



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

**RACHEL THACYANA RORATO BERNARDO**

**Efeito da Biossíntese de Colágeno (tipo I e III) através da Subcisão e Aplicação  
Intradérmica de Bioestimuladores de Colágeno a Base de PLLA e PDO**

**Effect of Collagen Biosynthesis (type I and III) Through Subcision and  
Intradermal Application of PLLA and PDO-Based Collagen Biostimulators**

**MARINGÁ  
2022**



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

**RACHEL THACYANA RORATO BERNARDO**

**Efeito da Biossíntese de Colágeno (tipo I e III) Através da Subcissão e Aplicação Intradérmica de Bioestimuladores de Colágeno a Base de PLLA e PDO**

**Effect of Collagen Biosynthesis (type I and III) Through Subcision and Intradermal Application of PLLA and PDO-Based Collagen Biostimulators**

Dissertação formato artigo apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Odontologia, do Centro Universitário Ingá UNINGÁ, como parte dos requisitos a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Ortodontia (Harmonização Orofacial)

Orientador: Profa. Dra. Renata Cristina Gobbi de Oliveira

Coorientador: Profa. Dra. Célia Marisa Rizzatti Barbosa

MARINGÁ  
2022

Bernardo, Rachel Thacyana Rorato

Efeito da Biossíntese de Colágeno (tipo I e III)  
Através da Subcisão e Aplicação Intradérmica de  
Bioestimuladores de Colágeno a Base de PLLA e  
PDO/ Rachel Thacyana Rorato Bernardo. - Maringá,  
2022.

000 p.41: il. ; 31 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Centro Universitário  
Ingá Uningá, 2021.

Orientador: Profa. Dra. Renata Cristina Gobbi  
de Oliveira

Coorientador: Profa. Dra. Célia Marisa  
Rizzatti Barbosa

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a  
reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos  
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da UNINGÁ  
Protocolo nº:  
Data:

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

RACHEL THACYANA RORATO BERNARDO

**Efeito da Biossíntese de Colágeno (tipo I e III) Através da Subcissão e Aplicação Intradérmica de Bioestimuladores de Colágeno a Base de PLLA e PDO**

**Effect of Collagen Biosynthesis (type I and III) Through Subcision and Intradermal Application of PLLA and PDO-Based Collagen Biostimulators**

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 Ortodontia (Harmonização Orofacial).

Maringá, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2022.

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Renata Cristina Gobbi de Oliveira  
UNINGÁ

---

Profa. Dra. Aline Akemi Mori  
Universidade Estadual de Maringá

---

Profa. Dra. Célia Marisa Rizzatti Barbosa  
UNINGÁ

## DEDICATÓRIA

Quero dedicar este trabalho ao meu pai Antonio Bernardo Neto (in memoriam), que sempre me apoiou e torceu pelo meu crescimento profissional.

À minha mãe, Maria Nauva Rorato Bernardo, pelo carinho e preocupação, estando sempre ao meu lado.

Ao meu esposo, Bruno Augusto Vicentin por me ajudar e sempre estar ao meu lado, me dando suporte para seguir em frente.

## AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, pela dádiva da vida, e por permitir que a fé me conduza a discernir o melhor caminho a seguir sem baixar a cabeça ou desistir, mesmo nas horas de fraqueza.

Aos professores Dra. Célia Marisa Rizzatti Barbosa e Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa, pela orientação, competência, profissionalismo e dedicação. Obrigada por acreditar em mim e pelos tantos elogios e incentivos. Tenho certeza que não chegaria neste ponto sem o apoio de vocês. Vocês foram muito mais que professores, para mim serão eternos amigos.

A amiga Ana Cláudia Kamimura Furlan, pelos trabalhos e disciplinas realizadas em conjunto e, principalmente, pela preocupação e apoio constante. Seu companherismo e dedicação foram fundamentais para que pudéssemos desenvolver essa pesquisa.

A minha orientadora Dra. Renata Cristina Gobbi pelas recomendações e conversas de incentivo.

A professora Dra. Fernanda Losi Alves de Almeida, do departamento de Ciências Morfológicas - UEM, que dedicou seu tempo para me auxiliar nas análises histológicas, pelo apoio, conhecimento e competência.

Aos colegas e amigos do mestrado por compartilhar seus conhecimentos, pelos questionamentos e discussões sempre tão produtivos.

Aos familiares e amigos que compreenderam meu isolamento e ausência em inúmeros finais de semana e datas comemorativas.

Ao meu pai (*in memoriam*) e minha mãe agradeço por todo amor e carinho, além do apoio em tantos momentos difíceis. Sinto-me orgulhosa e privilegiada por ter aprendido tanto com vocês, que me ensinaram ter caráter, honestidade e nunca preudicar ninguém para alcançar meus objetivos.

Ao meu amado esposo, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em tantos altos e baixos desta caminhada. Obrigada por permanecer ao meu lado, mesmo sem atenção diária e por me ajudar a não perder o foco.

Por fim, a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

## RESUMO

**Introdução:** Existe uma crescente busca por procedimentos minimamente invasivos seguros, eficazes e biocompatíveis com potencial de estímulo da produção de colágeno visando recuperar a espessura dérmica e qualidade da pele, que são naturalmente perdidas pelo processo envelhecimento. **Objetivo:** Realizar uma análise comparativa dos efeitos de produção de colágeno tipo I e III a partir da injeção intradérmica de Polidioxanona e Ácido-Poli-L-Lático em modelo animal, e determinar se há estímulo de colágeno com a subcisão realizada por microcânula. **Método:** Estudo experimental conduzido com 16 camundongos Wistar fêmeas com 180 dias e aleatorizados em 4 grupos: G1: Subcisão, G2: PLLA (Renova elleva<sup>®</sup>), G3: PDO (ULTRACOL<sup>®</sup>), G4: Controle negativo. A técnica de subcisão e injeção de 0,5 mL dos bioestimuladores foi realizada sob anestesia a nível intradérmico. Após 30 dias removeu-se os fragmentos de pele e estes foram submetidos a coloração de Hematoxilina-Eosina e Picrosirius Red para detecção dos colágenos em microscópio óptico. **Resultados:** A coloração de HE mostrou que o tecido apresenta uma espessura mais organizada com o bioestimulador PDO no grupo controle quando comparado aos grupos subcisão e PLLA. Houve leve diferença no estímulo de colágeno após a subcisão em comparação ao grupo controle. O tecido tratado com PLLA mostrou irregularidades quanto a disposição das fibras colágenas, estrutura pouco definida e menor distribuição de colágeno tipo I em comparação aos demais grupos. Existe maior tendência para as proporções de colágeno tipo III entre os tecidos tratados com bioestimuladores. PLLA e PDO apresentaram porcentagens relativamente semelhantes de colágeno ao serem comparados com o grupo controle, 23, 33%; 25, 35% e 23, 22%, respectivamente. O grupo subcisão apresentou leve aumento na porcentagem de colágeno total (28, 09%), correspondendo a uma diferença de  $4,13\% \pm 0,9$ . **Conclusão:** A performance dos bioestimuladores revelou que o PDO resultou em uma colagênese mais ativa, estimulando maior produção de colágeno tipo I e III. Os resultados deste estudo sugerem que nos primeiros 30 dias após o tratamento, pode não ocorrer a completa remodelação para formação das novas fibras colágenas, o que pode ter influenciado nos resultados quanto o tipo e a quantidade de colágeno neoformado ao comparar os quatro grupos experimentais. Sendo assim, novos estudos são necessários para determinar a performance total dos bioestimuladores investigados em um maior espaço temporal.

**Palavras-chave:** Bioestimuladores. Colágene. Pele. Rejuvenescimento. Subcisão.

## ABSTRACT

**Introduction:** There is a growing search for safe, effective and biocompatible minimally invasive procedures with the potential to stimulate collagen production in order to recover dermal thickness and skin quality, which are naturally lost by the aging process. **Objective:** Perform a comparative analysis of the effects of collagen type I and III production from the intradermal injection of Polydioxanone and Poly-L-Lactic Acid in an animal model, and determine whether there is collagen stimulation with the subcision performed by microcannula. **Method:** Experimental study conducted with 16 female Wistar mice aged 180 days and randomized into 4 groups: G1: Subcision, G2: PLLA (Renova elleva®), G3: PDO (ULTRACOL®), G4: Negative control. The technique of subcision and injection of 0.5 mL of biostimulators performed was under anesthesia at intradermal level. After 30 days, the skin fragments were removed and submitted to Hematoxylin-Eosin and Picrosirius Red staining for collagen detection under optical microscope. **Results:** HE staining showed that the tissue has a more organized thickness with the PDO biostimulator and in the control group when compared to the subcision and PLLA groups. There was a slight difference in collagen stimulation after subcision compared to the control group. The tissue treated with PLLA showed irregularities in the arrangement of collagen fibers, less defined structure and lower distribution of type I collagen compared to the other groups. There is a greater tendency for the proportions of type III collagen among tissues treated with biostimulators. PLLA and PDO had relatively similar percentages of collagen when compared to the control group, 23.33%; 25, 35% and 23, 22%, respectively. The subcision group showed a slight increase in the percentage of total collagen (28.09%), corresponding to a difference of  $4.13\% \pm 0.9$ . **Conclusion:** The performance of the biostimulators revealed that PDO resulted in a more active collagenesis, stimulating greater production of collagen types I and III. The results of this study suggest that in the first 30 days after treatment, complete remodeling to form new collagen fibers may not occur, which may have influenced the results regarding the type and amount of newly formed collagen when comparing the four experimental groups. Therefore, further studies are needed to determine the total performance of the investigated biostimulators in a longer period of time.

