

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo
PUC-SP

Pedro Ivo Romani de Oliveira Gonçalves

**Análise comparativa entre Poli-L-ácido láctico e Hidroxiapatita de Cálcio quanto a
bioestimulação de matriz dérmica direcionada ao tratamento da flacidez cutânea**

Mestrado em Biomateriais e Medicina Regenerativa

Sorocaba
2024

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo
PUC-SP

Pedro Ivo Romani de Oliveira Gonçalves

Análise comparativa entre Poli-L-ácido láctico e Hidroxiapatita de Cálcio quanto a
bioestimulação de matriz dérmica direcionada ao tratamento da flacidez cutânea

Dissertação apresentada à banca examinadora da
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo,
como exigência parcial para obtenção do título de
MESTRE em Biomateriais e Medicina
Regenerativa sob a orientação da Profa. Dra.
Moema de Alencar Hausen

Sorocaba
2024

Banca Examinadora

Profa. Dra. Moema de Alencar Hausen (orientadora)
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Prof. Dr. Hamilton Aleardo Gonella
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Dra. Arianne de Souza Moraes
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Dedicatória

Ao nosso Senhor, o Alfa e o Ômega, cuja palavra é lâmpada que ilumina meus passos. Que cada frase escrita aqui seja uma expressão de sua infinita sabedoria e providência. Que Sua palavra continue a ser a luz que ilumina meu caminho, hoje e sempre.

À minha amada esposa Thauama, que foi minha companheira incansável ao longo desta jornada. Seu apoio inabalável, paciência e amor foram o alicerce sobre o qual construí cada página deste estudo. Sua presença foi minha motivação e conforto em todos os momentos, e por isso, dedico a ela minha mais profunda gratidão e amor.

À minha querida filha Antonela, cuja chegada eminente enche meu coração de alegria e esperança renovadas. Embora ainda não tenha nascido, você já é fonte de inspiração para mim. Prometo dedicar-me a ser o melhor pai possível, buscando sempre o equilíbrio entre minha carreira acadêmica e minha responsabilidade como seu pai.

Que este trabalho possa ser um testemunho do amor, da fé e do compromisso que tenho com toda a minha família, sem a qual eu nunca seria quem eu sou hoje, e nunca chegaria onde estou agora.

Agradecimentos

Ao professor e amigo Dr. Rogério Ruiz e sua equipe da Clínica IZ

A toda a equipe da Rennova pela doação dos materiais

A coordenação do PPGBMR da PUC/SP e sua secretária Heloísa Armênio

Equipe do laboratório de Biomateriais da PUC/SP e a aluna de IC Isabela Rodrigues

Equipe do laboratório de patologia da PUC/SP (Prof^ª Dr^a Maria Lourdes Peris Barbo e Técnicos)

"Um único sonho é mais poderoso do que mil realidades" – J. R. R. Tolkien

RESUMO

GONÇALVES, Pedro Ivo Romani de Oliveira. **Análise comparativa entre Poli-L-ácido láctico e Hidroxiapatita de Cálcio quanto a bioestimulação de matriz dérmica direcionada ao tratamento da flacidez cutânea**

A perda de elasticidade e afinamento da pele desempenha um papel crucial nas mudanças estruturais associadas à flacidez. Estimuladores injetáveis de colágeno são amplamente empregados para reestruturar a pele e tecidos moles de maneira minimamente invasiva, sem a necessidade de energias ou cirurgias. A popularidade desses procedimentos é impulsionada pela simplicidade, eficácia e rápida recuperação, destacando-se pela biocompatibilidade. Acredita-se que exista uma diferença mensurável na eficácia terapêutica ao se comparar o Poli-L-Ácido Láctico (PLLA), a Hidroxiapatita de cálcio (CaHa) ou a combinação de ambos no tratamento da flacidez cutânea, no que se refere no incremento da matriz colágena. Este estudo conduz um ensaio clínico unicêntrico aberto e randomizado com quatro pacientes. O objetivo é avaliar os efeitos da injeção combinada de Poli-L-Ácido Láctico (PLLA) e Hidroxiapatita de cálcio (CaHa) ou a aplicação individual de cada substância na pele abdominal de pacientes que posteriormente serão submetidas à abdominoplastia. O incremento de matriz colágena no decorrer do estudo foi determinado sob análise de lâminas de fragmentos cutâneos corados por Hematoxilina-eosina (HE) pela técnica de grade estereológica sob microscopia óptica convencional de baixo aumento. No estágio inicial, as pacientes foram submetidas a uma biópsia cutânea 30 dias antes da injeção dos bioestimuladores. Durante a intervenção, as pacientes receberam injeções de bioestimuladores seguindo um mapa modelo para identificar áreas específicas para cada material. Foram utilizadas doses equivalentes de PLLA e CaHa, isoladamente e em combinação. Uma dose de soro fisiológico foi administrada em uma quarta área delimitada pelo mapa como controle ativo. Todas as pacientes foram reavaliadas nos dias 60 e 120 após a aplicação, obtendo-se amostras teciduais coletadas por biópsia de cada área tratada. A análise histológica comparativa evidenciou um notável aumento da densidade de matriz colágena na derme, assim como uma apresentação basófila das fibras colágenas (que são tipicamente acidófilas), especialmente nas áreas tratadas com CaHa (que é basófila sob a coloração de HE), sugerindo a dispersão de CaHa por estas fibras. Quando injetadas em combinação (blend), a histologia tissular da derme revelou uma organização das fibras em feixes ainda maiores, reduzindo o espaço intersticial. Também se observou um aumento na densidade de núcleos de células adjacentes a esses feixes, indicando proliferação de fibroblastos. Embora mais estudos sejam necessários, a avaliação apontou um aumento estatisticamente significativo das fibras colágenas nos tratamentos utilizados, em especial na combinação dos biomateriais em doses equivalentes.

Palavras-Chave: Hidroxiapatita; Bioestimuladores; Colágeno; Poli-L-ácido láctico; Elasticidade cutânea; Regeneração dérmica.

ABSTRACT

GONÇALVES, Pedro Ivo Romani de Oliveira. **Comparative analysis between Poly-L-lactic acid and Calcium Hydroxyapatite regarding biostimulation of dermal matrix aimed at treating sagging skin**

The loss of elasticity and thinning of the skin play a crucial role in the structural changes associated with sagging. Injectable collagen stimulators are widely used to restructure the skin and soft tissues in a minimally invasive manner, without the need for energy-based procedures or surgeries. The popularity of these procedures is driven by their simplicity, effectiveness, and rapid recovery, highlighting their biocompatibility. There is believed to be a measurable difference in therapeutic efficacy when comparing Poly-L-Lactic Acid (PLLA), Calcium Hydroxyapatite (CaHa), or a combination of both in the treatment of skin laxity, specifically in increasing collagen matrix. This study conducts a single-center, open-label, randomized clinical trial with four patients. The aim is to evaluate the effects of combined injection of Poly-L-Lactic Acid (PLLA) and Calcium Hydroxyapatite (CaHa) or the individual application of each substance on the abdominal skin of patients who will undergo abdominoplasty later. The increase in collagen matrix over the course of the study was determined through analysis of sections of skin fragments stained with Hematoxylin and Eosin (HE) using stereological grid analysis under conventional low-power light microscopy. At the initial stage, patients underwent a skin biopsy 30 days before the injection of the bio-stimulators. During the intervention, patients received injections of bio-stimulators following a template map to identify specific areas for each material. Equivalent doses of PLLA and CaHa were used, both individually and in combination. A dose of saline solution was administered in a fourth area delineated by the map as an active control. All patients were reassessed on days 60 and 120 post-application, with tissue samples collected by biopsy from each treated area. Comparative histological analysis revealed a notable increase in collagen matrix density in the dermis, as well as a basophilic presentation of collagen fibers (which are typically acidophilic), especially in areas treated with CaHa (which is basophilic under HE staining), suggesting CaHa dispersion along these fibers. When injected in combination (blend), dermal tissue histology revealed an even larger bundle organization of fibers, reducing the interstitial space. An increase in the density of nuclei of cells adjacent to these bundles was also observed, indicating fibroblast proliferation. Although further studies are needed, the evaluation pointed to a statistically significant increase in collagen fibers in the treatments used, especially in the combination of biomaterials at equivalent doses.

Keywords: Hydroxyapatite; Collagen stimulators; Poly-L-Lactic Acid; Skin elasticity; Dermal regeneration.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Grupos de distribuição randômica
- Figura 2 - Etapas do processo de emarcação de áreas
- Figura 3 - Apresentação do Soro Fisiológico 0,9% utilizado
- Figura 4 - Apresentação e diluição do Ácido Poli-L-láctico utilizado
- Figura 5 - Apresentação e diluição da Hidroxiapatita utilizada
- Figura 6 - Ilustração da área pré-teste e caracterização do punch utilizado
- Figura 7 - Processo de extração tecidual e armazenamento das amostras
- Figura 8 - Imagens histológicas panorâmicas em baixo aumento de áreas pré-teste
- Figura 9 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 1 no D60
- Figura 10 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 1 no D120
- Figura 11 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 2 no D60
- Figura 12 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 2 no D120
- Figura 13 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 3 no D60
- Figura 14 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 3 no D120
- Figura 15 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 4 no D60
- Figura 16 - Imagens histológicas panorâmicas de áreas tratadas da paciente 4 no D120
- Figura 17 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 1 – Área α .
- Figura 18 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 1 - Área β
- Figura 19 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 1 - Área χ
- Figura 20 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 1 - Área Δ
- Figura 21 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 2 – Área α .
- Figura 22 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 2 - Área β
- Figura 23 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 2 - Área χ
- Figura 24 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 2 - Área Δ
- Figura 25 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 3 – Área α .
- Figura 26 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 3 - Área β
- Figura 27 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 3 - Área χ
- Figura 28 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 3 - Área Δ
- Figura 29 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 4 – Área α .
- Figura 30 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 4 - Área β
- Figura 31 - Prancha histológica com grade esteriológica comparativa da paciente 4 - Área χ

Figura 32 - Prancha histológica com grade estereológica comparativa da paciente 4 - Área Δ
Figura 33 - Área tratada com Blend, evidenciando a basofilia de permeiro e hipercelularidade
Figura 34 – Análise estereológica em função do tempo
Figura 35 - Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área α , comparando os 4 pacientes.
Figura 36 – Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área β , comparando os 4 pacientes.
Figura 37 – Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área χ , comparando os 4 pacientes.
Figura 38 - Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área Δ , comparando os 4 pacientes.
Figura 39 – Análise estatística das amostras por ANOVA.

LISTA DE SIGLAS

AD – Água destilada
ANOVA – Análise de variância
CaHa – Hidroxiapatita de cálcio
CEP – Comitê de ética em pesquisa
CMC – Carboximetilcelulose
CRM – Conselho regional de medicina
EVA – Etil, vinil e acetato
FBGC – Células gigantes de corpo estranho
MEC – Matriz extracelular
PLLA – Ácido Poli-L-lático
RNM – Ressonância nuclear magnética
RQE – Registro de qualificação de especialista
TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
SF0,9% - Soro fisiológico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.2. RENNOVA DIAMOND LIDO®	2
1.3. RENNOVA ELLEVA X®	5
1.4. HIPÓTESE.....	6
1.5. ENUNCIADO DO PROBLEMA.....	6
2. OBJETIVOS.....	8
2.1. OBJETIVO GERAL.....	8
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3.1. DESENHO DO ESTUDO.....	9
3.2. TRIAGEM E SELEÇÃO DAS PACIENTES VOLUNTÁRIAS	9
3.2.1. Critérios de Inclusão	9
3.2.2. Critérios de Exclusão:	10
3.3. RANDOMIZAÇÃO E CEGAMENTO.....	10
3.4. DEMARCAÇÃO PARA A APLICAÇÃO DE BIOMATERIAL	11
3.5. ESPECIFICAÇÕES DE DILUIÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS EM CADA ÁREA E A DEVIDA TÉCNICA EMPREGADA.....	12
3.5.1. Área α - Soro Fisiológico 0,9%.....	13
3.5.2. Área B - POLI-L-ÁCIDO LÁCTICO (RENNOVA ELLEVA®).....	14
3.5.3. Área χ – Hidroxiapatia de Cálcio (Rennova Diamond Lido®).....	14
3.5.4. Área Δ - Blend (Rennova Diamond Lido® + Rennova Elleva®).....	15
3.6. SEQUÊNCIA DE INTERVENÇÃO E SEGUIMENTO.....	16
3.6.1. Visita 1 – Triagem e coleta de amostra pré-teste (D-30).....	16
3.6.2. VISITA 2 – INTERVENÇÃO COM OS BIOMATERIAIS INJETÁVEIS (D0).....	17
3.6.3. Seguimento pós-intervenção (D60 e D120).....	18
3.7. MICROSCOPIA ÓPTICA CONVENCIONAL	18
3.8. RISCOS	19
3.9. BENEFÍCIOS.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. PERSPECTIVAS FUTURAS E CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) ..	53
ANEXO 2 – DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA.....	60

1. INTRODUÇÃO

A perda de elasticidade e o afinamento da pele, associados a diversos fatores como o envelhecimento e a distensão mecânica resultante de eventos como gestações e variações ponderais intensas, desempenham um papel significativo nas alterações estruturais observadas na pele de indivíduos com flacidez. Diante disso, os tratamentos atuais concentram-se na restauração do turgor e da elasticidade, buscando um efeito harmônico e natural nos tecidos afetados. Os estimuladores injetáveis de colágeno emergem como uma abordagem amplamente adotada para garantir a reestruturação da pele e dos tecidos moles, de maneira minimamente invasiva, sem a necessidade de recorrer a procedimentos energéticos ou cirúrgicos. A popularidade desses tratamentos é impulsionada pela simplicidade, acessibilidade financeira, eficácia comprovada, rápida recuperação e, acima de tudo, pela segurança proporcionada, notadamente devido à sua biocompatibilidade (SARAH CROWLEY et al., 2021)

A conceituação de biocompatibilidade, no contexto da bioengenharia, aborda a capacidade de provocar uma resposta adequada do hospedeiro para atender a um propósito específico. Tanto para a volumização de partes moles quanto para a indução de neocolagenogênese na derme, é imperativo um processo inflamatório controlado e previsível desencadeado por biomateriais específicos. Para alcançar essa previsibilidade, são necessárias condições como a utilização de biomateriais conhecidos, homogeneidade nas dimensões granulométricas, metodologia sistematizada e pacientes com características orgânicas menos propensas a reações adversas (FITZGERALD; VLEGGAR, 2011; WILLIAMS, 2008).

Os bioestimuladores de colágeno, predominantemente compostos por Hidroxiapatita de cálcio (CaHa), ácido hialurônico (AH) e Poli-L-Ácido Láctico (PLLA), são elementos-chave na prática clínica. A CaHa, uma cerâmica sintética, apresenta uma estrutura notavelmente similar à utilizada em reconstruções ósseas, e possui aplicações diversas em odontologia, oftalmologia e neurocirurgia, devido à sua semelhança com a matriz inorgânica de ossos e dentes. Além de ser biologicamente compatível, degradável e integrável, a CaHa possui um potencial alergênico muito baixo e destaca-se por seu efeito duplo como bioestimulador e preenchedor. O PLLA, um polímero sintético derivado do ácido láctico, inicialmente concebido para volumizar áreas lipodistróficas em pacientes com HIV, provou-se um estimulador eficaz de colágeno dérmico, graças à sua biodegradabilidade mais gradual. Atualmente, é extensivamente utilizado para tratar a perda de suporte tecidual e espessura dérmica em pacientes imunocompetentes (FLAHARTY, 2004; HADDAD et al., 2017; KADOUC, 2017).

De maneira geral, a base farmacocinética do processo neocolagenogênico induzido por esses produtos está relacionada ao mecanismo intrínseco de degradação do biomaterial. Quando em proximidade direta com a derme profunda, esse processo permite a extensão, por contiguidade, do processo inflamatório resultante da degradação aos segmentos dérmicos adjacentes, compostos por fibras colágenas e elastina responsáveis pela sustentação da pele. Isso resulta em um processo fibroplástico nessas áreas, com a deposição de novas fibras elásticas e colágeno. Esse fenômeno aumenta a espessura e elasticidade da derme profunda, impactando positivamente a sustentação e conferindo uma aparência mais jovial à pele como um todo. (ATTENELLO; MAAS, 2015).

Atualmente, os dois principais bioestimuladores de colágeno injetáveis mais amplamente utilizados em diferentes áreas do corpo são a Hidroxiapatita de Cálcio (CaHa) e o Poli-L-Ácido Láctico (PLLA)(AMIRI et al., 2024; CHRISTEN, 2022) . No Brasil, ambos são distribuídos por uma única empresa chamada Rennova (Innovapharma Brasil Farmacêutica Ltda). Esses produtos, conhecidos sob nome comercial como Rennova Diamond Lido® e Rennova Elleva X®, são devidamente autorizados pela ANVISA, com os registros N° 80451960205 e N° 80451960236, respectivamente, em razão da ampla aplicação na prática clínica, foram eleitos como os biomateriais ideais para este ensaio clínico.

1.2.Rennova Diamond Lido®

Por se tratar de um implante projetado para ser aplicado nas camadas subdérmicas e na derme profunda, possui diversas vantagens conforme descrito a seguir: apresentação estéril, apirogênico, viscoso, opaco, classificado como semissólido, além de ser livre de látex e reabsorvível. O princípio ativo do Rennova Diamond Lido se caracteriza por microesferas de hidroxiapatita de cálcio sintético, cuja fórmula se encontra na concentração de 55,7% (equivalente a 30% da razão m/v), correspondendo a 700mg por seringa. Como agente veicular, as microesferas são suspensas em um gel condutor aquoso de carboximetilcelulose (CMC). As vias de aplicação se apresentam como seringa de vidro graduada, preenchida com 1,25 ml de conteúdo, dos quais possui 0,19% de lidocaína para proporcionar efeito anestésico local durante a aplicação. As microesferas de hidroxiapatita de cálcio são integradas a um gel composto principalmente por tampão fosfato, glicerina e CMC. Estas microesferas atuam como uma estrutura de suporte, facilitando o crescimento interno de fibroblastos, que gradualmente depositam componentes na matriz extracelular, ancorando as microesferas. A hidroxiapatita de

cálcio é biodegradável, passando por um processo metabólico semelhante aos detritos ósseos resultantes de fraturas comuns (obtido de: FICHA TÉCNICA RENNOVA DIAMOND LIDO)

Após a aplicação subdérmica, há um aumento volumétrico devido às propriedades reológicas do biomaterial e que desempenha um papel mecanotransdutor uma vez que cargas mecânicas que incidem sobre um tecido são interpretadas pelas células locais como estímulos transmitidos através dos componentes da matriz extracelular (MEC), dos receptores da MEC e das estruturas intracelulares.(HUMPHREY; DUFRESNE; SCHWARTZ, 2014). O gel de CMC é usado como meio dispersor em soluções hidrocolóides injetáveis de PLLA e CaHa devido às suas características que favorecem a hidratação e a dispersão uniforme das microesferas, as quais são subsequentemente degradadas preferencialmente por ação enzimática do que por fagocitose (REQUENA et al., 2011). A CMC é dissipada e absorvida algumas semanas após a introdução no espaço subdérmico, enquanto as microesferas de CaHa permanecem no tecido. A diluição do produto em uma suspensão hidrocolóide possibilita a dispersão mais ampla das microesferas de CaHa, permitindo aplicações superficiais e tratamento de áreas maiores (CARASCHI; CAMPANA FILHO, 1999; CARRUTHERS et al., 2016; FABÍ et al., 2016).

Um consenso de especialistas sugeriu que 1,5mL de uma suspensão semelhante poderia tratar de 100-300cm² de área dérmica. Segundo Yutskovskaya et al, há maior deposição de elastina e colágeno I na derme mesmo sob diluições maiores (até 1:6) com solução salina. Porém, na região abdominal fora demonstrado por estudo ultrassonográfico da derme que as diluições de CaHa a 1:4 já apresentam adequado efeito benéfico ao turgor e elasticidade da pele com apenas 01 sessão (DE ALMEIDA et al., 2019; WASYLKOWSKI, 2015; YUTSKOVSKAYA; KOGAN, 2017).

Ao implantar material exógeno, sob uma óptica geral, desencadeia-se uma variedade de respostas imunes, as quais variam por diversos fatores já descritos. As características do material, seu tamanho e a homogeneidade das partículas desempenham um papel crucial na modulação de várias partes do sistema imunológico adaptativo. O CaHA é geralmente reconhecido como imunologicamente inerte, apresentando recrutamento mínimo e ativação de células imunes. Essa inércia é em parte previsível, dado que os biocerâmicos são amplamente considerados altamente inertes do ponto de vista imunológico. (AGUILERA et al., 2023)

Em um estudo histológico, Lemperle et al. constataram que o CaHA não gerou tecido de granulação nem desencadeou respostas significativas de corpo estranho. O tecido de granulação, frequentemente associado à cicatrização de feridas, é geralmente caracterizado pela formação de colágeno recém-produzido e uma variedade de células inflamatórias

(LEMPERLE; MORHENN; CHARRIER, 2003). Outros autores avaliaram a resposta imunohistoquímica ao CaHA injetado no rosto e descobriram que uma resposta histiocítica leve foi alcançada, com ativação periférica de macrófagos polarizados como pró-inflamatórios (M2) e células gigantes de corpo estranho. Observa-se que a substituição progressiva do gel aquoso de CaHa por um depósito denso de colágeno ocorre de maneira peculiar. Esse processo é predominantemente conduzido pela deposição de colágeno I, otimizando as propriedades mecânicas da pele. Isso contrasta com a deposição precoce de colágeno III, comum em processos cicatriciais fibróticos (BERLIN; HUSSAIN; GOLDBERG, 2008).

Marmur et al. constatou-se uma resposta inflamatória escassa ou inexistente ao preenchimento após 1 mês, embora tenham detectado a presença de macrófagos e células gigantes de corpo estranho (FBGCs). Contudo, após 6 meses, viu-se um aumento significativo na produção de colágeno apesar da notável ausência de células imunes. Adicionalmente, mesmo considerando a degradação homeostática do CaHA, foi notado que a fagocitose mediada por macrófagos representou o principal mecanismo de eliminação (MARMUR; PHELPS; GOLDBERG, 2004). A degradação a longo prazo, impulsionada pela polarização dos macrófagos para o subtipo M2, de característica antiinflamatória, pode potencialmente amplificar uma resposta regenerativa à medida que o CaHA se decompõe. Os macrófagos M2 desempenham um papel crucial na regeneração tecidual, sugerindo benefícios adicionais (BAYRY et al., 2020). Outros estudos também destacaram a posterior deposição de colágeno neoformado, elastina, proliferação de células dérmicas e angiogênese, persistindo até a completa degradação por volta de 9 a 12 meses. Nesse período, o CaHa é devidamente degradado em cálcio e fosfato, sendo excretado através dos rins (COLEMAN et al., 2008; LOGHEM; YUTSKOVSKAYA; WERSCHLER, [s.d.]; SILVERS et al., 2006; TZIKAS, 2008)

A aplicação de CaHa é reconhecida por induzir uma maior produção e deposição de colágeno tipo I e elastina, promovendo uma proliferação fibroblástica mais acentuada e uma função contrátil cutânea superior em comparação com o ácido hialurônico. Esses efeitos na estrutura dérmica abdominal já se manifestam notavelmente, resultando no espessamento da derme e, conseqüentemente, na redução da flacidez em cerca de 5 semanas após a aplicação (COURDEROT-MASUYER et al., 2016; YUTSKOVSKAYA; KOGAN; LESHUNOV, 2014). Um estudo baseado na análise dos tecidos subcutâneos por ressonância nuclear magnética (RNM) confirmou que o espessamento dérmico pode persistir por até 2 anos e meio após o procedimento, mesmo após a completa absorção da CaHa (PAVICIC, 2015).

1.3.Rennova Elleva X®

Este é composto de 630mg de PLLA disposto em micropartículas de 40-63µm na sua forma liofilizada, 396mg de CMC e 534mg de manitol apirogênico. Deve ser, segundo as especificações da fabricante, reconstituído com água destilada (AD) durante o período mínimo de 01 hora, visando adequada hidratação e formação de uma suspensão hidrocoloide homogênea. Esta apresentação tem como vantagem a liofilização fora do frasco, permitindo uma menor compactação e facilitação do material em forma de suspensão.

É importante frisar que, se o tempo de hidratação não for adequado ou a manipulação durante a reconstituição for inadequada, não haverá formação da suspensão de PLLA, acarretando maior incidência de entupimento da cânula devido formação de macroagregados de soluto e aumento na incidência de nodulações devido a hidratação *in vivo* destes macroagregados hiperosmolares residuais (FITZGERALD et al., 2018). A forma de reconstituição recomendada em bula e a mais bem estudada atualmente é a diluição de todo o frasco em AD de modo a obter a dose de 7,5mg/mL. Porém, o tempo de hidratação adequado das formulações de PLLA seguem sob controvérsia na literatura, sendo aceito preparações com tempo de hidratação mínimo de 02 a 24h, sendo esse último o mais recomendado (BREITHAUPT; FITZGERALD, 2015). Uma volumização se dará devido a distensão mecânica dos tecidos imediatamente após a injeção, o que se dissipará dentro de alguns dias.

