

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/08/2022.



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**MATHEUS SOUSA VITÓRIA**

**Caracterização de géis de ácido hialurônico reticulados com polietileno glicol diglicidil éter e butanodiol diglicidil éter com indicações na odontologia**

**Araraquara**

**2020**



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**MATHEUS SOUSA VITÓRIA**

**Caracterização de géis de ácido hialurônico reticulados com polietileno glicol diglicidil éter e butanodiol diglicidil éter com indicações na odontologia**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, na área de Dentística Restauradora.

**Orientador: Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior**

**Araraquara**

**2020**

V845c Vitória, Matheus Sousa  
Caracterização de géis de ácido hialurônico reticulados com polietileno glicol diglicidil éter e butanodiol diglicidil éter com indicações na odontologia / Matheus Sousa Vitória. -- Araraquara, 2020  
45 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara  
Orientador: Osmir Batista de Oliveira Junior

1. Ácido hialurônico. 2. Preenchimentos dérmicos. 3. Cross link. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**Matheus Sousa Vitória**

**Caracterização de géis de ácido hialurônico reticulados com polietileno glicol diglicidil éter e butanodiol diglicidil éter com indicações na odontologia**

**Comissão julgadora**

**Dissertação para obtenção do grau de mestre em ciências odontológicas**

Presidente e Orientador Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior

2º Examinador Prof. Dr. Hermes Pretel

3º Examinador Profa. Dra. Paula Mathias de Moraes

Araraquara, 06 de Agosto de 2020

## **DADOS CURRICULARES**

### **MATHEUS SOUSA VITÓRIA**

NASCIMENTO: 04 de fevereiro de 1991, Feira de Santana – Bahia

FILIAÇÃO: Josefa Martins de Sousa e Valmir Ribas Vitória

2010/2015 – Graduação em Odontologia - Universidade Federal da Bahia

2015/2016 - Atualização em Dentística Restauradora – Instituto Lumier/Ba

2017/2018 – Especialização em Prótese Dentária – Santé Pós-Graduação/Ba

2018/2020 – Mestrado em Ciências Odontológicas, área de concentração Dentística Restauradora – Universidade Estadual Paulista, Araraquara/SP

*Quero ser forte o bastante para enfrentar as dificuldades do meu caminho, sem me tornar tão injusto a ponto de ignorar a dor das outras pessoas.*

*Renée Venâncio*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Professora Josefa Martins de Sousa (in memoriam), a quem primeiro tive de exemplo e admiração do ser professor e a todos os professores que tive o privilégio de ser aluno e semearam conhecimento para que eu pudesse ser quem sou hoje.

Ao meu irmão Victor Sousa, que desde sempre esteve aberto a ouvir e pacientemente aconselhar, mestre nato e de doçura incomparável.

Aos meus amigos, que descobri que poderia ir muito mais longe com o apoio nos momentos difíceis que vivi. Aurélio Amorim, Ariana Barbosa, Deivisson Freitas, Igor Sacramento, Itana França, Marcos Oliveira, Rômulo Santiago, Welber Magalhães. Não seria possível sem o amparo de vocês.

À meu orientador Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior, que se dispôs à minha formação nessa jornada de formação como pesquisador, ao Prof. Dr. José Paschoal Batistuti que gentilmente cedeu além do material o conhecimento necessário ao desenvolvimento dos experimentos realizados e ao Prof. Dr. Hermes Pretel, pela dedicação nas etapas de construção deste trabalho e ao meu aprendizado.

Aos colegas Básia Nogueira, doutoranda, e Mateus Garcia, iniciação científica, pelo auxílio e contribuição nas etapas de execução laboratorial, análises e discussão dos dados, além do apoio pessoal durante o período, muito obrigado e minha gratidão.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia, que me amparou com seu afago de tantos dias e que me encorajou a secar as lágrimas e seguir em frente pelo que eu acredito. E a todos os professores da FOAR que me mostraram um mundo pelos olhares experientes e dedicados.

À toda equipe da biblioteca da FOAR/Unesp em especial as servidoras Ana Cristina, Ceres, Denise e Marley, quem tive a companhia e me deram abrigo em todo o tempo.

Aos servidores desta faculdade, em especial à Seção técnica de pós graduação e ao servidor Cristiano por tanta dedicação a nós nesse período de vida que é a pós graduação, minha gratidão.

Ao Laboratório de Biopolímeros da Universidade de Araraquara (UNIARA), e aos colegas que nele trabalham, em nome do Professor Hernane Barud, pela contribuição em todos os momentos das análises.