**Keywords:** Biostimulators. Collagen. Skin. Rejuvenation. subcision



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Demarcação da área para subcisão e injeção de PLLA e PDO em região dorsal posterior medindo 3X3 cm.....	21
<b>Figura 2 -</b>	Excisão tecidual 30 dias após experimento .....	22
<b>Figura 3 -</b>	Resumo gráfico das etapas experimentais do estudo para indução da formação de colágeno em camundongos com subcisão intradérmica e bioestimuladores a base de PLLA e PDO .....	24
<b>Figura 4 -</b>	Cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle em coloração HE. (A) Subcisão com Cânula 22G (G1); (B) tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única (G2); (C) tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única (G3); (D) controle (G4).....	25
<b>Figura 5 -</b>	Cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle em coloração Picrosirius e visualizados sob luz polarizada. (A) Subcisão com Cânula 22G (G1); (B) tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única (G2); (C) tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única (G3); (D) controle (G4).....	27
<b>Figura 6 -</b>	Proporção de coloração vermelha (colágeno tipo I) verde (colágeno tipo III) em cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle. G1: Subcisão com Cânula 22G; G2: tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única; G3: tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única; G4: controle. Os resultados são apresentados como média e desvio padrão.....	28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação intergrupos para a produção de colágeno (ANOVA a um critério de seleção e teste de Tukey .....	35
--	----

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AH	Ácido Hialurônico
cm	Centrímetros
°C	Graus Celsius
G1	Grupo um
G2	Grupo dois
G3	Grupo três
G4	Grupo quatro
HE	Hematoxilina-Eosina
PDO	Polidioxanona
PLLA	Ácido Poli-L-Lático

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	13
2.	ARTIGO .....	17
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	36
4.	RELEVÂNCIA E IMPACTO DO TRABALHO PARA A SOCIEDADE .....	36
	REFERÊNCIAS.....	37
	ANEXOS .....	39

## 1. INTRODUÇÃO

O processo normal do envelhecimento humano provoca alterações das características faciais causando desarmonias e assimetrias que encontravam-se equilibradas durante a juventude. Essas mudanças refletem na atratividade física e têm influenciado negativamente na autoestima como reflexo de descontentamento da própria imagem (SWIFT *et al.*, 2021).

Os sinais de envelhecimento também comprometem as relações interpessoais, uma vez que alteram os traços de personalidade dos indivíduos (REILLY *et al.*, 2015), com projeção de emoções e sentimentos não verdadeiros como, por exemplo, raiva, cansaço e tristeza (FRIEDMAN, 2005). Contrariamente, um rosto jovem reflete uma mistura de características harmoniosas, simétricas e equilibradas revelando sentimentos mais positivos (GUPTA; GILCHREST, 2005; REILLY *et al.*, 2015).

O envelhecimento da pele é um mecanismo complexo e envolve diferentes características em relação às que acontecem em outros órgãos. Portanto, o envelhecimento das células dérmicas e os mecanismos biológicos envolvidos na senescência ocorrem pela diminuição da biossíntese da matriz extracelular ou mesmo pela celeridade da sua degradação, podendo também ocorrer por fatores ambientais, como a exposição contínua e desprotegida aos raios ultravioletas (LAGO; PUZZI, 2019).

O fotoenvelhecimento é uma das causas mais importantes para o envelhecimento da pele humana, sendo um fator extrínseco em decorrência da exposição crônica à luz solar, conforme mencionado anteriormente. Distintamente, o envelhecimento intrínseco decorre da perda de atividade biológica e da ação de espécies reativas de oxigênio, produtos do metabolismo celular (ICHIHASHI *et al.* 2009).

Indivíduos com fotoenvelhecimento apresentam uma pele com presença de rugas mais grossas, secas, perda de elasticidade e pigmentação (ICHIHASHI *et al.* 2009). Somando-se a isso, também ocorre perda de colágeno e fibras elásticas e, como a taxa de degradação do colágeno é maior do que a sua síntese, acentua-se a formação das rugas, aspecto de ressecamento e perda de

elasticidade da pele (AVERBECK *et al.*, 2007; ICHIHASHI *et al.* 2009; PYUN *et al.*, 2012).

Apesar dessas mudanças fisiológicas e estruturais ocorrerem durante o envelhecimento da pele como resultado do curso natural a medida que o tempo avança, esses desfechos contribuem para diminuir a saúde da pele (DYER; MILLER, 2018; IBUKI *et al.*, 2018; LEPHART, 2018), podendo ser agravada por fatores externos e também associados ao estilo de vida, provocando o envelhecimento precoce (VIERKÖTTER; KRUTMANN, 2012; SLOMINSKI; MANNA; TUCKEY, 2015).

Além dos fatores mencionados anteriormente, sabe-se também que a senescência causa mudanças esqueléticas, como é o caso da remodelação óssea, assim como atrofia ou reposicionamento dos coxins de gordura, levando a formação de rugas e diminuição da resistência mecânica da pele (COLEMAN; GROVER, 2006), denotando que o envelhecimento facial faz parte de um arcabouço dinâmico e integrado que envolve todas as camadas da anatomia facial. Além disso, vale ressaltar que a extensão e a taxa de alteração das características faciais acontecem de modo diferente entre os indivíduos (ROSSI *et al.*, 2017; ALEXIS *et al.*, 2019).

A pele é constituída por proteínas estruturais como colágeno e fibras elásticas, e também por Ácido Hialurônico (AH), um biopolímero encontrado no meio intercelular. Esses constituintes são os principais componentes da matriz extracelular (MEC) (BRAVERMAN; FONFERKO, 1982; PAPAKONSTANTINO; ROTH; KARAKIULAKIS, 2012), sendo a MEC responsável por manter a arquitetura tecidual e as propriedades fisiológicas da pele (BAUMANN, 2007).

A deposição do AH varia de acordo com as camadas da pele, dito isto, sabe-se que o AH está em maior quantidade na derme e em menores proporções na epiderme. Adicionalmente, a derme papilar tem maior deposição de AH quando comparado ao conteúdo da derme reticular (PAPAKONSTANTINO; ROTH; KARAKIULAKIS, 2012). As propriedades mecânicas da pele como elasticidade, resiliência e tenacidade são garantidas pelas redes de colágeno e fibras elásticas da matriz extracelular na derme (ISHIKAWA; ISHIKAWA;

MIYACHI, 1995). Por essas razões, há uma grande busca por procedimentos estéticos com vistas a estimular a produção de colágeno para recuperar a espessura dérmica e qualidade da pele, perdidas pelo processo de senescência (CUNHA *et al.*, 2020).

Ao considerar a capacidade de estímulo de colágeno de um bioestimulador, é importante ressaltar que esses materiais possuem a mesma indicação e mecanismo de ação, no entanto, a resposta do tratamento irá depender da técnica empregada, do plano correto de aplicação, da dose e da diluição para que se tenha a neoformação das fibras elásticas e colágenas com mais estabilidade e maior tempo de duração (ATTENELLO; MAAS, 2015; GOLDIE *et al.*, 2018).

A Polidioxanona (PDO) é um polímero sintético, biodegradável e biocompatível aos tecidos moles do corpo humano com taxa de biodegradabilidade entre vinte e seis semanas após implantação subcutânea (RAY *et al.*, 1981). A degradação do PDO ocorre tanto por hidrólise como por fagocitose, esta última pela ação celular de monócitos, macrófagos e células gigantes que agem em resposta ao material como um corpo estranho (ANDERSON *et al.*, 2008; WENG *et al.*, 2015; STREITPARTH *et al.*, 2020). Além disso, a resposta inflamatória induzida pelo PDO deve ser autolimitada, uma vez que trata-se de um material biodegradável que ao ser removido ou degradado encerra-se a reação inflamatória (STREITPARTH *et al.*, 2020).

O Ácido Poli-L-Lático (PLLA) também é um bioestimulador de colágeno sintético biocompatível e biodegradável que vêm sendo usado por décadas na área da cosmatria com o objetivo de rejuvenescimento facial (VLEGGGAAR, 2005). Seu mecanismo de ação parte do princípio de uma reação inflamatória subclínica e posteriormente encapsulamento das partículas do produto, resultando em fibroplasia. Essa produção intencional de colágeno a partir dos fibroblastos causa volumização progressiva dos tecidos tratados (VLEGGGAAR, 2005).

Sendo assim, este estudo visa contribuir para a escolha de bioestimuladores de colágeno com base no seu desempenho durante a

neocolagênese. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo principal realizar uma análise comparativa dos efeitos de produção de colágeno tipo I e III a partir da injeção intradérmica de PDO e PLLA em modelo animal, e determinar se há estímulo de colágeno com a subcisão realizada por microcânula.



## 2. ARTIGO

O artigo apresentado foi escrito de acordo com as normas da Revista: **British Journal of Dermatology (1951. PRINT)** (Anexo 01).