O tamanho dessas micropartículas de PLLA (40-63µm) garante que estas possuam dimensões incompatíveis com sua rápida absorção por fagocitose dos macrófagos M1 da pele, bem como não favorecem sua condução pelos capilares, no entanto, são suficientemente menores para viabilizar a injetabilidade em agulhas de fino calibre em torno de 27 Gauge (LEMPERLE; DE FAZIO; NICOLAU, 2006). Logo após a injeção do PLLA, é disparado um processo inflamatório subclínico, ou seja, de grau leve de forma que não sejam necessárias intervenções medicamentosas para seu controle. Assim, o tecido adjacente à região implantada, promove o encapsulamento das partículas de PLLA e subsequente fibroplasia local, com deposição de colágeno tipo I na matriz extracelular (RATNER; BRYANT, 2004).

1.4.Hipótese

Apesar de desencadear um mecanismo de inflamação subclínica nos segmentos dérmicos profundos, os diversos bioestimuladores injetáveis de colágeno disponíveis comercialmente suscitam a crença de que há uma diferença mensurável na proliferação dos elementos da matriz extracelular ao longo do tempo pós-intervenção, e que tal proliferação seria constatável ao estudo por microscopia convencional. Adicionalmente, devido às características inerentes aos biomateriais em estudo, pode ocorrer um efeito aditivo nessa proliferação da matriz. Essa condição não apenas evidenciaria a eficácia terapêutica tanto do Poli-L-Ácido Lático quanto da Hidroxiapatita de cálcio, mas também destacaria a sinergia entre ambos na busca por uma estrutura dérmica ainda mais significativa, refletindo positivamente no tratamento da flacidez cutânea.

1.5.Enunciado do problema

Nas últimas décadas, observa-se uma significativa evolução no conhecimento no âmbito da cosmiatria e cosmetologia, especialmente no último quinquênio. Essa evolução tem sido marcada por um aumento no uso de substâncias biodegradáveis para tratamentos injetáveis minimamente invasivos destinados a diversas condições corporais, como a perda de volume nos compartimentos adiposos faciais e a flacidez dos componentes dérmicos corporais, resultantes de diversos fatores.

A preferência por essas substâncias se manifesta em casos de flacidez cutânea leve ou moderada. Inicialmente, essa escolha surge como uma alternativa para evitar procedimentos cirúrgicos mais invasivos, que demandam um tempo de recuperação prolongado. Além disso, a opção por tratamentos minimamente invasivos também visa mitigar o impacto financeiro associado aos procedimentos cirúrgicos, assim como evitar o afastamento prolongado das atividades laborais.

Com o objetivo de aprimorar continuamente as alternativas de tratamentos minimamente invasivos, a indústria farmacêutica tem investido no aperfeiçoamento e na diversificação das opções terapêuticas eficazes nesses procedimentos. Um exemplo desse avanço é a incorporação de anestésicos locais nas formulações, proporcionando aplicações mais toleráveis aos pacientes sem comprometer a eficácia dos processos teciduais (GRUNEBaum; ELSAIE; KAUFMAN, 2010).

Apesar do amplo uso de injetáveis no tratamento da flacidez cutânea na atualidade e do reconhecimento das repercussões teciduais proporcionadas por esses materiais, os

mecanismos bioquímicos, celulares e histológicos desses tratamentos ainda estão sendo elucidados. Dentro deste contexto, a progressão da compreensão científica, baseada em evidências e não meramente nos relatos de satisfação dos pacientes tratados ou nas experiências profissionais empíricas de forma individual ou coletiva, pode identificar as reais transformações no retorno estrutural da derme. Deste modo, a abordagem mais refinada pode favorecer a aplicação individualizada na prática clínica, proporcionando uma escolha terapêutica mais precisa e acurada, além de ser possível determinar os intervalos terapêuticos com mais precisão.

Dessa forma, sabemos que as análises comparativas entre biomateriais com propriedades neocolagênicas em humanos ainda são praticamente inexistentes, o que dificulta o estabelecimento de diretrizes bem embasadas cientificamente para a escolha do bioestimulador de colágeno mais adequado para cada paciente, nos forçando a recorrer a consensos de especialistas existentes da literatura. Portanto, o direcionamento deste estudo envolve a identificação dos efeitos diretos da injeção de PLLA e de CaHa combinados ou não no incremento da síntese de colágeno pela pele flácida do abdômen de pacientes que serão submetidos posteriormente à abdominoplastia.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Comparar a efetividade por até quatro meses após tratamento da flacidez cutânea através de análise histológica convencional, quanto a evolução cronológica da densidade das fibras e feixes de colágeno contidos na matriz cutânea em situações de exposição individual ao CaHa, PLLA e na combinação de ambos.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar o percentual de incremento da densidade de colágeno tipo I nas dermes tratadas em relação aos controles.
- Analisar as áreas tratadas de forma comparativa e investigar a possibilidade de ocorrência de efeito somatório entre CaHa e PLLA, em comparação ao tratamento isolado de ambos materiais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Desenho do estudo

Ensaio clínico unicêntrico aberto e randomizado, aprovado pelo CEP/PUC sob o CAAE: 65413722.1.0000.5373, para realização do procedimento de injeção dos bioestimuladores alvo deste estudo, em 04 pacientes do sexo feminino. Os procedimentos foram desenhados para serem realizados no retalho abdominal que será posteriormente retirado em procedimento de dermolipectomia abdominal, a fim de não gerar cicatrizes permanentes nas pacientes em razão das biopsias realizadas. Todo o procedimento experimental clínico foi realizado pelo médico responsável pelo projeto sob registros CRM 177851 e RQE 94569, sendo este para obtenção de título de mestre do aluno Pedro Ivo Romani de Oliveira Gonçalves, médico cirurgião plástico e mestrando pelo Programa de Mestrado Acadêmico em Biomateriais e Medicina Regenerativa da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Campus Sorocaba. A abordagem clínica ocorreu em clínica privada de Cirurgia Plástica (Clínica IZ), situada na cidade de São Paulo/SP. Já o processamento dos materiais, tecidos e a análise estatística foram realizados no Laboratório de Biomateriais em parceria com o Laboratório de Patologia, ambos da PUC-SP.

3.2.Triagem e seleção das pacientes voluntárias

Para a realização deste ensaio clínico foram selecionadas 04 pacientes voluntárias do sexo feminino, com idades entre 20 e 40 anos, que possuem flacidez cutânea abdominal de leve a moderada por quaisquer causas, e que se encontram em programação para realização de dermolipectomia abdominal. Tais pacientes foram submetidas aos critérios de inclusão e exclusão (vide respectivos itens) na visita inicial ocorrida 30 dias antes das intervenções com os bioestimuladores (denominada como D-30). Apesar da duração da participação da paciente no estudo ter sido de até 120 dias, uma paciente que desejou ser submetida a dermolipectomia abdominal antes do término do estudo, foi automaticamente excluída do mesmo para que não fosse prejudicada por aguardar o término do estudo, assim outra paciente foi eleita para compor o total de 04 pacientes do estudo compondo um período de 120 dias totais após a intervenção.

3.2.1. Critérios de Inclusão

- Flacidez cutânea abdominal em via de abdominoplastia;
- Mulheres entre 20 e 40 anos de idade, concordantes com o termo de consentimento (TCLE);

- Fototipos I a VI (classificação de Fitzpatrick);
- Ausência de doenças ou lesões (cutâneas inclusive) que possam interferir na avaliação;
- Utilização de método anticoncepcional por voluntárias em idade fértil;
- Capacidade plena de seguir as visitas e a terapêutica indicada;
- Ausência de histórico alérgico a bioestimuladores e bioestimulação prévia nos últimos 2 anos.

3.2.2. Critérios de Exclusão:

- Ausência de indicação clínica de bioestimulador no abdome;
- Gestantes e/ou lactantes;
- Uso de medicação/cosmético proibido para o estudo;
- Histórico de distúrbio mental ou instabilidade emocional;
- Qualquer doença sistêmica não controlada ou hipersensibilidade a fórmula;
- Portador de implante aloplástico ou inabsorvível no abdome;
- Presença de doenças e/ou lesões (cutâneas inclusive) que possam interferir na avaliação;
- Uso de substâncias ilícitas e/ou dependência química;
- Tendência a formação de quelóide e/ou cicatrizes hipertróficas;
- Outras razões julgadas como risco ao voluntário ou que interfiram nos objetivos/resultados.

3.3. Randomização e Cegamento

A randomização foi realizada pelo software online Nuvemshop®, que distribuiu as voluntárias em quatro grupos de 1-4, sendo que cada grupo contou com uma voluntária.

Inicialmente cogitou-se a possibilidade de cegamento do estudo, porém, após a constatação que a obtenção de resultados fidedignos não seria afetada pelo conhecimento dos materiais pelos participantes já que todas as análises que foram realizadas nesse estudo geraram resultados puramente objetivos e que não são passíveis de nenhuma subjetividade antes da análise estatística, foi optado pelo não cegamento do estudo, e sim pela manutenção das codificações inicialmente propostas (conforme Tabela 1), para facilitar os processos de intervenção e coleta.

Tabela 1- Codificações dos biomateriais utilizados.

Soro Fisiológico (SF0,9%)	α
Poli-L-ácido láctico (PLLA)	β
Hidroxiapatita de cálcio (CaHa)	χ
Mistura CaHa e PLLA (Blend)	Δ

3.4.Demarcação para a aplicação de biomaterial

Visando esquivar eventual variação anatômica ou demais fatores teciduais locais quanto a interferência no resultado das análises, em cada grupo, os biomateriais foram aplicados em áreas diferentes, conforme ilustra a Figura 1.

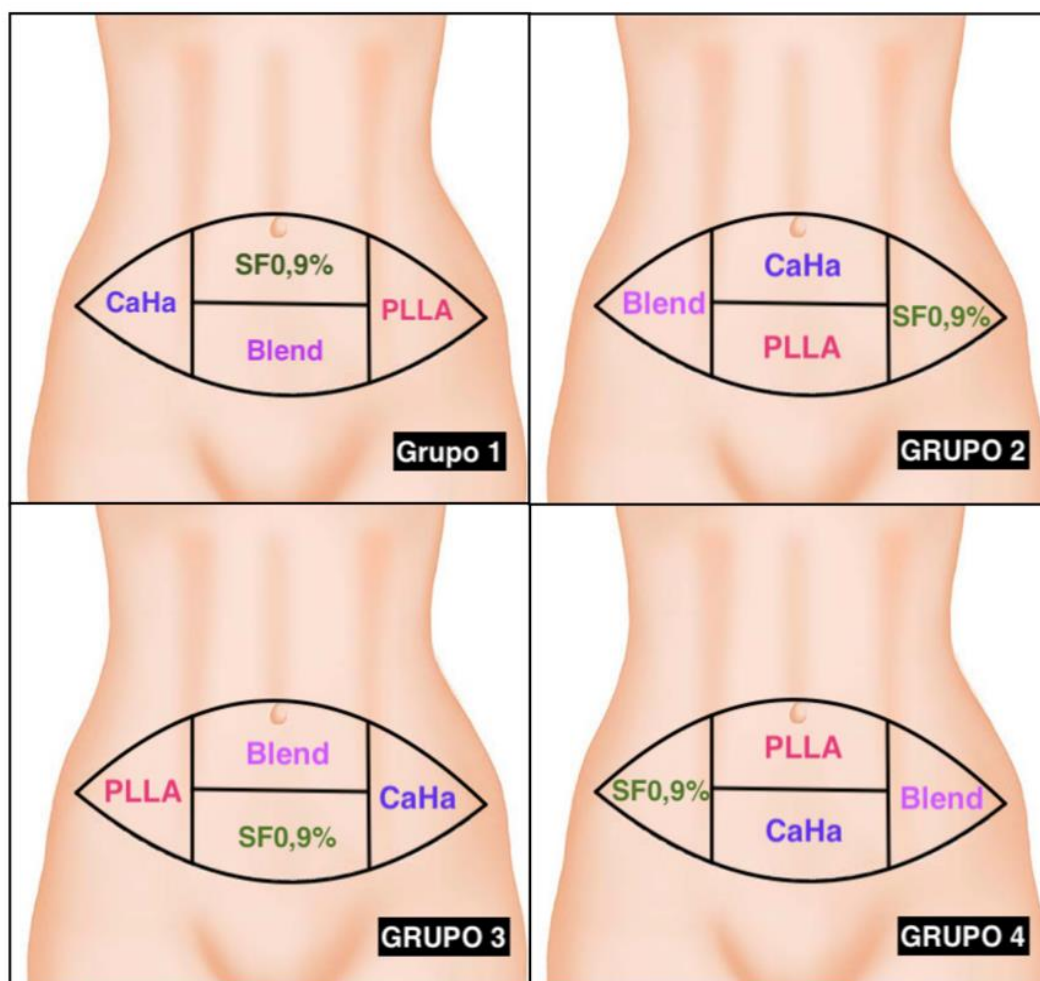


Figura 1 – Identificação das áreas abdominais a serem submetidas a intervenção, com os respectivos grupos de distribuição em áreas distintas a serem tratadas.

Com o objetivo de garantir uma aplicação precisa conforme as delimitações delineadas na figura anterior, foram elaborados moldes individuais de EVA, cada um com cores distintas para cada voluntária. Essa abordagem visa prevenir equívocos nas marcações e áreas codificadas (vide Figura 2), proporcionando uma orientação visual clara e eficaz durante o procedimento.

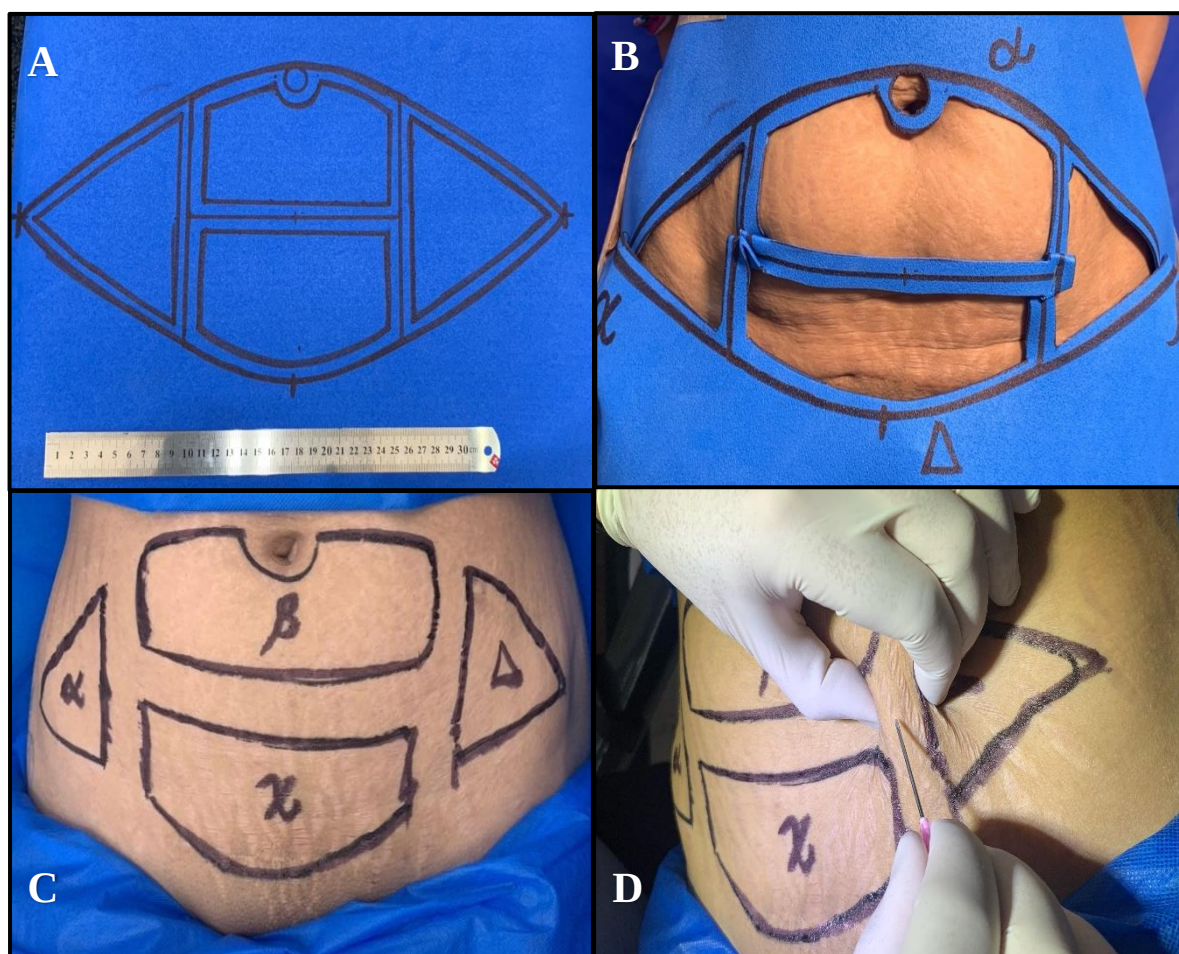


Figura 2 – Sequência de fotografias demonstrando as etapas no processo de demarcação das áreas a serem tratadas. (A) Confecção de moldes de mesmas dimensões para todas as pacientes, somente mudando a cor para cada uma. (B) Exemplo de aplicação do molde a paciente. (C) Aspecto final da marcação da pele com caneta específica após retirada do molde. (D) Demonstração da facilidade técnica gerada pela marcação.

3.5. Especificações de diluição dos materiais utilizados em cada área e a devida técnica empregada

3.5.1. Área α - Soro Fisiológico 0,9%

Na região selecionada para a aplicação de 10 ml de soro fisiológico a 0,9% (como mostrado na Figura 3), o principal objetivo foi estabelecer um grupo controle ativo (ou placebo). Esta escolha se baseou no fato de que o soro fisiológico é prontamente absorvido e não desencadeia o processo desejado de neocolagênese. Optamos por essa abordagem para reduzir qualquer possível viés decorrente do leve trauma causado pela inserção da agulha e pela dissecação mecânica do tecido durante a injeção, visando assim uma comparação mais precisa entre os grupos de tratamento e controle. Essa estratégia, além de promover uma interpretação confiável dos resultados, também mantém a integridade metodológica do estudo.

É importante salientar que em estudos científicos que visam avaliar a eficácia de intervenções terapêuticas, a inclusão de um grupo controle ativo desempenha um papel fundamental na obtenção de resultados robustos e na interpretação precisa dos dados. Este grupo é essencial para fornecer um ponto de referência comparativo, permitindo diferenciar os efeitos específicos da intervenção em estudo dos efeitos que podem ocorrer naturalmente ou devido a outros fatores. A presença de um grupo controle ativo também ajuda a minimizar vieses devido à expectativa do pesquisador ou dos participantes, fornecendo assim uma base sólida para a inferência causal. Além disso, o grupo controle ativo pode ajudar a garantir a validade interna do estudo, fornecendo uma medida da variação natural ou do curso natural da condição em estudo ao longo do tempo. Portanto, a inclusão de um grupo controle ativo é crucial para garantir a robustez e a confiabilidade dos resultados deste estudo.

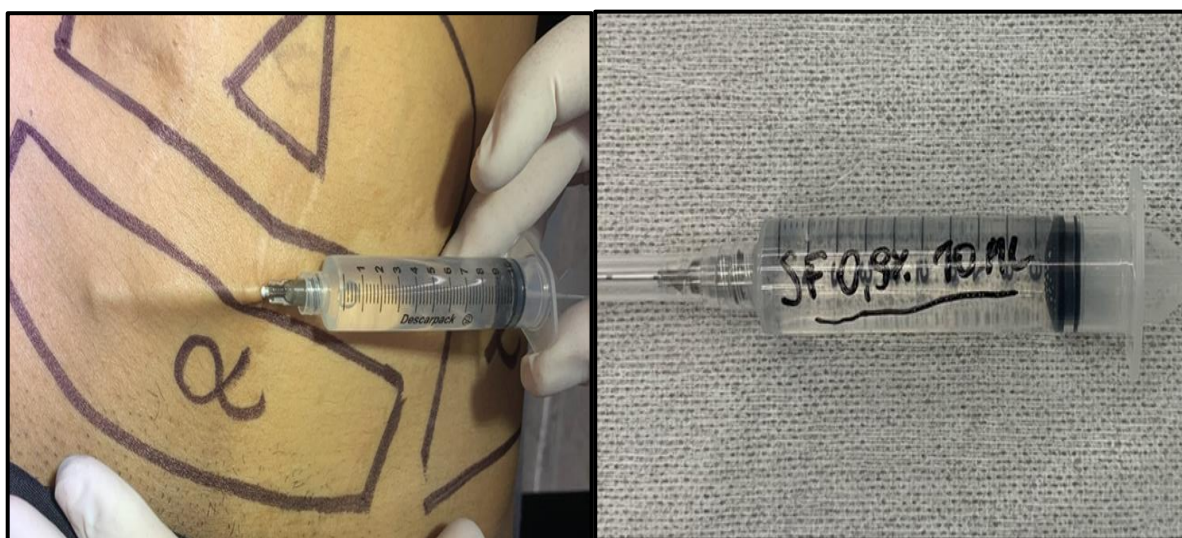


Figura 3 – Exemplificação do procedimento como foi realizado (à esquerda) e a apresentação do Soro Fisiológico 0,9% utilizado para tratamento das áreas (à direita), para fins de controle.

3.5.2. Área β - Poli-L-Ácido Lático (Rennova Elleva®)

O frasco contendo 630 mg do princípio ativo liofilizado foi reconstituído uma hora antes do procedimento, utilizando-se 38 mL de água destilada. A esta solução, adicionou-se 2 mL de lidocaína (2%) sem vasoconstritor, resultando em uma solução com uma concentração de 15,75 mg/mL do princípio ativo. Em seguida, 10 mL dessa solução (conforme mostrado na Figura 4) foram injetados na região designada, que possui uma área total de cerca de 21 cm², alcançando assim a dose terapêutica descrita na literatura de 7,5 mg/cm².

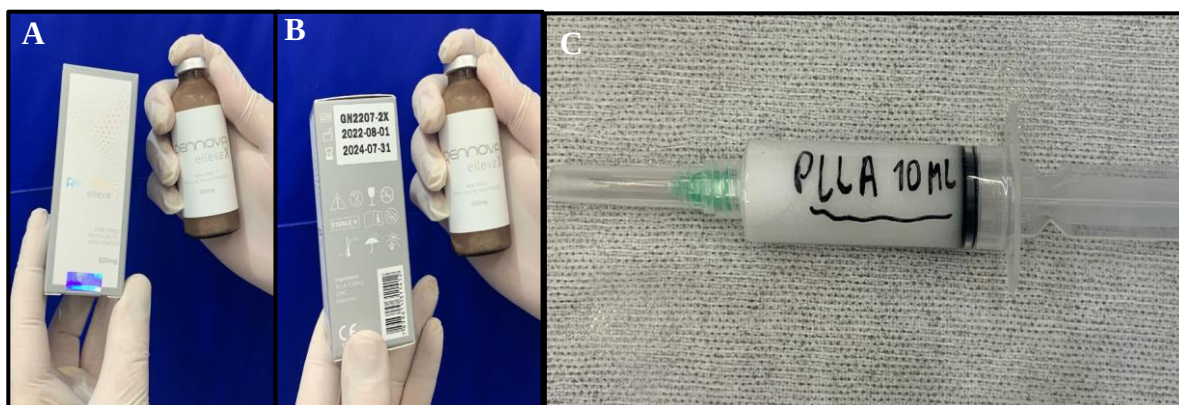


Figura 4 – Apresentação do PLLA contendo 630mg em pó liofilizado (A e B). Medicamento já reconstituído em seringa de 10ml e pronto para aplicação no devido segmento de área (C).

3.5.3. Área χ – Hidroxiapatita de Cálcio (Rennova Diamond Lido®)

A dose prescrita para este estudo, administrada na região inferior do abdome, consiste em uma seringa (1,25 mL) de CaHa diluída em proporção de 1:1 com soro fisiológico. Devido à presença de anestésico local (lidocaína 0,3%) na formulação de CaHa, nenhum outro anestésico foi adicionado durante a aplicação. Assim como na administração do Rennova Elleva, utilizou-se a técnica de deposição do biomaterial por meio de um gabarito pré-fabricado, seguindo uma distribuição em leque (conforme ilustrado na Figura 5). Um total de 2,5 mL dessa solução foi injetado na derme profunda utilizando uma cânula de 25G, cobrindo uma área de aproximadamente 100 cm², alcançando a dose especificada na literatura.