Ao Instituto de Química de Araraquara – Unesp, em especial ao Laboratório Multiusuário de Análises Químicas e ao Laboratório de Microscopia Avançada.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Vitória MS. Caracterização de géis de ácido hialurônico reticulados com polietileno glicol diglicidil éter e butanodiol diglicidil éter com indicações na odontologia [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## **RESUMO**

Preenchimentos dérmicos com géis à base de ácido hialurônico (AH) são um dos principais produtos utilizados para diminuição das marcas de expressão e rejuvenescimento facial. Para que o produto seja viável para este fim, é necessária a modificação química de suas cadeias para reduzir sua degradação após implantação em tecidos humanos. A alteração das suas características físico-químicas, como a capacidade de intumescimento, coesividade e viscoelasticidade, vão estar ligadas as diferentes indicações clínicas, sendo de fundamental importância o conhecimento dessas propriedades, bem como estudo de novas formulações para a correta indicação e satisfação dos pacientes. O objetivo deste trabalho foi caracterizar formulações experimentais de géis de ácido hialurônico desenvolvidos com finalidade preenchedora. Para isso foram utilizadas formulações de géis à base de AH reticulados com Butanodiol Diglicidil Éter (BDDE) e Polietileno Glicol Diglicidil Éter (PEGDE), em diferentes concentrações de reticulação. Uma alíquota de cada gel, com alta e baixa concentração de reticulante, foi utilizada para a análise térmica, espectroscopia de absorção infra-vermelho, microscopia eletrônica de varredura, reologia e de grau de intumescimento. Os resultados obtidos evidenciaram diferenças na estrutura e viscoelasticidade dos géis, diretamente relacionadas ao reticulante utilizado e a taxa de reticulação. Foi possível concluir que o BDDE e o PEGDE foram eficazes na reticulação do AH e diferiram entre si quando comparados as taxas de reticulação, sendo possível ainda caracterizar os biomateriais através da metodologia utilizada.

**Palavras – chave:** Ácido hialurônico. Cross link. Preenchedores dérmicos.

Vitória MS. Characterization of hyaluronic acid gels cross-linked with poly (ethylene glycol) diglycidyl ether and butanediol diglycidyl ether with indications in dentistry [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## **ABSTRACT**

Dermal fillers with hyaluronic acid (HA) gels are one of the main products used to reduce expression marks and facial rejuvenation. For the product to be viable for this purpose, chemical modification of its chains is necessary to reduce its degradation after implantation in human tissues. The alteration of its physical-chemical characteristics, such as the capacity for swelling, cohesiveness and viscoelasticity, will be linked to the different clinical indications, being of fundamental importance the knowledge of these properties, as well as the study of new formulations for the correct indication and patient satisfaction. The objective of this work was to characterize experimental formulations of hyaluronic acid gels developed for filling purposes. For this purpose, formulations of AH-based gels cross-linked with Butanediol diglycidyl ether (BDDE) and Poly ethylene glycol diglycidyl ether (PEGDE) were used, in different crosslinking concentrations. An aliquot of each gel, with high and low concentration of crosslinker, was used for thermal analysis, infrared absorption spectroscopy, scanning electron microscopy, rheology and degree of swelling. The results obtained showed differences in the structure and viscoelasticity of the gels, directly related to the crosslinker used and the crosslinking rate. It was possible to conclude that BDDE and PEGDE were effective in crosslinking HA and differed from each other when comparing crosslinking rates, making it possible to characterize biomaterials through the methodology used.

**Keywords:** Hyaluronic acid. Cross link. Dermal fillers.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>3 PUBLICAÇÕES .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Publicação 1 .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 Publicação 2 .....</b>	<b>27</b>
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Preenchimentos dérmicos têm sido um dos principais procedimentos estéticos realizados na face. Pela facilidade de administração, resistência à degradação e à deformação, biocompatibilidade e a possibilidade de reversibilidade, tornaram o ácido hialurônico (AH) o material escolha nesses tipos de procedimentos<sup>1</sup>. O uso do AH, segundo dados da sociedade americana de cirurgia plástica, aumentou entre 2012 e 2017 85%, sendo o segundo procedimento não cirúrgico mais realizado nos EUA<sup>2</sup>.