Efeito da Biossíntese de Colágeno (tipo I e III) através da Subcissão e  
Aplicação Intradérmica de Bioestimuladores de Colágeno a Base de PLLA e  
PDO

Rachel Thacyana Rorato Bernardo<sup>1</sup> Renata Cristina Gobbi de Oliveira<sup>1</sup> Célia M. Rizzatti-Barbosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Mestrado Profissional em Odontologia do Centro Universitário Ingá, Brasil

There is a growing search for safe, effective and biocompatible minimally invasive procedures with the potential to stimulate collagen production in order to recover dermal thickness and skin quality, which are naturally lost by the aging process. Performed a comparative analysis of the effects of collagen production from the subcision and intradermal injection of Polydioxanone and Poly-L-Lactic Acid in an animal model. Experimental study conducted with 16 female Wistar mice aged 180 days and randomized into 4 groups: G1: Subcision, G2: PLLA, G3: PDO, G4: Control. Tissue has a more organized thickness with the PDO biostimulator and in the control group when compared to the subcision and PLLA groups. There was a slight difference in collagen stimulation after subcision compared to the control group. The tissue treated with PLLA showed irregularities in the arrangement of collagen fibers, less defined structure and lower distribution of type I collagen compared to the other groups. There is a greater tendency for the proportions of type III collagen among tissues treated with biostimulators. PLLA and PDO had relatively similar percentages of collagen when compared to the control group, 23.33%; 25, 35% and 23, 22%, respectively. The amount of type I collagen was higher in tissues treated with subcision and type III collagen in tissues treated with biostimulators. Regarding the type of biostimulator, although small, the PDO showed better performance in neocholanogenesis.

**Keywords:** Biostimulators. Collagen. Skin. Rejuvenation. Subcision.

## Introdução

O processo de envelhecimento cutâneo é caracterizado por alterações intrínsecas em decorrência da deficiência de regeneração celular, bem como pelas mudanças ocorridas a nível dérmico, visto que durante a senescência a derme passa a assumir relativamente uma natureza acelular e avascular.<sup>1,2</sup> O afinamento da espessura dérmica é uma característica marcante e irrefutável do processo natural de envelhecimento cronológico, sendo marcada por perda das fibras de colágeno, elastina e de substância fundamentais, como o ácido hialurônico.<sup>3,4</sup>

Durante o processo de senescência a taxa de degradação do colágeno está em contínua atividade devido a presença dos altos níveis de proteínas collagenases, as quais irão degradar o colágeno. Nessas circunstâncias não há equilíbrio na síntese de colágeno para superar sua perda fisiológica, como consequência evidencia-se a desorganização das fibras remanescentes aparentemente mais delgadas e granuladas. Esses eventos levam a substituição do colágeno tipo I para o colágeno tipo III, encontrados em indivíduos mais jovens e idosos, respectivamente.<sup>4,5</sup>

As células fibroblásticas desempenham um importante papel na síntese de colágeno e na organização da matriz extracelular atuando na morfogênese, angiogênese e cicatrização da pele. Através da descoberta da participação dos moduladores da expressão gênica, como o fator transformador de crescimento do tipo  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), foi possível reconhecer sua ação na expressão de vários genes da matriz extracelular, servindo como coadjuvante na codificação de colágeno I, III, IV e V a partir do fibroblasto.<sup>6</sup>

Como há declínio dos fatores de crescimento no envelhecimento cronológico e sabendo-se que estes são liberados pelos macrófagos, alguns estudos têm proposto a indução dos fatores de crescimento para estimular a produção de colágeno com a aplicação intradérmica de bioestimuladores, conhecidamente por induzir resposta inflamatória tecidual controlada<sup>5,7</sup>, uma vez que a reposição do volume facial perdido é o passo ideal para alcançar o rejuvenescimento da face.<sup>8-10</sup>

Diante desse contexto, os procedimentos minimamente invasivos visando o rejuvenescimento facial trouxeram uma grande versatilidade do tipo e do uso de bioestimuladores de colágeno que agora não só tratam linhas finas e rugas, mas também corrigem a perda de volume da face envelhecida a partir da indução da neocolagênese, resultando em melhora da espessura, flacidez e da qualidade dérmica<sup>11</sup>

A indução da neocolagênese através da aplicação intradérmica do Ácido Poli-L-Láctico (PLLA) possui ampla validação na literatura, que confirmam sua performance na correção da perda do volume formando pontos estruturais para reposicionamento dos tecidos moles da face.<sup>12-15</sup>

A polidioxanona (PDO) é utilizada como material absorvível na forma de fios de PDO para induzir a formação do colágeno.<sup>16</sup> Recentemente, uma nova apresentação de PDO em pó está sendo comercializada com a mesma indicação de ativação da neocolagênese, no entanto, ainda faltam pesquisas mais detalhadas sobre sua performance na ativação da neocolagênese e aumento da espessura e qualidade dérmica.

Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo realizar uma análise comparativa dos efeitos de produção de colágeno tipo I e III a partir da injeção intradérmica de PDO e PLLA em modelo animal, e determinar se há estímulo de colágeno com a subcisão realizada por microcânula. Até onde é de nosso conhecimento, este estudo trata-se de uma pesquisa inédita a nível nacional, pois não há relatos na literatura de estudos brasileiros com a investigação da produção de colágeno a partir da injeção intradérmica de PDO, uma nova formulação de bioestimulador de colágeno a base de polidioxanona em pó.

## **Materiais e métodos**

### **Tipo de Estudo**

Trata-se de um estudo experimental conduzido com ninhadas de camundongos *Wistar* fêmeas com 180 dias. O tamanho amostral foi composto por 16 animais, distribuídos em 4 grupos aleatorizados: G1: Subcisão, G2: PLLA (Renova elleva<sup>®</sup>), G3: PDO (ULTRACOL<sup>®</sup>), G4: Controle Negativo (Sem tratamento).

## Reconstituição dos Bioestimuladores Rennova elleva® e ULTRACOL®

A reconstituição de ambos os bioestimuladores (Rennova Elleva®, GANA R&D CO., Ltd, Coreia do Sul e ULTRACOL®, ULTRA V Co., Ltd, Coreia) foi realizada com 14 mL de água destilada estéril sob vigorosa agitação para mistura uniforme do pó durante 1 minuto a cada 10 minutos, até completar 1 hora. Transcorrido o tempo de agitação, os produtos foram submetidos a repouso por 4 horas. Após o período de repouso, realizou-se uma nova homogeneização e a solução foi usada imediatamente. A solução restante de bioestimulador foi descartada.

### Preparo dos modelos animais

Todos os experimentos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Ingá (Aprovação n° 99/2020). Um total de 16 camundongos fêmeas (*Wistar* isogênicos), pesando entre 250 e 300g, com quatro meses de idade, foram adquiridos no Biotério da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) e transportados em carro climatizado (22°C), em gaiolas de polipropileno até o Biotério do Centro Universitário Ingá, Maringá, Paraná, Brasil, de acordo com a Resolução Normativa do CONCEA, n. 25, 2016.

Os animais foram mantidos em grupos (2-3 animais) por gaiolas (50x50x55 cm, 20 ± 2 °C e umidade 72 ± 4%), em ciclo 12 horas claro/12 horas escuro sob 22-24 °C, umidade relativa 45-65% e estabilização por 7 dias para adaptação antes dos experimentos. Sendo alimentados com ração comercial balanceada (Nuvital® Nutrientes Ltda) *ad libitum* e disponibilização de água *ad libitum*, com sedimento padrão 53-3, produzido de acordo com a ISO 9001 (2008).

A demarcação foi realizada por tatuagem de Henna na região dorsal posterior direita com medidas de 3x3 cm (Figura 1), sob contenção manual: apoio da mão sobre o dorso do animal envolvendo-a abaixo dos membros anteriores. Dentro da delimitação realizou-se prévia tricotomia e posteriormente anestesia com Cloridrato de ketamina 11,6%: Dopalen® (50mg/mL) e Cloridrato de xilazina: Rompun® (2g/100mL) na dose 0,3mL/100g de massa corporal na proporção de 1:1 IP intraperitoneal.



**Figura 1** Demarcação da área para subcisão e injeção de PLLA e PDO em região dorsal posterior medindo 3X3 cm

Após anestesia, foi realizado a subcisão apenas com cânula 22G (Renova®) no G1 em região dorsal demarcada anteriormente (Figura 1). Para os grupos G2 (PLLA) e G3 (PDO) foi injetado 0,5 mL de bioestimulador em nível intradérmico com cânula 22G na região dorsal dos camundongos. O G4 não sofreu quaisquer intervenção, sendo este o controle. Os camundongos foram mantidos nas mesmas condições laboratoriais durante 30 dias até nova anestesia para coleta de tecido (Figura 2).



**Figura 2** Excisão tecidual 30 dias após experimento

O protocolo de eutanásia foi conduzido por anestesia geral através da administração de Cloridrato de Quetamina 50mg e Xilazina 10mg intraperitoneal seguida de exsanguinação por punção cardíaca. Logo em seguida, removeu-se 3x3 cm de tecido para avaliação histológica. Após eutanásia e coleta do tecido, os animais foram armazenados em sacos identificados em frízer e destinados a coleta pela empresa responsável (ServiOest).