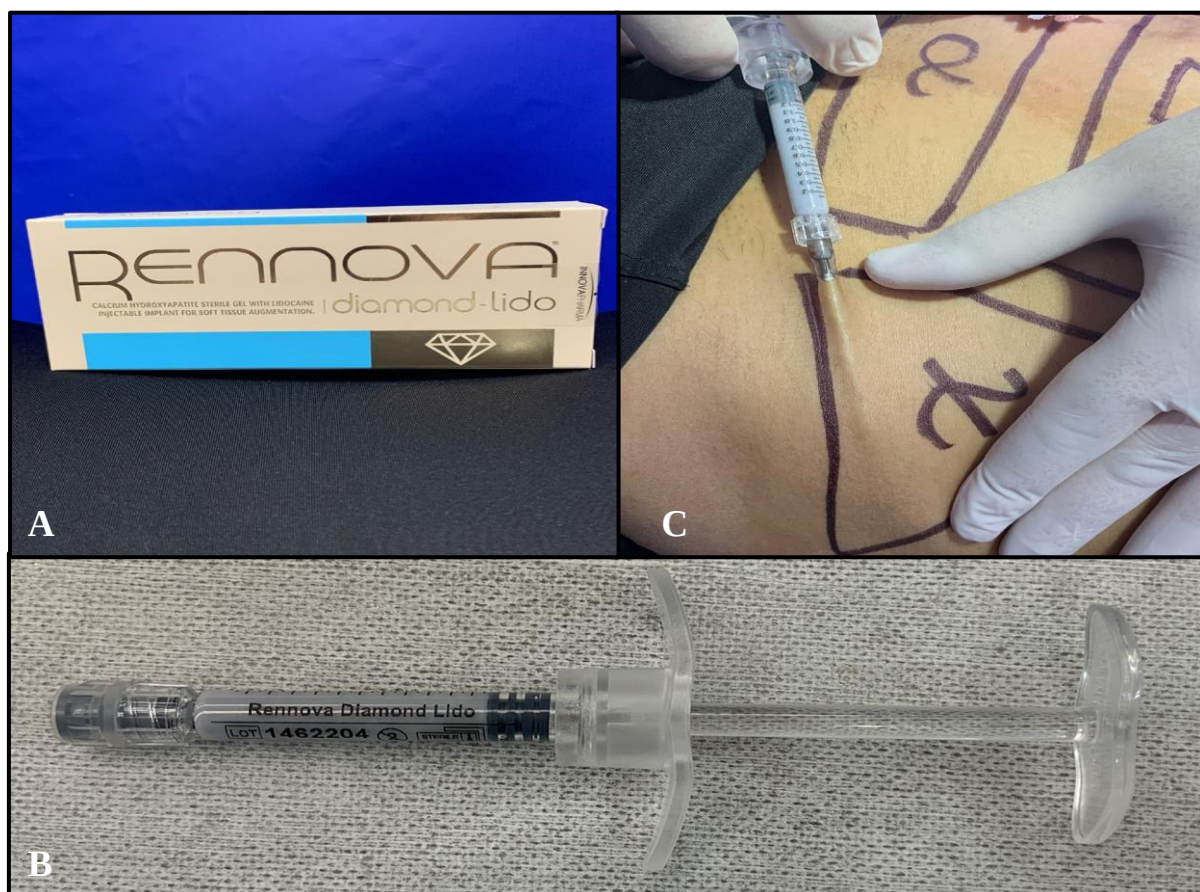


Figura 5 – A - Apresentação comercial da Hidroxiapatita de cálcio utilizada. B – Seringa de 1,25ml já com diluição 1:1 (foram utilizadas 2 dessa). C – Método de aplicação em leque guiado por gabarito.

3.5.4. Área Δ - Blend (Rennova Diamond Lido[®] + Rennova Elleva[®])

Nesta área designada, optou-se pela aplicação conjunta de ambos os compostos previamente utilizados, visando a elucidação de eventual efeito sinérgico na neocolagênese tecidual. As doses e distribuições foram iguais às previamente citadas para cada material, porém pela metade da dose total de cada área – 5ml da solução de PLLA e 1,25ml da solução de Caha, diluídos em uma única seringa. É importante ressaltar que não há na literatura histórico de reação adversa e/ou de interação entre tais materiais que contraindiquem seu uso simultâneo, desde que respeitando-se os limiares de toxicidade, os quais estão muito distantes das doses totais empregadas neste estudo.

3.6. Sequência de Intervenção e Seguimento

3.6.1. Visita 1 – Triagem e coleta de amostra pré-teste (D-30)

Durante esta primeira consulta, o pesquisador conduziu uma anamnese detalhada e realizou um exame físico minucioso para verificar se as pacientes atendiam aos critérios de inclusão e exclusão do estudo. Após constatar que as quatro pacientes selecionadas preenchiam os requisitos para participação, elas receberam uma explicação abrangente sobre os detalhes e objetivos da pesquisa. Uma vez que concordaram em participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (vide Anexo 2). Em seguida, as voluntárias foram alocadas em grupos de 1 a 4, conforme previamente descrito. Posteriormente, foram submetidas a uma biópsia cutânea utilizando um punch asséptico de 5 mm, sob anestesia local, na área neutra do abdome inferior, mais precisamente na região imediatamente caudal à cicatriz umbilical (conforme ilustrado na Figura 6). Essa localização foi escolhida por não interferir nas aplicações subsequentes, na realização de outras biópsias e por também ser uma área que seria removida durante a dermolipectomia. As amostras de tecido foram então armazenadas em frascos tipo Eppendorf contendo 3 mL de Paraformaldeído a 4%, garantindo a fixação adequada do material (vide Figura 7). Essas amostras são fundamentais para o estudo estereológico da distribuição de espessamentos fibrilares na derme por meio de microscopia óptica convencional, proporcionando uma análise precisa dos resultados.

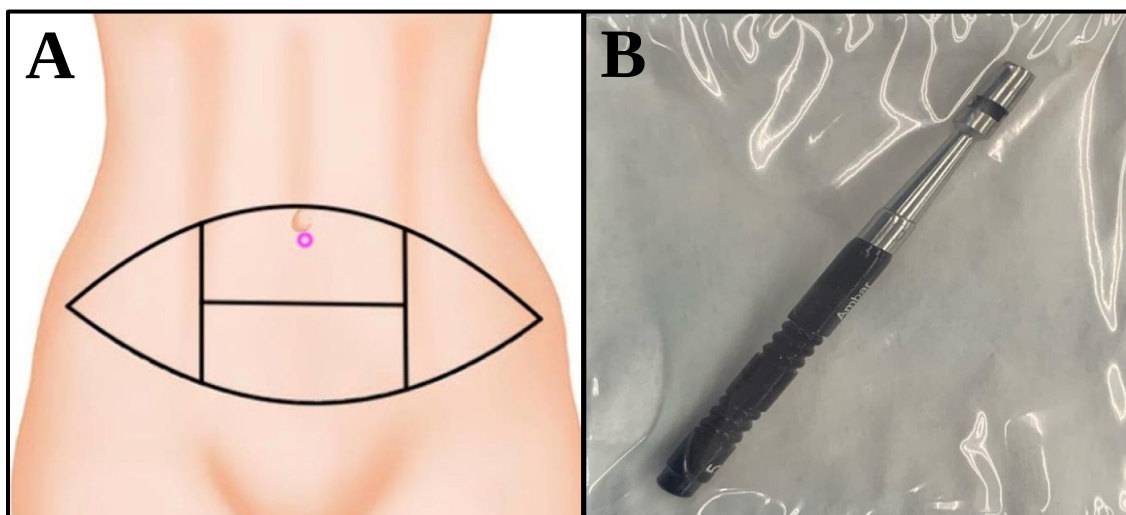


Figura 6 – A: esquema ilustrativo da área de biópsia incisional pré-teste, em região imediatamente caudal a cicatriz umbilical. B: Punch de 5mm utilizado para realizar a coleta de material destinado à análise pré-teste (D-30).

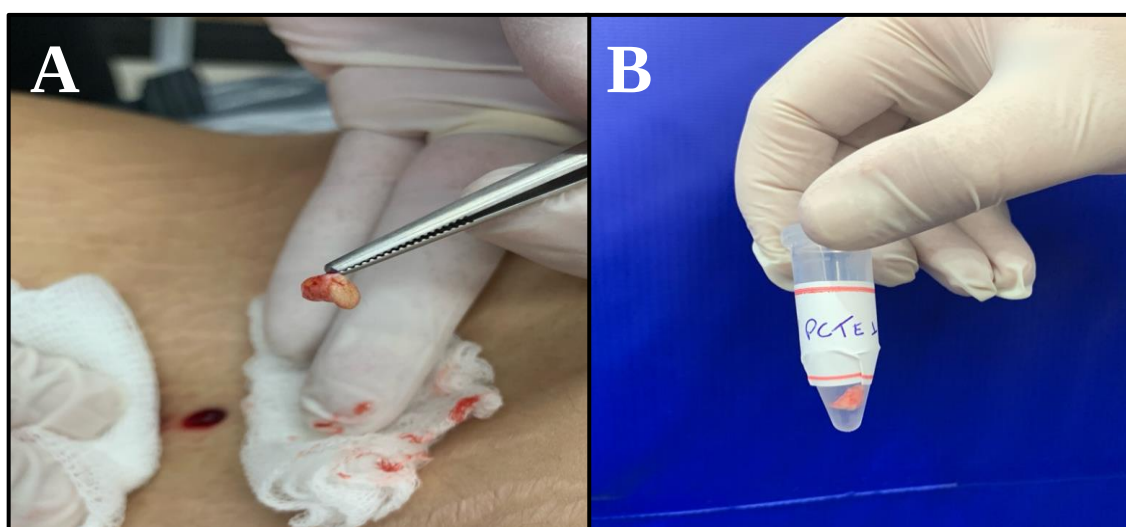


Figura 7 – A: Amostra de tecido, evidenciando espessura em pele total. B: Quando retirado, o tecido foi armazenado em Eppendorf com 3ml de Paraformaldeído a 4% para devida fixação.

3.6.2. Visita 2 – Intervenção com os biomateriais injetáveis (D0)

De acordo com o modelo de randomização previamente estabelecido, foi conduzida uma sessão (D0) de preenchimento subdérmico adjacente à derme profunda, seguindo rigorosa técnica asséptica e utilizando os bioestimuladores especificados no estudo, em conformidade com a abordagem de intervenção detalhada anteriormente. A área de tratamento limitou-se à pele do andar inferior do abdome, a qual foi subdividida em quatro regiões de igual extensão superficial, cada uma destinada a receber um dos materiais mencionados anteriormente. A aplicação foi realizada exclusivamente pelo pesquisador, médico cirurgião plástico especialista devidamente treinado, utilizando um método padronizado e guiado por um gabarito plástico pré-fabricado e individualizado.

Ao término da visita, após fornecer orientações detalhadas sobre os cuidados a serem seguidos pelas voluntárias durante o estudo, o pesquisador entregou o "Diário da Voluntária" (vide Anexo 3), o qual foi preenchido diariamente por elas até o retorno para a próxima consulta (ocorrida aos 60 dias após a intervenção, para a extração dos tecidos das áreas tratadas - D60). Neste diário, as voluntárias foram instruídas a registrar qualquer sintoma incomum que pudessem ter percebido após a aplicação do produto, bem como todas as medicações e cosméticos utilizados. Não foram relatadas quaisquer intercorrências até o D60, indicando uma resposta satisfatória ao tratamento até o momento.

3.6.3. Seguimento pós-intervenção (D60 e D120)

As voluntárias foram orientadas quanto aos cuidados pós-procedimento a serem realizados, que foram: realizar limpeza local com água e sabão regularmente e aplicação de Dersani® (ou similar) a cada seis horas nas áreas de punch até a retirada do ponto em 1 semana. As pacientes foram ainda instruídas pelo pesquisador sobre qual analgésico pode ser utilizado em caso de dor local, se necessário. Estas foram acompanhadas após a aplicação dos bioestimuladores nos seguintes dias: 60 e 120, finalizando com um total de quatro visitas. Em cada uma das duas visitas de seguimento pós-intervenção, as pacientes voluntárias foram submetidas à extração, sob anestesia local, de segmento de pele em espessura total por punch medindo 5mm de diâmetro, em cada área tratada, seguida de síntese da pele através de ponto único de nylon 6-0. Este ponto foi retirado dentro de 1 semana, visando evitar que o fechamento por segunda intenção interferisse no comportamento da matriz cutânea nesse período.

Tal punch foi escolhido para obtenção de material suficiente para a análise histológica, com mínima repercussão estética e funcional a paciente durante o seguimento. É importante reiterar que tal retirada de tecido foi realizada em áreas de pele que serão extraídas em sua totalidade durante a dermolipectomia abdominal posterior. Convencionou-se delimitar duas áreas extras caso a amostra inicial seja insuficiente. Cada fragmento de tecido foi fixado em paraformaldeído a 4% e processado em bloco de parafina, posteriormente cortado para formação de lâminas histológicas especificamente preparadas para estudo histológico por microscopia óptica convencional (MOC).

3.7. Microscopia óptica convencional

Uma vez que os tecidos foram devidamente processados, fixados em paraformaldeído, corados com Hematoxilina-Eosina (H&E) e produzidas as lâminas histológicas, cada região foi analisada por um profissional diferente do responsável pelas aplicações, através de microscopia óptica convencional utilizando microscópio convencional pela técnica de campo claro (Nikon Eclipse E800 acoplado com câmera Nikon DS-Ri1 associada a interface digital pelo software NIS) situado no Laboratório de Biomateriais da PUC-SP, campus Sorocaba. A análise da morfologia da pele foi incrementada pela técnica de quantificação por estereologia em grade com 108 pontos de intersecção equidistantes em 100µm, compreendendo uma área total de 10.800µm², em que foi realizada uma avaliação ponto a ponto da convergência das grades e fim de avaliar os pontos que convergem identificando o espessamento das fibras colágenas. As áreas foram escolhidas randomicamente de um determinado campo dérmico compreendido tanto no

pré-teste quanto nos fragmentos retirados no D60. A mesma idéia se deu na análise dos fragmentos extraídos na última visita, no D120. As áreas de controle do pré-teste foram repetidas para fim de comparação ao D60, uma vez que este possui 4 áreas distintas de avaliação (α , β , χ e Δ).

3.8.Riscos

Apesar de pouco frequente, poderia ter ocorrido reações alérgicas leves caracterizadas por vermelhidão, formação de pequenos nódulos e edema local – porém, não houve tal relato.

3.9. Benefícios

Os benefícios pertinentes a dermatologia e a cirurgia plástica decorrentes deste estudo são evidentes, visto que o conhecimento relativo a eficácia terapêutica comparativa das formulações de Hidroxiapatita de Cálcio e Poli-L-Ácido láctico já validadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), assim como as variadas formulações de bioestimuladores injetáveis atualmente disponíveis no mercado, traz notórios benefícios na decisão clínica cientificamente bem embasada sobre qual opção melhor indicada de bioestimulador a ser utilizado individualmente em procedimentos de rejuvenescimento cutâneo não cirúrgico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em primeira análise, por microscopia óptica convencional, foram realizadas imagens panorâmicas dos cortes histológicos das amostras pré-teste em D-30 e das áreas tratadas em D60 e D120 (Figuras 8-16), seguida da determinação quantitativa de áreas de espessamento de feixes de matriz colágena através de análise por grade estereológica com 108 pontos de intersecção equidistantes em 100 μ m, compreendendo uma área total de 10.800 μ m².

Nesta análise inicial, foi constatado que em todas as 04 voluntárias o comportamento dos feixes colágenos fora semelhante (Figuras 17-32), com quase nenhuma alteração do pré-teste (D-30) em relação às áreas α tratadas com Soro Fisiológico 0,9%, no entanto houve aumento pareadamente moderado da espessura dos feixes nas áreas β e χ (PLLA e CaHa, respectivamente) e notável aumento da espessura e concentração de feixes colágenos diminuindo o espaço intersticial nas áreas Δ , tratadas com Blend de PLLA e CaHa em doses equivalentes.

Nas áreas tratadas com PLLA e CaHa, mas em especial nas áreas tratadas com o Blend, constatou-se aumento importante da celularidade adjacente às fibras, sendo um forte indicativo da proliferação fibroblástica nestes tecidos. Além disso, uma característica peculiar observada foi que, nas áreas tratadas com CaHa (χ e Δ), notou-se a presença de basofilia permeando as fibras e feixes colágenos que possuem uma propriedade química de ligação à eosina de caráter acidófilo, portanto há um indicativo de presença de material basofílico nestas regiões - sugerindo um acúmulo residual difuso de hidroxapatita de cálcio que, embora não visível morfológicamente, se dispersou de maneira heterogênea em determinadas porções teciduais (Figura 33).

Tais regiões mais basófilas associadas ao colágeno, não foram representativas nas amostras D-30, sendo que tanto as amostras obtidas no D-30, D60 e D120 foram processadas em igualdade de parâmetros técnicos e, por este motivo, foi descartada a possibilidade de ser um artefato de processamento. É importante ressaltar ainda, que não foram encontradas estruturas alusivas a cistos, células gigantes típicas de corpo estranho nem tecido de granulação.

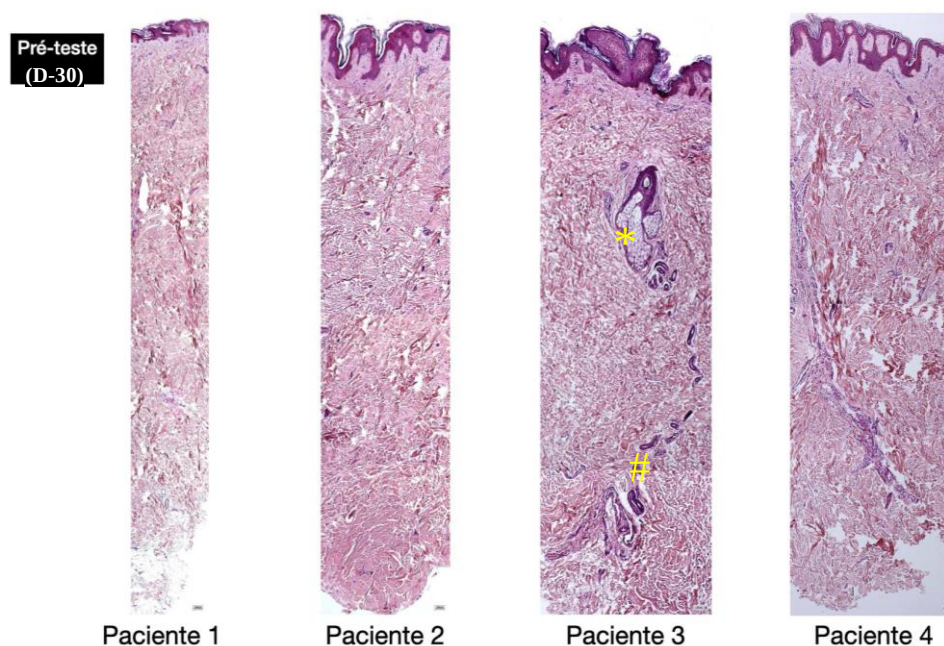


Figura 8 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão da área biopsiada, no momento D-30 (Pré-teste), antes de qualquer intervenção de bioestimulador. Nota-se no paciente 3, uma glândula sebácea (*) e uma sudorípara (#) estão evidentes.

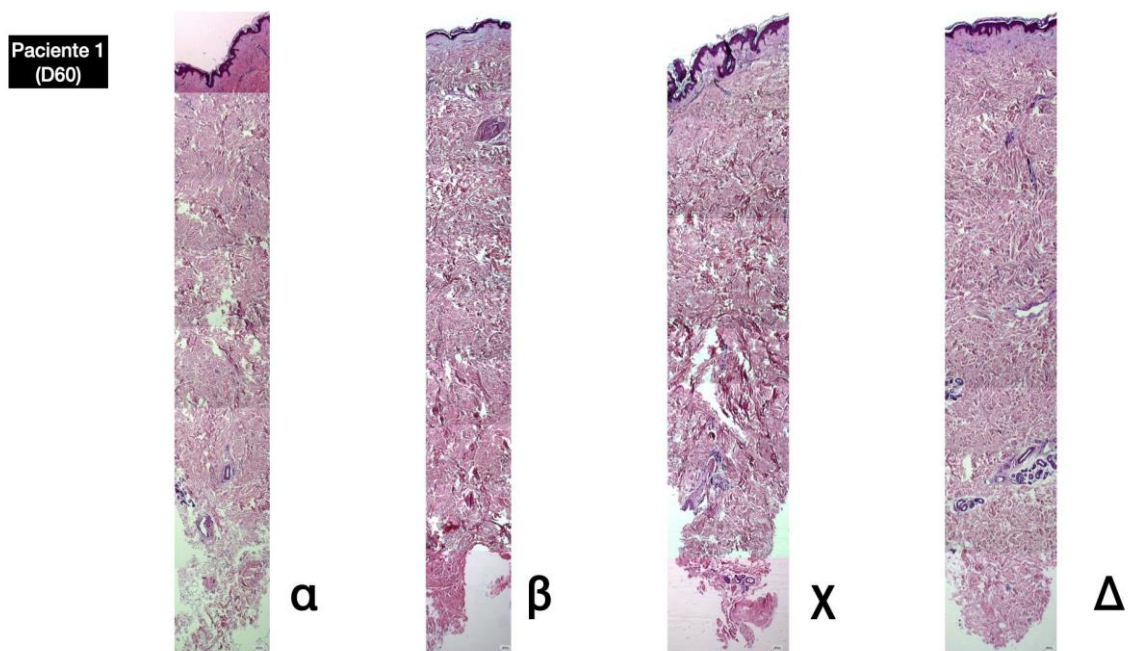


Figura 9 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 1, no momento D60, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

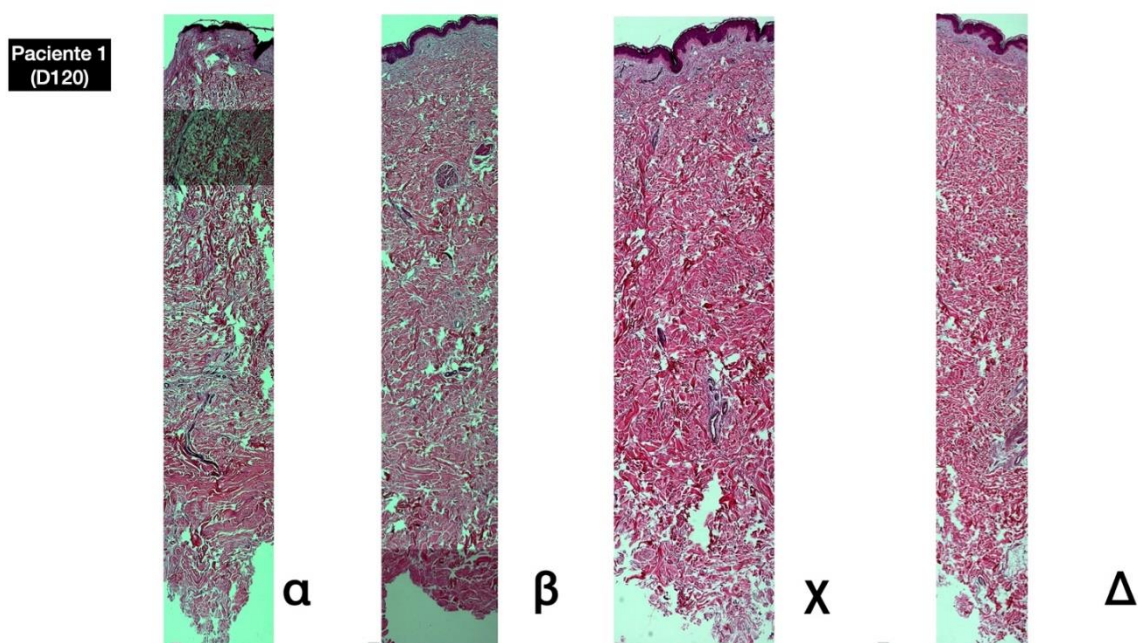


Figura 10 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 1, no momento D120, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

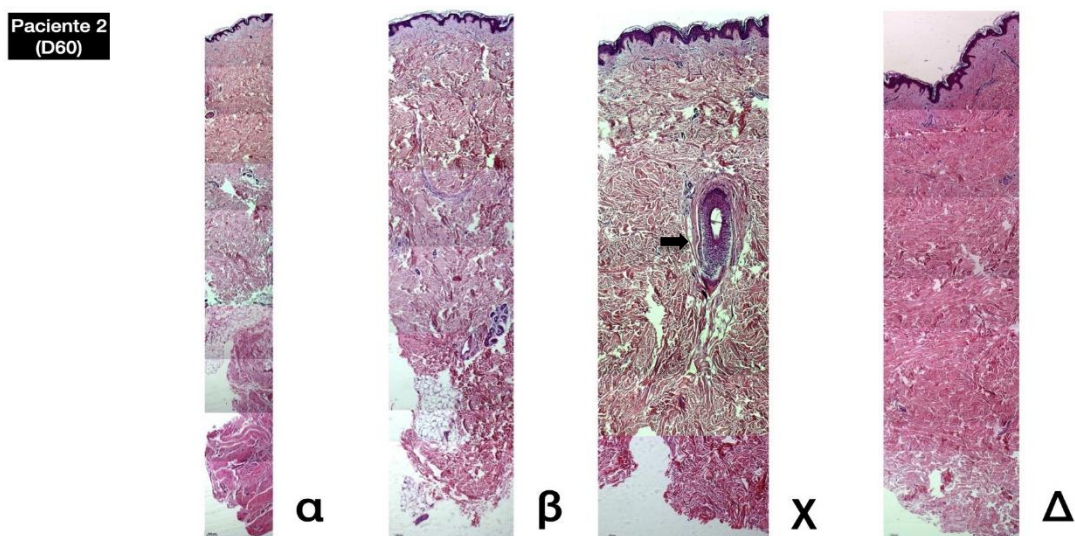


Figura 11 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 2, no momento D60, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend. Nota-se que em X há um folículo piloso em corte transversal (seta).

