

## Cellfie

### DESCRIÇÃO

*Delivery system* eficiente e preciso de entrega do extrato de *Thymus vulgaris* (tomilho) para atuar sobre os adipócitos na estimulação do lipopreenchimento da pele e rugas de forma não invasiva, promovendo um notável rejuvenescimento com aparência natural. Tem como objetivo melhorar o envelhecimento estrutural devido à lipofilia ou perda de tecido adiposo.

### INTRODUÇÃO

Cellfie é constituído pela associação sinérgica de extrato de *Thymus vulgaris* (tomilho) com fosfatídeos, triglicerídeos e ácidos graxo de lecitina (Figura 2).



**Figura 2.** *Thymus vulgaris*

O tomilho é comumente cultivado e usado em muitos países principalmente como tempero de alimentos e fonte de óleo essencial usado em indústria alimentícia, em cosméticos e para uso médico<sup>17</sup>. Possui uma longa história de uso na medicina tradicional de muitos países, como China e Índia onde é usado para tratamento de doenças respiratórias (tosse, bronquite e asma), dor de dente, infecção do trato urinário, dispepsia e problemas de pele tais como pele oleosa, acne, dermatite e picadas de insetos<sup>18-19</sup>.

A reputação do tomilho como curador e protetor remonta a milhares de anos. Na era romana, o costume determinava comer tomilho antes ou durante uma refeição, uma vez que ele o protegeria de venenos. Por razões

óbvias, isso fez da erva um favorito particular dos imperadores. Dizia-se que mesmo um banho em água morna administrado generosamente com tomilho poderia interromper os efeitos do veneno depois de consumido inadvertidamente.<sup>20</sup>

Tomilho também já foi associado com coragem, bravura e força nos tempos antigos. Os soldados romanos trocavam raminhos de tomilho como sinal de respeito. Gregos e romanos queimaram feixes de tomilho para purificar seus templos e lares e evocar um espírito de coragem naqueles que o inalaram.

A associação com coragem e bravura persistiu na Idade Média. O tomilho era um presente tradicional oferecido aos homens que entravam em batalha. Quando usado na batalha, o tomilho poderia ter um segundo propósito: usado como uma erva de embalsamamento desde os tempos dos egípcios, pensava-se que era uma ajuda poderosa para aqueles que passavam para a próxima vida<sup>20</sup>.

Os vitorianos deram seu próprio toque fantasioso às propriedades místicas do tomilho. Eles consideraram um pedaço de tomilho selvagem na floresta como um sinal claro e incontestável de que as fadas haviam dançado a noite toda naquele mesmo local. Mas os vitorianos também tinham usos mais prosaicos para o tomilho. Muito antes dos processos fisiológicos da infecção de feridas ser totalmente compreendida, as enfermeiras do século XIX banhavam ataduras com uma diluição de tomilho na água<sup>20</sup>.

Estes usos medicinais podem estar relacionados à composição química do tomilho que contém numerosos compostos fenólicos, especialmente timol, carvacrol, ácido trans cinâmico, rutina e ácido clorogênico<sup>21</sup>. Além disso, no tomilho selvagem, muitos outros compostos fenólicos abundantes foram descritos, como derivados do ácido cafeico e rosmarínico<sup>22</sup>.

Esta rica composição do tomilho indica seu potencial como agente regulador da diferenciação de adipócitos. Estudos demonstraram que a rutina aumenta significativamente a acumulação lipídica e a expressão de fatores de transcrição, como o PPAR $\gamma$ , (C/EBP) $\alpha$ , e proteína de ligação a ácidos graxos de adipócitos (FABP4)<sup>23</sup>. Além disso, a rutina também aumentou a expressão da adiponectina, além de estimular sua secreção na diferenciação dos adipócitos<sup>23</sup>.

