

**BRASIL**

R. Antônio Zielonka,
1200 CEP: 83323 210,
Pinhais, Paraná, Brazil
+55 41 30330062

LUXEMBURGO

5, Rue de Bonnevoie 1260
Luxembourg
+352 20 40 11 90

pharmaesthetics.com.br

IG: @pharmaesthetics_official

atendimento@pharmaesthetics.com.br

tel/ wpp: 11 2306 8481

CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DO GEL DE ÁCIDO HIALURÔNICO RETICULADO

2021



A linha de preenchedores faciais injetáveis da **Pharmaesthetics®** produzidos com a tecnologia D.N.E.® (Dynamic Natural Effect) são géis de ácido hialurônico reticulado, monofásico, coeso e comparáveis aos produtos da linha Juvéderm. A comparabilidade foi realizada utilizando os critérios previstos pela norma ABNT NBR ISO 10993-1:2013 e de acordo com o Guia MEDDEV 2.7/1, revisão 4 da Comissão Europeia, aonde características clínicas, técnicas e biológicas foram consideradas para a demonstração de equivalência. Dentre os critérios, o **estudo de cinética de degradação** realizado demonstrou a similaridade entre esses produtos, além de demonstrar que ambos são **biodegradáveis**.

A avaliação do perfil de cinética de degradação dos preenchedores a base de ácido hialurônico demonstra a resposta do produto à frente de situações de reações adversas que possam causar oclusão ou correções no caso de tratamentos mal-sucedidos. Além de demonstrar a longevidade do produto, que é inversamente proporcional a biodegradabilidade do preenchedor.

Preenchedores a base de ácido hialurônico que respondem rapidamente a hialuronidase exógena irão ter uma duração menor in vivo, visto que as enzimas comerciais são similares as presente no corpo humano.

Não há diretrizes estabelecidas para a administração da hialuronidase para gerenciar complicações da injeção de preenchimento de ácido hialurônico, incluindo dose, solvente de reconstituição, volume de diluente, tempo de injeção, ou técnica de injeção. Além disso, a eficácia da dissolução de preenchimento mediada por hialuronidase parece ser dependente de variáveis como o tipo de hialuronidase, o pH, a formulação do fabricante e a diluição⁴. Segundo Cavallini, além dos fatores que influenciam na atividade da enzima, as hialuronidasas disponíveis

comercialmente em muitos países são produzidas em farmácias de manipulação, aonde a pureza, estabilidade e equilíbrio osmolar podem ser desconhecidos.

O mecanismo de degradação do ácido hialurônico é bem estudado e descrito na literatura. O ácido hialurônico é um polímero que naturalmente encontra-se na matriz extracelular, no humor vítreo e cartilagens. A quantidade total de ácido hialurônico em uma pessoa de 70 kg é de aproximadamente 15g, e a taxa de média de troca é de 5g por dia. Aproximadamente 50% do total da quantidade de ácido hialurônico em humanos está concentrado na pele, e tem uma meia-vida de 24-48 horas¹.

O ácido hialurônico é um polissacarídeo que consiste em repetidos monômeros (unidades de ácido glucurônico e dissacarídeo de N-acetilglucosamina) interligados de maneira linear através de ligações 1,4-glicosídicas. A degradação do ácido hialurônico pode ser vista como processo de despolimerização que ocorre pela clivagem de ligações glicosídicas, com a dissociação da macromolécula dos polímeros em cadeias que permitam a dissolução e difusão. A despolimerização do ácido hialurônico tem sido bem caracterizada na literatura e envolve principalmente dois mecanismos: degradação enzimática e degradação por radicais livres¹.

O catabolismo do ácido hialurônico ocorre in situ (por exemplo, na matriz extracelular ou intracelularmente), ou após transferência para os nódulos linfáticos. As cadeias longas de ácido hialurônico (polissacarídeos) são degradadas por enzimas e radicais livres in situ para produzir unidades de ácido hialurônico menores (oligossacarídeos)¹. Os oligossacarídeos são catabolizados intracelularmente ou nos linfonodos. Eventualmente, essas unidades entram no sistema circulatório, onde o fígado e os rins os eliminam¹.