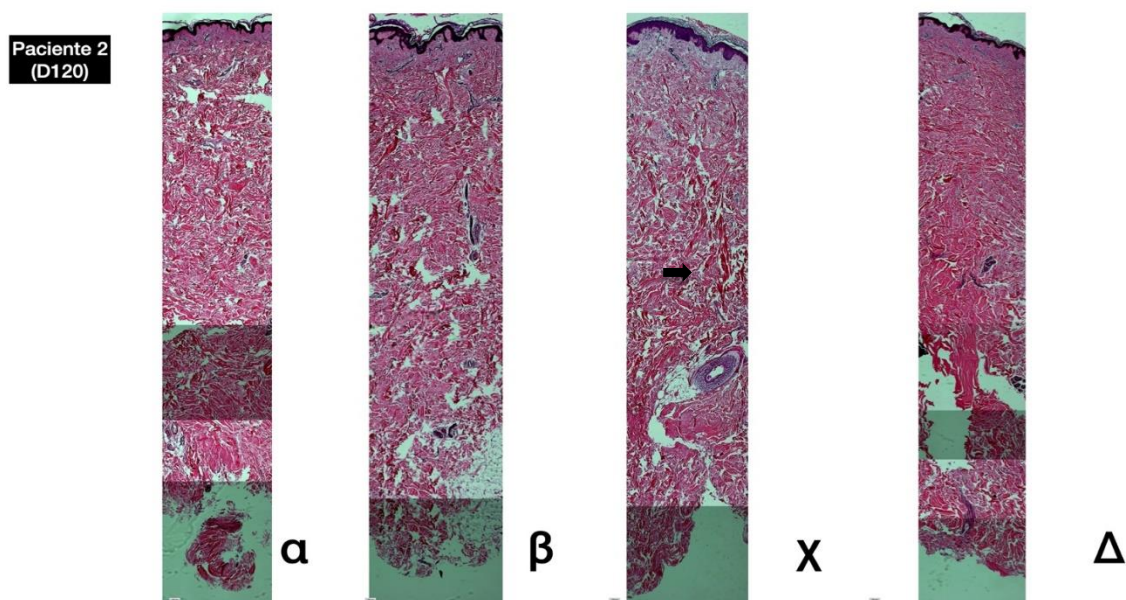


Figura 12 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 2, no momento D120, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

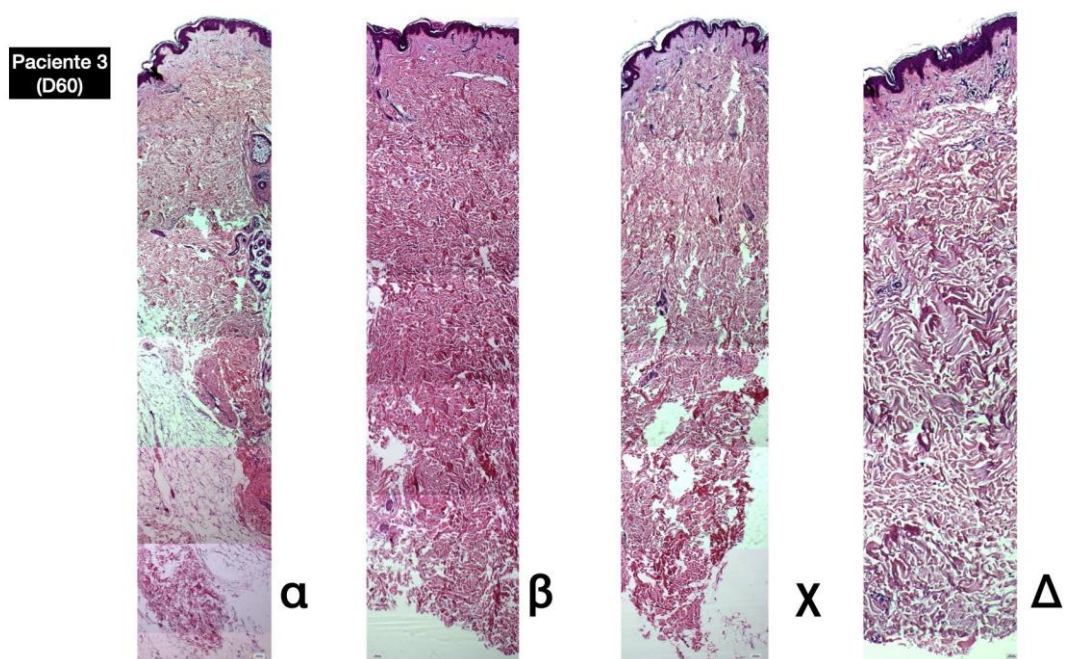


Figura 13 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 3, no momento D60, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

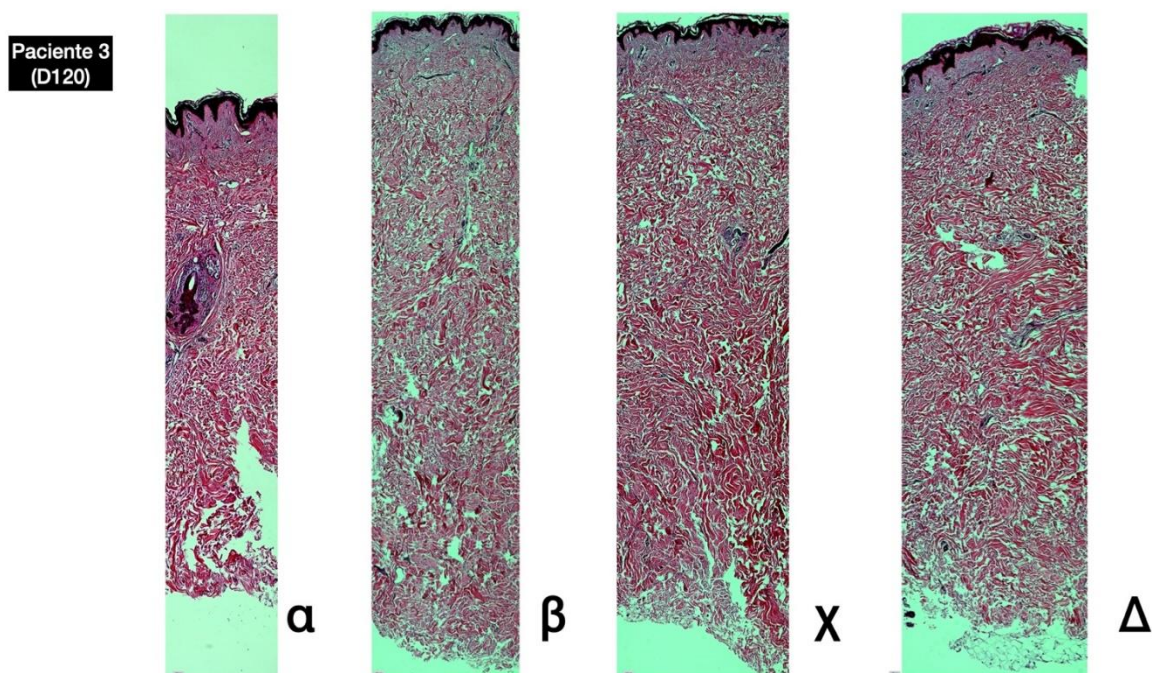


Figura 14 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 3, no momento D120, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

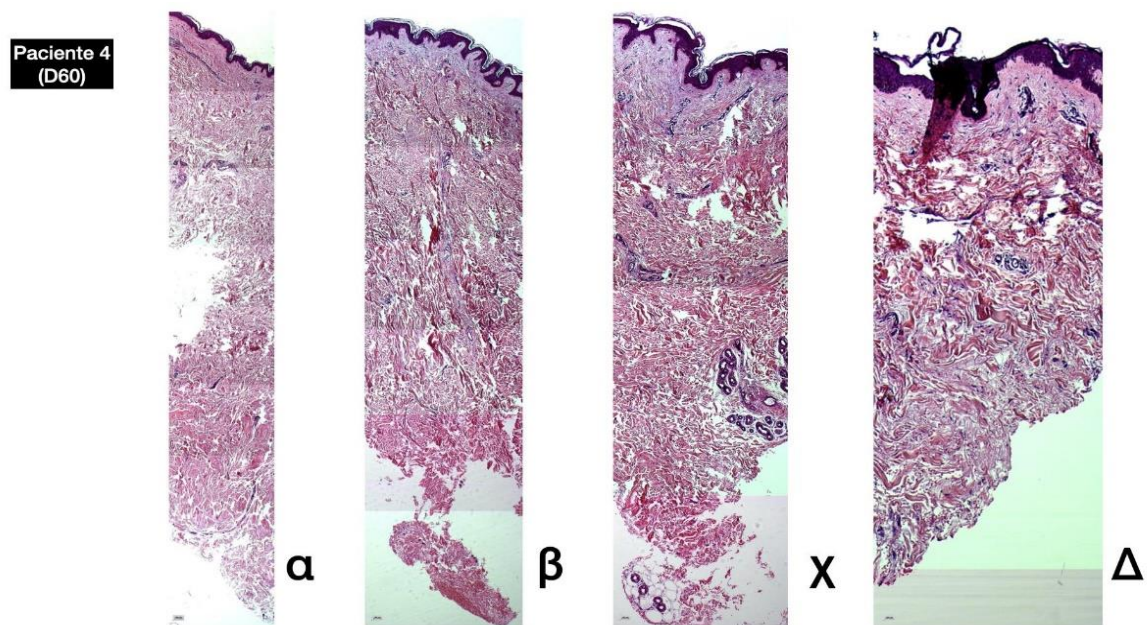


Figura 15 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 4, no momento D60, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

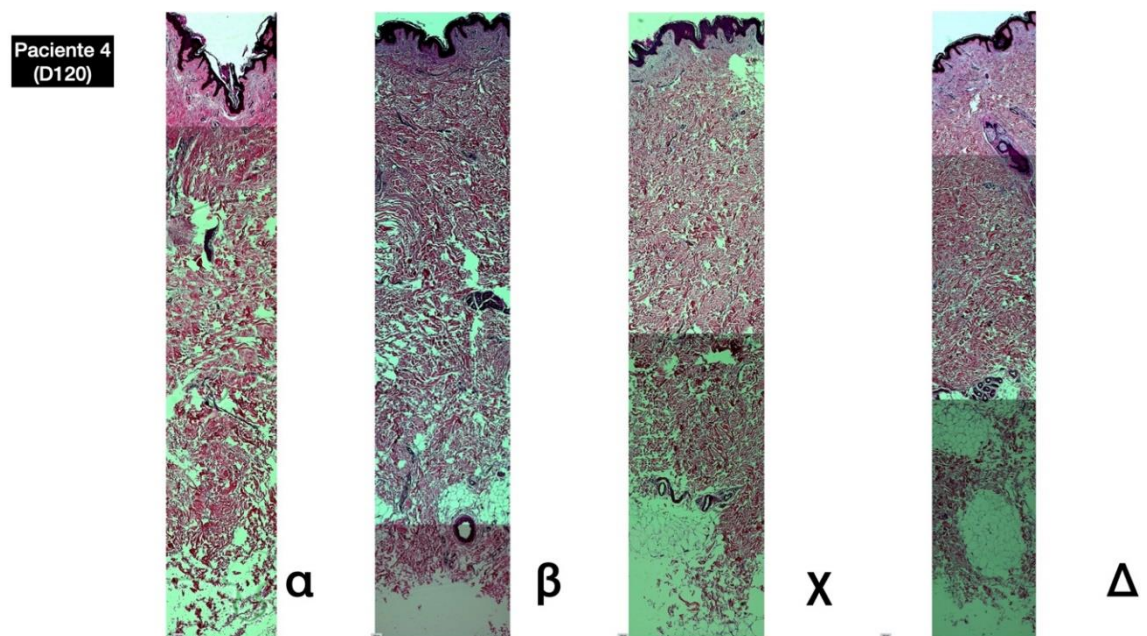


Figura 16 - Imagens histológicas coradas com HE em baixo aumento (Objetiva de 10X) obtidas por reconstrução digital de toda extensão das áreas biopsiadas da paciente 4, no momento D120, comparando as devidas áreas tratadas, sendo: α -soro fisiológico; β - PLLA; χ - CaHa e Δ - Blend.

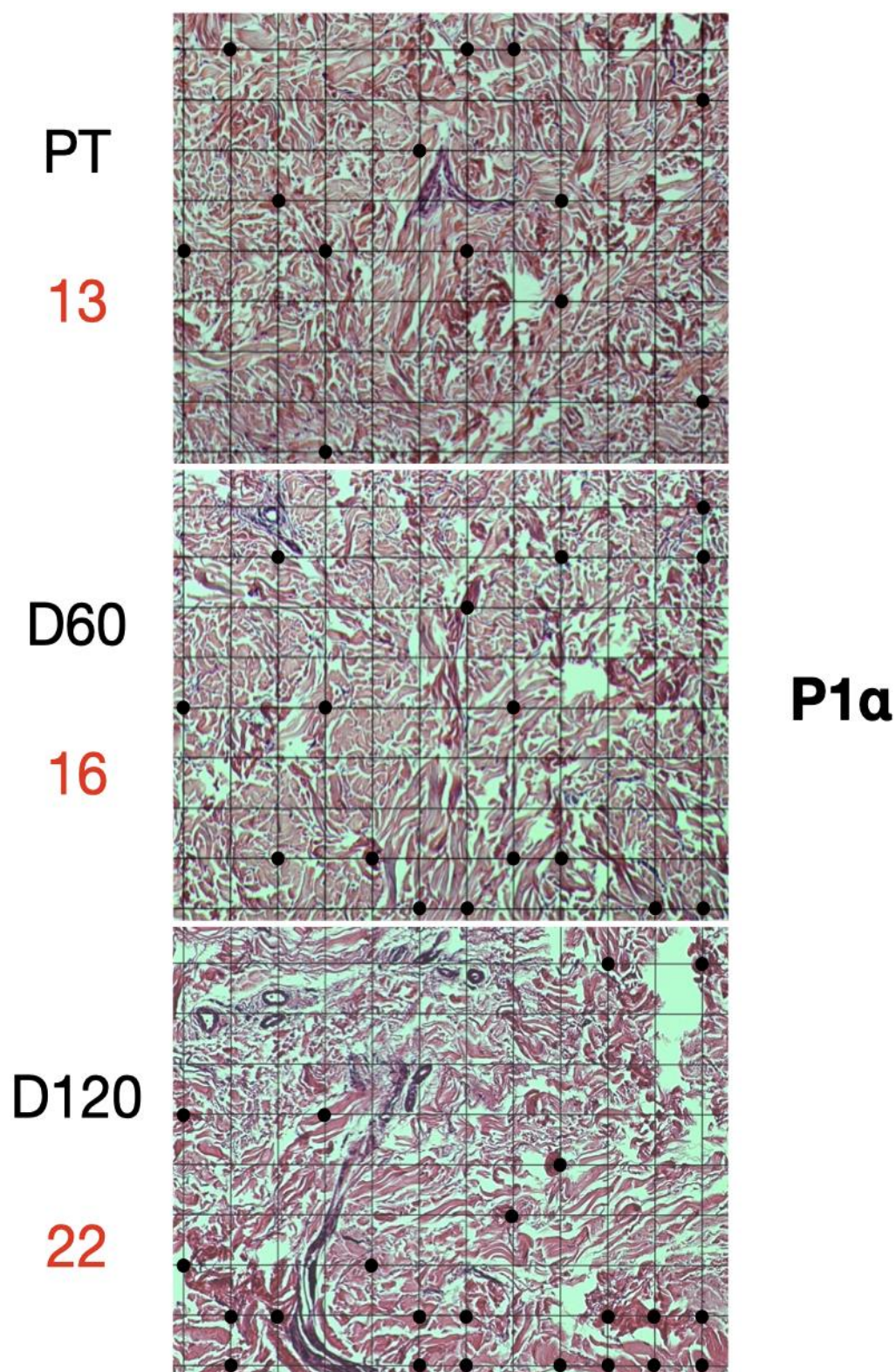


Figura 17 – Análise para fins comparativos em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área α (SF0,9%) do paciente 1 (P1 α) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

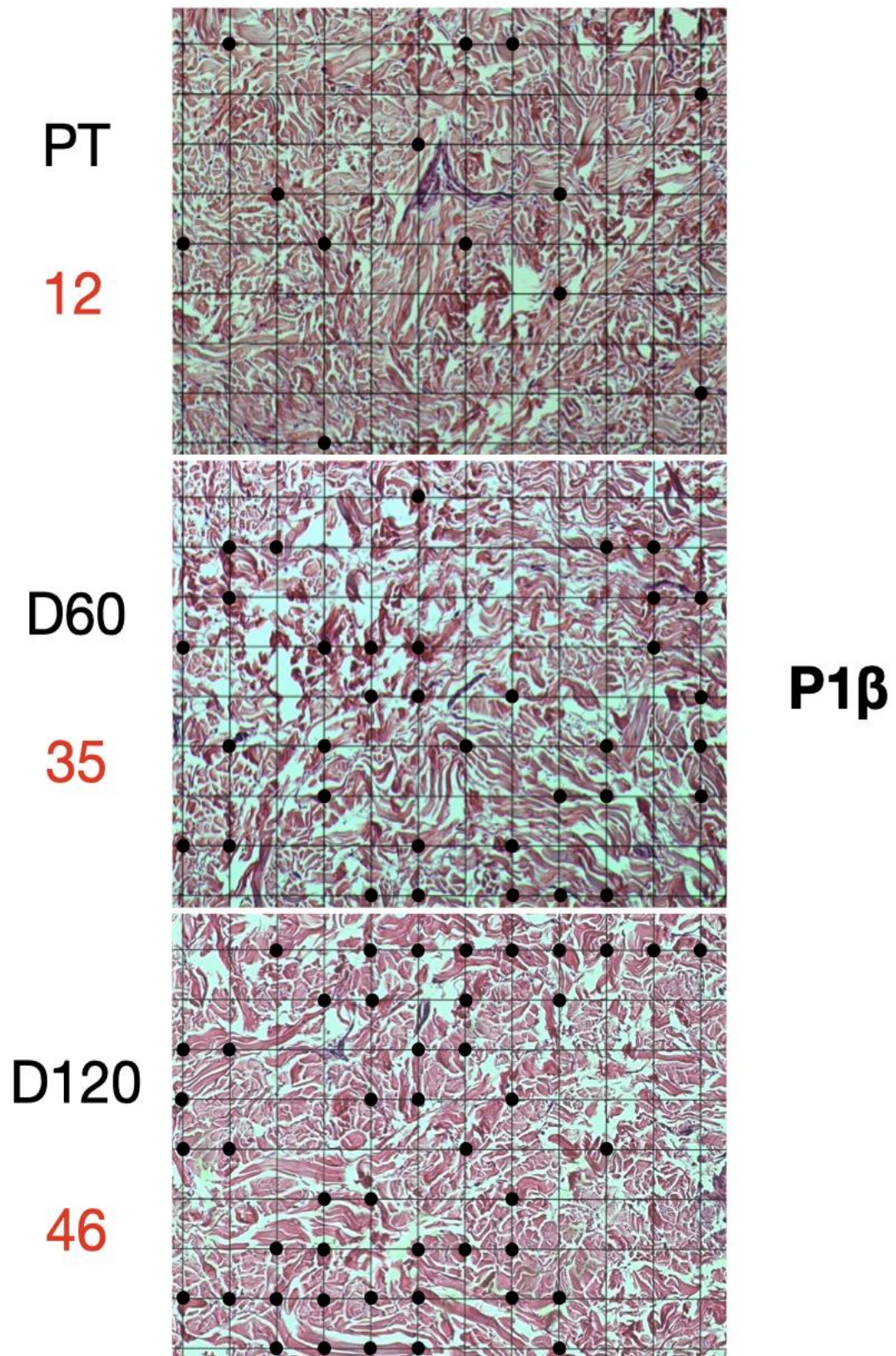


Figura 18 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área β (PLLA) do paciente 1 (P1 β) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

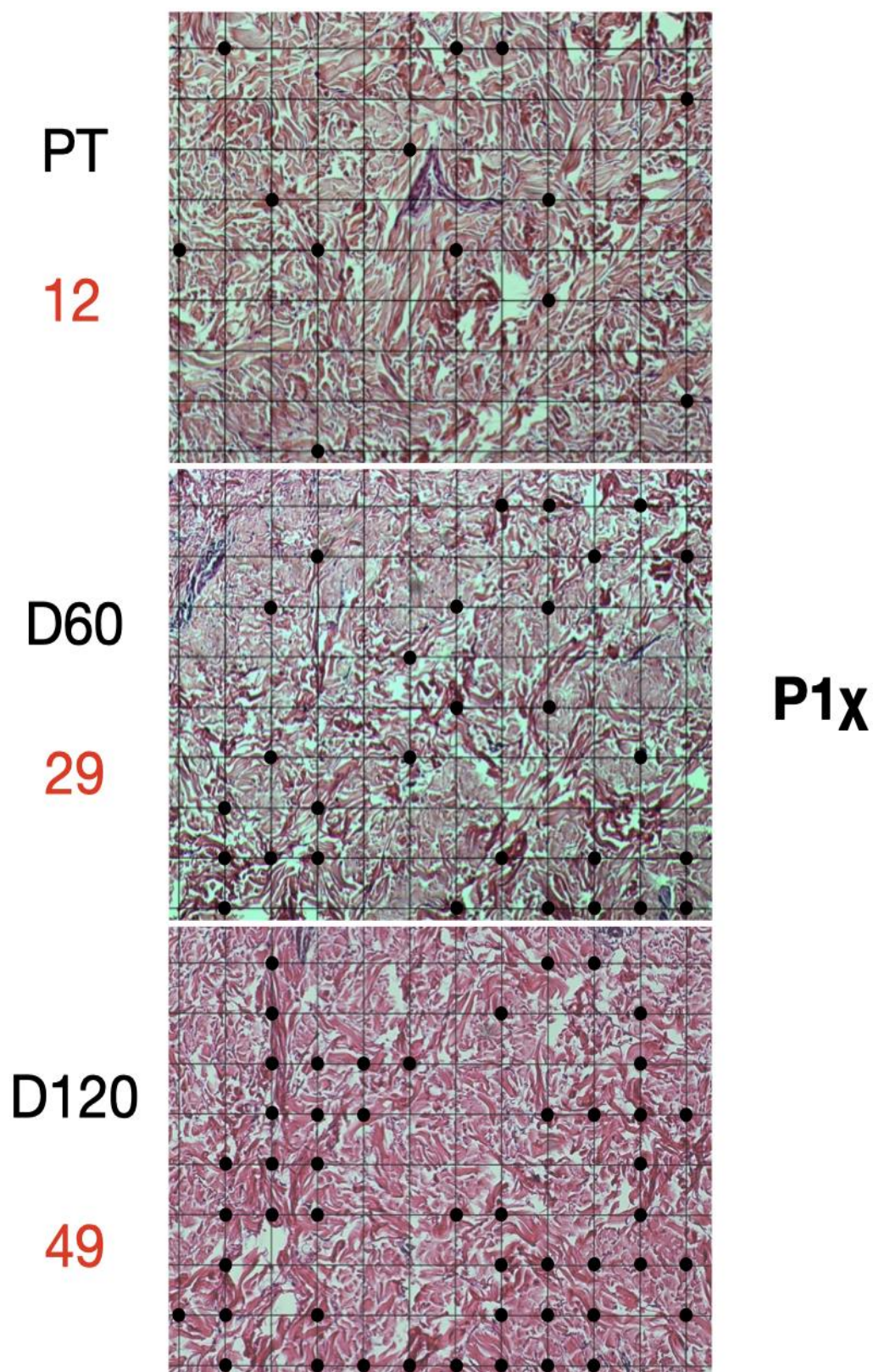


Figura 19 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área χ (CaHa) do paciente 1 (P1 χ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

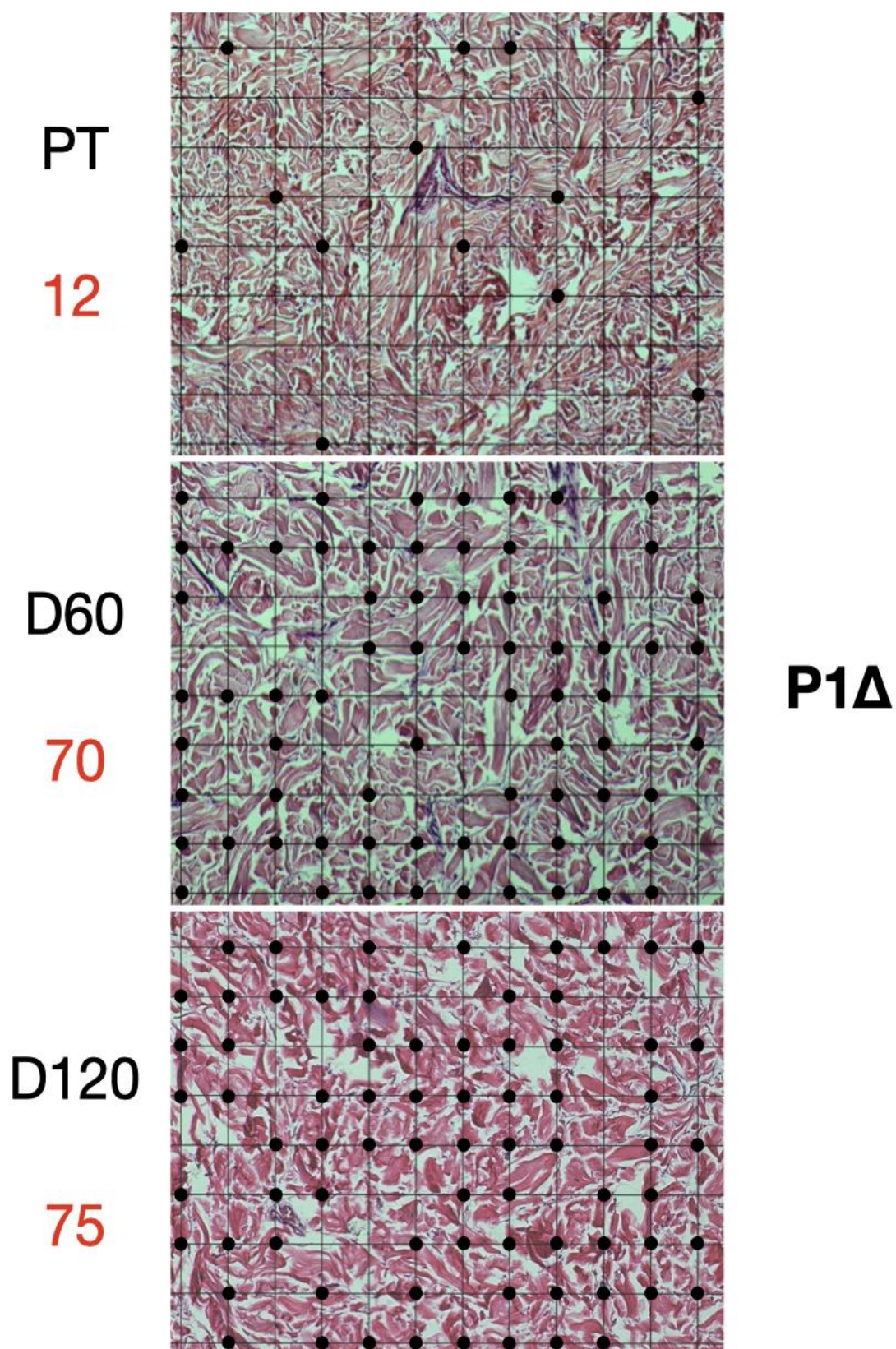


Figura 20 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área Δ (Blend) do paciente 1 (P1Δ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