### **Preparo e coloração das lâminas histológicas**

A avaliação histológica foi realizada no Laboratório de Histologia da Universidade Estadual de Maringá, 30 dias após a subcissão e injeção dos bioestimuladores. Fragmentos de pele foram fixados em formadeído tamponado a 10%, desidratadas em soluções de concentrações crescentes de álcoois (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Os cortes

histológicos, com espessura de 5  $\mu\text{m}$ , foram obtidos em micrótomo (American Optical, modelo 820) e corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE), para avaliação da morfologia geral, e Picrosirius Red para detecção dos colágenos tipo I e III.<sup>17</sup>

Para a coloração em Picrosirius, as lâminas foram desparafinadas em 100% de xileno, lavadas com etanol 100% e em água. Em seguida, as lâminas foram submersas em 0,1% de SiriusRed F3BA (BDH Laboratory Supplies, Poole, UK) em ácido pícrico saturado por 1 hora em temperatura ambiente. Foi realizada lavagem para remoção do excesso de corante e imersas em HCl 0,1 N por 2 minutos seguido por outra lavagem em água. Por fim, as lâminas foram desidratadas com etanol e xileno e secas a temperatura ambiente até leitura microscópica.<sup>18</sup>

### **Microscopia e captura da imagem**

As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão), acoplado em câmera de alta resolução (Nikon® Ds-Fi1C, Shimjuku, Japão). As imagens digitais foram capturadas em programa específico (NIS-Elements versão 4.0, Praga, República Checa). Para visualização do colágeno, os cortes histológicos foram visualizados sob luz polarizada, na objetiva de 40X, onde as fibras de colágeno coradas exibiam coloração desde verde brilhante até a cor vermelha.<sup>18</sup>

### **Quantificação do Colágeno**

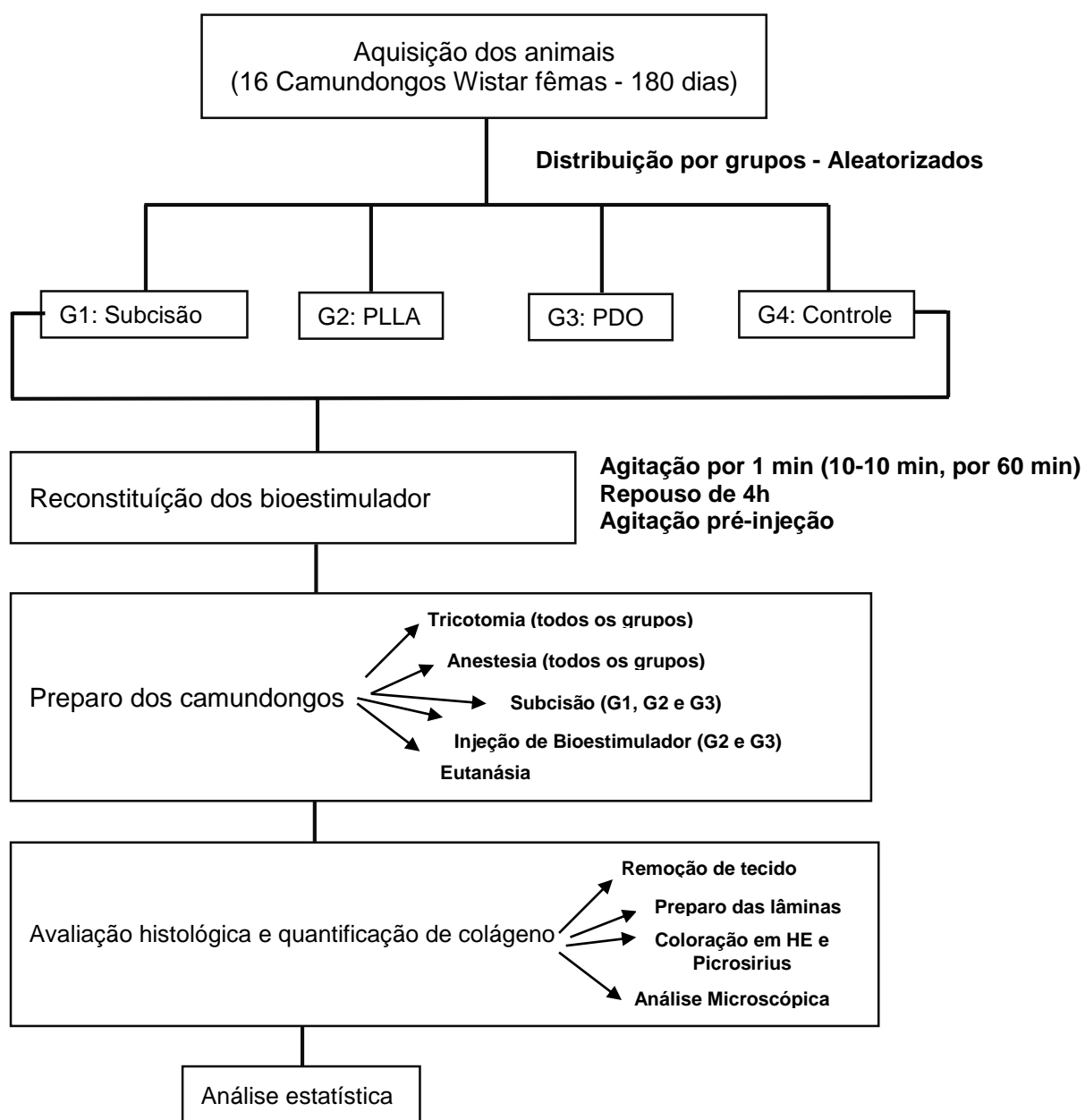
As imagens obtidas dos cortes histológicos, corados com Picrosirius-Red, foram analisadas com o software Image-Pro® Plus (versão 4.5 – Media Cybernetics). Foram avaliadas 10 imagens por animal/grupo. Em cada imagem, foi determinada, separadamente, a área ocupada pelo colágeno do tipo I (vermelho) e pelo colágeno do tipo III (verde). Os resultados foram expressos como área ocupada por cada tipo de colágeno (em porcentagem) em relação à área total analisada.<sup>18</sup>

### **Análise Estatística**

A normalidade dos dados foi realizada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação intergrupos foi realizada com o teste ANOVA a um

critério de seleção e teste de Tukey. A análise estatística foi realizada com auxílio do *software* Statistica 12.0 (Statsoft, Tulsa, Okla, EUA), e os dados foram considerados significantes para  $p < 0,05$ .

O resumo gráfico das etapas experimentais deste estudo pode ser visualizado na Figura 3.

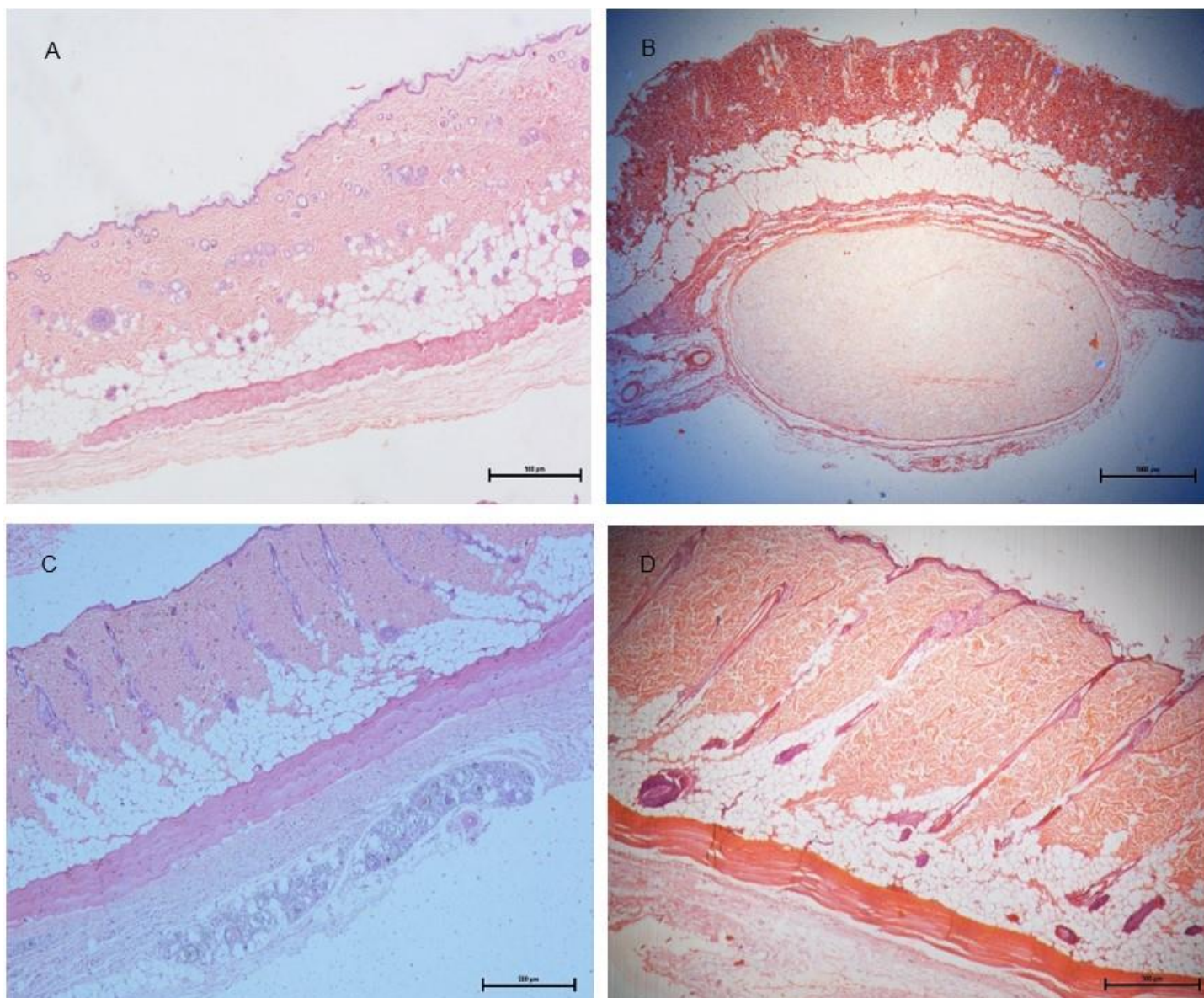


**Figura 3** Fluxograma do desenho experimental do estudo para indução da formação de colágeno em camundongos com subcissão intradérmica e bioestimuladores a base de PLLA e PDO



## Resultados

Os cortes histológicos da região intradérmica dorsal dos camundongos após 30 dias de tratamento com apenas subcisão (G1), bioestimuladores (G2-G3) e o grupo controle (G4) podem ser visualizados na Figura 4. A coloração de HE mostrou que o tecido apresenta uma espessura mais organizada no tratamento realizado com o bioestimulador PDO (Figuras 4-C) e no grupo controle (Figura 4-D), quando comparado aos grupos subcisão (Figura 4-A) e PLLA (Figura 4-B).