DEGRADAÇÃO DE RADICAIS LIVRES:

Independentemente da magnitude, distúrbios no tecido podem ativar o sistema imunológico do corpo, levando a uma reação inflamatória transitória. A lesão mecânica no tecido causada pela penetração de uma agulha durante a injeção do preenchimento também pode levar a uma reação inflamatória transitória. A inflamação aguda do tecido é frequentemente ligada a um aumento transitório na atividade dos radicais livres no local da lesão. Radicais livres são conhecidos por degradar biomateriais por meio da oxidação. Diversos autores relatados na literatura indicam que a degradação de ácido hialurônico mediada por radical livre ocorre através da clivagem de ligações glicosídicas¹.

DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA:

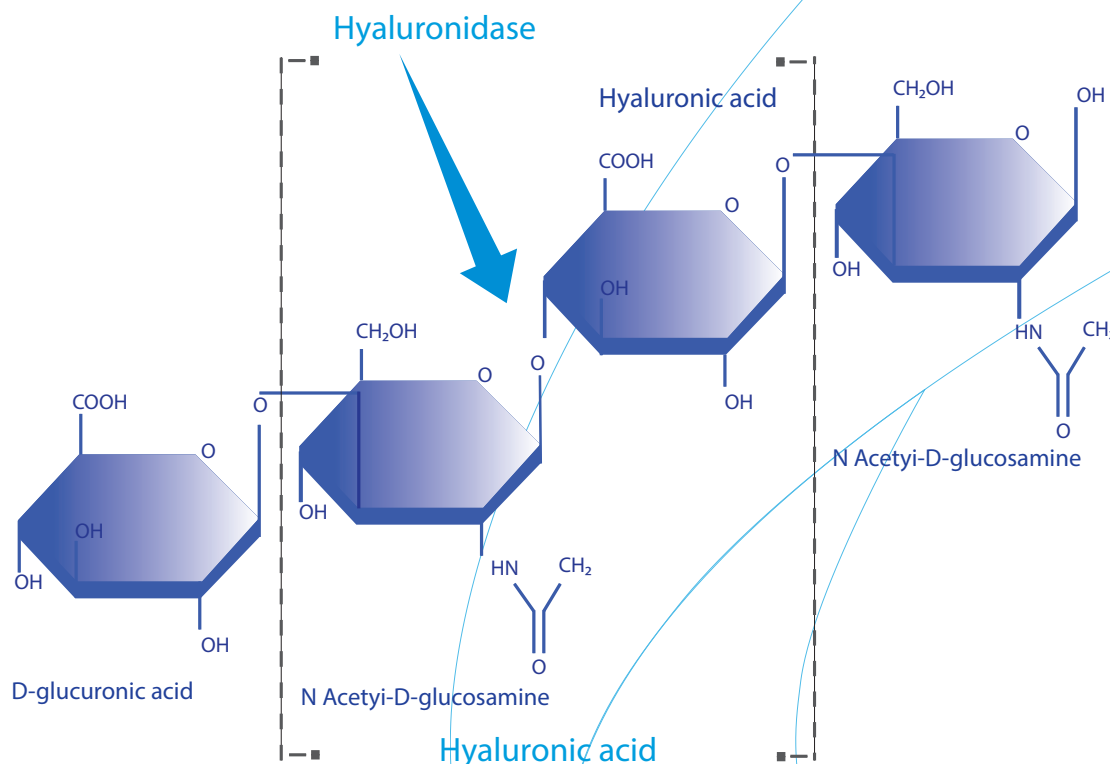
Uma grande classe de enzimas conhecidas coletivamente como as hialuronidases medeiam a degradação enzimática. Nos humanos, as enzimas mais ativas desta classe são HYAL1 e HYAL2. A HYAL2 (ancorado na membrana celular) cliva HA de alto peso molecular (> 1 Mda) em fragmentos de menor peso molecular (20 kDa), e a HYAL1 (encontrado em lisossomos) posteriormente cliva esses fragmentos em moléculas menores (tetrassacarídeos), que são então convertidos em monossacarídeos por várias enzimas da família da hialuronidase (por exemplo, b-glucuronidase, b-N-acetilglucosaminidase)¹. Como a degradação do ácido hialurônico reticulado ocorre pela mesma via que a degradação do ácido hialurônico nativo, o processo de eliminação dos resíduos segue a mesma rota de eliminação natural.

