

Linda Djohra Amroun

Ácido hialurónico e neocolagénesis: a importância na harmonização orofacial - uma revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2021

Linda Djohra Amroun

**Ácido hialurónico e neocolagénesse: a importância na harmonização orofacial orofacial -
uma revisão narrativa**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2021

Linda Djohra Amroun

**Ácido hialurónico e neocolagénesis: a importância na harmonização orofacial orofacial -
uma revisão narrativa**

Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Dentária

Linda Djohra Amroun

Resumo

O ácido hialurónico desempenha um papel fundamental no funcionamento da matriz extracelular. É um seu componente fundamental, importante na morfogénese e contribui significativamente para a hidrodinâmica dos tecidos, migração e proliferação celular.

O objectivo desta revisão narrativa, é analisar o papel do ácido hialurónico em harmonização orofacial e simultaneamente compreender o seu papel na neocolagénese enquanto bioestimulador de colagénio.

Procedeu-se ao levantamento de artigos nas bases de dados *PubMed*, *Bon*, *Elsevier*, *Science Direct*, considerando essencialmente os últimos 5 anos de publicação (2016 a 2021).

A presença de ácido hialurónico tem sido associada ao aumento da síntese de colagénio nos tecidos mediante a ligação a receptores membranares tais como *cluster* de diferenciação 44 e o receptores para a motilidade mediada por hialurano. A introdução de ácido hialurónico na derme, estimula os fibroblastos a produzir colagénio tipo I. Essa estimulação está associada a um aumento localizado das forças mecânicas, indicado pelo alongamento dos fibroblastos, sendo mediada por uma regulação positiva do receptor do fator de crescimento transformante beta e do fator de crescimento do tecido conjuntivo.

O conhecimento dos princípios de bioestimulação e neocolagénese são fundamentais para melhor compreender o mecanismo de acção dos vários bioestimuladores, bem como seleccionar a melhor opção em função da biologia do paciente.

Será este conhecimento dos profissionais de saúde em harmonização orofacial, que os capacitará – a mais do que dominar um conjunto de técnicas injetáveis – a entender que os princípios da harmonização orofacial integram biomedicina, biomateriais, farmacologia, engenharia e vão ciência fora, longe de encontrar fronteiras!

Palavras chaves: “ácido hialurónico”, “bioestimulação”, “neocolagénese”, “harmonização orofacial”.

Abstract

Hyaluronic acid plays a key role in the functioning of the extracellular matrix. It is a fundamental component, important in morphogenesis and significantly contributes to tissue hydrodynamics, cell migration and proliferation.

The aim of this narrative review is to analyze the role of hyaluronic acid in orofacial harmonization and simultaneously understand its role in neocollagenesis as a collagen biostimulator.

Articles were surveyed in the *PubMed*, *Bon*, *Elsevier*, *Science Direct* databases, essentially considering the last 5 years of publication (2016 to 2021).

The presence of hyaluronic acid has been associated with increased collagen synthesis in tissues through binding to membrane receptors such as the differentiation *cluster* 44 and the receptor for hyaluronan-mediated motility. The introduction of hyaluronic acid in the dermis stimulates the fibroblasts to produce collagen type I. This stimulation is associated with a localized increase in mechanical forces, indicated by the elongation of the fibroblasts, being mediated by a positive regulation of the transforming growth factor beta receptor and of connective tissue growth factor. Knowledge of the principles of biostimulation and neocollagenesis are essential to better understand the mechanism of action of the various biostimulators, as well as to select the best option depending on the patient's biology.

It will be this knowledge of health professionals in orofacial harmonization that will enable them - more than mastering a set of injectable techniques - to understand that the principles of orofacial harmonization integrate biomedicine, biomaterials, pharmacology, engineering and go beyond science, far from finding borders!

Key words: “hyaluronic acid”, “biostimulation”, “neocollagenesis”, “orofacial harmonisation”.

Dedicatória

Queridos pais, agradeço por todo o esforço e incentivo. A vossa generosidade, tenura e amor levam-me longe e trouxeram-me até aqui.

Querida mãe, es como o sol que não pára de brilhar, meu conforto, minha certeza, meu modelo, meu pilar, minha referência. Uma mulher generosa e valente.

Querido pai, símbolo da minha força e da minha luz. Sempre disponível para garantir que nada falte. Um homem de coração puro.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer ao bom Deus, todo Poderoso, por me ter dado a força para sobreviver, como também a coragem e audácia para ultrapassar todas as dificuldades. Agradeço ao júri por aceitar julgar este trabalho. Encontre aqui a expressão da minha mais profunda gratidão e respeito.

À minha professora Teresa Sequeira, uma mulher de grande coração que me guiou, orientou durante toda a realização deste trabalho ; agradeço o seu apoio, a grande disponibilidade e a preciosa ajuda que me deu. Você me deu a grande honra de aceitar orientar esta tese. Fiquei muito feliz por ter seguido seu ensino acadêmico e é com grande prazer que pude continuar trabalhando com você neste assunto que me ensinou muito para minha futura prática.

À minha professora Augusta Silveira, pela vossa ajuda em todas as etapas da realização deste trabalho, pela vossa disponibilidade, vossa simpatia, pelo ensino durante os anos de estudo, encontre aqui a expressão da minha profunda gratidão e dos meus respeitosos agradecimentos.

Je remercie mon père pour tous les sacrifices qu'il a faits pour nous voir réussir. Tu es pour moi un exemple de force, de détermination et de travail. Je te remercie pour tous l'amour que tu nous as donné, rien dans ma vie n'aurait été possible sans toi. Je te remercie du plus profond de mon coeur, je t'aime papa.

Je remercie ma mère pour m'avoir soutenu et toujours pousser à donner le maximum de moi même tout au long de ma vie, pour tout l'amour que tu m'as donné. Ma vie ne serait pas pareille sans toi, tu as toujours été là pour m'accompagner, me prendre la main, me soutenir, m'encourager, me féliciter. Merci pour tout ce que tu fais pour nous, je t'aime maman.

À Yema, Mima, Dida, Papa Hamid, Tonton Kara, Dada Karim, Dada Mezian, merci d'avoir été là pour moi à chaque instant de ma vie, j'ai une famille en or et quand on est aussi bien entouré on ne peut que réussir.