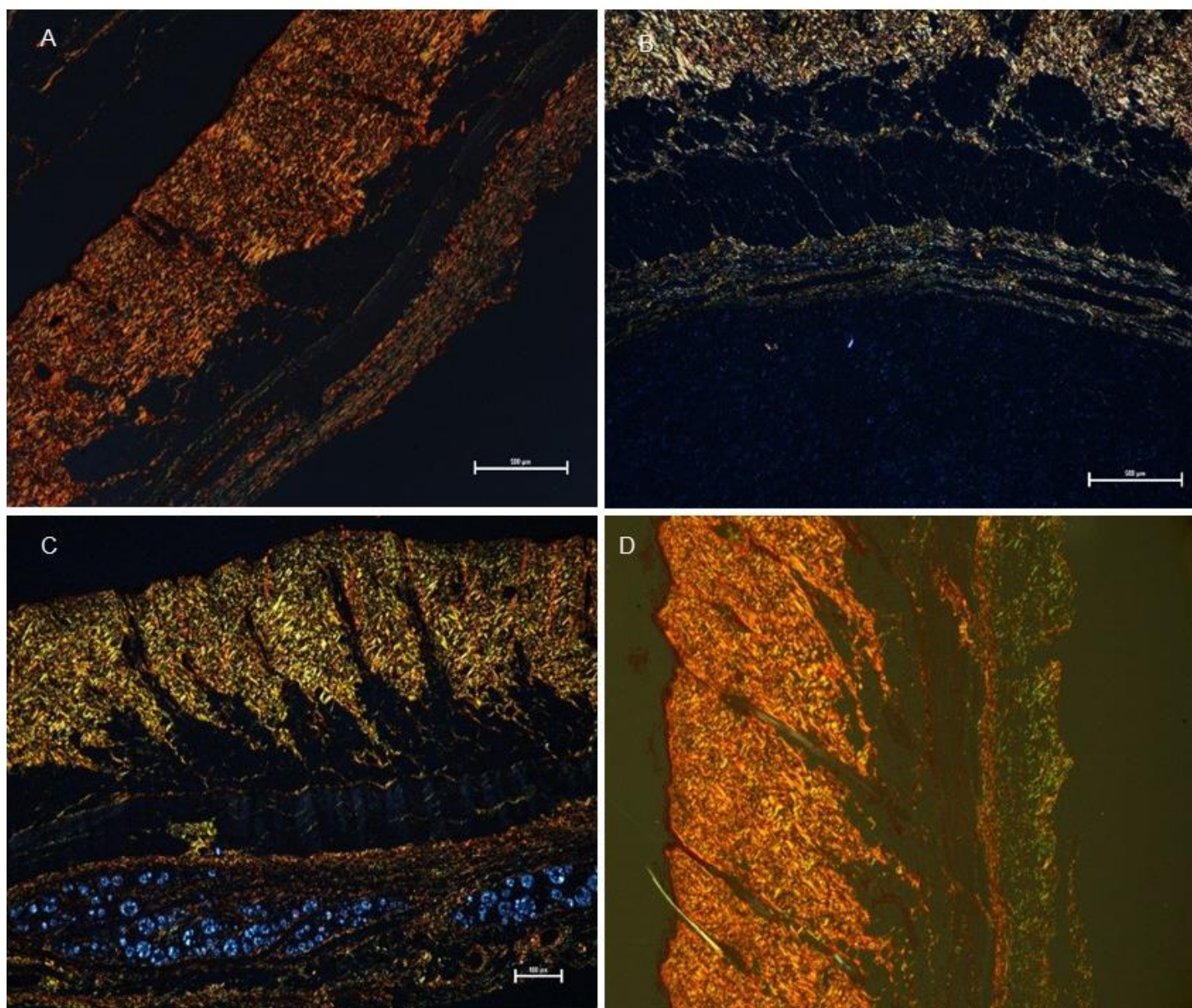


**Figura 4** Cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle em coloração HE. (A) Subcisão com Cânula 22G (G1); (B) tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única (G2); (C) tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única (G3); (D) controle (G4).

No tecido do grupo experimental com PDO (Figura 4-C) é possível verificar feixes de colágeno bem organizados e compactos. Em contraste, o tecido tratado apenas com subcisão (Figura 4-A) e com PLLA (Figura 4-B) apresentam redes de colágeno menos organizadas e compactas.

Sob a luz polarizada, foi possível verificar com maior nitidez as fibras de colágeno dos tecidos analisados. Conforme observa-se, o tecido tratado apenas com subcisão usando cânula 22G (Figura 5A) apresentava fibras espessas e predominantemente amarelas e vermelhas, indicando a presença de colágeno tipo I.

As fibras verdes, foram evidenciadas em maior intensidade nos tecidos tratados com bioestimuladores (Figura 5B-C: PLLA e PDO, respectivamente), indicando a presença de colágeno tipo III. Foi possível notar também que maior distribuição das fibras verdes (indicativo de colágeno tipo III) estavam localizadas nos tecidos tratados com PDO (Figura 5-C). Além disso, na Figura 5C é possível visualizar as micropartículas de PDO em formato esférico azul, indicando a indução da formação de colágeno na região.

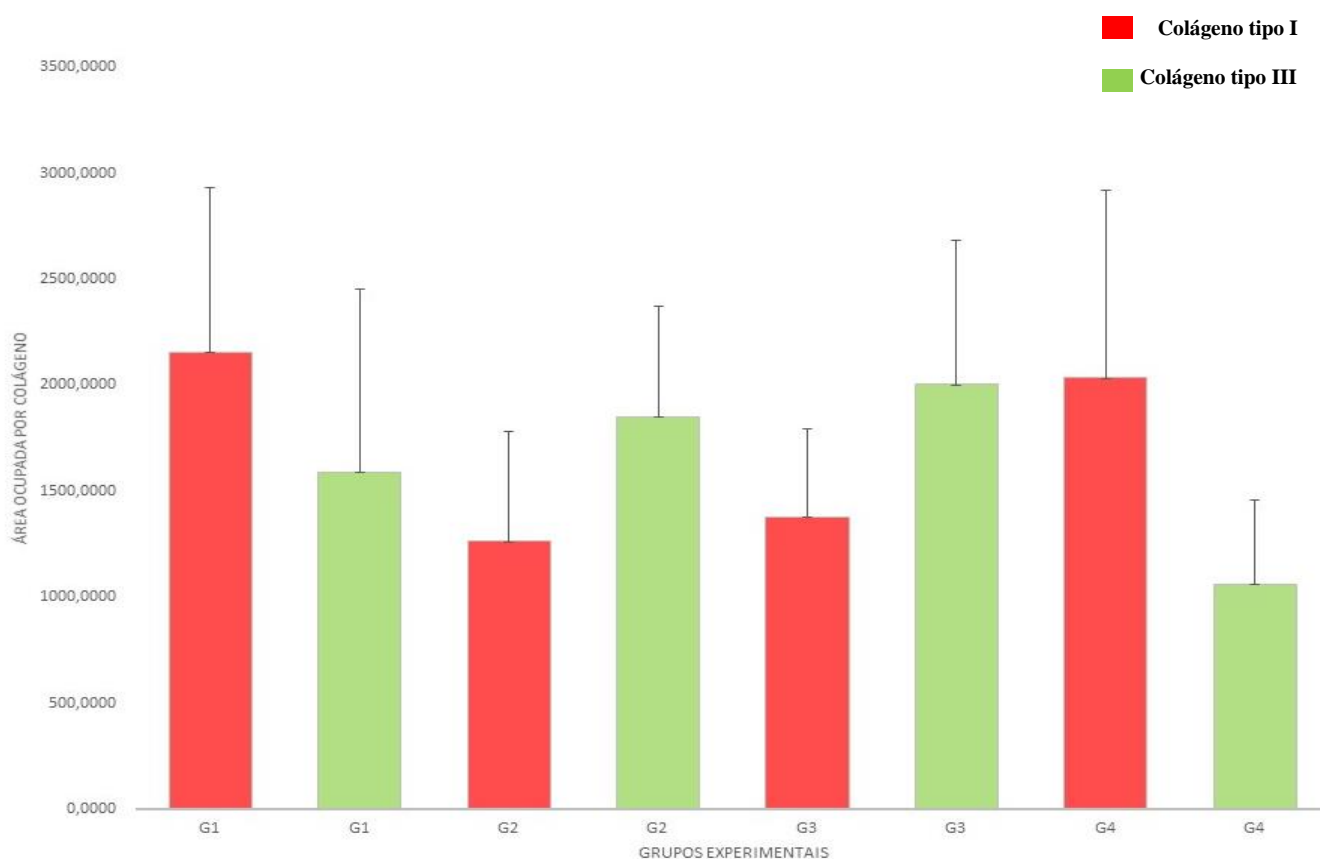


**Figura 5** Cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle em coloração Picrosirius e visualizados sob luz polarizada. (A) Subcisão com Cânula 22G (G1); (B) tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única (G2); (C) tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única (G3); (D) controle (G4).