Como dito anteriormente, soluções intradérmicas de ácido hialurônico reticulado sofrem degradação pelas mesmas enzimas que degradam o ácido hialurônico endógeno. Portanto, a reticulação não altera a cadeia glicosaminoglicano, a reticulação só estabiliza a molécula².

Diferenças na sensibilidade dos produtos à degradação enzimática não afetam apenas o tempo de residência do preenchimento no tecido, mas também a velocidade com que o produto é dissolvido em caso de uma emergência, como na oclusão intravascular^{6,8}.

A hialuronidase, da mesma forma que os preenchedores a base de ácido hialurônico, está disponível em várias formulações, categorizadas como extratos brutos purificados de tecido testicular ovino ou bovino e produtos de tecnologia recombinante de DNA humano. Embora todas as principais formulações sejam dosadas de forma equivalente, cada tipo tem seu próprio pH ideal para funcionamento e é considerado terapeuticamente distinto pelo FDA⁶.

A atividade da enzima hialuronidase é muito específica, hidrolisando as ligações entre N-acetil-D-glucosamina e ácido D-glucurônico. A enzima é utilizada em casos de correção excessiva, fibrose, granuloma e para reduzir o risco de uma eventual compressão vascular e / ou oclusão, que pode levar à necrose da pele³.

Figura 1: especificidade da enzima Hialuronidase (Fonte: Referência 3)


Os testes de cinética de degradação avaliam a biodegradabilidade da solução de preenchimento intradérmica com ácido hialurônico. A introdução de radicais livres e/ou enzima hialuronidase provocam a degradação do produto mimetizando o que ocorre na região intradérmica onde o produto é implantado.

Como demonstrado nos estudos de Cavallini M, et al, em geral, os preenchedores com concentrações mais baixas de AH e uma menor extensão da reticulação tem a dissolução mais rápida e homogênea. Por outro lado, quanto mais concentrado e com mais ligações cruzadas os preenchedores tiveram uma resposta de dissolução com hialuronidase menos homogênea após a primeira administração de hialuronidase. Nessas amostras, o gel não dissolvido persistiu e só foi digerido após aplicação de hialuronidase adicional⁴. Na prática clínica, esse fenômeno pode se traduzir como uma necessidade de injetar hialuronidase em mais de uma sessão para dissolver o preenchimento com um alta concentração de AH e/ou alto grau de reticulação, esse é o caso dos preenchedores produzidos com a tecnologia D.N.E[®].