Merci à Liza d'être une petite soeur merveilleuse. Merci pour ton amour, ta gentillesse, ton humour et ta présence, tu es une personne unique, toujours souriante tu es ma force. Merci pour

tout ce que tu as fait pour moi, tu es ma sœur préférée et que je porte dans mon cœur. Tu es le plus grand trésor de ma vie.

Je remercie mon grand frère qui m'a toujours soutenu, encouragé et protégé, merci pour ta présence, ta gentillesse, ta compréhension, tes conseils. J'ai de la chance de t'avoir comme grand frère car je sais que tu es toujours prêt à m'aider et à me rendre heureuse.

À toi mon amie, ma sœur, ma belle sœur, Yasmine merci pour tes repas délicieux, et ces moments de joies partagés avec toi. Je suis contente que tu fasses partie de la famille.

À Camille, ma cousine adorée merci d'être la personne que tu es, généreuse, simple, rigolote et toujours à l'écoute.

À Elise la cerise et Hana l'ananas mes petites cousines d'amour, merci pour tout ces éclats de rire, je vous aime très fort.

À Mira et Issa, j'ai hâte de rentré pour vous voir grandir, vous rendez mes journées merveilleusement belle.

Merci a tout mes cousins et cousines de m'avoir apporté tant de joies, de bonne humeur et d'amour, je vous aime fort.

Merci a mes copines Romaïssa, Selssabil et Imane de m'avoir montré le chemin, soutenu et aider dans les révisions pendant ces 5 années. Merci pour tous ces fous rires et de m'avoir soutenu quand ça n'allait pas. Vous êtes plus que mes copines vous êtes des soeurs pour moi.

A todos os meus professores e funcionários da Universidade.

Agradeço ao Diretor da universidade.

Índice geral

Resumo	V
Abstract	VI
Dedicatória	VII
Agradecimentos	VIII
Lista de abreviaturas	XI
I. Introdução	1
1. Materiais e Métodos	2
II. Desenvolvimento	2
1. O ácido hialurónico (AH).....	2
1.1 Definição	2
1.2. Reticulação do AH	4
1.3. Síntese e degradação	4
1.3.1. Síntese.	4
1.3.2. Degradação.....	5
1.4. Propriedades	6
1.4.1. Propriedade higroscópia.....	6
1.4.2. Propriedade viscoelástica.....	6
1.4.3. Neocolagénese	6
1.5. Benefícios e contraindicações.....	9
III. Discussão	10
IV. Conclusão	12
VI. Bibliografia	14

Lista de abreviaturas

AH - Ácido Hialurónico

CaHa - Hidroxiapatita de Cálcio

CD44 – Determinante de Cluster 44 (*Cluster of Differentiation 44*)

CTGF - Fator de crescimento do tecido conjuntivo (*Connective tissue growth factor*)

Da - Dalton

GAGs – Glicosaminoglicanos

HAS – Sintetase do Ácido Hialurónico (*Hyaluronan Synthase*)

HOF - Harmonização Orofacial

MEC – Matriz Extracelular

PLLA - Ácido poli-L-láctico

RHAMM - Receptor de motilidade mediada pelo ácido hialurónico (*Receptor for Hyaluronan-Mediated Motility*)

TGF β – Fator de crescimento transformante beta (*Transforming growth factor beta*)

TLRs - receptores de *Toll-like*

I. Introdução

O ácido hialurónico (AH), também designado como hialurano ou hialuronato de sódio, desempenha um papel fundamental no funcionamento da matriz extracelular (MEC). É um seu componente fundamental, importante na morfogénese, contribui significativamente para a hidrodinâmica dos tecidos, migração e proliferação celular, desempenhando um importante papel anti-inflamatório pela inibição da destruição do tecido e facilitando a cicatrização (Cui *et al*, 2021). O AH é produzido por uma diversidade de células, admitindo-se, no entanto, que as de origem mesenquimatosa, como os fibroblastos da derme, sejam a sua fonte predominante (Toole, 2004; Abate & Salini, 2017; Cui *et al*, 2021).

O AH já é há muito utilizado em medicina estética, por exemplo no tratamento e na prevenção dos sinais de envelhecimento bem como no tratamento de malformações faciais (Manfrédi *et al*, 2016; Cui *et al*, 2021). A sua utilização em cirurgia oral é mais recente e em particular na periodontologia, onde é frequentemente utilizado como terapia adjuvante no tratamento de doenças periodontais (Xie, Ouyang & Wang, 2020).

A harmonização orofacial (HOF) permite restauração ou criação dos contornos faciais e equilíbrio simétrico (Maia & Salvi, 2018; Cui *et al*, 2021). A HOF integra um conjunto de procedimentos capazes de equilibrar o rosto dos pacientes de forma a torná-los mais harmoniosos, de acordo com as características individuais. O ponto de partida é avaliar a queixa principal do paciente e a partir daí realizar uma anamnese de forma criteriosa, bem como uma análise facial, para assim, poder indicar o melhor tratamento que a HOF pode proporcionar, de forma segura e eficaz (Maia & Salvi, 2018; Almeida & Sampaio, 2016).

O médico dentista concilia constantemente os aspectos funcionais e estéticos. Pode-se alterar o suporte labial, corrigir depressões, sulcos ou rugas, restaurar perdas de contorno facial e ajustar o volume facial, nomeadamente na correção de assimetrias faciais e desequilíbrios craniométricos - a estética do sorriso e do rosto podem ser alteradas com o contributo da administração de AH. (Moraes, Bonani & Romualdo, 2017; Cui *et al*, 2021).

O objectivo desta revisão narrativa, é analisar o papel do AH em HOF e simultaneamente compreender o seu papel na neocolagénesse enquanto bioestimulador de colagénio.

1. Materiais e Métodos

Realizou-se uma revisão narrativa da literatura apropriada à atualização do conhecimento em harmonização orofacial, evidenciando as perspectivas científicas mais recentes.

Procedeu-se ao levantamento de artigos nas bases de dados *PubMed*, *Bon*, *Elsevier*, *Science Direct*, considerando os últimos 5 anos de publicação (2016 a 2021). Os termos de indexação utilizados foram “ácido hialurónico”, “neocolagénesis” e “harmonização orofacial” e os termos equivalentes em língua inglesa.