O padrão de distribuição das fibras colágenas para este estudo mostrou leve diferença no estímulo de colágeno após a subcisão com cânula 22G (Figuras 5A e Figura 6), visto que o tecido manteve sua arquitetura tecidual

praticamente intacta em comparação ao grupo controle (Figura 5D e Figura 6). Por outro lado, o tecido tratado com PLLA mostrou irregularidades quanto a disposição das fibras colágenas, revelando estrutura pouco definida e menor distribuição de coloração vermelha (colágeno tipo I) em comparação aos demais grupos (Figura 5B).

Todos os grupos mostraram presença de coloração verde substancial (Figura 5A-D), que foi confirmado após determinar as proporções de proteína verde para vermelho. No entanto, o grupo controle (G4) apresentou menor porcentagem de colágeno tipo III, coloração verde ( $1.062,90 \pm 396$ ) (Figura 6).



**Figura 6** Proporção de coloração vermelha (colágeno tipo I) verde (colágeno tipo III) em cortes de tecido da região dorsal posterior de camundongos após 30 dias de subcisão, aplicação de bioestimuladores e grupo controle. G1: Subcisão com Cânula 22G; G2: tratamento com 0,5 mL de PLLA em sessão única; G3: tratamento com 0,5 mL de PDO em sessão única; G4: controle. Os resultados são apresentados como média e desvio padrão.

Existe uma maior tendência para as proporções verde (colágeno tipo III) entre os tecidos tratados com bioestimuladores PLLA (G2) e PDO (G3) (Figura 6), parecendo haver relação entre bioestimulador e maior biossíntese de colágeno tipo III na síntese recente de colágeno neste estudo.

Os grupos experimentais (G2:PLLA e G3:PDO) apresentaram porcentagens relativamente semelhantes de colágeno ao serem comparados com o grupo controle, que foram 23,33%; 25,35% e 23,22%, respectivamente. Notadamente, o G1 (subcisão) apresentou leve aumento na porcentagem de colágeno total (28,09%), correspondendo a uma diferença de  $4,13\% \pm 0,9$  ( $p=0,000$ ).

No período de 30 dias, o colágeno tipo I foi maior com a subcisão e no grupo controle *versus* PLLA e PDO ( $p=0,000$ ). No mesmo período, a coloração para colágeno tipo III foi maior com PDO, enquanto o PLLA mostrou área de colágeno tipo III semelhante ( $p=0,000$ ). Os valores de colágeno diferem entre si quando comparados estatisticamente entre os diferentes tipos de tratamento e controle após 30 dias de intervenção.

### [Tabela 1]

## Discussão

Este estudo demonstra que a porcentagem de colágeno tipo I é semelhante entre o grupo controle e os tecidos tratados com subcisão utilizando cânula 22G, refletindo em diferença significativa na porcentagem de colágeno tipo III, 1060,90 e 1590,24 ( $p=0,000$ ), respectivamente. Apesar desses achados, a quantificação de colágeno para subcisão não promoveu uma expressiva formação de fibras colágenas ao ser comparada com o grupo controle. Portanto, aos olhos da evidência, pouca diferença na qualidade da pele se alcançará com a subcisão. Sendo assim, deve-se ter cautela ao optar-se pela técnica de subcisão com modalidade única de tratamento, como sugerem outros estudos utilizando esta técnica para o tratamento de rugas e cicatrizes deprimidas.<sup>19</sup>

A pouca diferença nas porcentagens de colágeno entre os grupos experimentais pode estar relacionada ao tempo de análise, uma vez que o estímulo de colágeno é tempo-dependente. Dito isto, os resultados do estímulo

de colágeno podem não ser visualizados por semanas, sendo necessário aguardar pelos resultados individualmente, isso porque a resposta e o grau de melhora da pele após o bioestímulo irá depender intrinsecamente das características de cada paciente, idade, sexo e qualidade da pele.<sup>7,20</sup>

Sob essa óptica, é importante que o Cirurgião-Dentista e outros profissionais habilitados em procedimentos injetáveis na área da harmonização orofacial/facial detenham esses conhecimentos para não reproduzir supercorreções com tratamentos adicionais precocemente. Além disso, ao realizar o tratamento com bioestimuladores de colágeno o paciente deve ser orientado de que o resultado final será alcançado com mais de 30 dias após a injeção do bioestimulador.<sup>21</sup>

A medida que os tecidos amadurecem novas fibras colágenas são sintetizadas aumentando o percentual de colágeno total. Além disso, as fibras colágenas de coloração verde vão se tornando mais espessas substituindo-se pelas fibras de coloração vermelha, aumentando, portanto, as áreas de ocupação do colágeno tipo I.<sup>18</sup>

Esse mecanismo pode justificar as tendências de proporções de proteínas verde para vermelha em nossos ensaios experimentais (Figura 6). Possivelmente, a maior proporção de proteínas coradas em verde dos grupos G2 (PLLA) e G3 (PDO) tratam-se de fibras colágenas recém-sintetizadas induzidas pelos bioestimuladores. Uma vez que o efeito dos bioestimuladores são tardios e gradual, sendo percebido pelo espessamento dérmico promovido através da neocolagênese, formando-se colágeno tipo I e em menor quantidade, colágeno tipo III.<sup>7</sup>

A reação inflamatória após a injeção dos bioestimuladores de colágeno inicia a deposição de fibras de colágeno tipo III ao redor das microesferas do material, seguindo-se para uma resposta tecidual fibroblástica e de deposição de colágeno tipo I periférico. Esse mecanismo continua por semanas até que haja a remodelação do colágeno tipo III com predominância do colágeno tipo I no tecido recém formado, resultando em melhora da espessura e qualidade dérmica.<sup>22,23</sup>

Estudos sobre a síntese de colágeno a partir da injeção de PLLA na derme de camundongos Wistar<sup>24</sup> revelaram que o bioestimulador foi capaz de estimular a produção de alto teor de colágeno do tipo I comparando-se ao grupo controle. Esse comportamento de eficiência justifica seu uso para atenuar imperfeições por meio da estimulação da produção de colágeno na pele.<sup>24</sup> No entanto, nesse estudo a área ocupada por colágeno tipo I para o mesmo bioestimulador foi menor que a do grupo controle. Mais uma vez, reforçamos a hipótese de que talvez o tempo de experimento tenha sido insuficiente para determinar o potencial total do bioestimulador. Sendo assim, sugere-se que novos estudos *in vivo* com modelos animais sejam desenvolvidos a fim de testar esta hipótese.

No Brasil, a polidioxonona é comercializada na forma de fios lisos para estímulo da produção de colágeno e como fios espiculados promovendo *lifting* e rejuvenescimento facial. Os fios lisos de PDO atuam como corpo estranho estimulando a formação de tecido fibroso subcutâneo que resulta na melhora da tensão da pele.<sup>25</sup> Diferente dos fios lisos, o efeito dos fios espiculados é imediato, uma vez que o mesmo atua como vetor vertical de reposicionamento dos tecidos moles da face.<sup>26</sup> Por outro lado, pouco ainda se sabe quanto a biocompatibilidade, segurança e eficácia do PDO em pó. Por essa razão, este material foi alvo de investigação neste estudo.

Uma investigação sobre o efeito bioestimulador da polidioxanona recentemente desenvolvida<sup>27</sup> revelou que as microesferas de PDO demonstram efeito semelhante quanto à neocolagênese e resposta inflamatória ao ser comparado com PLLA e Policaprolactona (PLC). Além disso, o PDO também mostrou melhor degradabilidade e diminuição significativa da rugosidade da pele para o estudo mencionado. Nesse sentido, esses resultados ainda que incipientes abrem novos caminhos para o desenvolvimento de estudos clínicos randomizados em humanos para que se confirme futuramente a segurança e eficácia do bioestimulador a base de PDO em pó recentemente desenvolvido, visando seu uso na prática clínica como um bioestimulador de fibras elásticas e colágenas.

A técnica de subcisão e injeção de bioestimuladores no plano intradérmico talvez tenha sido uma das razões para as quantidades de colágeno equivalentes entre os grupos experimentais. Estudos histológicos também desenvolvidos em

modelos animais comparando a produção de colágeno após injeção intradérmica e subdérmica de bioestimuladores, revelaram quantidades mais significativas de colágeno pela técnica de injeção intradérmica.<sup>12</sup> Sendo assim, esses resultados servem de base para que os profissionais façam a aplicação de bioestimulador via intradérmica para alcançar melhores resultados, durabilidade e satisfação do paciente.

Por fim, as limitações deste estudo podem ser apresentadas pela pequena quantidade de animais utilizados nos experimentos e pelo tipo de modelo de estudo (em animais). Por outro lado, os dados mostram que os tecidos animais tratados com bioestimuladores revelaram maior presença de colágeno do tipo III, sendo posteriormente substituído pelo colágeno tipo I.<sup>28</sup>

Nesse sentido, são necessários novos estudos clínicos randomizados para determinar se este processo de neocolagênese ocorre em seres humanos após a injeção dos bioestimuladores investigados e se estes trazem benefícios reais aos tratamentos estéticos de estimulação de colágeno, melhorando a qualidade dérmica, além de determinar o nível de segurança e eficácia dos bioestimuladores PLLA e PDO em pó.

## **Conclusão**

A performance dos bioestimuladores revelou que o PDO resultou em uma neocolagênese mais ativa, estimulando maior produção de colágeno tipo I e III. Os resultados deste estudo sugerem que no primeiro mês após o tratamento pode não ocorrer a completa remodelação para formação das novas fibras colágenas, o que pode ter influenciado nos resultados quanto o tipo e a quantidade de colágeno neoformado ao comparar os quatro grupos experimentais. Sendo assim, novos estudos são necessários para determinar a performance total dos bioestimuladores investigados em um maior espaço de tempo.