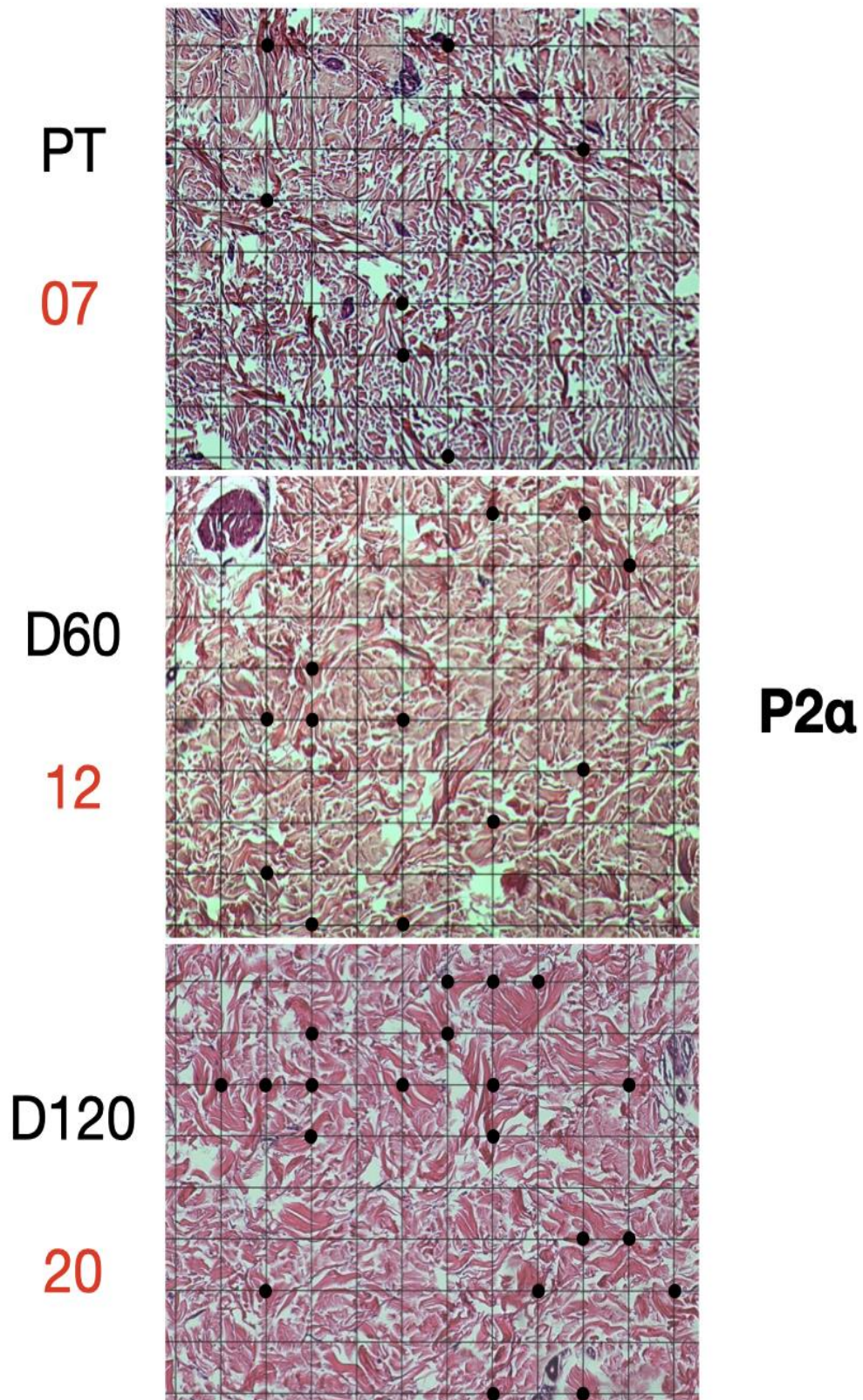


Figura 21 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área α do paciente 2 (P2 α) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

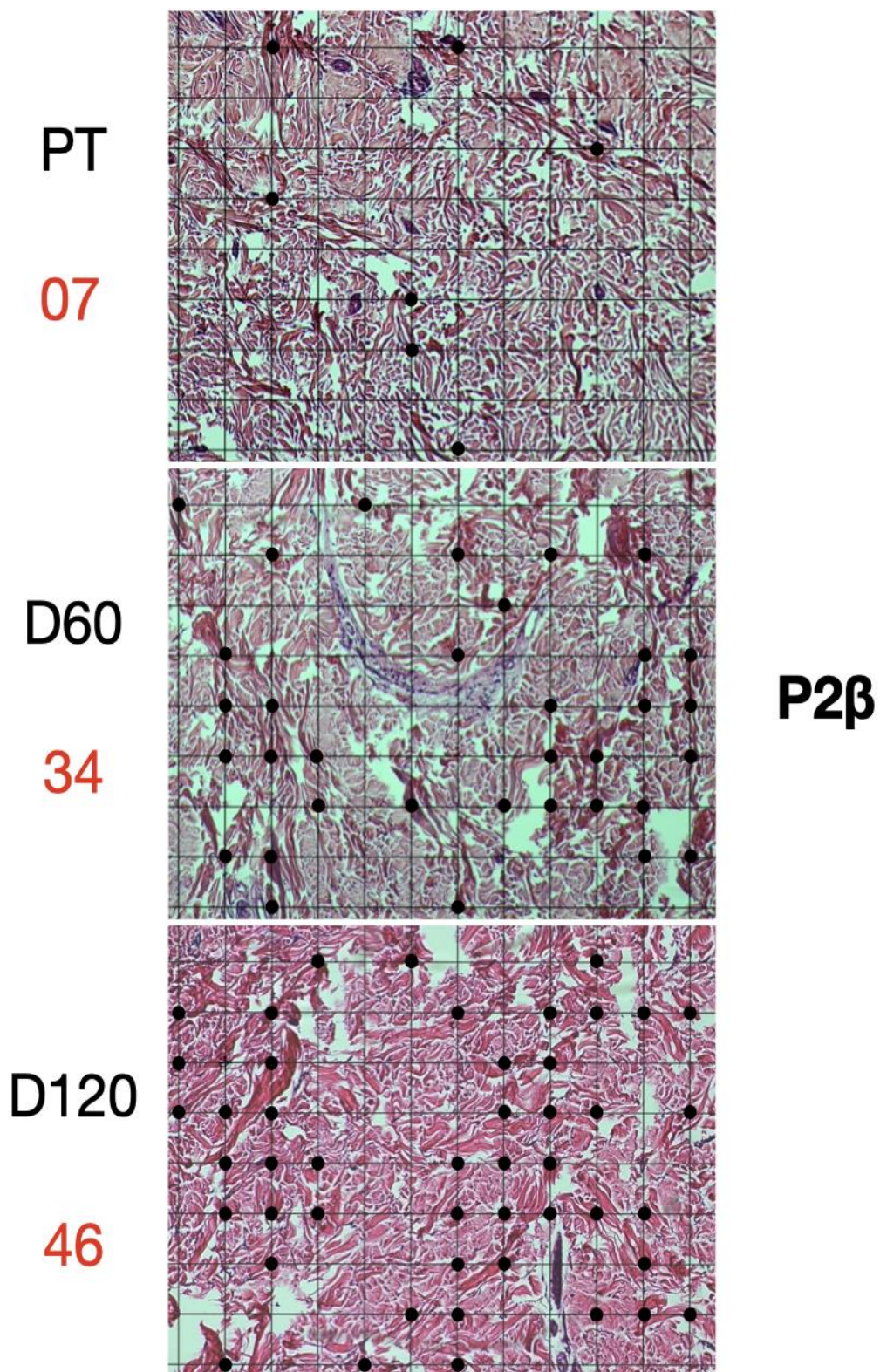


Figura 22 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área β (PLLA) do paciente 2 (P2 β) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

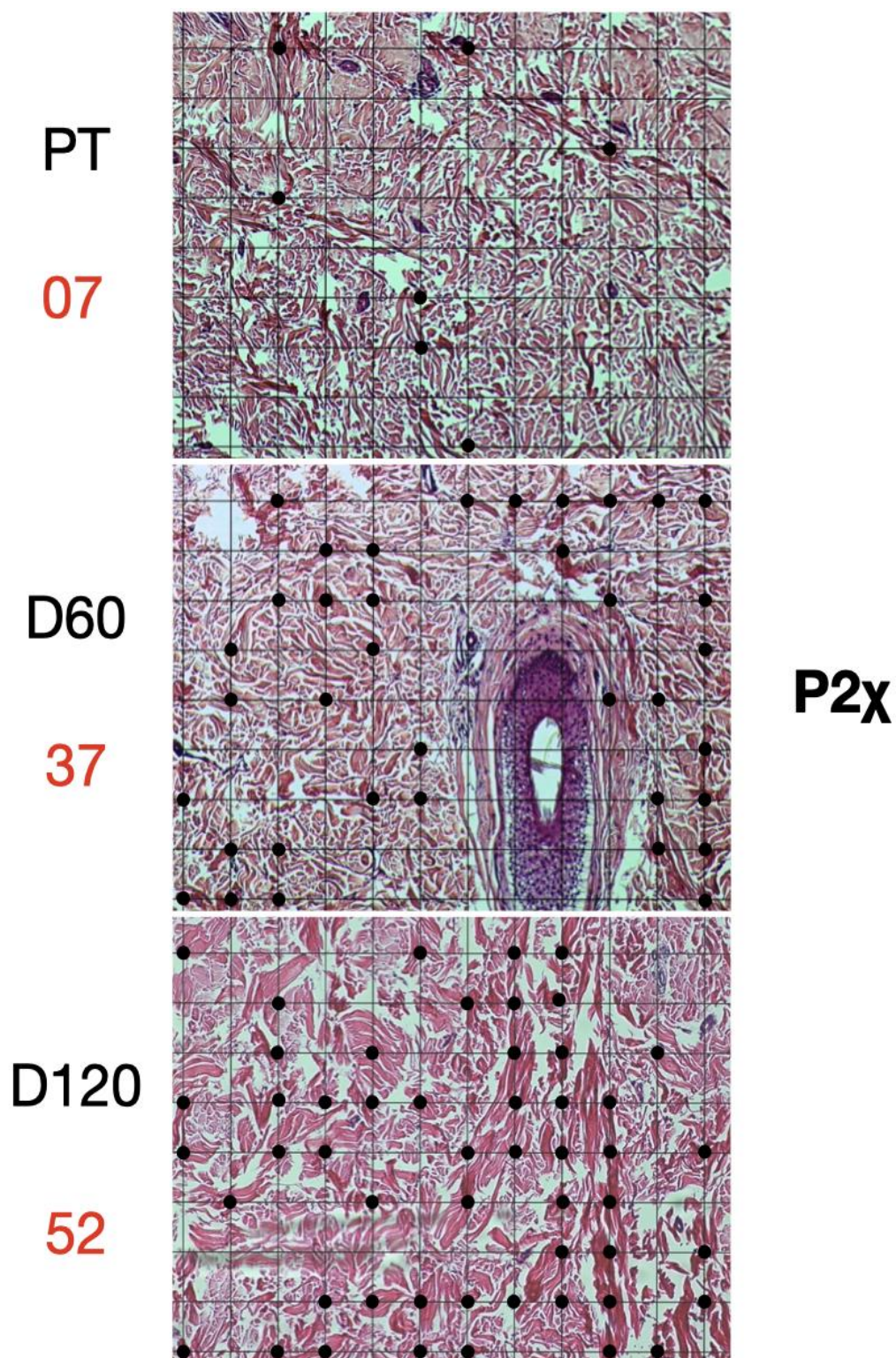


Figura 23 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área χ (CaHa) do paciente 2 (P1 χ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

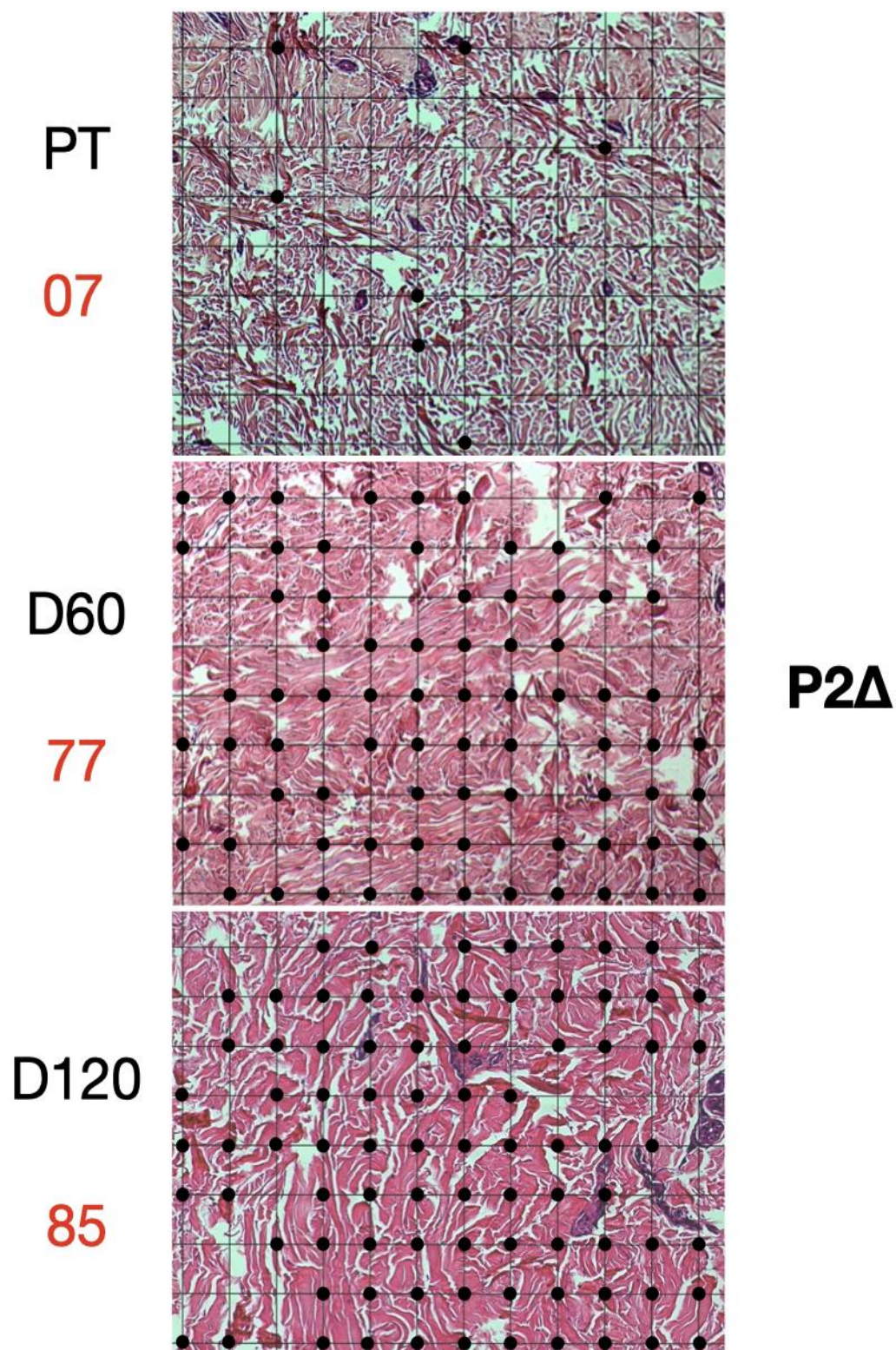


Figura 24 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área Δ (Blend) do paciente 2 (P2 Δ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

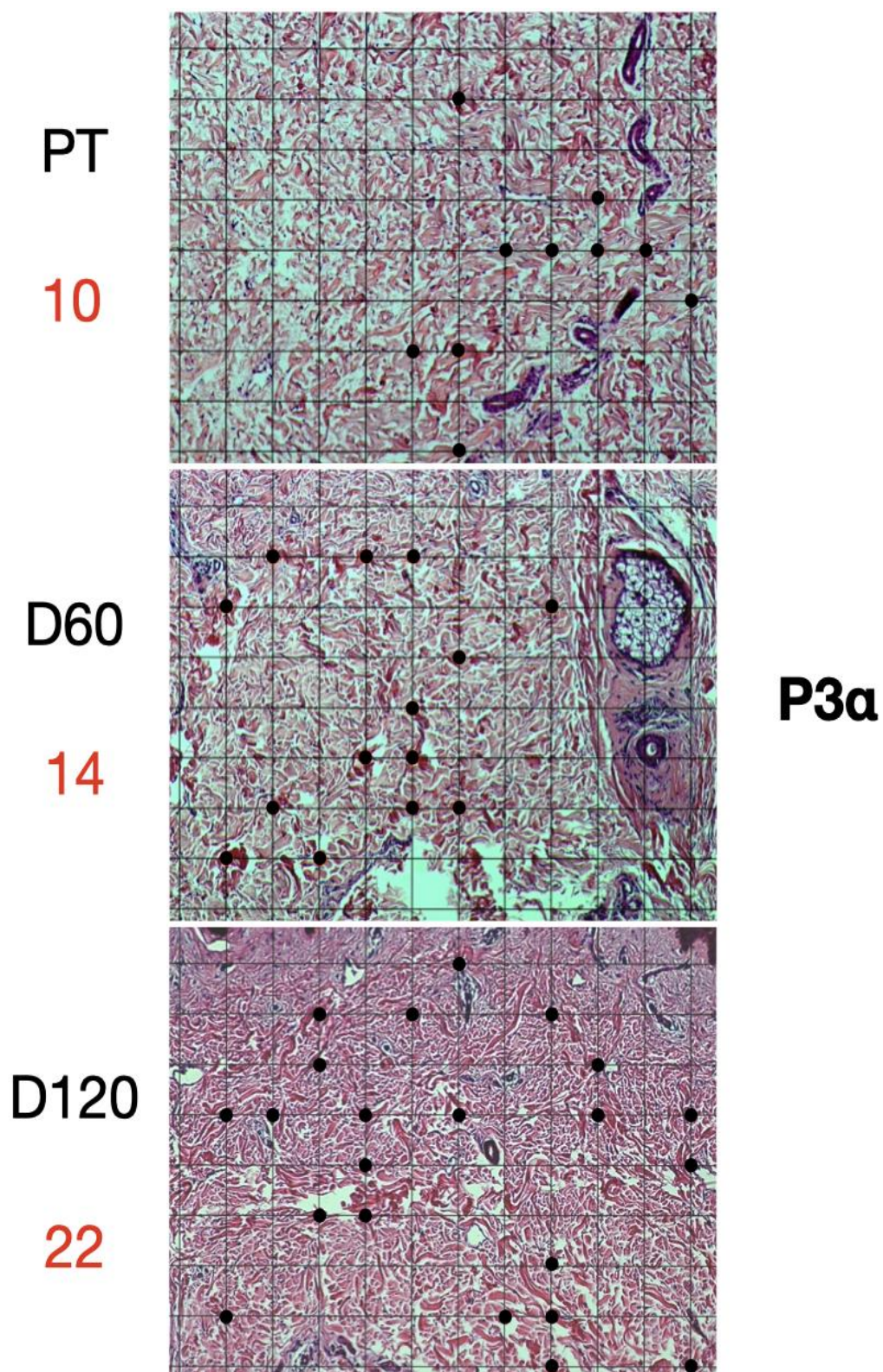


Figura 25 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área α (SF0,9%) do paciente 3 (P3 α) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

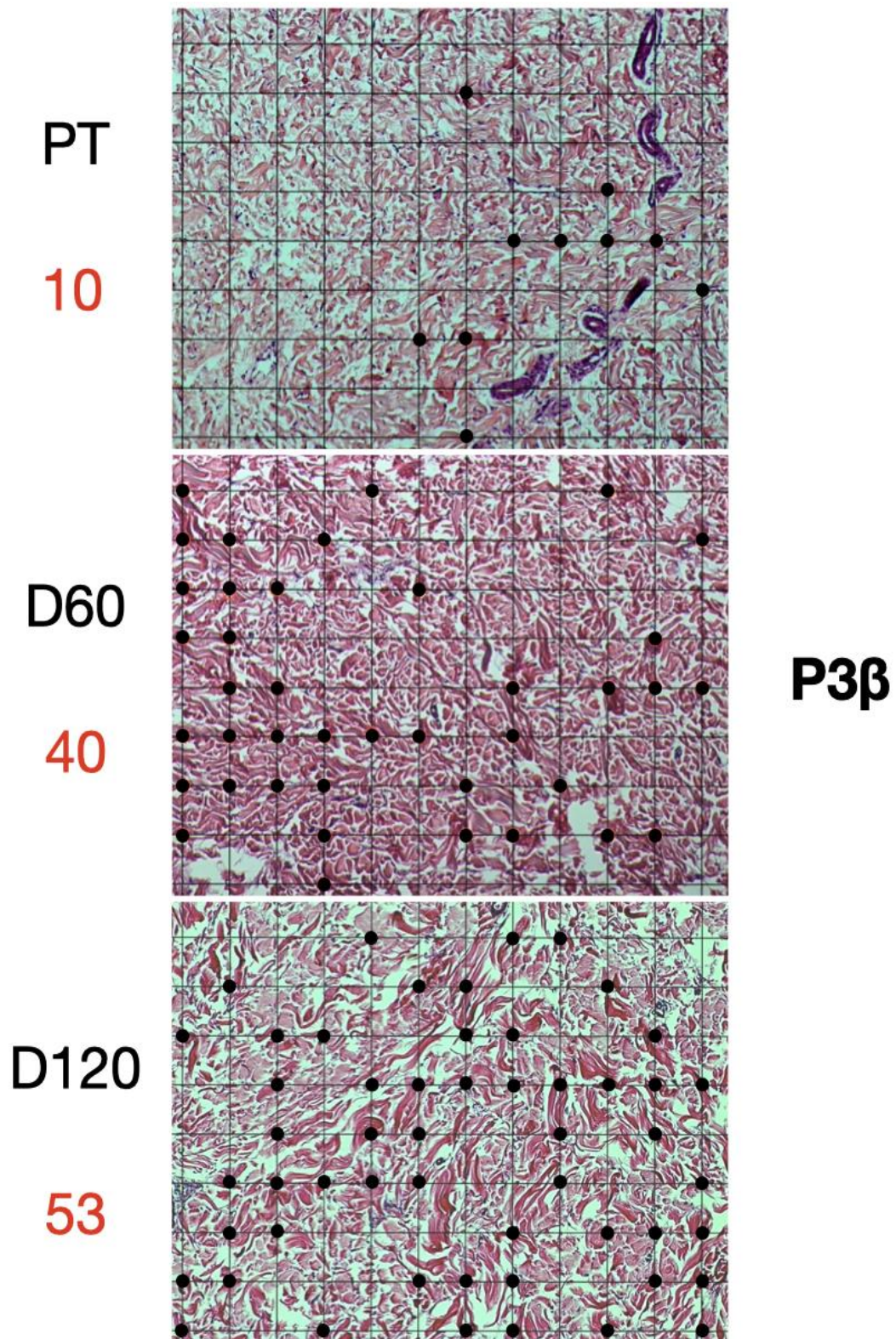


Figura 26 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área β (PLLA) do paciente 3 (P3 β) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