Os critérios utilizados para inclusão das publicações foram (a) presença dos descritores utilizados na busca no título ou resumo; (b) artigos publicados em língua portuguesa, francesa, espanhola ou inglesa, (c) artigos de acesso livre, (d) dissertações e teses. Os critérios de exclusão foram (a) duplicidade de artigos; (b) artigos cujo conteúdo integral não atendia ao tema proposto; (c) artigos com textos não disponibilizados completamente. A partir daí, prosseguiu-se com a análise da fundamentação teórica dos estudos. Por fim, realizou-se a apreciação da metodologia aplicada, resultados obtidos e discussão. Para analisar a produção científica identificada, não se utilizaram técnicas qualitativas e/ou quantitativas específicas de tratamento de dados, tendo sido feita a análise de cada um dos textos individualmente.

Foram utilizadas 16 referências anteriores a 2016 e/ou indexados em outras bases de dados pela pertinência considerada no alinhamento do texto ou pela sua importância na contextualização histórica. Assim, realizou-se este trabalho acadêmico por meio da análise de 43 referências bibliográficas.

II. Desenvolvimento

1. O ácido hialurónico (AH)

1.1. Definição

O AH é um polímero natural pertencente à família dos glicosaminoglicanos (GAGs) ou mucopolissacarídeos de alto peso molecular (10.000-10.000.000 Da), o único não sulfatado. É

composto de dímeros dissacarídeos de ácido β -D-glucurónico e N-acetil- β -D-glucosamina, ligados entre si por ligações glicosídicas β -1,4 e β -1,3 alternadas, formando um polímero linear (Moraes, Bonani & Romualdo, 2017). A abundância dos grupos carboxílicos dos dissacarídeos confere-lhe uma elevada polaridade e por isso características altamente hidrofílicas.

A sua grande dimensão e elevada hidrofília, possibilita que nos tecidos se encontre sob a forma de uma rede ou malha de cadeias de AH estabilizadas por ligações de hidrogénio intra e inter-moleculares (Fakhari & Berkland, 2013; Xie, Ouyang & Wang, 2020). As grandes estruturas supramoleculares que forma, podem fixar grandes quantidades de água e iões para manter a hidratação do tecido. Ainda, tais estruturas supramoleculares de AH estão associadas à rede de feixes de colagénio da MEC e portanto, contribuem para a forma e a organização arquitetónica dos tecidos, conferindo-lhes propriedades mecânicas que determinam a manutenção da sua integridade e hidratação (Agostini & Jalil, 2018). O AH constitui assim um elemento essencial da MEC encontrando-se nos mais diversos tecidos como cartilagem humana, cérebro, tecidos conjuntivos, sendo particularmente abundante nos tecidos mais fluidos como o líquido sinovial, cordão umbilical (geleia de Wharton) e humor vítreo (Kavasi *et al*, 2017; Shin *et al*, 2019).

No Homem, o AH tem uma presença significativa na pele. Detetado na epiderme onde parece controlar a proliferação e diferenciação das células basais, está principalmente presente na derme onde é produzido pelos fibroblastos e aí depositado (Fan *et al*, 2019; Xie, Ouyang & Wang, 2020; Naor, 2016).

Sendo um relevante componente da MEC, tem vindo a ser associado também à angiogénese, à reacção com espécies reactivas de oxigénio bem como ao desenvolvimento e progressão de cancro (Slevin *et al*, 2007 ; Soltés *et al*, 2006; Chen *et al*, 2018). Curiosamente, as várias funções fisiológicas do AH parecem depender do seu tamanho molecular. Embora a definição quantitativa de alto e baixo peso molecular ainda varie entre investigadores, muitos consideram o AH com baixo peso molecular como pró-inflamatório e estimulador da angiogénese, enquanto o AH com alto peso molecular apresenta efeitos anti-inflamatórios, imunossupressores e anti-angiogénicos (Naor, 2016; Litwiniuk *et al*, 2016; Fallacara *et al*, 2018).

O AH é o polímero mais utilizado para materiais implantáveis. É um polímero biodegradável natural que fornece viscoelasticidade à derme e à maioria dos meios fluidos humanos (Quan *et al*,

2013; Pereira & Delay, 2014; Xie, Ouyang & Wang, 2020).

1.2. Reticulação do AH

O AH pode-se apresentar sob uma forma mais ou menos reticulada o que permite a formação de moléculas mais viscosas e mais difíceis de serem degradadas pelas hialuronidasas. A rede molecular de AH é estabilizada pela introdução de um agente de reticulação, o mais utilizado é o 1,4 butadienol diglicidil éter. O objetivo desta modificação química é obter ligações que unem todas as moléculas de AH na rede, formando um gel de AH e assim retardar a sua degradação enzimática. Quanto mais reticulado é o AH, mais viscoso se torna e mais resiste à degradação enzimática (Xie, Ouyang & Wang, 2020; Greene & Sidle, 2015).

O grau de reticulação do AH, determina as condições e o local em que deverá ser administrado: AH menos reticulado é fluido e é preferencialmente colocado em planos faciais superficiais; AH mais espesso e mais reticulado, é injetado profundamente, frequentemente a nível supraperiosteal. Ainda, versões do produto mais fluidas podem ser fáceis e uniformemente distribuídas na derme, enquanto versões mais viscosas podem dar uma aparência irregular à pele se não forem injetadas com profundidade suficiente. Assim, versões de AH de absorção mais lenta (reticulado) não são recomendadas em áreas frágeis e de pele fina (contorno dos olhos, contorno dos lábios), devendo ser administrados profundamente para evitar a formação de massas não desejáveis na superfície da pele (Salti & Rausso, 2015).

1.3. Síntese e degradação

1.3.1. Síntese

O AH é sintetizado por uma classe de proteínas integrais da membrana – as enzimas sintetases do AH (HAS) que existem sob 3 isoformas (HAS1, HAS2 e HAS3). Estas glicosiltransferases são responsáveis pela sua polimerização e sua translocação para fora da célula (Lee & Spicer, 2000; de Oliveira *et al*, 2016 ;Fan *et al*, 2019; Chen *et al*, 2018).