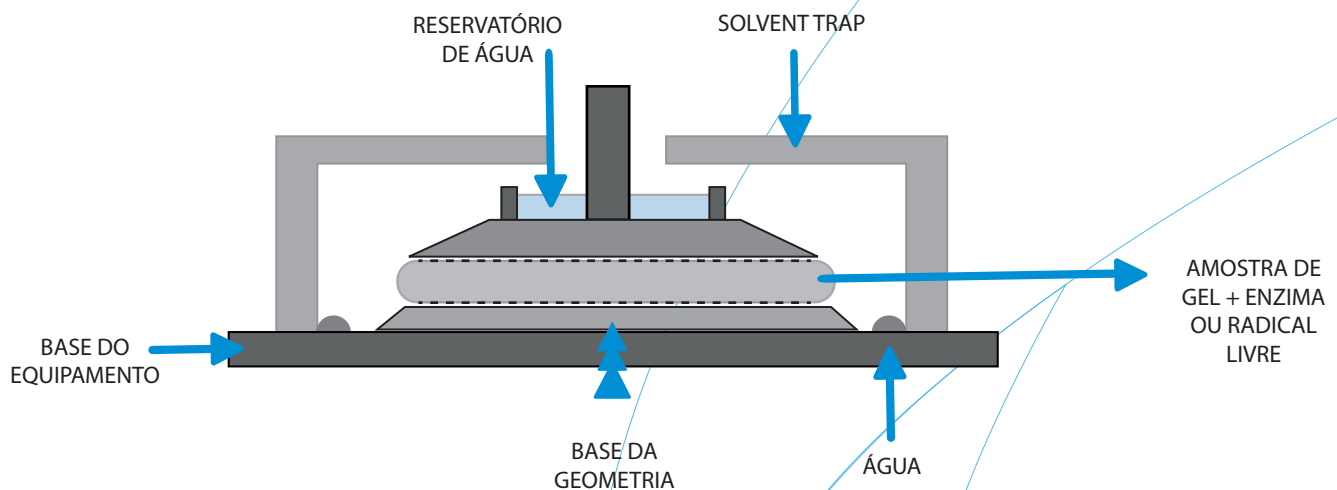
O estudo desenvolvido por Cavallini⁴ demonstra como alguns preenchedores responderam aos testes *in vitro*

realizados, avaliando o desempenho de diferentes produtos disponíveis no mercado quando expostos a enzima hialuronidase.

A cinética de degradação de soluções de preenchimento intradérmicas com ácido hialurônico tem sido amplamente estudada, pois está diretamente relacionada à longevidade clínica e com a biodegradação do produto. O estudo de degradação avaliando o perfil de degradação do gel é fundamental para caracterizar a biodegradabilidade dos produtos com a finalidade de preenchimento temporário.

Em laboratório o teste é realizado simulando as condições em que o produto fica após implantado e respeitando também as condições ótimas de trabalho da enzima, no caso de testes com a enzima, e minimizando os efeitos da atmosfera. Os testes são realizados no equipamento reômetro com um aparato que bloqueia qualquer ação do meio externo sobre a amostra e garantindo que a resposta de degradação seja proveniente somente da atuação da enzima e/ou da oxidação pelo radical livre.

Figura 2: Imagem esquemática do Aparato “Solvent trap”



Todos os testes devem ser realizados de forma padronizada, eliminando as interferências do ambiente e depois de reconstituir a enzima, a solução deve ser usada em no máximo 6 horas⁸. A temperatura de 37°C é a ideal para a realização do teste, mimetiza a temperatura corpórea e a utilização do aparato (solvent trap) impede que ocorra a evaporação da água e ressecamento do gel. O ressecamento impede que o radical livre ou a enzima atuem na amostra. Todas as amostras foram testadas com o mesmo período para que os resultados sejam compatíveis e comparáveis.