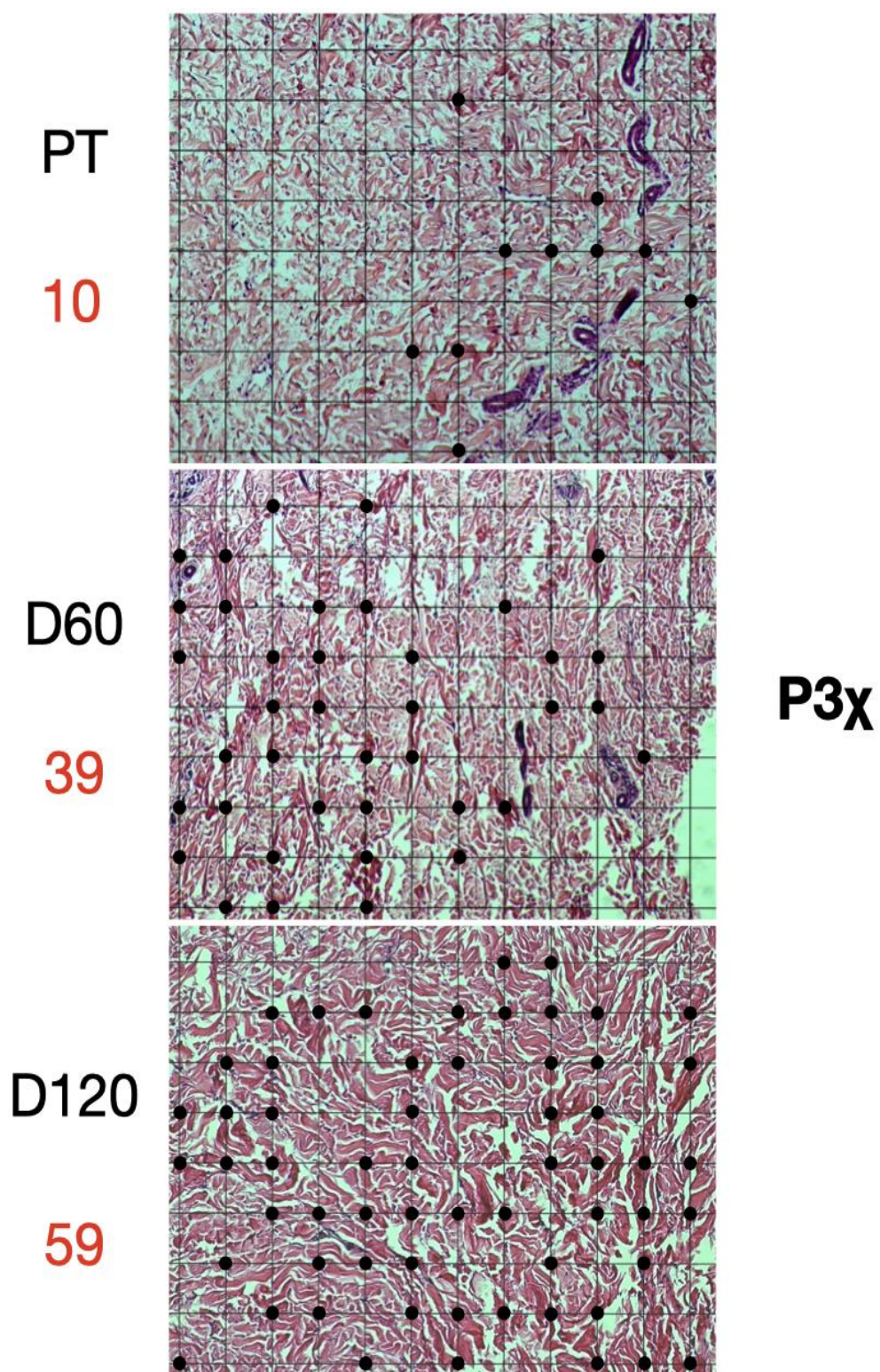


Figura 27 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área χ (CaHa) do paciente 3 (P3 χ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

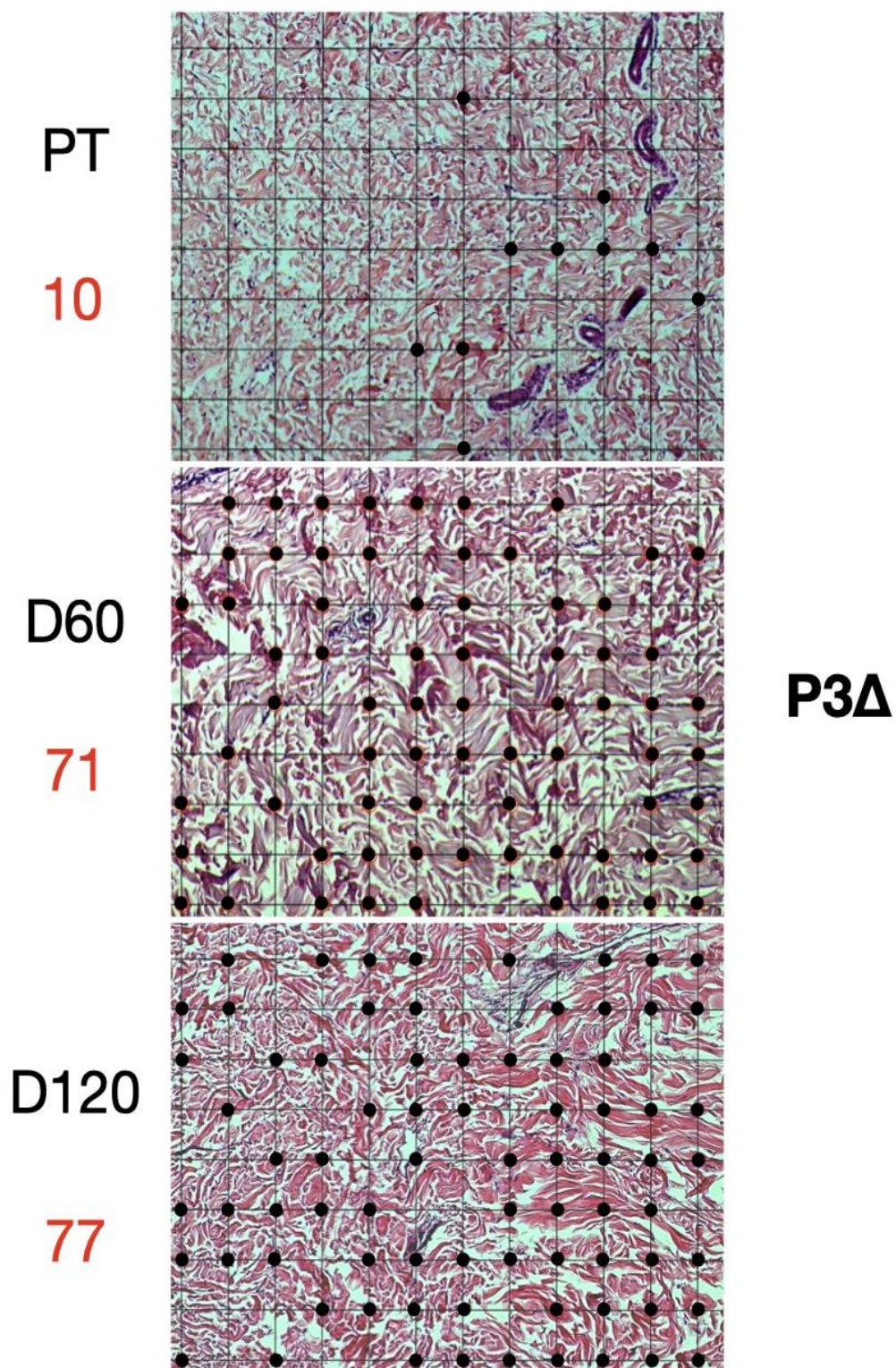


Figura 28 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área Δ (Blend) do paciente 3 (P3Δ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

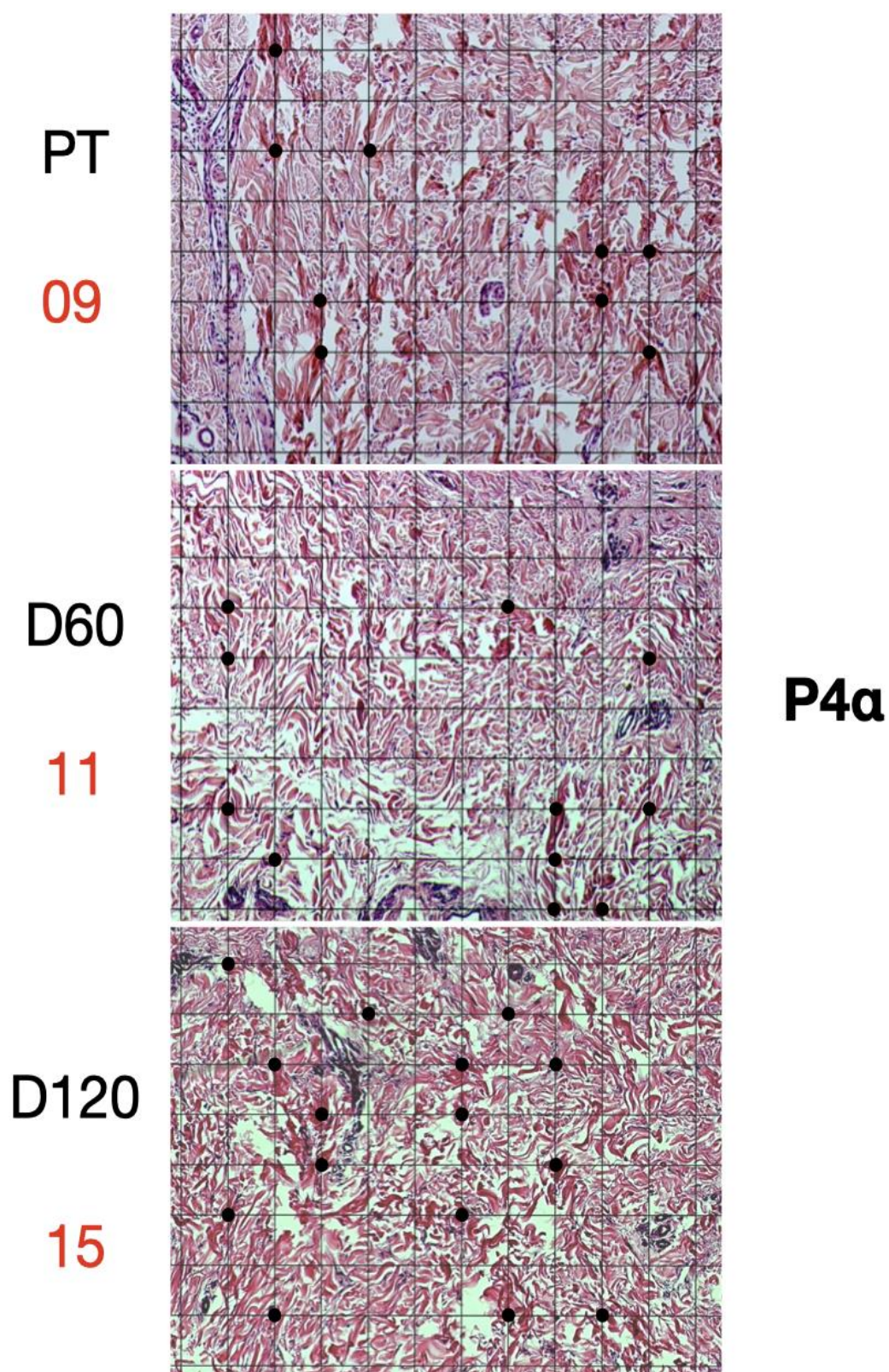


Figura 29 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área α (SF0,9%) do paciente 4 (P4 α) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

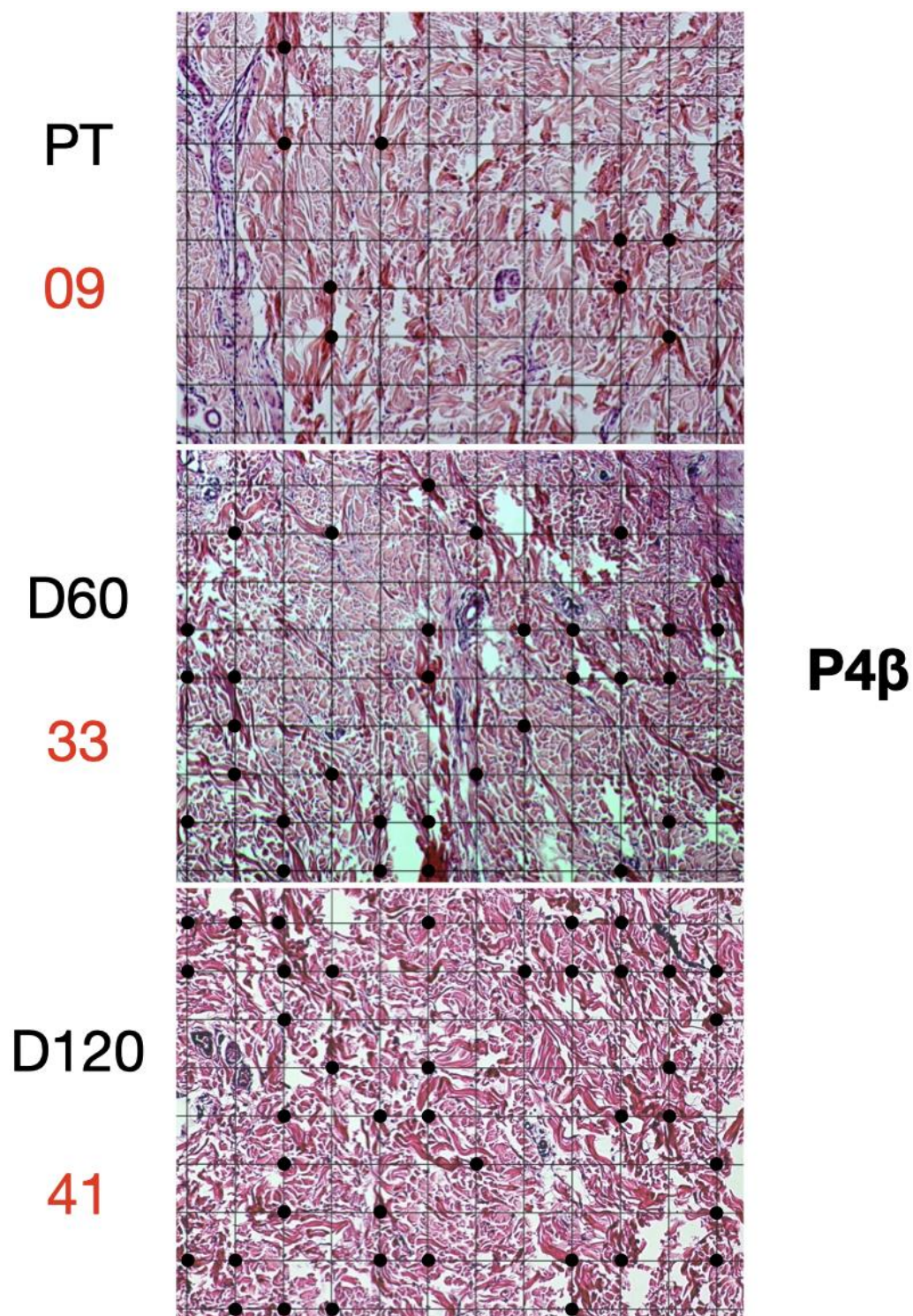


Figura 30 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área β (PLLA) do paciente 4 (P4 β) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

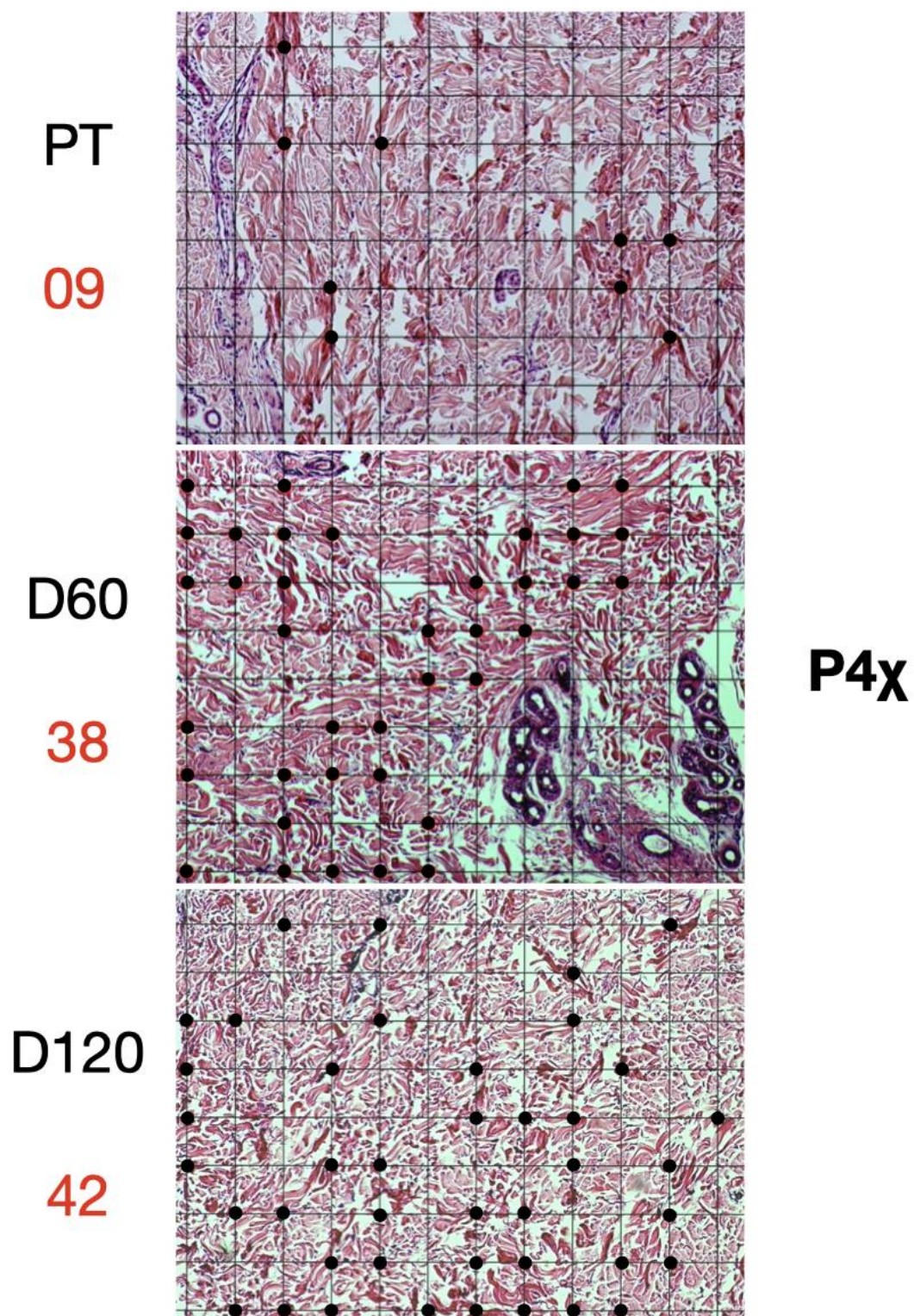


Figura 31 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área χ (CaHa) do paciente 4 (P4 χ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

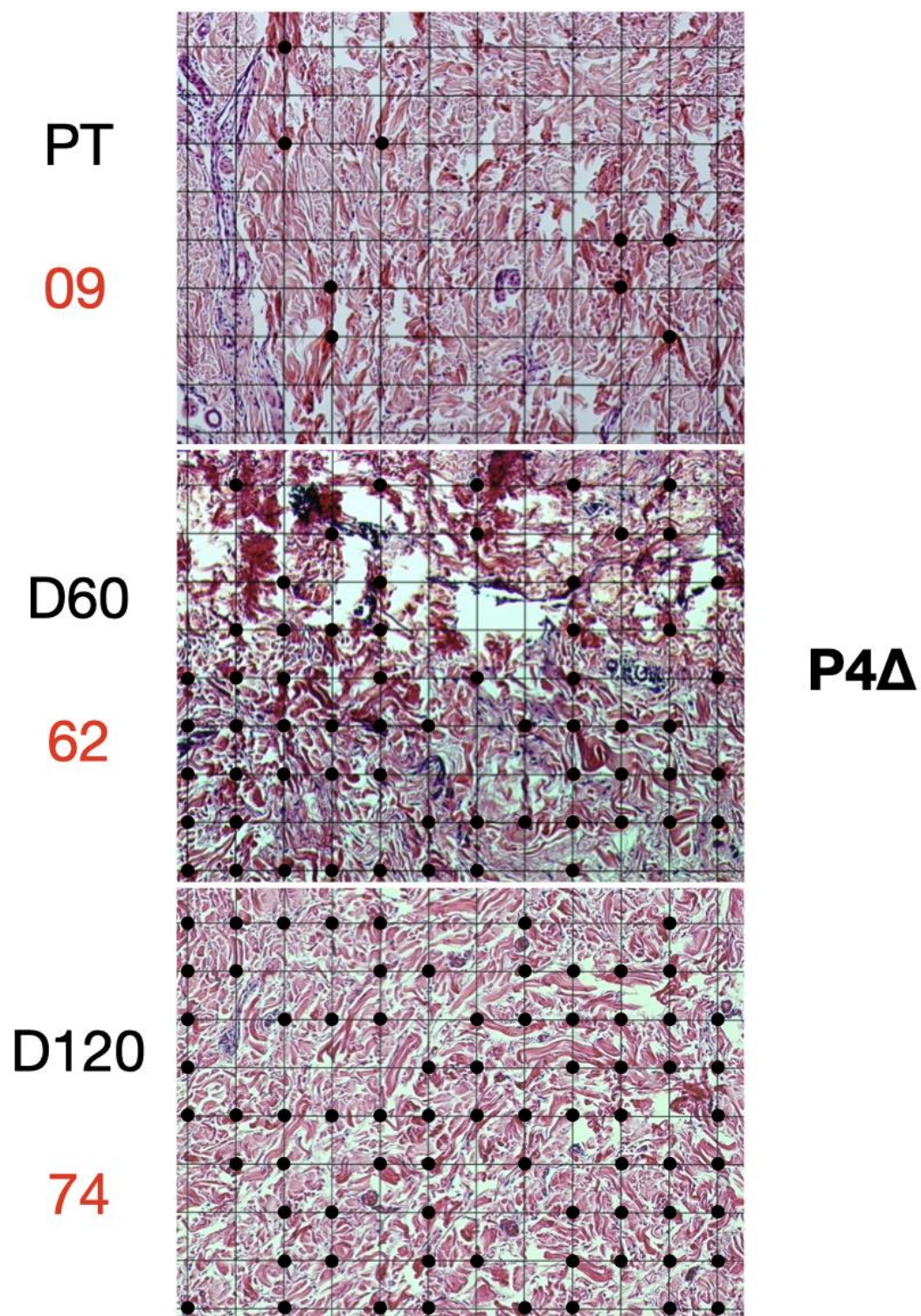


Figura 32 – Análise comparativa em progressão cronológica de lâminas coradas com H&E da área pré-teste D-30 (PT) com a área Δ (Blend) do paciente 4 (P4Δ) nos momentos D60 e D120, com identificação da quantificação numérica de pontos de intersecção coincidentes com espessamento de feixes em destaque obtidos em cada situação (em vermelho).

Um ponto relevante no momento D60 da análise histológica revelou um padrão incomum nas áreas tratadas com CaHa (χ e Δ): os feixes colágenos, predominantemente acidófilos, exibiram um espessamento fibrilar acompanhado de extensas áreas de basofilia permeando a região central desses feixes (Figura 33). A presença desse padrão levantou a hipótese de uma possível dissociação do material ou do microambiente de comportamento basófilo, sugerindo três possibilidades principais: a dispersão de resíduos de CaHa ao longo desses feixes, mantendo sua característica basofílica já documentada na literatura; a formação de uma matriz jovem amorfa não fibrosa, igualmente basofílica devido à abundância de glicosaminoglicanas; ou a combinação de ambas as condições conforme já relatado. (REBELLATO et al., 2020)

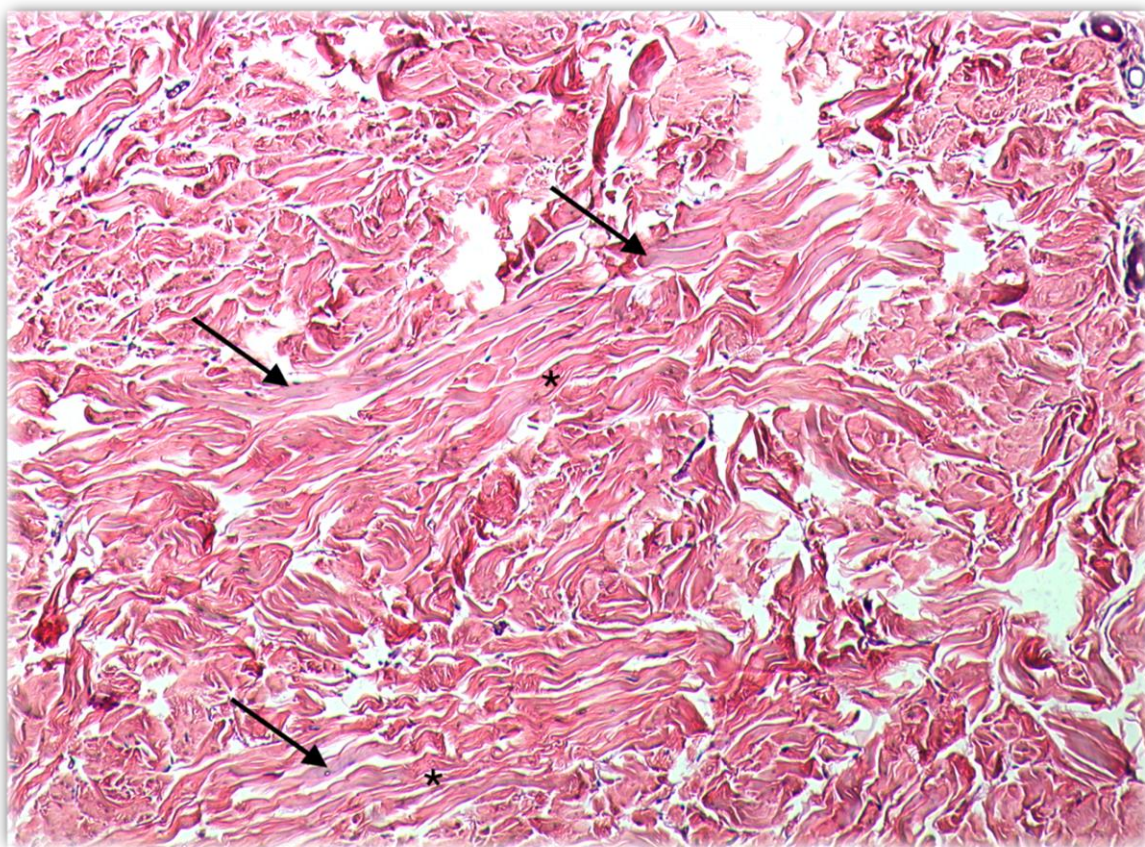


Figura 33 – Micrografia corada com HE em grande aumento de área tratada com Blend, onde se destaca as áreas de basofilia de permeio as fibras colágenas (setas) e a hiper celularidade adjacente aos feixes. Os asteriscos (*) indicam a orientação espessa dos feixes colagênicos vistos nesse corte.