A MEC é composta por proteínas fibrosas, estruturais (fibras de colagénio e fibras elásticas) e proteínas de adesão (fibronectina, laminina), desempenhando um importante papel nas interações célula-célula e célula-MEC. A MEC integra ainda um componente mais fluido, a substância fundamental amorfa, composta por polissacarídeos (GAGs e proteoglicanos) (de Oliveira *et al*, 2016; Govindaraju *et al*, 2019).

Os principais GAGs presentes na MEC são AH, sulfato de condroitina, sulfato de dermatan, sulfato de heparan, heparina, sulfato de queratan. Ao contrário de outros GAGs, o AH não forma proteoglicanos mas agrega proteoglicanos. Os proteoglicanos têm ainda a capacidade de se ligar a certas citocinas ou fatores de crescimento e, assim, modular sua biodisponibilidade (Govindaraju *et al*, 2019).

O AH pode-se ligar a proteínas da MEC (colagénio, fibronectina, laminina) bem como a a recetores da superfície celular dos fibroblastos como o CD 44 (glicoproteína antigénica de diferenciação do tipo cluster 44 e o receptor de motilidade mediada pelo AH, (RHAMM) que regulam a sinalização, diferenciação e proliferação celular (Govindaraju *et al*, 2019; Pan *et al*, 2013).

1.3.2. Degradação

A degradação do AH dá origem a moléculas de baixo peso molecular que podem resultar da ação enzimática das hialuronidasas bem como pela ação de forças mecânicas ou espécies reativas de oxigénio e azoto (Song *et al*, 2019).

O balanço entre síntese e degradação é intenso podendo ser 1/3 da totalidade de AH renovado por dia na derme (Balassiano & Bravo, 2014; Litwiniuk *et al*, 2016).

Durante o envelhecimento, ocorre uma diminuição da produção de AH o que resulta, de forma mais ou menos acentuada, em atrofia dérmica, retardo na cicatrização de feridas e aumento da frequência e profundidade de estrias na superfície da pele. Além disso, nas mulheres a partir da menopausa, a diminuição da progesterona e do estrogénio resulta numa redução considerável do AH na derme (Litwiniuk *et al*, 2016; Fan *et al*, 2019; Govindaraju *et al*, 2019).

1.4. Propriedades

1.4.1. Propriedade higroscópica

Das várias propriedades que o AH exibe, é realmente a sua elevada hidrofília que mais se destaca no contexto HOF. O AH é um captador de água excepcional, pois cada molécula pode absorver de 500 a 1000 vezes seu volume de água, o que explica a sua capacidade de promover aumento de volume. Na presença de água, mesmo em concentrações muito baixas, o AH forma um gel, que permite resistência à pressão externa. Essa característica explica o papel essencial do AH na manutenção da estrutura da pele e na sua hidratação. Constitui assim um material de preenchimento de eleição (Litwiniuk *et al*, 2016; Govindaraju *et al*, 2019; Kleiser & Nyström, 2020).

1.4.2. Propriedade viscoelástica

A viscosidade é a propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento e a elasticidade é a capacidade de um material recuperar sua forma após uma deformação (tração, flexão, torção ou compressão). O AH é um gel com propriedades viscoelásticas que desempenha por isso um papel importante no amortecimento e fortalecimento da MEC motivo pelo qual atua como um lubrificante no líquido sinovial (Jain, 2013; Pan *et al*, 2013; Kleiser & Nyström, 2020).

As suas características viscoelásticas permitem-lhe infiltrar-se facilmente nos tecidos sofrer deformações e manter os tecidos hidratados pois fixa água e iões. Estas propriedades parecem facilitar a proliferação, migração celular e a cicatrização (Sundaram & Cassuto, 2013; Jain, 2013; Kleiser & Nyström, 2020).

1.4.3. Neocolagénese

O colagénio é a proteína mais abundante do organismo, contribuindo com mais de 30% do seu peso seco. É um componente fundamental na MEC: proporciona um importante suporte estrutural – destacando-se pelas suas propriedades de flexibilidade e forte resistência à tração – mas

também está envolvido num amplo espectro de funções celulares tais como crescimento, diferenciação e morfogênese. Integra uma ampla família (apresenta mais de 25 tipos que conferem diversos graus de rigidez e resistência à tensão), em que todos os colagénios possuem regiões de tripa hélice através das quais interagem com outras proteínas – quer da MEC, quer na superfície membranar. É alvo de degradação enzimática – por metaloproteases da MEC - e é fagocitado por macrófagos (Leitinger, 2011; Mienaltowski & Birk, 2014; Nanashima *et al*, 2018; Aziz *et al*, 2016; Semkova & Hsuan, 2021).

Na pele, os fibroblastos dérmicos produzem toda a MEC e nela ficam envolvidos. A MEC modela a homeostase da pele, funcionando como plataforma de sinalização, reservatório de fatores solúveis e como suporte estrutural que proporciona tanto a resistência mecânica como a elasticidade. O colagénio I, e pode ligar-se aos fibroblastos através de integrinas expressas na sua superfície celular. Esta ligação do colagénio à superfície dos fibroblastos, bem como a ligação de outras moléculas da MEC - tal como o AH – determina a intensidade das forças mecânicas a que os fibroblastos dérmicos ficam sujeitos - alterações nessas forças induzem alterações fenotípicas que resultam da alteração do padrão de expressão génica dos fibroblastos e assim as propriedades de toda a MEC (Turlier *et al*, 2013; Wang *et al*, 2017; Vinshtok, & Cassuto, 2020; Kleiser & Nyström, 2020; Cui *et al*, 2021).

A abundância e a conformação do colagénio modifica-se naturalmente com a idade e a sua alteração tem consequências no envelhecimento de muitos órgãos. As moléculas de colagénio de um organismo envelhecido ligam-se umas às outras por um mecanismo de reticulação iniciado por reações não enzimáticas entre proteínas e açúcares. Durante o envelhecimento, a síntese de colagénio na derme é reduzida (Litwiniuk *et al*, 2016; Zhang *et al*, 2019). O colagénio alterado deixa de cumprir sua função biológica e repercute-se no funcionamento de tecidos e órgãos, sendo um dos mais visíveis o aparecimento de rugas na pele – a sua alteração faz com que a pele perca seu brilho e firmeza e pode promover o aparecimento de manchas escuras (Nanashima, *et al*, 2018; Row *et al*, 2016; Kleiser & Nyström, 2020). Ainda, durante o envelhecimento, a síntese de colagénio na derme vai sendo reduzida (Litwiniuk *et al*, 2016; Zhang *et al*, 2019).