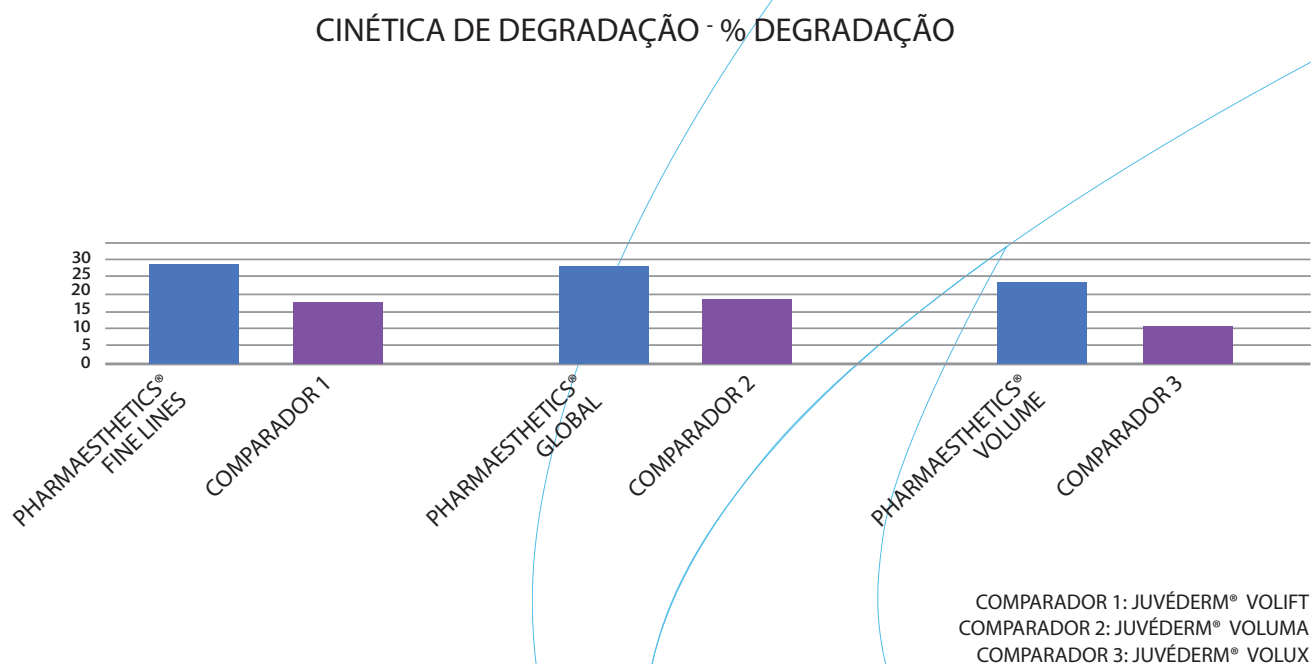
Assim como o comparador, Juvéderm, os preenchedores da **Pharmaesthetics®** são resistentes a degradação com enzima. Diversos estudos explicam a razão dos preenchedores da linha Juvéderm serem mais resistentes, e isso é atribuído ao alto grau de reticulação e coesividade. O alto grau de reticulação e coesividade desses produtos lhes conferem maior durabilidade.

O teste de cinética de degradação demonstrou que todas as concentrações dos produtos a base de ácido hialurônicos da **Pharmaesthetics®** são biodegradáveis por ação de radicais livres (peróxido de hidrogênio) e por enzima específica (hialuronidase), bem como seus comparadores da linha Juvéderm.

Estudos realizados na **Universidade Federal do Paraná**, com metodologia própria e padronizada, compararam o perfil de degradação dos produtos da **Pharmaesthetics®** com o da linha Juvéderm.



Figura 3: Resultados dos testes de cinética de degradação com enzima hialuronidase bovina - Type I-S por 60 minutos à 37°C em Reomêtro



O estudo de Buhren et al, analisou *in vitro* a degradabilidade de três diferentes preenchedores a base de ácido hialurônico com hialuronidase bovina. Comparando com outras marcas comerciais disponíveis, o Juvéderm mostrou-se mais resistente a degradação, essa resistência está relacionada ao forte grau de reticulação⁷. A diferença ou mesmo resistência à "degradabilidade" pode ser atribuída à concentração de ácido hialurônico no preenchedor, ao grau de reticulação, e/ou suas propriedades coesivas⁷.

Landau relata que a família Restylane é mais sensível à degradação do que produtos da família Juvéderm. Após 120 minutos em contato com a enzima, apenas 37% dos preenchedores da Juvéderm estavam degradados. Demorou em torno de 24 horas para degradar completamente este produto, utilizando 40 unidades de enzima. Os autores atribuem resistência à degradação de Juvéderm a concentração de ácido hialurônico superior e nível mais alto de cross-linking⁸.