É notável a atual transição no cenário comercial, onde os preenchedores teciduais estão cedendo espaço aos conhecidos "bioestimuladores de colágeno". Estas substâncias, embora não possuam a capacidade intrínseca de volumizar tecidos, fundamentam sua farmacodinâmica na indução de um processo inflamatório subclínico ao redor do tecido dérmico alvo. Como resultado desse estímulo, ocorre fibroplasia, impulsionada por diversos mecanismos orgânicos de interação com esses biomateriais. Destaca-se o fato de que proporcionam resultados notáveis com praticamente nenhum tempo de recuperação, diferentemente dos procedimentos cirúrgicos ou de difusão de energia (como Laser, Radiofrequência e Ultrassom microfocado). Além disso, é relevante ressaltar que tais intervenções apresentam menor desconforto, sendo passíveis de execução com baixa complexidade tecnológica. Esse aspecto não apenas reduz a experiência dolorosa para o paciente, mas também contribui para a acessibilidade financeira do procedimento. Dessa forma, a escolha por bioestimuladores de colágeno não apenas se destaca pela eficácia e rapidez na obtenção de resultados, mas também pela conveniência, tornando-se uma opção mais atrativa em comparação com abordagens mais invasivas.(BARBOSA OLIVEIRA SARAGOÇA; SARAGOÇA FELIX; LOPES DE CASTRO, 2023)

Dentro do contexto mencionado anteriormente, a difusão desses procedimentos minimamente invasivos tornou-se uma prática comum na esfera clínica. Contudo, apesar da crescente popularidade desses tratamentos, a escassez de evidências científicas sustentando a eficácia com base em critérios objetivos é notável. Dado o caráter estético dessas intervenções, a maioria dos estudos ainda se apoia em consensos de especialistas, observações clínicas e avaliações subjetivas. No entanto, é digno de nota que, recentemente, tem havido um aumento no direcionamento de esforços para a obtenção de evidências mais sólidas e objetivas nesse campo específico (ATZORI et al., 2023; OH et al., 2023)

Neste ensaio clínico randomizado unicêntrico, a abordagem se concentrou na análise de critérios estritamente objetivos, conforme delineado em nossa metodologia anterior, com o objetivo de esclarecer o desempenho de biomateriais específicos empregados na bioestimulação de colágeno e sua influência nas fibras elásticas e na matriz extracelular dérmica como um todo. Optamos por investigar dois dos principais biomateriais mundialmente comercializados para essa finalidade: Hidroxiapatita de Cálcio (CaHa) e Ácido Poli-L-láctico (PLLA), conforme detalhado anteriormente. É importante salientar que todas as quatro participantes relataram a ausência de efeitos adversos e demonstraram plena aderência ao estudo.

Inicialmente, ao compararmos a evolução da derme nos momentos pré-teste (D-30), 60 dias (D60) e 120 dias pós-intervenção (D120), identificamos um padrão consistente no

comportamento dos feixes de colágeno por meio da análise tecidual estereológica, que se repetiu em todos os casos. Na área tratada com soro fisiológico, os espessamentos fibrilares permaneceram semelhantes ao pré-teste, caracterizando-a como controle. Nas regiões tratadas com PLLA e CaHa, observou-se um aumento expressivo na espessura das fibras, formando extensos feixes colágenos, acompanhados por uma matriz jovem mais amorfa e não fibrilar, juntamente com uma leve elevação na celularidade.

Esse fenômeno pode ser explicado pelo prolongado tempo de degradação de ambos os materiais, indicando que, com a passagem do tempo até o D120, houve progressão na proliferação da matriz dérmica. Conforme documentado na literatura, as microesferas de CaHa são gradualmente degradadas ao longo de 9 a 12 meses pelos macrófagos teciduais, resultando na decomposição do material em cálcio e fosfato, que são excretados pelos rins.

No caso do PLLA, suas microesferas dispersas no tecido desencadeiam uma resposta inflamatória subclínica, caracterizada como uma reação de corpo estranho, desencadeando uma subsequente resposta de fibroplasia local. Esse processo resulta na deposição prolongada de colágeno tipo I na matriz extracelular original, considerando que o tempo de degradação do PLLA pode estender-se até 9 meses (SEDUSH et al., 2023).

Quando o PLLA é associado ao CaHa para formar um compósito, não há necessidade de que essas substâncias estabeleçam ligações químicas robustas ao serem misturadas e colocadas em suspensão, conforme previamente mencionado. Nas áreas tratadas com a mistura (blend) de CaHa e PLLA em doses equivalentes, conforme detalhado na metodologia, e respeitando a dosagem reduzida pela metade em comparação com as áreas tratadas com os biomateriais puros, observamos uma morfologia peculiar que se destaca na análise histológica da grade estereológica. Os espessamentos nos feixes colágenos são tão pronunciados nessas áreas que os segmentos de espaço intercelular tornam-se notavelmente esguios (ALBANO et al., 2013; ROBINSON, 2018)

Em uma visão geral dessa análise inicial, a média de aumento dos espessamentos fibrilares em áreas selecionadas aleatoriamente é de 8 vezes em D60 e 9,5 vezes em relação ao pré-teste D-30. Em casos específicos, como na amostra da paciente 2, a área tratada com o Blend teve um aumento de 12 vezes na densidade de espessamento fibrilar em relação ao D-30. Esse padrão não se repete na média de aumento das áreas de PLLA (3,96 vezes) e CaHa (4,15 vezes), o que sugere que há um possível efeito sinérgico ou aditivo na associação destes biomateriais, mesmo que em doses proporcionalmente equivalentes. Este tipo de associação não foi encontrado na revisão bibliográfica para fins de discussão. Como as voluntárias têm

perfis corporais diferentes, as áreas de tratamento foram randomizadas e as doses foram iguais, existe a possibilidade de outros fatores de sinalização celular estarem presentes, o que demanda maiores estudos para sua elucidação.

Ainda sobre a análise histológica por grade estereológica, um segundo padrão importante foi constatado em todas as amostras de D60 e D120, porém significativamente maior nas áreas Δ (Blend), que é o aumento importante da celularidade adjacente às fibras e aos feixes colágenos, sendo altamente sugestivo de proliferação de fibroblastos teciduais. Ao realizar o tratamento de áreas de flacidez abdominal infraumbilical leve a moderada das quatro pacientes que serão submetidas a dermolipectomia abdominal, foi aberta a possibilidade de compreender melhor como tais biomateriais se comportam no mesmo indivíduo, com o próprio tecido adjacente como controle, em comparação a uma amostra pré-teste que serve com base principal de comparação cronológica e morfológica.

Para a arguição estatística deste estudo, utilizamos o teste paramétrico de Bonferroni One-way ANOVA (do inglês *analysis of variance*) que é uma técnica estatística que permite avaliar afirmações sobre as médias de populações e visa, fundamentalmente, verificar se existe uma diferença significativa entre as médias (Figuras 34 a 38) e se os fatores exercem influência em alguma variável dependente, ou seja, é utilizada quando se quer decidir se as diferenças amostrais observadas são reais ou casuais. Portanto, essa análise parte do pressuposto que o acaso só produziu pequenos desvios, sendo as grandes diferenças geradas por causas reais.

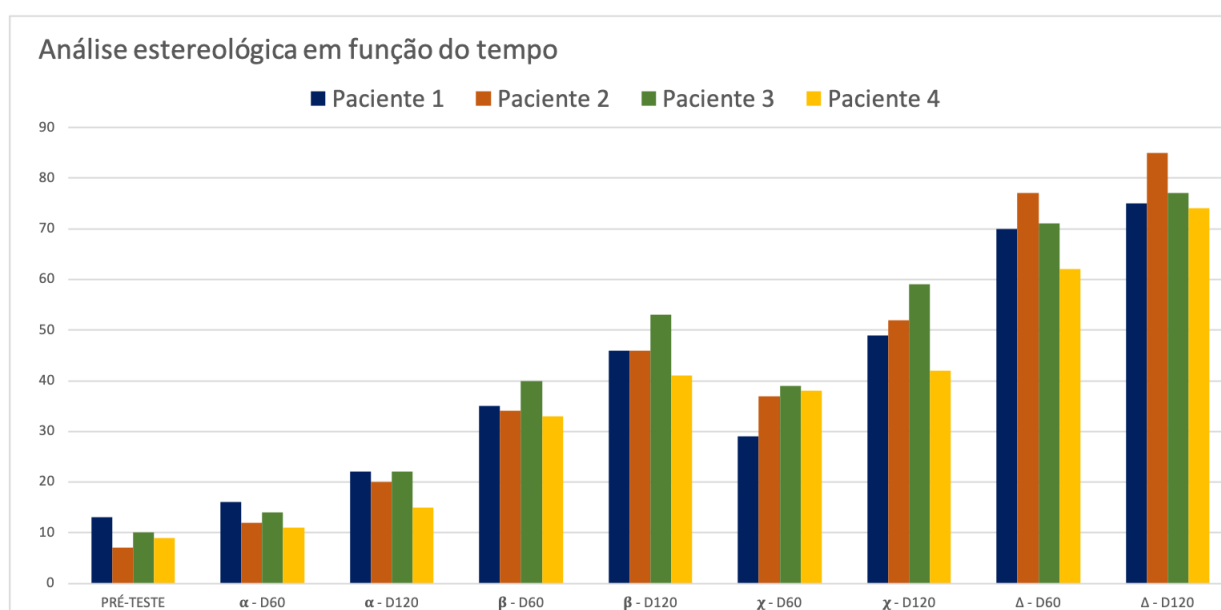


Figura 34 – Análise estereológica quantitativa demonstrando curva de crescimento em função do tempo decorrido do estudo. Por serem dados absolutos do total quantificado de cada paciente, não há desvio padrão.

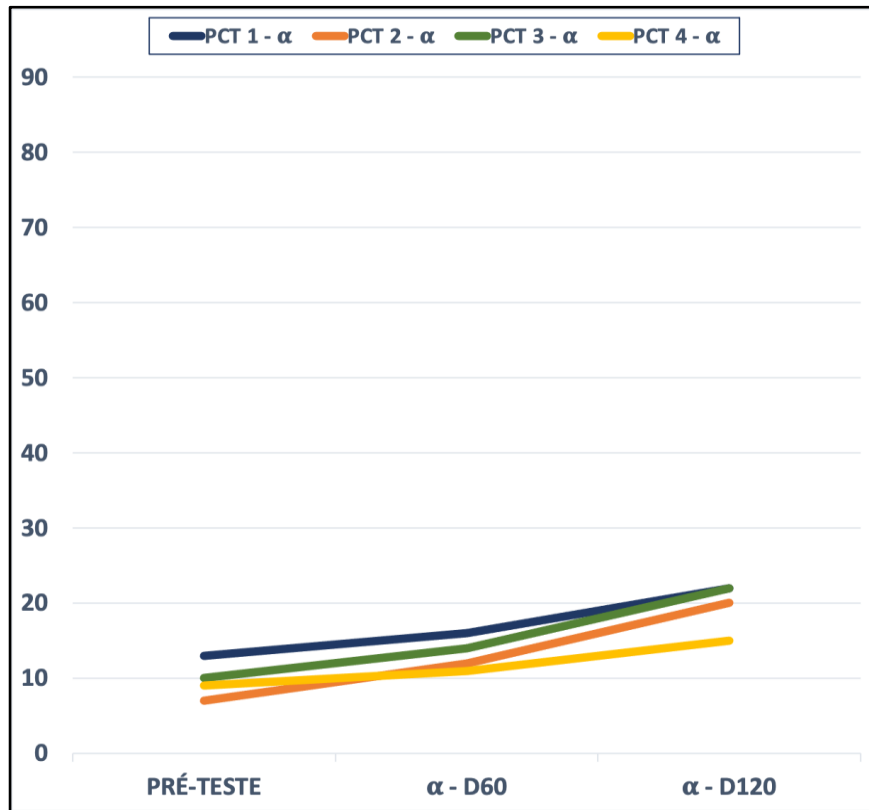


Figura 35 – Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área α (SF0,9%).

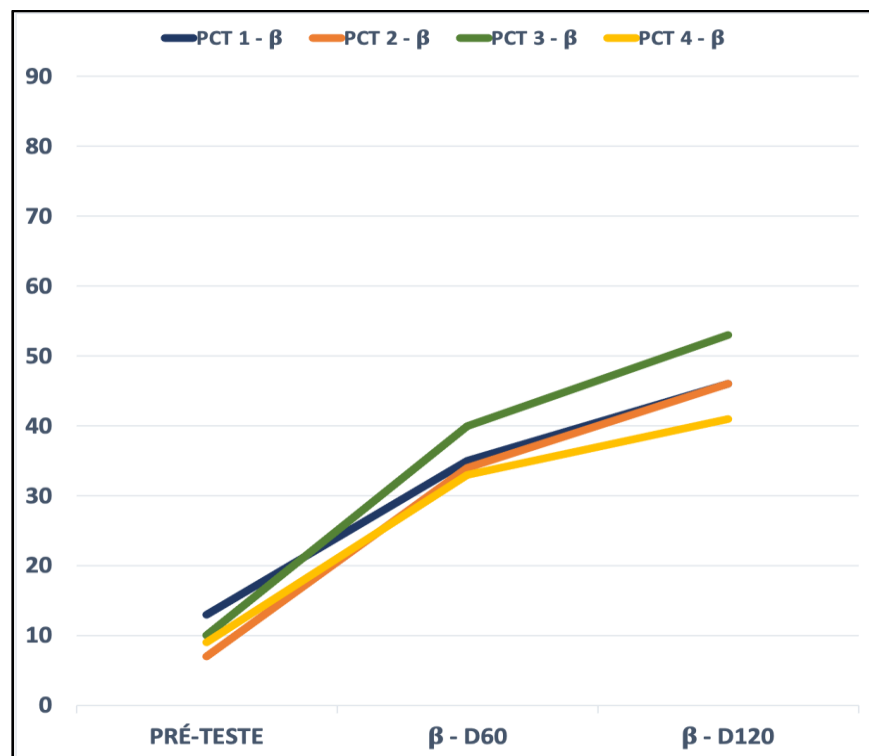


Figura 36 – Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área β (PLLA)

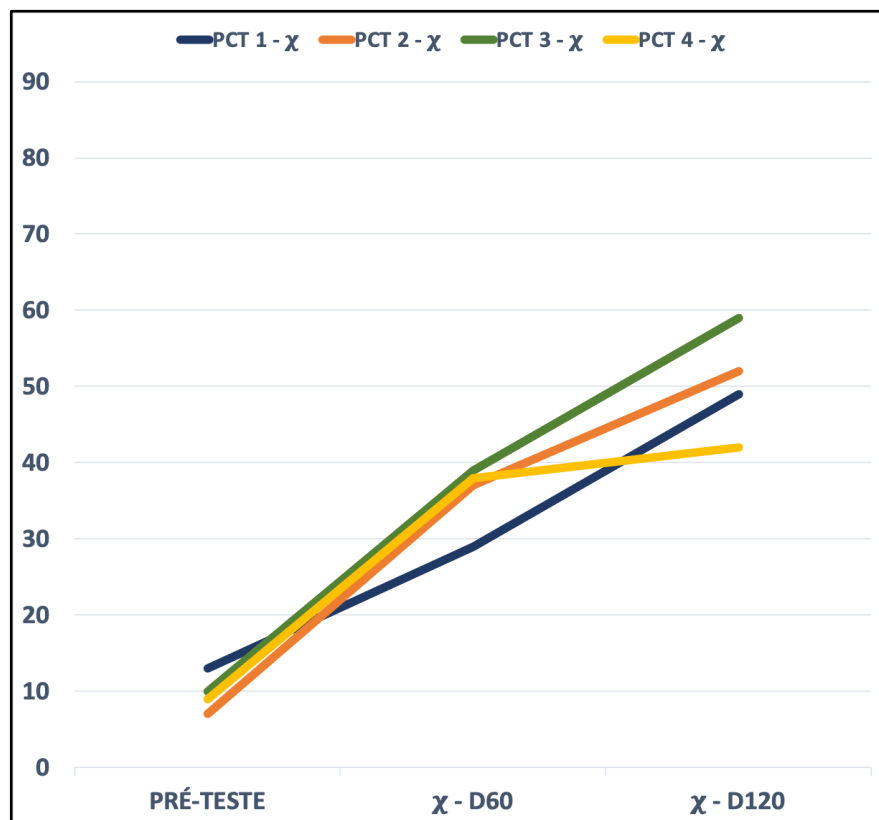


Figura 37 – Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área χ (CaHa).

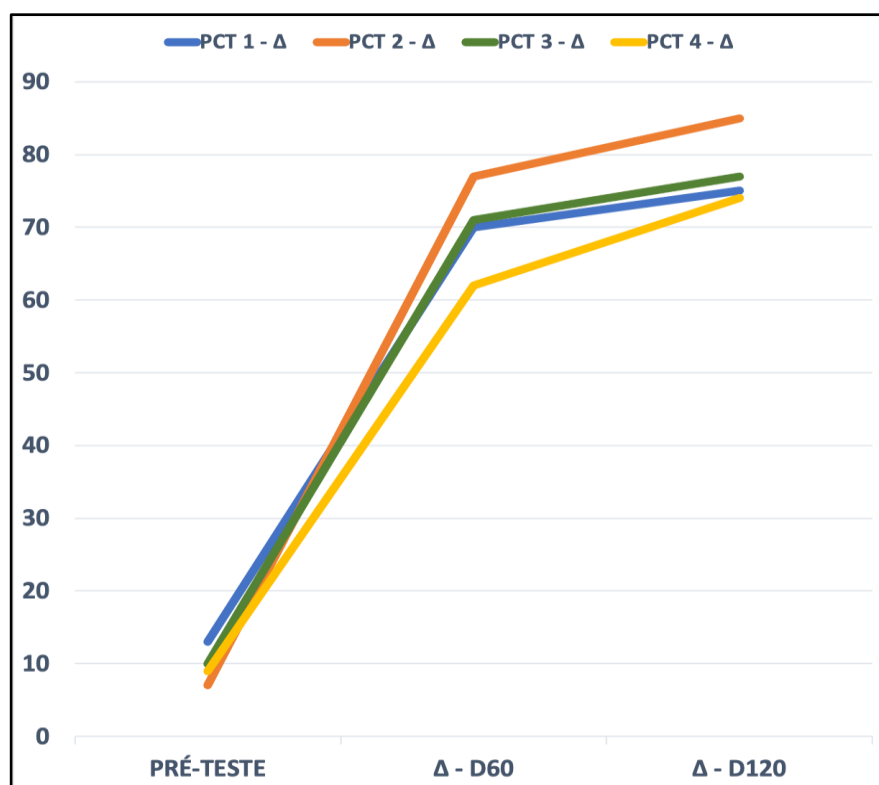


Figura 38 - Análise estereológica quantitativa demonstrando a curva de crescimento ao longo do tempo do estudo, para área Δ (Blend).

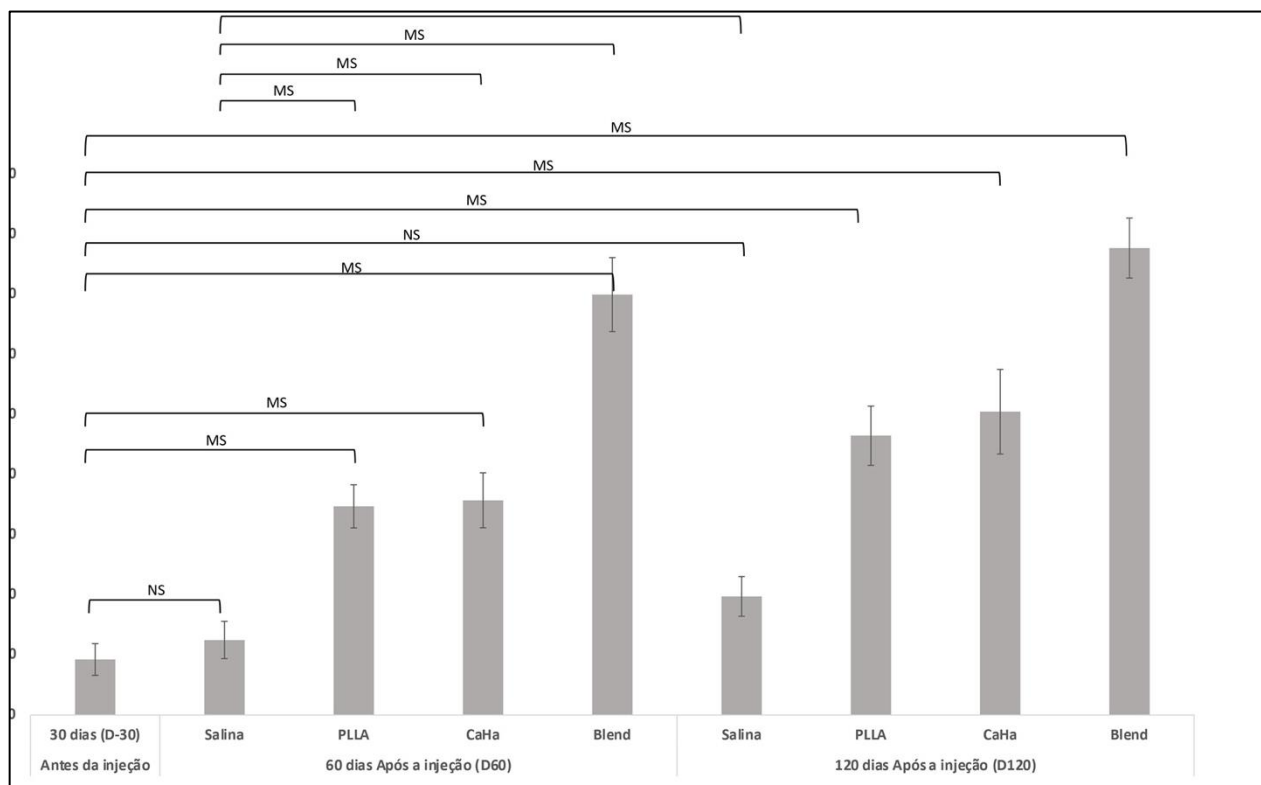


Figura 39 – Média aritmética das 4 pacientes com cada intervenção, e respectivo desvio padrão. A análise estatística das amostras foi representada pela comparação dos valores de P entre grupos, sendo considerado MS: muito significativo e NS: não significativo entre grupos.

Conforme visto nas figuras 35 a 39, após a análise estereológica comparativa e estatística, ao comparar os grupos de D60 e D120 com o D-30, todos apresentaram significância ($p < 0.001$), exceto quando comparado os grupos D60 e D120 da área α , os quais não apresentaram significância e, comparando os grupos D60 da área α (SF0,9%) com todos os outros tratamentos dos grupos D60 e D120, todos apresentaram significância ($p < 0.001$), exceto quando comparado ao D120 da mesma área α , o qual não apresentou significância – sugerindo que o SF0,9% não teve eficácia terapêutica comparável aos outros materiais utilizados, como previsto inicialmente e cumprindo o efeito de área de controle.

Entre os grupos D60 da área β (PLLA) com todos os outros grupos D60 e D120, todos apresentaram significância, sendo que houve menor significância quando comparado aos grupos D120 da área α (SF0,9%) e D120 da área χ (CaHa) e não houve significância estatística na comparação com D120 da área β (PLLA). Ao comparar os grupos de D60 da área χ (CaHa) com os outros grupos D60 e D120, todos apresentaram significância, sendo que houve menor significância quando comparado aos grupos de D120 da área α (SF0,9%) e D120 da área χ (CaHa) e não houve significância quando comparado ao D120 da área β (PLLA). Já os grupos

de D60 da área Δ (Blend) com todos os tratamentos de D120, houve significância ($p < 0.001$), exceto quando comparado ao D120 da área Δ (Blend), o qual não apresentou significância – sugerindo estabilização do estímulo colanogênico.

No comparativo entre os grupos de D120 da área α (SF0,9%) com todos os grupos de D120, todos apresentaram significância ($p < 0.001$) e, comparando os grupos de D120 da área β (PLLA) com D120 da área χ (CaHa), não houve significância e comparado ao D120 da área Δ (Blend), apresentou significância ($p < 0.001$) – o que demonstra a equivalência estatística entre o PLLA e o CaHa, e da superioridade do Blend para com estes.