Outros componentes do tomilho que podem ser relacionados a regulação da adipogênese é o ácido clorogênico e o trans-cinâmico uma vez que promove a diferenciação de adipócitos por atuar como potencial agonista do PPAR $\gamma$  e, estimular a secreção de adiponectina, respectivamente. Já a lecitina é uma mistura complexa de fosfa-

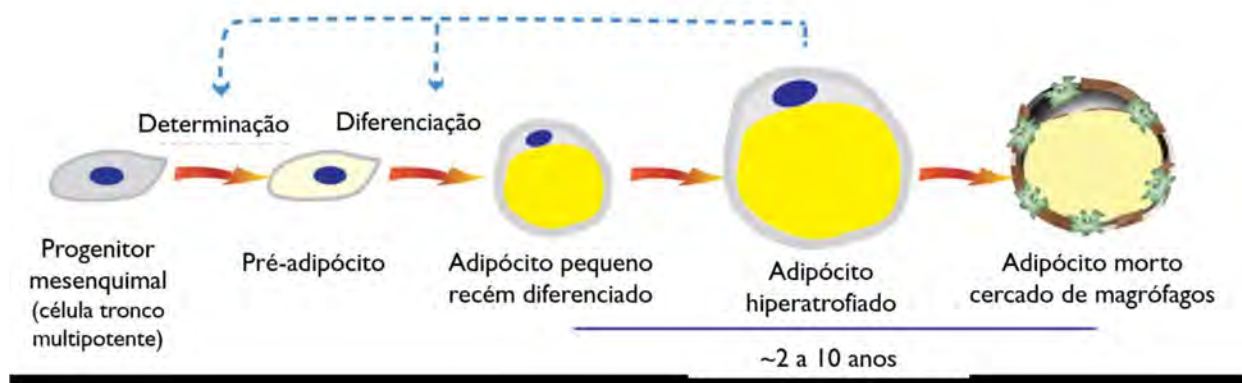
tídeos, que consiste principalmente em fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol combinados com diferentes quantidades de outras substâncias, como os triglicérides e ácidos graxos.

A molécula de lecitina é anfipática, ou seja, possui uma porção de ácido graxo, que é atraída por moléculas lipofílicas, e uma porção de ácido fosfórico, que é atraída por substâncias hidrofílicas. Por esse motivo, as moléculas de lecitina se organizam na fronteira entre líquidos imiscíveis, como óleo e água. Esse arranjo reduz a tensão interfacial entre óleo e água e produz emulsões relativamente estáveis.

A estrutura molecular única da lecitina desempenha funções versáteis. Tem uma grande variedade de papéis nas indústrias farmacêutica, de cosméticos e de alimentos como emulsificante, modificador de viscosidade, estabilizador, solubilizador e intensificador de penetração<sup>24</sup>. Todas estas propriedades da lecitina foram levadas em consideração para a escolha dela como componente do sistema de delivery deste produto. Além disso, a lecitina de origem vegetal (de soja) foi cuidadosamente selecionada para não apresentar organismos geneticamente modificados (GMO), sendo considerada GMO-free.

## MECANISMO DE AÇÃO

O tecido adiposo é extremamente complexo e, sua principal função é regular e coordenar a homeostase da energia, incluindo a coordenação e controle de uma série de processos fisiológicos no organismo, como por exemplo, o metabolismo da glicose, o apetite, as respostas imunológicas e inflamatórias, a angiogênese, etc. Esse tecido é formado predominantemente por células chamadas adipócitos, que durante seu desenvolvimento passam pelos complexos processos de determinação e diferenciação até se tornarem células maduras, caracterizando o processo conhecido como adipogênese<sup>1</sup>. A adipogênese descreve o processo pelo qual os progenitores adiposos se diferenciam em células que possuem a capacidade de armazenar excesso de energia como lipídeo neutro (triacilglicerol) e liberá-lo como ácidos graxos não esterificados e glicerol quando as demandas do corpo aumentam durante a fome ou o exercício<sup>1</sup>. Neste processo, os adipócitos também desencadeiam sinais para recrutar mais progenitores e reiniciar o processo de adipogênese<sup>1</sup> (Figura 1). A idade média dos adipócitos em humanos é relatada em ~2 a 10 anos.