Em teste *in vitro* realizado por Cavallini M, et al, o Juvéderm Voluma with Lidocaine (20 mg/mL) foi moderadamente dissolvido.

Nos estudos *in vivo* desenvolvidos por Margit, *et al*, as diferenças de resposta entre os preenchedores reversíveis a base de ácido hialurônico frente à enzima hialuronidase está relacionada a composição química do gel. Este artigo sugere que a taxa na qual a hialuronidase dissolve o preenchimento de AH pode estar diretamente relacionada ao grau de reticulação do gel de ácido hialurônico. Neste estudo o Juvéderm Voluma XC teve decréscimo significativo no volume no 14º dia de estudo utilizando 20 e 40 unidades de hialuronidase, se comparado ao controle⁵.



Estudos reportam que produtos da linha Juvéderm são menos responsivos a enzima hialuronidase. Quando comparado diretamente com Belotero, Juvéderm mostrou ser mais resistente à degradação em 40% das vezes. Quando comparado diretamente ao Restylane, o Juvéderm mostrou-se mais resistente à degradação em 90% das vezes⁶. Belotero demonstrou ser mais reativo a presença da enzima hialuronidase em até 6 horas de testes frente a Juvéderm Ultra e Restylane¹¹, ou seja, degrada mais rapidamente que os demais. Todos os géis testados apresentaram, após 24 horas de teste, o mesmo percentual de degradação.

Os membros da família Belotero, em contraste com as variedades monodensificadas do estudo em questão, são compostos polidensificados que contêm AH continuamente reticulado em uma única fase. Fabricado pela Merz, os enchimentos da família Belotero são produzidos com uma tecnologia de matriz polidensificada coesiva (CPM) que cria um gel com reticulação não uniforme. Isso cria um enchimento de baixa viscosidade que exhibe distribuição intradérmica homogênea em comparação com outros preenchedores⁶. Em um experimento em seres humanos com hialuronidase bovina, Belotero foi considerado o menos resistente à degradação em comparação com Restylane e Juvéderm Ultra Plus⁶.

No geral, a família Juvéderm exhibe muitas das qualidades descritas como associadas à resistência à degradação pela hialuronidase: é um composto monofásico e suas formulações geralmente têm concentrações mais altas de AH e grau de reticulação maior⁶. Essas características são comuns aos preenchedores da **Pharmaesthetics**[®]. Em um único

estudo com preenchedores da Juvéderm foi observado a maior degradação com o Juvéderm Volite (12 mg/mL), essa formulação tem concentração de AH significativamente mais baixa do que a maioria dos preenchedores da família Juvéderm. Neste mesmo experimento, o Juvéderm Voluma (20 mg/mL) demonstrou significativamente mais resistência à degradação⁶.

Os agentes reticuladores e condições usadas no processo de reticulação podem afetar a taxa de degradação de géis AH. Além disso, outras propriedades físicas como a concentração de gel e o grau de intumescimento podem afetar a taxa de degradação¹⁰. A resistência em degradar com a enzima hialuronidase comprova a durabilidade dos produtos.

Estudos que comparam a resposta de Juvéderm a variedades de hialuronidase, demonstram que nenhuma é claramente melhor em dissolver Juvéderm do que outras⁶.

A reversibilidade é um dos atrativos que contribuem para a alta demanda de procedimentos estéticos utilizando preenchedores a base de ácido hialurônico. Para tratar a hipercoreção, injeção superficial de AH ou reação inflamatória, a hialuronidase é aplicada na pele e tecido subcutâneo por infiltração direta ou na massa palpável de AH. Massagem é necessária para misturar mecanicamente a enzima com o AH e promover degradação do preenchedor⁸. Podendo ser necessário injetar mais que uma vez a enzima para atingir correção necessária.