## **Referencias**

1. Baumann L. Skin ageing and its treatment: review article. *J Pathol* 2007; **211**:241-51.
2. Zhang SY, Zhou XY, Zhou XL, et al. Subtype- specific inherited predisposition to pemphigus in the Chinese pop-ulation. *Br J Dermatol* 2019; **180**:828-35.



3. Varani J, Dame MK, Rittie L, et al. Decreased collagen production in chronologically aged skin. Roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *Am J Pathol* 2006; **168**:1861-8.
4. El-Domyati M, Attia S, Saleh F, et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol* 2002; **11**:398-405.
5. Quan T, Shao Y, He T, et al. Reduced expression of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates collagen loss in chronologically aged human skin. *J Invest Dermatol* 2010; **130**:415-24.
6. Verhaegen PD, van Zuijlen PP, Pennings NM, et al. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: an objective histopathological analysis. *Wound Repair Regen* 2009; **17**:649-56.
7. Cunha MG, Engracia M, de Souza LG, et al. Biostimulators and Their Mechanisms of Action. *Surg Cosmet Dermatol* 2020; **12**:109-17.
8. Wollina U. Facial rejuvenation starts in the midface: three-dimensional volumetric facial rejuvenation has beneficial effects on nontreated neighboring esthetic units. *J Cosmet Dermatol* 2016; **15**:82-8.
9. Jones D. Volumizing the face with soft tissue fillers. *Clin Plast Surg* 2011; **38**:379-90.
10. Rose AE, Day D. Esthetic rejuvenation of the temple. *Clin Plast Surg* 2013; **40**:77-89.
11. Attenello NH, Maas CS. Injectable fillers: review of material and properties. *Facial Plast Surg* 2015; **31**:29-34.
12. Breithaupt A, Fitzgerald R. Collagen Stimulators: Poly-L-Lactic Acid and Calcium Hydroxyl Apatite. *Facial Plast Surg North Am* 2015; **23**:459-69.
13. Wilkerson EC, Goldberg DJ. Poly-L-lactic acid for the Improvement of photodamage and rhytids of the décolletage. *J Cosmet Dermatol* 2018; **17**:606-10.
14. Ray S, Adelnia H, Ta HT. Collagen and the Effect of poly-L-lactic Based materials on its Synthesis. *Biomater Sci* 2021; **9**:5714-31.
15. Monteiro RS, Almeida AR. Poly-L-Lactic Acid Injected in the Temples Improves Excessive Upper Eyelid Skin. *Dermatol Surg* 2021; **47**:855-6.
16. Kim CM, Kim BY, Suh DH, et al. The efficacy of powdered polydioxanone in terms of collagen production compared with poly-L-lactic acid in a murine model. *J Cosmet Dermatol* 2019; **18**:1893-1898.
17. Kwon TR, Han SW, Yeo IK, et al. Biostimulatory effects of polydioxanone, poly-D, L lactic acid, and polycaprolactone fillers in mouse model. *J Cosmet Dermatol* 2019; **1**:1-7.
18. Cuttle L, Nataatmadja M, Fraser JF, et al. Collagen in the scarless fetal skin wound: Detection with Picrosirius-polarization. *Wound Repair Regen* 2005; **13**:198-204.
19. Orentreich DS, Orentreich N. Subcutaneous incisionless (Subcision) surgery for the correction of depressed scars and wrinkle. *Dermatol Surg* 1995; **21**:543-9.
20. Lacombe V. Sculptra: a stimulatory filler. *Facial Plast Surg* 2009; **25**:95-9.

21. Goldberg DJ. Stimulation of collagenesis by poly-L-lactic acid (PLLA) and -glycolide polymer (PLGA)-containing absorbable suspension suture and parallel sustained clinical benefit. *J Cosmet Dermatol* 2020; **19**:1172-8.
22. Berlin AL, Hussain M, Goldberg DJ. Calcium hydroxylapatite filler for facial rejuvenation: a histologic and immunohistochemical analysis. *Dermatol Surg* 2008; **34**:S64-7.
23. Yutskovskaya Y, Kogan E, Leshunov E. Randomized, split-face, histomorphologic study comparing a volumetric calcium hydroxylapatite and a hyaluronic acid-based dermal filler. *J Drugs Dermatol* 2014; **13**:1047-52
24. Cabral LRB, Teixeira LN, Gimenez RP et al. Effect of Hyaluronic Acid and Poly-L-Lactic Acid Dermal Fillers on Collagen Synthesis: An in vitro and in vivo Study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2020; **13**:701-10.
25. Fukaya M. Two Mechanisms of Rejuvenation Using Thread Lifting. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2018; **6**:e2068.
26. Kang SH, Byun EJ, Kim HS. Vertical lifting: A new optimal thread lifting technique for Asians. *Dermatol Surg* 2017; **43**:1263-70.
27. Kwon TR, Han SW, Yeo IK, et al. Biostimulatory effects of polydioxanone, poly-d, l lactic acid, and polycaprolactone fillers in mouse model. *J Cosmet Dermatol* 2019; **18**:1002-8.
28. Nicolau PT, Marijnissen-Hofsté J. Neocollagenesis after Injection of a Polycaprolactone Based DERMAL Filler in a Rabbit. *Eur. J. Aesth. Medicine and Dermatology* 2013; **3**:19-26.

**TABELA 1.** Comparação intergrupos para a produção de colágeno (ANOVA a um critério de seleção e teste de Tukey).

Variáveis	G1	G2	G3	G4	p
	Média (DP)	Média (DP)	Média (DP)	Média (DP)	
<b>SUM colágeno tipo I</b>	4558,03 (2016,03) A	2666,22 (1458,48) B	2909,65 (1317,84) B	4296,82 (2052,12) A	0,000*
<b>Área colágeno tipo I</b>	2157,90 (954,44) A	1262,26 (690,48) B	1377,50 (623,90) B	2034,23 (971,53) A	0,000*
<b>SUM colágeno tipo III</b>	2899,51 (2173,98) A	4060,95 (1259,94) B	4368,54 (1887,41) B	2245,13 (1113,62) A	0,000*
<b>Área colágeno tipo III</b>	1590,24 (1071,27) A	1849,88 (705,94) AB	2068,19 (893,55) B	1062,90 (527,22) C	0,000*

\* Estatisticamente significativa para  $p < 0,05$

Letras diferentes numa mesma linha indicam a presença de uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos indicada pelo teste de Tukey.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados demonstraram que o novo bioestimulador PDO em pó apresenta potencial para ser usado nos procedimentos de bioestimulação de colágeno na pele, além de indicar boa performance da neocolagênese com formação de fibras colágenas espessas e bem organizadas. No entanto, ainda são necessários novos estudos para descrever em maior espaço de tempo experimental uma análise comparativa do desempenho dos bioestimuladores investigados, uma vez que os resultados deste estudo são preliminares.

### **4. RELEVÂNCIA E IMPACTO DO TRABALHO PARA A SOCIEDADE**

O presente estudo reforça a filosofia da prática clínica baseada em evidência, porque traz informações importantes que podem ser utilizadas na decisão clínica dos Cirurgiões-Dentistas quanto a escolha de materiais bioestimuladores de colágeno, com base na sua performance de ativação da neocolagênese para melhorar a qualidade dérmica da pele.

Mesmo que este seja um estudo baseado em modelo animal, ele traz para comunidade de Cirurgiões-Dentistas e outros profissionais que atuam na harmonização orofacial/facial, o reafirmamento de que a estrutura da pele pode ser alterada, reestruturando uma pele com aspecto de envelhecimento cronológico e/ou precoce para mais próxima do rejuvenescimento, por meio da injeção de bioestimuladores de colágeno selecionados com racionalidade e sob as melhores evidências.

Além disso, explorou-se um novo bioestimulador de colágeno à base de polidioxanona em pó (ULTRACOL®), não comercializado no Brasil. Portanto, fazendo deste estudo o pioneiro em nível nacional sobre a avaliação deste produto quanto à sua eficácia na produção de colágeno. Corroborando dessa forma para o desenvolvimento de novos estudos visando atender as necessidades diárias dos profissionais habilitados em procedimentos injetáveis, como, por exemplo, o conhecimento e domínio sobre os bioestimuladores de colágeno na sua prática clínica.

## REFERÊNCIAS

ALEXIS, A. F. *et al.* Racial and Ethnic Differences in Self-Assessed Facial Aging in Women: Results From a Multinational Study. **Dermatologic Surgery**, v. 45, n. 12, p. 1635-1648, 2019.

ANDERSON, J. M. *et al.* Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86-100, 2008.

ATTENELLO, N H.; MAAS, C. S. Injectable fillers: review of material and properties. **Facial Plastic Surgery**, v. 31, n. 1, p. 29-34, 2015.

AVERBECK, M. *et al.* Differential regulation of hyaluronan metabolism in the epidermal and dermal compartments of human skin by UVB irradiation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 687-687, 2007.

BAUMANN, L. Skin ageing and its Treatment: Reivie Articles. **Journal of Pathology**, v. 211, n. 2, p. 241-251, 2007.

BRAVERMAN, I. M.; FONFERKO, E. Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 5, p. 434-443, 1982.

COLEMAN, S. R.; GROVER, R. The anatomy of the aging face: volume loss and changes in 3-dimensional topography. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 26, n. 1S, p. S4-S9, 2006.

CUNHA, M. G. da *et al.* Biostimulators and Their Mechanisms of Action. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 12, n. 2, p. 109-117, 2020.

DYER, J. M.; MILLER, R. A. Chronic Skin Fragility of Aging: Current Concepts in the Pathogenesis, Recognition, and Management of Dermatoporosis. **Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v. 11, n. 1, p. 13-18, 2018.