A reposição de colagénio é por isso um desafio ao longo da vida. A neocolagênese é importante na biologia dos tecidos humanos e pode ser otimizada com a administração de AH exógeno. A

HOF usa este princípio biomédico nas suas decisões terapêuticas (Ianniti *et al*, 2016; Nanashima *et al*, 2018; Fallacara *et al*, 2018).

A presença de AH tem sido associada ao aumento da síntese de colagénio nos tecidos mediante a ligação a receptores membranares tais como CD 44 e RHAMM (Vinshtok, & Cassuto, 2020; Govindaraju *et al*, 2019). O AH de alto peso molecular, mediante a interacção com o CD44, activa o processo de cicatrização e induz a migração celular na área lesionada (Litwiniuk *et al*, 2016). A interacção do AH com RHAMM estimula a inflamação e a reparação tecidual através da ativação de macrófagos e proliferação de fibroblastos (Naor, 2016; Aziz *et al*, 2016). Já o AH de baixo peso molecular, através da regulação dos receptores de toll-like (TLRs), controla a reacção celular aos agentes patogénicos, activa a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, provocando eficazmente um mecanismo inflamatório (Fallacara *et al*, 2018).

A introdução de AH na derme, estimula os fibroblastos a produzir colagénio tipo I. Essa estimulação está associada a um aumento localizado das forças mecânicas, indicado pelo alongamento dos fibroblastos, sendo mediada por uma regulação positiva do receptor do fator de crescimento transformante beta (TGF β) tipo II e fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) (Kleiser & Nyström, 2020; Semkova & Hsuan, 2021). A via de sinalização do TGF β é influenciada por forças mecânicas e é essencial para a atividade dos fibroblastos dérmicos (Aziz *et al*, 2016; Semkova & Hsuan, 2021). O TGF β induz o CTGF que regula a função dos fibroblastos, incluindo a síntese do procolágeno tipo I e outras proteínas da MEC (Litwiniuk *et al*, 2016; Kleiser & Nyström, 2020).

A função do fibroblasto parece ser assim estimulada pelo aumento do suporte estrutural da MEC conferido pelo AH que preenche espaços, aumenta a intensidade das forças mecânicas a que os fibroblastos ficam sujeitos o que resulta no aumento da expressão do procolágeno tipo I, o precursor das fibras de colagénio tipo I (Row *et al*, 2016; Kleiser & Nyström, 2020; Mienaltowski & Birk, 2014).

Após a injeção de AH, os fibroblastos tendem a alinhar-se em torno do AH injetado e exibindo uma morfologia mais alongada, indicando aumento da resistência mecânica e suporte estrutural na MEC dérmica (Litwiniuk *et al*, 2016; Zhang *et al*, 2019). Sabe-se que a enzima prolil-4-hidroxilase catalisa a formação de hidroxiprolina, um aminoácido necessário para a síntese

estável da região helicoidal tripla do colágeno tipo I e que a proteína de choque térmico 47 (HSP47) é um chaperone molecular necessário para que o procolagénio tipo I assuma a conformação necessária para passar através do retículo endoplasmático rugoso durante a sua síntese (Litwiniuk *et al*, 2016; Row *et al*, 2016).

Verifica-se que a expressão dos genes procolágeno tipo I, prolil-4-hidroxilase, HSP47 e procolágeno tipo III (o precursor do colágeno tipo III e que se associa às fibras de colagénio tipo I) é significativamente induzida após injeção de AH. Estes dados indicam que o suporte estrutural melhorado da MEC dérmica induz o alongamento de fibroblastos e a síntese de procolágeno (Semkova & Hsuan, 2021; Zhang *et al*, 2019; Mienaltowski & Birk, 2014). Ainda, verificou-se que fibroblastos alongados, adjacentes ao AH, apresentaram também um aumento da expressão de receptores TGF β e de CTGF, 3 e 10 vezes superior a fenótipos não alongados (Aziz *et al*, 2016).

A deposição de colagénio maduro é assim aumentada quando melhorado o suporte estrutural da MEC dérmica (Row *et al*, 2016; Kleiser & Nyström, 2020). Ainda, esta alteração da MEC dérmica, induzida por injeções de AH, está também associada à proliferação de fibroblastos e células endoteliais verificando-se um aumento da vascularização, quer na derme papilar – favorecendo a proliferação de células epiteliais - como na reticular. (Aziz *et al*, 2016; Kleiser & Nyström, 2020). Estes conceitos fundamentam as técnicas de HOF atuais que se denominam no seu conjunto: Bioestimuladores de Colagénio.

1.5. Benefícios e contraindicações

Moraes e colaboradores (2017), afirmam que o AH não causa reação inflamatória, por estar naturalmente presente na derme sendo sua aplicação praticamente indolor, permitindo o recurso apenas a anestesia local para efeitos de preenchimento (Litwiniuk *et al*, 2016; Moraes, Bonani & Romualdo, 2017). A sua utilização auxilia a reparação de tecidos, estimula a síntese de colagénio, contribuindo para proteger a pele contra fatores intrínsecos e extrínsecos de envelhecimento. O AH é um produto seguro, moldável capaz de promover resultados imediatos e relativamente duradouros, contudo, não permanentes, pois é naturalmente reabsorvido. O seu efeito pode ainda

ser revertido através do uso de hialuronidasas, circunstância que o diferencia de outros produtos com efeito de preenchimento. O AH é assim o produto de primeira escolha da maioria dos profissionais, devido aos raros relatos de hipersensibilidade, conferindo segurança clínica (Vinshtok & Cassuto, 2020; Maia & Salvi, 2018).

O seu uso na HOF é uma das opções não cirúrgicas mais aceites por quem procura estas intervenções pois apresenta várias vantagens relativas a outros preenchedores disponíveis, das quais se destacam: menor custo inicial e facilidade de administração.