O ácido hialurônico (AH) é uma molécula natural de glicosaminoglicano formado por repetidos dissacarídeos de ácido D-glucorônico e N-acetilglicosamina. Essa molécula é componente fundamental da matriz extracelular, agindo na organização e forma tecidual e está presente em todos os vertebrados<sup>3-5</sup>. A maior quantidade de AH é encontrada na pele, sendo esse conteúdo perdido conforme o envelhecimento decorrente da ação dos raios ultravioleta (UV). Essa perda gradativa, diminui a elasticidade dos tecidos e por consequência leva a formação de marcas de expressão, comumente conhecido por rugas.

Quando o AH é utilizado de maneira cosmética, o composto de AH sofre modificações dando uma conformação de gel, isso porque o AH é um composto formado basicamente por água, sendo um material fluído se utilizado em sua fórmula não modificada quimicamente. Essa formulação fluída pode ser indicada para aumentar a hidratação superficial da pele, e é rapidamente degradado se utilizado intradérmico, cerca de 12 horas<sup>6-10</sup>.

Para ser utilizado em formulações de volumização, técnicas de modificação de suas cadeias foram então desenvolvidas na tentativa de assim manter o gel de AH presente por períodos maiores, dentre elas a reticulação ou *cross linked* das moléculas, uniformização das partículas e alterando sua concentração, obtendo-se assim um material viscoelástico e por consequência, com degradação mais lenta. Esse gel de AH agora modificado quimicamente, pode ser utilizado como preenchedor dérmico, dando sustentação aos tecidos e com degradação entre 6 a 18 meses, dependendo do grau de reticulação de suas cadeias<sup>4,11-13</sup>.

No método de reticulação, é adicionado um agente reticulador à formulação de AH, que vai reagir e unir as cadeias de AH através das hidroxilas com os grupamentos livres do reticulante, criando um emaranhado denso e anovelado. O componente reticulador mais utilizado em formulações para preenchimentos é o 1,4 Butanodiol diglicidil éter (BDDE)<sup>14,15</sup>. O BDDE é um epóxi com ligações éter que tem segurança

e reconhecimento de sua eficácia descritos na literatura. Ao ser incorporado na formulação, ele vai formar ligações com o grupo hidroxila do AH, a depender da quantidade de sítios reagidos e o emaranhado formado, o gel tende a ser mais ou menos resistente. Todavia, ao ser incorporado ao AH, nem todo BDDE vai ser reagido completamente, sendo capaz de formar 4 tipos de reações: O BDDE reagido em suas duas extremidades (reagido), reagido apenas em uma extremidade (ligação pendente), reagido com água (desativado) e não reagido (residual)<sup>1,14</sup>.

O gel de AH quando utilizado como preenchedor dérmico, tem seu volume inicial dado pelo próprio volume do material e uma parte dado pela hidrofília da molécula do AH, que vai absorver certa quantidade de água circundante. Com o passar do tempo, também pode ocorrer a substituição de parte desse volume por colágeno, onde o AH ativa a deposição de fibroblastos, que por sua ação de sinalização molecular, ativa os receptores da superfície celular estimulando a migração de células<sup>8</sup>, que então vão substituir parte do volume do material por colágeno, elastina e fibras colágenas. Porém nem todo AH vai desencadear esse tipo de reação, pois a ativação e migração dessas células depende da viscosidade e elasticidade do produto<sup>16</sup>.

Outras características também influenciam o tipo de resposta biológica, como seu peso molecular, onde o produto com alto peso molecular pode suprimir a angiogênese à resposta imune e ainda diminuir a inflamação e diferenciação celular<sup>15,16</sup>. Já o AH de baixo peso molecular ou fragmentado, pode induzir a regeneração, formação de cicatriz, imunoestimulação e angiogênese<sup>1,6</sup>.

O ácido hialurônico é naturalmente degradado pela Hialuronidase por processo enzimático, por ataque de radicais livres ou termicamente. As enzimas hialuronidasas são também utilizadas na reversibilidade de aplicações malsucedidas, pois elas clivam o ácido hialurônico reduzindo sua viscosidade e assim permitindo a sua degradação mais rápida<sup>4,17</sup>. A eliminação do AH se dá pelo tecido linfático e é metabolizado pelo fígado.

Casos de incompatibilidade são descritos na literatura, e não são raros. Acredita-se que impurezas proteicas resultante da fermentação bacteriana e contaminantes no produto desencadeiam uma resposta imune<sup>18,19</sup>. São encontrados casos de lesões eritematosas após uma segunda aplicação de AH, que após biópsia local são identificados como inflamação granulomatosa crônica de corpo estranho. Nesses casos, o tratamento é realizado com hialuronidase e administração oral e

infiltração de corticosteroides, podendo ainda serem necessários procedimentos de excisão local<sup>18,19</sup>. Há também relatos referenciados à acidentes vasculares, obstrução de nervos e infecções, sendo causadas por fatores de técnica e tipo de produtos<sup>20-22</sup>.

