOWNIE JB, GRIMES PE, CALLENDER VC. **A Multicenter Study of the Safety and Effectiveness of Hyaluronic Acid with a Cohesive Polydensified**

Matrix for Treatment of Nasolabial Folds in Subjects with Fitzpatrick Skin Types IV, V, and VI. Plastic and Reconstructive Surgery. October Supplement, 2013.

FERNANDEZ CV et al. **Ecografía cutánea y rellenos dermatológicos.** Actas Dermo-Sifiliográficas. 2015; 106 (1): 87-95.

FERRI M et al. **Sonography of full-thickness supraspinatus tears: comparison of patient positioning technique with surgical correlation.** American Journal of Roentgenology. 2005; 184: 180-184.

FIGUEIREDO VO et al. **Efficacy and safety of 2 injection techniques for hand biostimulatory treatment with diluted calcium hydroxylapatite.** Dermatologic Surgery. 2020; 46 Suppl 1: 54-61.

FISCHER CJ. **Arte & educação: o diálogo essencial.** São Paulo: Big Time, 2016.

FRANZEN JM, Santos JMSR, Zancanaro V. **Colágeno: uma abordagem para a estética.** Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde. 2013 Sept; 2(2): 49-61.

HILLMAN J. **Cidade & alma.** São Paulo: Studio Nobel, 1993.

HINDERER UT. **Malar implants for improvement of the facial appearance.** Plastic & Reconstructive Surgery. 1975 Aug; 56(2): 157-165.

KADOUCH J, FAKIH-GOMEZ N. **A Hybrid Filler: Combining Calcium Hydroxylapatite and Hyaluronic Acid Fillers for Aesthetic Indication.** The American Journal of Cosmetic Surgery. 2022; 39(3): 182-189.

KICHESE ALR et al. **Facial analysis: the first step towards orofacial harmonization.** Simetri Orofacial Harmonization in Science. 2019; 1(1): 08-19.

LEE JC, LORENC ZP. **Synthetic Fillers for Facial Rejuvenation.** Clinics in Plastic Surgery. 2016; 43: 497-503.

LOGHEM JV, YUTSKOVSKAYA YA, WERSCHLER P. **Calcium Hydroxylapatite.** The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology. 2015; 8: 38-49.

MAIA IEF, Salvi JO. **The use of hyalorinic acid in facial harmonization: a brief review.** Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research. 2018; 23(2): 135-139.

MAINTZ JBA, VIERGEVER MA. **An Overview of Medical Image Registration Methods**. Medical Image Analysis.1998; 2(1): 1-36.

MARMUR ES, GOLDBERG DJ. **Clinical histologic and electron microscopic findings after injection of a calcium hydroxylapatitefiller**. Journal of Cosmetic and Laser Therapy. 2004; 6:223-6.

MENDELSON B, WONG CH. **Changes in the facial skeleton with aging: Implications and clinical applications in facial rejuvenation**. Aesthetic Plastic Surgery. 2012; 36(4): 753-790.

MENDONÇA JA. O histograma de imagens coloridas permite melhor visualização de danos ecotextuais pelo ultrassom. Revista Brasileira de Reumatologia. 2017; 57(1): 88-91.

MENEGHINI F, BIONDI P. **Clinical facial analysis: elements, principles, and techniques**. Berlin: Springer. 2012; 157-174.

MONDELLI J. **Estética e cosmética em clínica integrada resturadora**. São Paulo: Ed. Santos, 2003.

MONTEIRO EO; PARADA MOB. **Preenchimentos faciais – parte um**. Revista Brasileira de Medicina. 2010 jul; 67(Suppl 4): 4-6.

MOREIRA JUNIOR R et al. **Fundamentos da análise facial para harmonização estética na odontologia brasileira**.Taubaté: ClipOdonto – UNITAU, 2018.

SAMPAIO EC et al. **A importância da ultrassonografia no acompanhamento de procedimentos com preenchedores da pele**. Revista da Sociedade Brasileira de Ultrassonografia. 2018; 24: 31-36.

SCHUBERT C. **A construção do ceneito estético Ocidental e sua implicação na formação valorativa e no processo educacional**. In: Divisão Temática Interfaces Comunicativas do X Congresso de Ciências da Comunicação na Região Sul. Blumenau, 2009.

SHARABI SE et al. **Mechanotransduction: the missing link in the facial aging puzzle?** Aesthetic Plastic Surgery. 2010; 34(5): 603-11.

SHUMAKER PR et al. **Calcium hydroxylapatite tissue filler discovered 6 years after implantation into the nasolabial fold: case report and review.** Dermatologic Surgery. 2009; 35 (1): 375-9.

TAGLE JM, MACCHETTO PC, PARAMO RMD. **Clinical performance of a dermal filler containing natural glycolic acid and a polylactic acid polymer.** The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology. 2010 Feb; 3(2): 42-7.

WONG CH, MENDELSON B. **Newer understanding of specific anatomic targets in the aging face as applied to injectables; aging changes in the craniofacial skeleton and facial ligaments.** Plastic and Reconstructive Surgery. 2015; 136(5):44-48.

WORTSMAN X et al. **Ultrasound detection and identification of cosmetic fillers in the skin.** Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2011; 26:292-301.

WORTSMAN X. **Identification and Complications of Cosmetic Fillers.** Journal of Ultrasound in Medicine. 2015; 34(7): 1163-1172.

YUTSKOVSKAYA YA, KOGAN EA, LESHUNOV E. **A randomized, split-face, histomorphologic study comparing a volumetric calcium hydroxylapatite and a hyaluronic acid-based dermal filler.** Journal of Drugs in Dermatology. 2014 Sep; 13(9): 1047-52.

YUTSKOVSKAYA YA, KOGAN EA. **Improved Neocollagenesis and Skin Mechanical Properties After Injection of Diluted Calcium Hydroxylapatite in the Neck and Décolletage: A Pilot Study.** Journal of Drugs in Dermatology. 2017 Jan 1; 16(1): 68-74.