Embora o AH injetável seja considerado o “padrão de ouro” na HOF, a sua utilização também pode provocar efeitos indesejáveis, às vezes graves, contudo, relativamente raros (Moraes, Bonani & Romualdo, 2017; Ferreira & Capobianco, 2016). Alguns pacientes podem apresentar reações alérgicas as substâncias químicas e elementos presentes na sua composição (Balassiano & Bravo 2014; Vinshtok & Cassuto, 2020). Assim, o AH não deve ser utilizado em indivíduos com hipersensibilidade conhecida a algum dos seus constituintes, em mulheres grávidas ou no período de amamentação, bem como não deve ser injetado ou aplicado próximo a áreas em que haja doença ativa de pele, inflamações ou feridas. As complicações vasculares causadas pela compressão do material de preenchimento são avaliadas como uma complicação rara, entretanto, potencialmente devastadora capaz de levar à necrose de tecidos, infeção e morte (Moraes, Bonani & Romualdo, 2017).

III. Discussão

A HOF representa hoje uma área importante da Medicina Dentária, estando atualmente a ser considerada a sua validação como Competência Clínica pela Ordem dos Médicos Dentistas em Portugal. Assiste-se a uma mudança de paradigma, que prioriza a cavidade oral em equilíbrio com as estruturas faciais. Segundo Cabral *et al*, 2020, a compilação de informação médica, biomédica e tecnológica é essencial para esclarecer investigadores, profissionais e pacientes. Nesse sentido, o desenvolvimento desta tese contribuirá para amplificar conhecimento nesta temática, fortemente associada ao papel do AH como bioestimulador de colagénio (Kleiser &

Nyström, 2020).

Os procedimentos minimamente invasivos, onde se inclui a administração de AH em diferentes tipos de reticulação, revolucionaram os tratamentos propostos pela HOF. O produto ideal e eficaz deverá, segundo vários autores reunir um conjunto de características: não imunogénico, não tóxico, não cancerígeno, não migratório, fácil de aplicar, não palpável, indolor e de longa duração (Bass, 2015; Greene & Sidle, 2015; Cabral *et al*, 2020; Xie, Ouyang & Wang, 2020).

O AH usado como bioestimulador ou volumizador, tem apresentado vantagens em comparação com outros produtos usados para técnicas de HOF, como o ácido poli-L-láctico (PLLA) e a hidroxiapatita de cálcio (CaHA). O AH é considerado ideal para áreas onde a palpabilidade é menos desejável, como os lábios (Vinshtok & Cassuto, 2020; Gupta *et al*, 2019). Também é ideal para a correção de depressões, sulcos e rugas de média profundidade, como linhas da testa, linhas glabellares, sulcos nasolabiais e sulcos nasais moderados e para a restauração a longo prazo do volume dos tecidos moles profundos (Kleiser & Nyström, 2020).

O CaHA é um bioestimulador de colagénio bem estabelecido e clinicamente aceite e integrado em HOF. É composto de moléculas que causam a produção de malha de colagénio. Nos últimos anos, tem sido usado cada vez mais na forma hiperdiluída como um agente bioestimulador ao invés de um preenchimento volumizador para melhorar a qualidade e firmeza da pele no rosto e no corpo. No entanto, ainda faltam orientações sobre as técnicas necessárias para alcançar os resultados ideais (Gupta *et al*, 2019; Kleiser & Nyström, 2020). É considerado um material altamente biocompatível, durável e não permanente, pois é idêntico ao componente mineral fisiológico encontrado nos ossos e dentes humanos. Portanto, o CaHA não tem antigenicidade e provoca apenas uma pequena resposta imune. A injeção muito rasa pode resultar em visibilidade de material branco e formação de nódulos e a colocação muito profunda pode exigir bastante material para a correção adequada. Devido à sua cor opaca, o CaHA é menos favorável para áreas como os lábios do que alguns AH, que são translúcidos (Vinshtok & Cassuto, 2020; Gupta *et al*, 2019).

Alguns autores compararam a neocolagénese e a produção de elastina estimulada pela CaHA *versus* AH . Demonstraram que o CaHA causou uma remodelação fisiológica mais ativa da matriz extracelular do que o AH, estimulando um processo de duas etapas pelo qual o colagénio

tipo I gradualmente substituiu o tipo III. Um aumento na elastina estimulado pelo CaHA também indica uma remodelação ativa (Gupta *et al*, 2019 ; Kleiser & Nyström, 2020).

O ácido poli-L-láctico (PLLA) é também um material injetável biocompatível que estimula a neocolagénese quando injetado. Ele funciona como preenchimento de tecidos moles, mas também como um bioestimulador, estimulando a produção de colagénio e a vascularização (Cabral *et al*, 2020). Estudos demonstraram aumento da espessura da pele devido à formação de colagénio já em 6 semanas após a injeção, que permaneceu por até 96 semanas. Estudos mostraram uma alta taxa de formação de nódulos, especialmente em pacientes com tecidos moles graves ou lipoatrofia, embora esses nódulos se tenham resolvido espontaneamente e tenham sido atribuídos à colocação muito rasa do produto ou nas áreas perioral e periocular. Uma vez que os resultados são baseados na formação de novo colagénio após várias semanas, não exhibe resultados imediatos e pode ser usado em conjunto com outros biomateriais, como o AH ou a CaHA (Gupta *et al*, 2019; Kleiser & Nyström, 2020).

Assim, os vários autores reconhecem que o conhecimento dos princípios de bioestimulação é fundamental para melhor compreender o mecanismo de acção dos vários bioestimuladores, como AH, CaHA ou PLLA, bem como seleccionar a melhor opção em função da biologia do paciente (Vinshtok & Cassuto, 2020; Fallacara *et al*, 2018 ; Maia & Salvi, 2018).

IV. Conclusão

O AH tem sido amplamente utilizado como um dos componentes essenciais dos materiais utilizados em HOF, cosméticos e nutricosméticos, devido ao seu notável potencial biomédico e de regeneração de tecidos. Possui propriedades notáveis e apresenta eficácia promissora, otimizando os resultados estéticos e terapêuticos.