5. PERSPECTIVAS FUTURAS E CONCLUSÃO

Este estudo permitiu avaliar com maior acurácia o comportamento de dois biomateriais absorvíveis com propriedades estimuladoras de matriz extracelular diretamente na pele humana, podendo embasar a escolha da terapia minimamente invasiva a base de bioestimuladores injetáveis na prática clínica, além de avaliar se há um processo de somatório de efeitos entre tais materiais *in vivo*.

O esclarecimento de tais processos a nível da arquitetura tecidual da pele abdominal poderá influenciar novos estudos envolvendo outros materiais, visando a elaboração de opções terapêuticas mais eficazes, viabilizando economicamente sua produção e favorecendo o acesso dos pacientes ao tratamento. As análises de H&E identificaram claro aumento da matriz dérmica quando injetadas em blend, e com discreto aumento quando injetadas separadamente, em todas as pacientes. Nenhum paciente relatou incômodos típicos de processo inflamatório nem tão pouco foram identificados após 120 dias pós-injeção com os bioestimuladores.

Na análise estatística obtida da média dos pacientes para cada bioestimulador ou sua combinação, destacaram-se notável diferença entre o D-30 com o D60 e D120 ($P < 0.001$) e todos os grupos, no entanto, entre o D60 e o D120 entre grupos com o mesmo estímulo não houve diferença, mas entre estes tempos comparado ao grupo Blend com CaHa e PLLA a diferença estatística foi considerada muito significativa. Além disso, o incremento da matriz se manteve estável e equivalente entre os tempos D60 e D120, o qual indicam que ocorreu um tempo máximo de incremento da matriz dentro desse período.

Embora não se possa afirmar que este aumento da matriz possa se manter por períodos prolongados além de 120 dias, este trabalho propõe que a injeção combinada de CaHa e PLLA na razão 1:1 seja uma condição a ser direcionada para viabilizar clinicamente melhores resultados de regeneração da propriedade plástica da derme.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, S. B. et al. The Role of Calcium Hydroxylapatite (Radiesse) as a Regenerative Aesthetic Treatment: A Narrative Review. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 43, n. 10, p. 1063–1090, 1 out. 2023.
- ALBANO, C. et al. **CHARACTERIZATION OF POLY L-LACTIDE/HYDROXYAPATITE COMPOSITE: CHEMICAL, THERMAL AND THERMOMECHANICAL PROPERTIES**. [s.l.: s.n.].
- AMIRI, M. et al. Calcium Hydroxylapatite (CaHA) and Aesthetic Outcomes: A Systematic Review of Controlled Clinical Trials. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 6, p. 1686, 14 mar. 2024.
- ATTENELLO, N. H.; MAAS, C. S. **Injectable fillers: Review of material and properties**. **Facial Plastic Surgery** Thieme Medical Publishers, Inc., , 2015.
- ATZORI, L. et al. Skin regeneration-related mechanisms of Calcium Hydroxylapatite (CaHA): a systematic review. 2023.
- BARBOSA OLIVEIRA SARAGOÇA, A.; SARAGOÇA FELIX, G.; LOPES DE CASTRO, I. BIOESTIMULADORES DE COLÁGENO (ÁCIDO POLILÁTICO, HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO, POLICAPROLACTONA E POLIDIOXANONA). **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218**, v. 4, n. 1, 5 nov. 2023.
- BAYRY, J. et al. Macrophage: A Potential Target on Cartilage Regeneration. **Frontiers in Immunology** | www.frontiersin.org, v. 11, p. 111, 2020.
- BERLIN, A. L.; HUSSAIN, M.; GOLDBERG, D. J. Calcium hydroxylapatite filler for facial rejuvenation: A histologic and immunohistochemical analysis. **Dermatologic Surgery**, v. 34, n. SUPPL 1, jun. 2008.
- BREITHAUPT, A.; FITZGERALD, R. **Collagen Stimulators. Poly-L-Lactic Acid and Calcium Hydroxyl Apatite**. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America** W.B. Saunders, , 1 nov. 2015.
- CARASCHI, J. C.; CAMPANA FILHO, S. P. Influência do grau de substituição e da distribuição de substituintes sobre as propriedades de equilíbrio de carboximetilcelulose em solução aquosa. **Polímeros**, v. 9, n. 2, p. 70–77, jun. 1999.
- CARRUTHERS, J. et al. Consensus recommendations for combined aesthetic interventions in the face using botulinum toxin, fillers, and energy-based devices. **Dermatologic Surgery**, v. 42, n. 5, p. 586–597, 1 maio 2016.
- CHRISTEN, M.-O. Collagen Stimulators in Body Applications: A Review Focused on Poly-L-Lactic Acid (PLLA). **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. Volume 15, p. 997–1019, jun. 2022.
- COLEMAN, K. M. et al. Neocollagenesis after injection of calcium hydroxylapatite composition in a canine model. **Dermatologic Surgery**, jun. 2008.

COURDEROT-MASUYER, C. et al. **Evaluation of lifting and antiwrinkle effects of calcium hydroxylapatite filler. In vitro quantification of contractile forces of human wrinkle and normal aged fibroblasts treated with calcium hydroxylapatite** *Journal of Cosmetic Dermatology*. [s.l: s.n.].

DE ALMEIDA, A. T. et al. Consensus Recommendations for the Use of Hyperdiluted Calcium Hydroxyapatite (Radiesse) as a Face and Body Biostimulatory Agent. **Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open**, v. 7, n. 3, 1 mar. 2019.

FABI, S. G. et al. Consensus recommendations for combined aesthetic interventions using botulinum toxin, fillers, and microfocused ultrasound in the neck, décolletage, hands, and other areas of the body. **Dermatologic Surgery**, v. 42, n. 10, p. 1199–1208, 1 out. 2016.

FICHA TÉCNICA. DO PRODUTO. **Rennova® Diamond Lido**. [s.l: s.n.].

FICHA TÉCNICA. DO PRODUTO. **Rennova® Elleva X** [s.l: s.n.].

FITZGERALD, R. et al. Physiochemical Characteristics of Poly-L-Lactic Acid (PLLA). **Aesthetic Surgery Journal**, v. 38, p. S13–S17, 6 abr. 2018.

FITZGERALD, R.; VLEGGAR, D. **Facial volume restoration of the aging face with poly-L-lactic acid** *th_1375 2..27*. [s.l: s.n.].

FLAHARTY, P. Radiance. **Facial Plastic Surgery**, v. 20, n. 02, p. 165–169, maio 2004.

GRUNEBaum, L. D.; ELSAIE, M. L.; KAUFMAN, J. Six-month, double-blind, randomized, split-face study to compare the efficacy and safety of calcium hydroxylapatite (Caha) mixed with lidocaine and Caha alone for correction of nasolabial fold wrinkles. **Dermatologic Surgery**, v. 36, n. SUPPL. 1, p. 760–765, maio 2010.

HADDAD, A. et al. **Conceitos atuais no uso do ácido poli-L-lático para rejuvenescimento facial: Revisão e aspectos práticos**. *Surgical and Cosmetic Dermatology* Sociedade Brasileira de Dermatologia 1, , 2017.

HUMPHREY, J. D.; DUFRESNE, E. R.; SCHWARTZ, M. A. **Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Nature Publishing Group, , 11 dez. 2014.

KADOUCHE, J. A. **Calcium hydroxylapatite: A review on safety and complications**. *Journal of Cosmetic Dermatology* Blackwell Publishing Ltd, , 1 jun. 2017.

LEMPERLE, G.; DE FAZIO, S.; NICOLAU, P. **ArteFill: A Third-Generation Permanent Dermal Filler and Tissue Stimulator**. *Clinics in Plastic Surgery*, out. 2006.

LEMPERLE, G.; MORHENN, V.; CHARRIER, U. Human Histology and Persistence of Various Injectable Filler Substances for Soft Tissue Augmentation Correspondence to. **Aesthetic Plastic Surgery**, v. 27, n. 5, p. 354–366, set. 2003.

LOGHEM, J. VAN; YUTSKOVSKAYA, A.; WERSCHLER, W. P. **Calcium Hydroxylapatite Over a Decade of Clinical Experience**. [s.l: s.n.].

MARMUR, E. S.; PHELPS, R.; GOLDBERG, D. J. Clinical, histologic and electron microscopic findings after injection of a calcium hydroxylapatite filler. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 6, n. 4, p. 223–226, dez. 2004.

OH, S. et al. Poly-L-Lactic Acid Fillers Improved Dermal Collagen Synthesis by Modulating M2 Macrophage Polarization in Aged Animal Skin. **Cells**, v. 12, n. 9, p. 1320, 5 maio 2023.

PAVICIC, T. Complete biodegradable nature of calcium hydroxylapatite after injection for malar enhancement: An mri study. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 8, p. 19–25, 9 fev. 2015.

RATNER, B. D.; BRYANT, S. J. **Biomaterials: Where we have been and where we are going. Annual Review of Biomedical Engineering**, 2004.

REBELLATO, P. R. O. et al. Calcium hydroxylapatite for collagen biostimulation in the neck. **International Journal of Dermatology, Venereology and Leprosy Sciences**, v. 3, n. 1, p. 27–31, 1 jan. 2020.

REQUENA, L. et al. Adverse reactions to injectable soft tissue fillers. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 1, p. 1–34, jan. 2011.

ROBINSON, D. M. In Vitro Analysis of the Degradation of Calcium Hydroxylapatite Dermal Filler: A Proof-of-Concept Study. **Dermatologic Surgery**, v. 44, n. 1, p. S5–S9, 1 nov. 2018.

SARAH CROWLEY, J. et al. Facial Rejuvenation with Fat Grafting and Fillers. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 41, p. S31–S38, 1 jun. 2021.

SEDUSH, N. G. et al. Physicochemical Characteristics and Hydrolytic Degradation of Polylactic Acid Dermal Fillers: A Comparative Study. **Cosmetics**, v. 10, n. 4, p. 110, 1 ago. 2023.

SILVERS, S. L. et al. Prospective, open-label, 18-month trial of calcium hydroxylapatite (Radiesse) for facial soft-tissue augmentation in patients with human immunodeficiency virus-associated lipoatrophy: One-year durability. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 118, n. 3 SUPPL., set. 2006.

TZIKAS, T. L. A 52-month summary of results using calcium hydroxylapatite for facial soft tissue augmentation. **Dermatologic Surgery**, v. 34, n. SUPPL 1, jun. 2008.

WASYLKOWSKI, V. C. Body vectoring technique with Radiesse® for tightening of the abdomen, thighs, and brachial zone. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 8, p. 267–273, 19 maio 2015.

WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, v. 29, n. 20, p. 2941–2953, jul. 2008.

YUTSKOVSKAYA, Y. A.; KOGAN, E. A. 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 : JDD**, v. 16, n. 1, p. 68–74, 1 jan. 2017.

YUTSKOVSKAYA, Y.; KOGAN, E.; 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 : JDD**, v. 13, n. 9, p. 1047–52, set. 2014.

Anexo 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

1 - Introdução

Você está sendo convidada a participar de um estudo clínico que se chama “Análise comparativa entre Poli-L-ácido láctico e Hidroxiapatita de Cálcio quanto a bioestimulação de matriz dérmica no tratamento da flacidez cutânea”, conduzido pelo pesquisador Dr. Pedro Ivo Romani de Oliveira Gonçalves, médico cirurgião plástico especialista pela Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica sob o RQE nº 94569, para a obtenção de título de Mestre pelo Programa de Mestrado Acadêmico em Biomateriais e Medicina Regenerativa da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, campus Sorocaba/SP. Antes de decidir se quer ou não participar, é importante que entenda porque o estudo está sendo realizado e o que ele vai envolver. Caso você concorde em participar, leia com atenção as informações que se seguem e também ouça a explicação do médico envolvido neste estudo. Sinta-se livre para perguntar sobre qualquer coisa que você ache que não esteja clara ou se desejar obter maiores informações.

2 - Objetivos

Aferir de forma comparativa, com critérios objetivos e estatisticamente relevantes, a capacidade de promoção da proliferação de elementos da matriz dérmica no tratamento da flacidez cutânea entre uma formulação à base de Poli-L-Ácido Láctico (PLLA) denominada Rennova Elleva® e uma outra formulação a base de Hidroxiapatita de Cálcio (CaHa) denominada Rennova Diamond Lido®, ambas já validadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sob os registros nº 80451960205 e nº 80451960236 respectivamente, no tratamento da flacidez da pele abdominal, facial e outros segmentos corporais.

3 - Descrição do estudo

Este estudo envolve o uso de dois bioestimuladores injetáveis de colágeno, sendo um a base de PLLA e outro de CaHa. Você foi convidada pois apresenta critérios de flacidez cutânea abdominal passíveis de tratamento e seu médico acredita que você pode participar do estudo. Assim como você, outras 03 (três) pacientes com idade entre de 20 e 40 anos serão convidadas a participar. Os produtos em estudo, já registrados no Brasil, são à base de PLLA e CaHa sintéticos (fabricados em laboratório e não possuem nenhum componente de origem animal), sendo ambas substâncias biocompatíveis e atóxicas, e a utilização destes como bioestimulador proporciona uma aparência mais firme à pele ao restaurar parcialmente a elasticidade perdida em áreas corporais.

Você foi selecionada para a participação neste estudo pois apresenta condição associada de flacidez na pele da região abdominal passível de tratamento com bioestimuladores de colágeno. Porém encontra-se aguardando a realização do procedimento de dermolipectomia abdominal (abdominoplastia), que promoverá a extração cirúrgica de todo o tecido abdominal infraumbilical que será submetido ao tratamento proposto por este estudo após o término do mesmo, com a principal vantagem da não permanência de nenhum efeito deletério potencial (ex: formação de nódulo, cicatriz inestética, etc), por mais raro que seja, nessa região.

Apesar do risco de alergias, devido a formulação ser biocompatível, tal risco é muito menor. Como todo produto injetável, após a aplicação você pode sentir uma leve dor local, manchas roxas, inchaço, vermelhidão e sensação de calor no local da aplicação. Essas sensações, caso ocorram, são temporárias e diminuem com o tempo. Todo cuidado será tomado pelo médico responsável e sua equipe para diminuir estes riscos. A aplicação será feita por um médico devidamente treinado e capacitado.

Você deverá informar qualquer alteração que ocorra durante o tratamento. O médico está instruído a tirar você do estudo caso ele julgue necessário, se você estiver correndo algum risco desnecessário, ou caso você decida ser submetida a dermolipectomia abdominal antes do término do estudo. Sua participação ajudará a reunir informações que poderão ajudar outras pessoas no futuro. No entanto, não podemos garantir que você pessoalmente irá se beneficiar da participação neste estudo.

4 - Procedimentos

Caso concorde em participar, você passará pelos seguintes procedimentos:

4.1 - Visita 1 (D-30): Triagem e Pré-teste

Durante esta primeira consulta, o médico irá verificar se você realmente poderá participar do estudo e fará várias perguntas sobre a sua saúde, doenças do passado e quaisquer medicações e/ou cosméticos que você tenha tomado e/ou usado durante os últimos 03 meses, para garantir que isto não afete sua participação. Ele ainda avaliará a sua pele para verificar se você possui perda de elasticidade nas regiões a serem tratadas e se há indicação do uso do bioestimulador. Serão verificados também seu peso, altura, temperatura, pressão arterial, frequência cardíaca e frequência respiratória. Se você possuir todos os critérios de inclusão, assinará este termo e podemos realizar todos os procedimentos do estudo. Você será então alocada em um dos quatro grupos do estudo, divididos de I-IV, onde nenhum dos participantes nem o profissional que irá realizar os procedimentos saberá qual produto foi aplicado em qual região, de modo a não gerar tendenciosidade de resultado. Ainda neste dia, você será submetida

a extração, por biópsia incisional de 5mm, de pequeno fragmento de pele sob anestesia local em que a única dor será decorrente da infiltração anestésica local com agulha muito pequena (30G) e que será de mínima intensidade. Tal fragmento de pele permite que as características do tecido antes das aplicações sejam utilizadas como critério comparativo da evolução da qualidade da pele no decorrer do estudo.

O médico irá entregar a você o “Diário da Voluntária” que deverá ser preenchido por você no dia da aplicação e em todos os dias até você voltar para a próxima consulta (que ocorrerá em aproximadamente 30 dias após a aplicação). Neste diário você deverá responder diariamente perguntas sobre quaisquer sintomas incomuns que você possa ter percebido após a aplicação do produto, todas as medicações que você tomou e todos os cosméticos que você usou. Isto vai precisar de cerca de 03 minutos do seu tempo a cada dia. É muito importante que você preencha este diário da forma correta. Caso esqueça de preenchê-lo em algum dia, não se preocupe, basta deixar que o médico do estudo tome conhecimento disso, escrevendo “ESQUECI” no diário.

É importante frisar que, durante a sua participação no estudo, você evite a mudança dos produtos que você usa todo dia para higiene, como por exemplo, sabonete, xampu, etc. Não será necessário realizar nenhum exame de laboratório. Caso você tenha a possibilidade de engravidar, avise seu médico.

Você deverá preencher o “DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA” que foi entregue a você nesta consulta e todos os dias até seu retorno para a próxima consulta. O médico irá informar a data do seu retorno para a visita 2. **É importante que ao retornar para a consulta você traga o “DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA”.**

4.2 - Visita 2 (D0): Intervenção

Neste dia, serão realizadas as aplicações dos bioestimuladores de forma randomizada de acordo com seu grupo definido na consulta de triagem. Tais aplicações serão guiadas por gabarito específico para você e a única dor a ser sentida será da própria injeção do produto, e que será mínima. Esta aplicação não é nenhuma cirurgia, por isso você não precisará ficar internado (a). Durante a aplicação do produto, você poderá sentir uma dor discreta no local, manchas roxas, inchaço ou vermelhidão. Geralmente estas sensações são pouco incômodas, e tendem a diminuir com o tempo, porém em caso de qualquer dúvida fique à vontade para contatar o investigador do estudo.

Em seguida será entregue um questionário para avaliar como você está se sentindo após a aplicação. Este questionário é de fácil preenchimento e deve ser preenchido durante a

visita. Caso você tenha alguma dúvida para preencher, o médico ou alguém designado por ele poderá ajudar quanto ao preenchimento do questionário, porém o médico ou a pessoa designada por ele não poderá ajudar com as respostas.

Você deverá preencher o “DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA” que foi entregue a você na consulta inicial e todos os dias até seu retorno para a próxima consulta. O médico irá informar a data em que você deverá retornar para a visita 2. É importante que quando você retornar para a consulta você traga o “DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA”.

4.3 - Visita 3 (D+30): Extração de amostra e seguimento.

Esta visita deverá acontecer cerca de 60 dias após a aplicação do produto e é importante que nesta consulta você traga o diário. Serão realizadas fotografias das regiões tratada para comparação com as fotos que serão tiradas em cada visita durante todo o estudo. Também será realizada a coleta de um pequeno fragmento de pele das regiões tratadas por um punch de 5mm por técnica asséptica e sob anestesia local, que será com agulha muito pequena (30G) e que pode proporcionar um pequeno desconforto de mínima intensidade. Tal área de extração de tecido não necessitará de pontos e se fechará de forma espontânea. Após esse processo, você poderá sentir uma dor discreta no local, manchas roxas, inchaço ou vermelhidão. Geralmente estas sensações são pouco incômodas, e, caso ocorram, tendem a diminuir com o tempo. Em caso de qualquer dúvida fique à vontade para contatar o investigador do estudo.

Em seguida, o médico entregará um novo questionário para avaliar como você está se sentindo após os 60 dias da aplicação dos bioestimuladores. Este questionário é de fácil preenchimento e deve ser preenchido durante a visita. Caso você tenha alguma dúvida para preencher, o médico ou alguém designado por ele poderá ajudar quanto ao preenchimento, porém o médico ou a pessoa designada por ele não poderá ajudar com as respostas. O médico irá informar a data em que você deverá retornar para a Visita 4.

4.4 - Visitas 4 e 5 (D+60) e (D+120): Extração de amostra e seguimento final.

A visita 4 (final) ocorrerão 60 e 120 dias após a dose de reforço e, assim como na visita 3, o médico verificará sua evolução clínica. Nesta consulta, assim como em todas as consultas, o médico irá avaliar você, e é importante dizer a ele se foi necessário utilizar alguma outra medicação e/ou cosmético durante o estudo e como você está se sentindo em relação ao tratamento. Também será realizada a última coleta de fragmento de pele das regiões tratadas por um punch de 5mm por técnica asséptica e sob anestesia local, que será com agulha muito pequena (30G) e que pode proporcionar um pequeno desconforto de mínima intensidade. Tal área de extração de tecido não necessitará de pontos e se fechará de forma espontânea. Após

esse processo, você poderá sentir uma dor discreta no local, manchas roxas, inchaço ou vermelhidão. Geralmente estas sensações são pouco incômodas, e, caso ocorram, tendem a diminuir com o tempo. Em caso de qualquer dúvida fique à vontade para contatar o investigador do estudo.

Em seguida, o profissional lhe entregará o último questionário para avaliar como você está se sentindo. Este questionário é de fácil preenchimento e deve ser preenchido durante a visita. Pronto! Está encerrada a parte clínica do estudo, e assim o médico irá consultar sua devida posição na fila e irá informar a data em que você deverá retornar para agendamento de cirurgia e/ou reavaliação.

5 - OBSERVAÇÃO

É importante você saber que a sua participação neste estudo é inteiramente voluntária, **desprovida de qualquer remuneração**, e que você está livre para não participar ou abandonar o estudo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ao seu atendimento normal.

6 - RISCOS/DESCONFORTOS:

As substâncias que compõem o produto utilizado nesta pesquisa são seguras e adequadas para a finalidade a que se destinam. O risco previsto para este tipo de estudo é a possível manifestação de uma irritação no local da aplicação, como vermelhidão na pele, coceira ou eventual alergia. Caso surja algum efeito indesejável durante a utilização do produto, os médicos investigadores devem ser avisados imediatamente.

7 - POTENCIAIS BENEFÍCIOS:

Como benefício espera-se uma melhora na aparência da região abdominal tratada com diminuição da flacidez, melhora no turgor as custas de bioestimulação de matriz.

12.8 - RAZÕES PELAS QUAIS VOCÊ PODERÁ SER EXCLUÍDO DO ESTUDO SEM O SEU CONSENTIMENTO:

- O estudo parou ou foi cancelado;
- Submeter-se ao estudo pode lhe causar prejuízos à saúde;
- Você não pode comparecer às consultas programadas;
- Sua vaga na fila para cirurgia chegou, antes do término do estudo.

9 - CONFIDENCIALIDADE:

Todas as medidas legais serão tomadas para garantir a confidencialidade dos seus dados, em respeito a Lei nº 13.709/2018 (Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais – LGPD). Você será identificado pelas iniciais de seu nome e suas informações pessoais só serão liberadas

com sua autorização escrita. Você não será identificado pessoalmente em nenhuma publicação deste estudo. Entretanto seus dados poderão ser revistos além da equipe em estudo, pelo Comitê de Ética em pesquisa e por representantes da empresa que fabrica o produto em estudo. As fotos obtidas neste estudo clínico poderão ser utilizadas em publicações exclusivamente científicas. No entanto, todas elas estarão sem identificação do nome, dados pessoais ou características pessoais que identifiquem o voluntário em questão. Para que essa identificação seja realmente impedida, características pessoais, tais como marcas ou cicatrizes, serão cobertos com tarjas pretas.

10 - ATUALIZAÇÃO DE RESULTADOS:

Caso você desejar, poderá ser informada sobre os resultados parciais desta pesquisa ou dos resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

11 - DANO PESSOAL:

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), você terá direito a tratamento médico pela equipe de pesquisa que será custeado pela Empresa patrocinadora do estudo, bem como as indenizações que forem legalmente estabelecidas.

12 - GARANTIA DE ACESSO:

Sempre que você quiser obter maiores informações sobre este estudo, por favor entre em contato com os responsáveis pelo estudo:

Dr. Pedro Ivo Romani de Oliveira Pesquisador. Telefone: (11) 99168-1XXX pedroivoromani@hotmail.com	Profª. Drª. Moema de A. Hausen Orientadora. Telefone: (15) 99656-9XXX mahausen@pucsp.br
---	--

Caso seja de sua preferência, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – PUC/SP – Sede Campus Sorocaba está disponível para os esclarecimentos e encaminhamentos necessários para tramitação de Protocolos de Pesquisa na Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. O Comitê de Ética do Campus Sorocaba localiza-se na Rua Joubert Wey, 290 – Vergueiro Sorocaba- SP – CEP 18030-070, sala 506, 5º andar do Prédio da Faculdade. Contato: (15) 3212-9896 – e-mail: cepfcms@pucsp.br. Envie dúvidas por e-mail ou entre em contato com a Secretaria do CEP.

“Em virtude de considerar claras e satisfatórias as informações acima expostas, aceito participar deste estudo, de livre e espontânea vontade”.

“Aceito fornecer o uso de minhas fotografias para fins científicos”:

Sim ()

Não ()

Sorocaba, ____ de ____ de 20 ____.

Nome do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Anexo 2 – DIÁRIO DA VOLUNTÁRIA

Nome da voluntária: Data de nascimento:	
Data	Descrição de sintomas / efeitos adversos ou uso de cosméticos fora do padrão habitual (Descrever com precisão, incluindo nomes e horários. Se não houve, citar como NDN)
Nº da página: _____ Assinatura da voluntária: _____	