FRIEDMAN, O. Changes associated with the aging face. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 13, n. 3, p. 371-380, 2005.

GOLDIE, K. *et al.* Global Consensus Guidelines for the Injection of Diluted and Hyperdiluted Calcium Hydroxylapatite for Skin Tightening. **Dermatologic Surgery**, v.44, n. 1, p. S32-S41, 2018.

GUPTA, M. A.; GILCHREST, B. A. Psychosocial aspects of aging skin. **Dermatologic Clinics**, v. 23, n. 4, p. 643-648, 2005.

IBUKI, A. *et al.* Aging-like physiological changes in the skin of Japanese obese diabetic patients. **SAGE Open Medicine**, v. 6, n. 2050312118756662, p. 1-6, 2018.

ICHIHASHI, M. *et al.* Photoaging of the skin. **Anti-Aging Medicine**, v. 6, n. 6, p. 46-59, 2009.

ISHIKAWA, T.; ISHIKAWA, O.; MIYACHI, Y. Measurement of skin elastic properties with a new suction device (I): Relationship to age, sex and the degree of obesity in normal individuals. **Journal of Dermatology**, v. 22, n. 10, p. 713-717, 1995.

LAGO, J. C.; PUZZI, M. B. The effect of aging in primary human dermal fibroblasts. **PLoS One**, v. 14, n. 7, p. e021915, 2019.

LEPHART, E. D. A review of the role of estrogen in dermal aging and facial attractiveness in women. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 17, n. 3, p. 282-288, 2018.

PAPAKONSTANTINOOU, E.; ROTH, M.; KARAKIULAKIS, G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. **Dermato-Endocrinology**, v. 4, n. 3, p. 253-258, 2012.

PYUN, H. B. Effects of Collagen Tripeptide Supplement on Photoaging and Epidermal Skin Barrier in UVB-exposed Hairless Mice. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 17, n. 4, p. 245-253, 2012.

RAY, J. A. *et al.* Polydioxanone (PDS), a novel monofilament synthetic absorbable suture. **Surgery, Gynecology and Obstetrics**, v. 153, n. 4, p. 497-507, 1981.

REILLY, M. J. *et al.* Effect of facial rejuvenation surgery on perceived attractiveness, femininity, and personality. **JAMA Facial Plastic Surgery**, v. 17, n. 3, p. 202-207, 2015.

ROSSI, A. M. *et al.* Signs of facial aging in men in a diverse, multinational study: timing and preventive behaviors. **Dermatologic Surgery**, v. 43, n. 2, p. S210-S220, 2017.

SLOMINSK, A. T.; MANNA, P. R.; TUCKEY, R. C. On the role of skin in the regulation of local and systemic steroidogenic activities. **Steroids**, v. 103, n. 1, p. 72-88, 2015.

STREITPARTH, F. *et al.* Biodegradable Polydioxanone Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Proof of Principle. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 31, n. 12, p. 2132-2140, 2020.

SWIFT, A. *et al.* The Facial Aging Process From the "Inside Out". **Aesthetic Surgery Journal**, v. 41, n. 10, p. 1107-1119, 2021.

THIELE, J. J.; PODDA, M.; PACKER, L. Tropospheric ozone: an emerging environmental stress to skin. **Biological Chemistry**, v. 378, n. 11, p. 1299-1305, 1997.

VIERKÖTTER, A.; KRUTMANN, J. Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. **Dermato-endocrinology**, v. 14, n. 3, p. 227-231, 2012.

VLEGGGAAR, D. Facial Volumetric Correction with Injectable Poly-L-Lactic Acid. **Dermatologic Surgery**, v. 31, n. 11, p. 1511-1517, 2005.

WENG, L. *et al.* Calibrated Bioresorbable Microspheres as an Embolic Agent: An Experimental Study in a Rabbit Renal Model. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 26, n. 12, p. 1887-1894, 2015.

## ANEXOS

### Manuscript Guidelines

#### General Guidance

Manuscript text must be saved in Word (.doc or .docx) or rich text format (.rtf). We would like authors not to submit text in PDF format (.pdf).

- Figures must be saved as separate figure files. GIF, JPEG, PICT or BMP files are acceptable for submission, but only JPEG, TIFF or EPS files are suitable for printing. After acceptance, you will be contacted to provide print-quality figures if you have not already done so. Please note that if you supply figures in PDF format only, they must be distilled using the 'print optimized' option.
- Abbreviations must be defined when first used in the abstract and in the main text, as well as when first used in table and figure captions.
- All relevant files must be included with each revision of the paper.
- Manuscripts must be as succinct as possible. Repetition of information or data in different sections of the manuscript must be carefully avoided. Text must comply with the word limits defined in Section 1.4, and, where appropriate, include the following.

#### Title page

The first page of all manuscripts should contain the following information:

- The title of the paper.
- A running head not exceeding 70 characters (not needed for correspondence-type items).
- Manuscript word, table and figure counts.
- Names of authors as first name(s) followed by surnames. Middle names, if applicable, can be given as initials (e.g. John A. Smith)
- Names of the institutions at which the research was conducted, clearly linked to the respective authors using superscript Arabic numbers.
- Name and e-mail address of the corresponding author.
- A statement of all funding sources that supported the work.
- Any conflict of interest disclosures.
- Bulleted statements (maximum 70 words per question) in answer to each of the following questions: What's already known about this topic? and What does this study add? (not applicable to correspondence-type items or reviews).
  - For translational research papers include a third set: What is the translational message?
  - For qualitative research papers include a third set: What are the clinical implications of this work?

#### Summary

- Authors submitting Original Articles should note that structured Summaries are required. The Summary should adopt the format: Background, Objectives, Methods, Results, Conclusions.
- Case Reports and Review Articles require Summaries, but they should not be structured.
- Summaries should contain no citations to previously published work.
- Correspondence-type items do not require Summaries.
- Summaries for randomized controlled trials should follow the CONSORT extension for abstracts.

## Text

The text should in general be divided into sections with the headings Summary, Introduction, Materials and methods (or Patients and methods), Results, Discussion, Acknowledgments, References, Supporting Information, and Figure Legends for most Original Articles.

## Tables

- Tables should be included at the end of the manuscript, each on a separate page.
- We would like tables to be no more than 1.5 pages long in Word (or 1 page for [Research Letters](#)) so please consider the information you put into the table
- Please submit tables in an editable format in Word and not as an Excel file, image or PDF.
- Tables should be numbered as Table 1, Tables 2, 3. Each table must have a legend that explains its purpose without reference to the text.
- If the Editor considers that there are too many tables in an article, they may either request some of the tables be moved to supporting information or request a summary table.

## Figures

- Figures must be submitted as a separate file or files.
- Figures should be referred to in text as follows: Figure 1, Figures 2-4
- Where a figure has more than one panel, each panel should be submitted as a separate file with a brief description of each panel given in the figure legend. Please ensure that each file is named appropriately (e.g. Figure 1a, Figure 1b).
- Ideally figures should have a maximum of six panels, but exceptions can be made at the Editor's discretion.
- Please ensure that all text in figures will be easily readable when the figure is printed on an A4 page.
- Colour illustrations are welcomed, and all colour is published free of charge in the *BJD*.
- Authors should obtain permission to reproduce previously published figures or tables. Please provide any accreditation text required by the copyright holder.
- Digital images should not be manipulated (e.g. contrast, brightness) unless the manipulation is applied to the whole image and does not modify the information in any way. Where images have obviously been cropped the full image should be submitted as a supplementary file for review (for example an entire image of a Western blot with molecular-weight markers).
- A certain degree of image processing is acceptable but the final image must faithfully represent the original data. Image acquisition and processing software must be included in the methods. Authors should be prepared to supply the editors with original images on request.
- Histopathology slides and graphs should be separate figures and not subpanels of the same figure. Please provide scale bars or the level of magnification used.
- Vector graphics (e.g. line artwork) should be saved in encapsulated postscript format (.eps) at a minimum of 800 dpi.
- Bitmap files (e.g. photographs) should be saved in tagged image file format (.tif) or JPEG at a minimum of 300 dpi.
- We require all clinical images to have patient consent for publication (see Editorial policies on patient privacy). Eye bars or masking of the eyes is not permissible as they do not protect the anonymity of the patients. All case reports must have patient consent for publication before submission.

## References



References should be in Vancouver format and appear as consecutive, unbracketed superscript numbers in the text, e.g. in our previous reports<sup>1,2</sup> and those of Smith et al.,<sup>3-5</sup> and should be listed numerically in the reference list at the end of the article. Format references as below, using standard (MEDLINE) abbreviations for journal titles. If there are more than four authors, include the first three authors followed by et al. If there are more than six editors of a book, include the first five authors followed by *et al.*

1 de Berker DAR, Baran R, Dawber RPR. The nail in dermatological diseases. In: *Baran and Dawber's Diseases of the Nails and Their Management* (Baran R, Dawber RPR, de Berker DAR, Haneke E, Tosti A, eds), 3rd edn. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001; 172–92.

2 Shuster S. The nature and consequence of Karl Marx's skin disease. *Br J Dermatol* 2008; **158**:1–3.

3 Graham-Brown R, Burns T. *Lecture Notes: Dermatology*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2006.

4 Smith A. Select committee report into social care in the community. Available at: <http://www.dhss.gov.uk/reports/report015285.html> (last accessed 7 November 2003).

If a reference falls into a different category (e.g. conference proceedings, prescribing information), or if in doubt, please provide as much information as possible.

We recommend the use of a tool such as EndNote for reference management and formatting. EndNote reference styles can be found [here](#)