O AH é uma molécula que atravessa o passado, o presente e o futuro nas áreas médicas, onde se inclui definitivamente a medicina dentária. Tem-se apresentado como alternativa terapêutica na volumização e bioestimulação/regeneração de tecidos.

A compreensão dos princípios anatómicos, histológicos, imunológicos e citogenéticos da

bioestimulação é determinante. Estudos comparativos entre a aplicação de vários bioestimuladores como AH, PLLA ou CAHA são necessários para ampliar conhecimento.

Será este conhecimento que capacitará os profissionais de saúde em HOF, que, mais do que dominar um conjunto de técnicas injetáveis, deverão entender os princípios que a HOF enquadra: biomedicina, biomateriais, farmacologia, engenharia e vão ciência fora, longe de encontrar fronteiras!

V. Bibliografia

- Abate, M. & Salini, V. (2017). Salini Efficacy and safety study on a new compound associating low and high molecular weight hyaluronic acid in the treatment of hip osteoarthritis. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 30(1), pp, 90-93. <https://doi.org/10.1177/0394632016689275>.
- Agostini, M.M. & Jalil, S.M.A. (2018). O uso do ácido hialurônico para o rejuvenescimento da pele. *Rev. Cone-xão Eletrônica – Três Lagoas*, 15(1), pp, 617-23.
- Almeida, A.R.T. & Sampaio, G.Â.A. (2016). Ácido hialurônico no rejuvenescimento do terço superior da face: revisão e atualização - Parte 1. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, 8(2), pp,148-53. <https://www.redalyc.org/pdf/2655/265546364010.pdf>.
- Aziz, J., Shezali, H., Radzi, Z., Yahya, N. A., Abu Kassim, N. H., Czernuszka, J., & Rahman, M. T. (2016). Molecular Mechanisms of Stress-Responsive Changes in Collagen and Elastin Networks in Skin. *Skin pharmacology and physiology*, 29(4), 190–203. <https://doi.org/10.1159/000447017>.
- Balassiano, L. K. A. & Bravo, B. S. F (2014). Hyaluronidase: a necessity for any dermatologist applying injectable hyaluronic acid. *Surg Cosmet Dermatol*, 6(4): pp, 338-43. Bass, L. S. (2015). Injectable filler techniques for facial rejuvenation, volumization, and augmentation. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 23(4): pp, 479-88. doi: 10.1016/j.fsc.2015.07.004.
- Cabral, L.R.B., Teixeira, L.N., Gimenez, R.P., Demasi, A.P.D., de Brito Junior, R.B., de Araújo, V.C., & Martinez, E.F. (2020). Effect of Hyaluronic Acid and Poly-L-Lactic Acid Dermal Fillers on Collagen Synthesis: An in vitro and in vivo Study. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 29;13:701-710. doi: 10.2147/CCID.S266015.
- Cui, Y., Wang, F., Voorhees, J. J., & Fisher, G. J. (2021). Rejuvenation of Aged Human Skin by Injection of Cross-linked Hyaluronic Acid. *Plastic and reconstructive surgery*, 147(1S-2), pp 43S–49S. <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000007620>.
- Chen, C., Zhao, S., Karnad, A., & Freeman, J. W. (2018). The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *Journal of Hematology & Oncology*, 11(1), pp. 64. doi.org/10.1186/s13045-018.
- De Oliveira, J.D., Carvalho, L.S., Gomes, A.M., Queiroz, L.R., Magalhães, B.S. & Parachin, N.S. (2016). Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microbial Cell Factories*, 15(1), pp. 119. doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4.
- Fakhari, A. & Berkland, C. (2013). Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomater*, 9(7), pp. 7081–7092. doi.org/10.1016/j.actbio.2013.03.005.
- Fan, Y., Choi, T. H., Chung, J. H., Jeon, Y. K., & Kim, S. (2019). Hyaluronic acid-cross-linked filler stimulates collagen type 1 and elastic fiber synthesis in skin through the TGF- β /Smad signaling pathway in a nude mouse model. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery: JPRAS*, 72(8), pp, 1355–1362. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2019.03.032>.
- Ferreira, N.R. & Capobianco, M.P. (2016). Uso do ácido hialurônico na prevenção do envelhecimento facial. *Revista Científica Unilago*, 1(1). <http://www.unilago.edu.br/revista/edicaoatual/Sumario/2016/downloads/33.pdf>.
- Govindaraju, P., Todd, L., Shetye, S., Monslow, J., & Puré, E. (2019). CD44-dependent inflammation, fibrogenesis, and collagenolysis regulates extracellular matrix remodeling and tensile strength during cutaneous wound healing. *Matrix biology. journal of the International Society for Matrix Biology*, 75-76, pp, 314–330. <https://doi.org/10.1016/j.matrix.2019.03.005>.

doi.org/10.1016/j.matbio.2018.06.004.

Greene, J. J. & Sidle, D. M. (2015). The Hyaluronic Acid Fillers: Current Understanding of the Tissue Device Interface. *Facial Plast. Surg Clin N Am.* 23(4), pp, 423-432. doi: 10.1016/j.fsc.2015.07.002.

Gupta, R. C., Lall, R., Srivastava, A., & Sinha, A. (2019). Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Frontiers in veterinary science*, 6(192). <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00192>.

Iannitti, T., Morales-Medina, J. C., Coacci, A., Palmieri, B. (2016). Experimental and Clinical Efficacy of Two Hyaluronic Acid-based Compounds of Different Cross-Linkage and Composition in the Rejuvenation of the Skin. *Pharm Res*, 33: pp, 2879–2890. DOI 10.1007/s11095-014-1354-y.

Jain, Y. (2013). Clinical evaluation of 0.2% hyaluronic acid containing gel in the treatment of gingivitis. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University*, 6(4): pp, 416-20. DOI:10.4103/0975-2870.118296.

Kavasi, R.M., Berdiaki, A., Spyridaki, I., Corsini, E., Tsatsakis, A., Tzanakakis, G., Nikitovic, D. (2017). HA metabolism in skin homeostasis and inflammatory disease. *Food and Chemical Toxicology*, 101, pp. 128–138. doi.org/10.1016/j.fct.2017.01.012.

Kleiser, S., & Nyström, A. (2020). Interplay between Cell-Surface Receptors and Extracellular Matrix in Skin. *Biomolecules*, 10(8), 1170. <https://doi.org/10.3390/biom10081170>.