O campo de estudo das aplicações e resposta do AH pela engenharia tecidual na odontologia é extenso. Os cirurgiões-dentistas tem indicado o AH na correção de assimetrias faciais, suporte de tecidos após reabilitações protéticas, recuperação do padrão gengival em periodontia e implantodontia e na viscosuplementação da articulação temporomandibular. Estudos ainda apontam o uso do AH no tratamento de doença periodontal<sup>23</sup>, auxiliar na regeneração óssea<sup>24</sup>, como revestimento carregado de substâncias para diminuição de cepas bacterianas em ligações de titânio para implantes<sup>25</sup> e ainda como coadjuvante na cicatrização após extrações dentárias.

Outros agentes para reticulação foram testados com o objetivo aprimorar a reação e garantindo resistência à degradação e viscoelasticidade, como divinilsulfona e glutaraldeído, porém não obtiveram resultados satisfatórios quanto o método convencional de reticulação à base de BDDE<sup>15</sup>. O surgimento de um novo produto pode abrir outras possibilidades de formulações garantindo à segurança do tratamento. Há relatos na literatura do uso do polietileno glicol diglicidil éter (PEGDE), podendo ser uma alternativa ao BDDE. O PEGDE é também um epóxi, porém de cadeia maior que o BDDE, sugerindo assim alcançar sítios não reagidos do AH e por resultado tornando o produto final mais elástico, com maior tempo de duração pós implantação e com menos reticulante residual ao final da preparação<sup>4</sup>.

Conhecer as características de cada material se torna indispensável para alcançar produtos que possuam melhores vantagens. As propriedades físicas e químicas de cada material são diferentes e não são encontrados na literatura estudos que comparem produtos com esses dois tipos de reticulantes, tão pouco os efeitos de longevidade e resposta tecidual pós aplicação de formulações de AH com reticulantes BDDE e PEGDE, sendo necessário preencher essa lacuna sobre quais vantagens cada produto apresenta e sua melhor indicação.

#### **4 CONCLUSÃO**

A concentração e o tipo do agente reticulador interfere no grau de intumescimento e nas características morfológicas do gel de ácido hialurônico. Os Géis com maiores níveis de reticulação obtiveram menores taxas de intumescimento quando comparados aos géis com menores níveis de reticulação. O gel de maior nível do reticulante BDDE, obteve maior efetividade de reticulação com uma menor alíquota de reticulante quando comparado aos demais géis. O agente reticulador foi um fator de modificação nas propriedades físico-químicas e mecânicas dos géis. Os testes descritos neste estudo, podem ser utilizados para identificar e caracterizar as propriedades de géis de ácido hialurônico, sendo possíveis formulações para indicações na odontologia.

## \*REFERÊNCIAS

1. Narins RS, Brandt FS, Dayan SH, Hornfeldt CS. Persistence of nasolabial fold correction with a hyaluronic acid dermal filler with retreatment: results of an 18-month extension study. *Dermatologic Surg.* 2011;37(5):644–50.
2. Surgery C, Data N. Cosmetic surgery national data bank 2017.[Compilado estatístico da internet] Nova Iorque: American society for aesthetic plastic surgery; [acesso 2018 set 10]. Disponível em <https://www.surgery.org/sites/default/files/ASAPS-Stats2017.pdf>.
3. Li Z, Zhou F, Li Z, Lin S, Chen L, Liu L, et al. Hydrogel cross-linked with dynamic covalent bonding and micellization for promoting burn wound healing. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018;10(30):25194–202.
4. Zerbinati N, Lotti T, Monticelli D, Martina V, Cipolla G, D'Este E, et al. In vitro evaluation of the sensitivity of a hyaluronic acid PEG cross-linked to bovine testes hyaluronidase. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018;6(1):20–4.
5. Choi HR, Kang YA, Na JI, Huh SY, Huh CH, Kim KH, et al. Oligosaccharides of hyaluronic acid increased epidermal cell stemness by modulation of integrin expression. *J Cosmet Dermatol.* 2012;11(4):290–6.
6. Hiramoto K, Kobayashi H, Yamate Y, Ishii M, Sato EF. Intercellular pathway through hyaluronic acid in UVB-induced inflammation. *Exp Dermatol.* 2012;21(12):911–4.
7. Brandt FS, Cazzaniga A. Hyaluronic acid gel fillers in the management of facial aging. *Clin Interv Aging.* 2008;3(1):153–9.
8. Tokudome Y, Komi T, Omata A, Sekita M. A new strategy for the passive skin delivery of nanoparticulate, high molecular weight hyaluronic acid prepared by a polyion complex method. *Sci Rep.* 2018;8(1):1–9.
9. Kavasi RM, Berdiaki A, Spyridaki I, Corsini E, Tsatsakis A, Tzanakakis G, et al. HA metabolism in skin homeostasis and inflammatory disease. *Food Chem Toxicol.* 2017;101:128–38.
10. Muto J, Morioka Y, Yamasaki K, Kim M, Garcia A, Carlin AF, et al. Hyaluronan digestion controls DC migration from the skin. *J Clin Invest.* 2014;124(3):1309–19.
11. Fujioka-Kobayashi M, Müller HD, Mueller A, Lussi A, Sculean A, Schmidlin PR, et al. In vitro effects of hyaluronic acid on human periodontal ligament cells. *BMC Oral Health.* 2017;17(1):1–12.