CONCLUSÃO

Em relação à degradação pela hialuronidase, a composição química e as propriedades físicas do ácido hialurônico podem interferir no tempo que o material é dissolvido e na dose ideal de enzima em casos de reversão de efeitos adversos. Assim, dependendo do volume aplicado e da concentração do gel utilizado, será necessário o uso de mais ou menos enzima para alcançar a correção desejada.

A resistência a degradação dos preenchedores a base de ácido hialurônico produzidos pela **Pharmaesthetics**[®] com a tecnologia D.N.E.[®] está relacionada às propriedades do gel, a alta taxa de reticulação e a coesividade, que criam uma densa rede tridimensional de ácido hialurônico mantendo o implante intacto e, assim, limitando a capacidade da enzima de se difundir e degradar a rede tridimensional de ácido hialurônico. As mesmas características que conferem maior resistência do gel à ação da enzima possibilitam que a durabilidade dessa linha de preenchedores seja maior.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - De Boule, k. Glogau, R., Kono, T., Nathan, M., Tezel, A., Roca-Martinez, J.X., Paliwal, S., Stroumpoulis, D., 2013. A review of the metabolism of 1,4-butanedioldiglycidylether-crosslinked hyaluronic dermal fillers. *Dermatol. Surg.* 39, 1758-1766.
- 2 - Yui, N.; Okano, T.; Sakurai, Y. Inflammation responsive degradation of crosslinked hyaluronic acid gels. *J. Control. Release* 1992, 22, 105-116.
- 3 - Ranneva, E. The Use of Hyaluronidase to Treat the Excess of Cross-Linked Hyaluronic Acid Following Aesthetic Medicine Procedures: A Practical Point of View. *Emergency Medicine: Open Access (Los Angeles)* 2017, 7:4.
- 4 - Cavallini M, Papagni M, Trocchi G (2020). Sensitivity of Hyaluronic Acid Fillers to Hyaluronidase: An in vitro Analysis. *J Clin Exp. Dermatol Res.* 11:517. Doi: 10.35248/2155-9554.20.11.517
- 5 - Margit L.W. Juhász, Melissa K. Levin, and Ellen S. Marmur. The Kinetics of Reversible Hyaluronic Acid Filler Injection Treated with Hyaluronidase. 2017 by the American Society for Dermatologic Surgery, Inc. Published by Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved. ISSN: 1076-0512 · *Dermatol Surg* 2017;0:1-7 · DOI: 10.1097/DSS.0000000000001084
- 6 - Paap MK, Silkiss RZ. The interaction between hyaluronidase and hyaluronic acid gel fillers - a review of the literature and comparative analysis. *Plast Aesthet Res* 2020;7:36. <http://dx.doi.org/10.20517/2347-9264.2020.121>
- 7 - Buhren et al. Standardized in vitro analysis of the degradability of hyaluronic acid fillers by hyaluronidase. *Eur J Med Res* (2018) 23:37 <https://doi.org/10.1186/s40001-018-0334-9>
- 8 - Landau, Marina. Hyaluronidase Caveats in Treating Filler Complications. *Dermatol Surg* 2015;41:5347-5353. DOI: 10.1097/DSS.0000000000000555
- 9 - Hongyue Chen, Jing Qin and Yi Hu. Efficient Degradation of High-Molecular-Weight Hyaluronic Acid by a Combination of Ultrasound, Hydrogen Peroxide, and Copper Ion. *Molecules* 2019, 24, 617; doi:10.3390/molecules24030617.
- 10 - Kablik, et al. Comparative Physical Properties of Hyaluronic Acid Dermal Fillers. *Dermatologic Surgery*, 2009;35:302-312.
- Timothy Corcoran Flynn, M.D. David H. Thompson, Ph.D. Seok-Hee Hyun, Ph.D. Molecular Weight Analyses and Enzymatic Degradation
- 11 - Profiles of the Soft-Tissue Fillers Belotero Balance, Restylane, and Juvéderm Ultra. *Plastic and Reconstructive Surgery*. October Supplement 2013 Volume 132, Number 4S-2.