Lee, J.Y., Spicer A.P. (2000). Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curr Opin Cell Biol*, 12(5), pp. 581–586. doi.org/10.1016/S0955-0674(00)00135-6.

Leitinger, B. (2011). Transmembrane collagen receptors. *Annual review of cell and developmental biology*, 27, pp, 265–290. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154013>.

Litwiniuk, M., Krejner, A., Speyrer, M.S., Gauto, A.R., & Grzela, T. (2016). Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration. *Wounds*, 28(3), pp,78-88. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26978861/>.

Maia, I & Salvi, J. O. (2018). O uso do ácido hialurônico na harmonização facial: uma breve revisão. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. 23(2), pp.135-139. <http://www.mastereditora.com.br/bjscr>.

Manfrédi, P. R., Hersant, B., Bosc, R., Noel, W., Meningaud, J. P. (2016). Techniques visant à améliorer la précision et l'efficacité des injections de la face en médecine esthétique. *Revue de Stomatologie, de Chirurgie Maxillo-faciale et de Chirurgie Orale*, 117(1), pp, 46-50. <https://doi.org/10.1016/j.revsto.2015.11.008>.

Mienaltowski, M. J., & Birk, D. E. (2014). Structure, physiology, and biochemistry of collagens. *Advances in experimental medicine and biology*, 802, pp,5–29. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7893-1_2.

Moraes, B.R., Bonani, J.A., Romualdo, L. (2017). Ácido hialurônico dentro da área de estética e cosmética. *Re- vista Saúde em Foco*, 9, pp, 552-62.

Nanashima, N., Horie, K., Maeda, H. Tomisaya, T., Kitajima, M., Nakamura, T. (2018). Blackcurrant Anthocyanins Increase the Levels of Collagen, Elastin, and Hyaluronic Acid in Human Skin Fibroblasts and Ovariectomized Rats. *Journal nutrients*, 10(415): pp, 2-15. doi:10.3390/nu1004049.

Naor, D. (2016). Editorial: Interaction between hyaluronic acid and its receptors (CD44, RHAMM) regulates the activity of inflammation and cancer. *Front Immunol*, 7(39). doi: 10.3389/fimmu.2016.00039.

Pan, N.C., Vignoli, J. A., Baldo, C., Celligoi, M. A. P. C. (2013). Ácido hialurônico: características, produção microbiana e aplicações industriais. *BBR - biochemistry and biotechnology reports*. 2(4): pp, 42-58. DOI: 10.5433/2316-5200.2013v2n4p42.

Pereira, K.P. & Delay, C.E. (2014). Ácido hialurônico na hidratação facial. pp, 1-19. <https://docplayer.com.br/48928832-Acido-hialuronico-na-hidratacao-facial.html>.

- Quan, T., Wang, F., Shao, Y., Rittié, L., Xia, W., Orringer, J. S., Voorhees, J. J., & Fisher, G. J. (2013). Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endothelial cells, and keratinocytes in aged human skin *in vivo*. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), pp, 658–667. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.364>.
- Row, S., Liu, Y., Alimperti, S., Agarwal, S. K., & Andreadis, S. T. (2016). Cadherin-11 is a novel regulator of extracellular matrix synthesis and tissue mechanics. *Journal of cell science*, 129(15), pp, 2950–2961. <https://doi.org/10.1242/jcs.183772>.
- Salti, G. & Rausso, R. (2015). Facial Rejuvenation with Fillers: The Dual Plane Technique. *J Cutan Aesth Surg*, 8(3): pp, 127-33. doi: 10.4103/0974-2077.167264.
- Semkova, M. E., & Hsuan, J. J. (2021). TGFβ-1 Induced Cross-Linking of the Extracellular Matrix of Primary Human Dermal Fibroblasts. *International journal of molecular sciences*, 22(3),pp, 984. <https://doi.org/10.3390/ijms22030984>.
- Shin, J.W., Kwon, S.H., Choi, J.Y., Na, J.I., Huh, C.H., Choi, H.R., Park, K.C. (2019). Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), pp. 2126. <https://doi.org/10.3390/ijms20092126>.
- Slevin, M., Krupinski, J., Gaffney, J., Matou, S., West, D., Delisser, H., Savani, R. C., Kumar, S. (2007). Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease: uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. *Matrix Biology*, 26(1), pp. 58–68. doi.org/10.1016/j.matbio.2006.08.261.
- Soltés, L., Mendichi, R., Kogan, G., Schiller, J., Stankovska, M., & Arnhold, J. (2006). Degradative action of reactive oxygen species on hyaluronan. *Biomacromolecules*, 7(3), pp. 659–668. doi.org/10.1021/bm050867v.
- Song, J.M., Im, J., Nho, R.S., Han, Y.H., Upadhyaya, P., Kassie, F. (2019). Hyaluronan-CD44/RHAMM interaction-dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells. *Mol Carcinog*, 58(3), pp. 321-333. doi: 10.1002/mc.22930.
- Sundaram, H. & Cassuto, D. (2013). Biophysical characteristics of hyaluronic acid soft-tissue fillers and their relevance to aesthetic applications. *Plast Reconstr Surg*, 132(4 Suppl 2): pp,5-21. doi: 10.1097/PRS.0b013e31829d1d40.
- Toole, B.P. (2004). Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer*, 4(7), pp. 528–539. doi.org/10.1038/nrc1391.
- Vinshtok, Y., Cassuto, D. (2020). Biochemical and physical actions of hyaluronic acid delivered by intradermal jet injection route. *Journal of cosmetic dermatology*, 19(10), pp,2505–2512. <https://doi.org/10.1111/jocd.13674>.
- Xie, Y., Ouyang, X., Wang, G. (2020). Mechanical strain affects collagen metabolism-related gene expression in scleral fibroblasts. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 126, pp, 110095. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110095>.
- Zhang, M., Yang, J., Deng, F., Guo, C., Yang, Q., Wu, H., Ni, Y., Huang, L., Chen, L., & Ding, C. (2019). Dual-functionalized hyaluronic acid as a facile modifier to prepare polyanionic collagen. *Carbohydrate polymers*, 215,pp, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.086>.