---

\* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca:

<http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Leppilahti M, Hellström P, Tammela TLJ. Effect of diagnostic hydrodistension and four intravesical hyaluronic acid instillations on bladder ICAM-1 intensity and association of ICAM-1 intensity with clinical response in patients with interstitial cystitis. *Urology*. 2002;60(1):46–51.
13. Cavallini M, Antonioli B, Gazzola R, Tosca M, Galuzzi M, Rapisarda V, et al. Hyaluronidases for treating complications by hyaluronic acid dermal fillers: Evaluation of the effects on cell cultures and human skin. *Eur J Plast Surg*. 2013;36(8):477–84.
14. De Boulle K, Glogau R, Kono T, Nathan M, Tezel A, Roca-Martinez JX, et al. A review of the metabolism of 1,4-butanediol diglycidyl ether-crosslinked hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatologic Surg*. 2013;39(12):1758–66.
15. Beniamino P, Vadalà M, Laurino C. Cross-linked hyaluronic acid in pressure ulcer prevention. *J Wound Care*. 2016;25(7):400–5.
16. Frenkel JS. The role of hyaluronan in wound healing. *Int Wound J*. 2014;11(2):159–63.
17. Bardazzi F, Ruffato A, Antonucci A, Balestri R, Tabanelli M. Cutaneous granulomatous reaction to injectable hyaluronic acid gel: Another case. *J Dermatolog Treat*. 2007;18(1):59–62.
18. Pinheiro MVB, Bagatin E, Hassun KM, Talarico S. Adverse effect of soft tissue augmentation with hyaluronic acid. *J Cosmet Dermatol*. 2005;4(3):184–6.
19. Bui P, Pons Guiraud A, Lepage C. Benefits of volumetric to facial rejuvenation. Part 2: Dermal fillers. *Ann Chir Plast Esthet*. 2017;62(5):550–9.
20. Chiang YZ, Pierone G, Al-Niaimi F. Dermal fillers: pathophysiology, prevention and treatment of complications. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2017;31(3):405–13.
21. Ibrahim O, Overman J, Arndt KA, Dover JS. Filler nodules: inflammatory or infectious? A review of biofilms and their implications on clinical practice. *Dermatol Surg*. 2018;44(1):53–60.
22. Heydenrych I, Kapoor KM, Boulle K De, Goodman G, Swift A, Kumar N, et al. A 10-point plan for avoiding hyaluronic acid dermal filler-related complications during facial aesthetic procedures and algorithms for management. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018;11:603–11.
23. Mesa FL, Aneiros J, Cabrera A, Bravo M, Caballero T, Revelles F, et al. Antiproliferative effect of topic hyaluronic acid gel. Study in gingival biopsies of patients with periodontal disease. *Histol Histopathol*. 2002;17(3):747–53.

24. Yazan M, Kocyigit ID, Atil F, Tekin U, Gonen ZB, Onder ME. Effect of hyaluronic acid on the osseointegration of dental implants. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2019;57(1):53–7.
25. Valverde A, Pérez-Álvarez L, Ruiz-Rubio L, Pacha Olivenza MA, García Blanco MB, Díaz-Fuentes M, et al. Antibacterial hyaluronic acid/chitosan multilayers onto smooth and micropatterned titanium surfaces. *Carbohydr Polym.* 2019;207:824–33.