### Adipogênese e sua regulação:

Conforme já mencionado, a adipogênese é considerada um processo dinâmico, que pode ser dividido em duas fases: a primeira é chamada de fase de determinação ou comprometimento, e a segunda é conhecida como fase de diferenciação dos adipócitos<sup>12</sup>. Na primeira fase, ocorre a diferenciação das células multipotentes (células progenitoras tronco) em pré adipócitos. Na segunda fase ocorre a proliferação dos pré-adipócitos (expansão clonal) que, então, geram os adipócitos maduros (Figura 1).

Estes eventos celulares são controlados por diferentes mediadores moleculares, os quais podem ser alvos específicos para induzir ou inibir a adipogênese<sup>4</sup>. Quando as células-tronco multipotentes geram os pré-adipócitos, há a participação das vias de sinalização Wnt que são uma família de glicoproteínas secretadas por mecanismos parácrinos e autócrinos. O aumento da expressão da via Wnt, por meio do gene Wnt1 reprime a adipogênese, enquanto sua inibição promove a indução dos fatores de transcrição chaves deste processo, que são os fatores C/EBP $\alpha$  e PPAR $\gamma$ 4. Na diferenciação dos adipócitos, os fatores de transcrição C/EBP $\beta$  e C/EBP $\delta$  são ativados e, em seguida, ativam os fatores de transcrição C/EBP $\alpha$  e PPAR $\gamma$ .

Estes, por sua vez, induzem a transcrição de vários genes relacionados a este tipo celular e o armazenamento de lipídeos, como as enzimas ácido graxo sintase, lipoproteína lipase, lipina 1, acil-CoA diacilglicerol aciltransferase 1 (DGAT1), além das proteínas transportadoras de lipídeos como a proteína FABP4 e hormônios. A adiponectina, por exemplo, está relacionada com a proliferação e diferenciação dos adipócitos além do aumento do conteúdo lipídico<sup>2,5</sup>. Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) são um grupo de três isoformas de re-



ceptores nucleares, PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$  e PPAR $\delta$ , codificadas por genes diferentes. PPARs são fatores de transcrição regulados por ligantes que controlam a expressão gênica por ligação a elementos de resposta específicos (PPREs)<sup>6</sup>.

Sob atuação de agonistas (ativadores), a conformação do PPAR é alterada e estabilizada, criando um sítio de ligação, com posterior recrutamento de coativadores transcripcionais, resultando em aumento na transcrição gênica<sup>5,6</sup>. Os ligantes endógenos do PPAR ainda não são totalmente conhecidos, contudo vários metabólitos de lipídios, incluindo ácidos graxos poli-insaturados e eicosanoides têm sido apontados como ligantes desses receptores, que funcionam, portanto, como sensores lipídicos e reguladores do metabolismo lipídico<sup>6,7</sup>. Comprovando sua importância no metabolismo lipídico, estudos in vivo demonstram que a deleção de PPAR $\gamma$  específica de adipócitos bloqueia a obesidade induzida por dieta rica em gordura, ao suprimir a diferenciação de adipócitos e inibir o aumento do conteúdo lipídico<sup>8</sup>. Já a adiponectina (também conhecida como: ACRP30, apM1, adipoQ e GBP28) é um hormônio produzido exclusivamente por células do tecido adiposo. Esta proteína é dramaticamente regulada durante a adipogênese e continua sendo um dos produtos gênicos mais específicos dos adipócitos identificados até o momento<sup>9</sup>. Além disso, assim como outras adipocinas, ela é altamente expressa e secretada por adipócitos maduros, o que a torna um excelente biomarcador no processo de aumento de tecido adiposo<sup>8</sup>. A adiponectina é conhecida por ser regulada por vários fatores de transcrição, como por exemplo, PPAR $\gamma$ , (C/EBP) $\alpha$  e, proteína de ligação do elemento regulatório de esterol 1c (SREBP1c)<sup>7,9</sup>. Estudos revelam que ligantes de PPAR $\gamma$ , endógenos ou exógenos, podem induzir a expressão do gene da adiponectina<sup>10</sup>, sendo, portanto, ambos biomarcadores chaves da adipogênese. A adiponectina atua de maneira autócrina e parácrina no tecido adiposo e de maneira endócrina nos tecidos distais. Em experimentos envolvendo adipócitos superexpressando adiponectina, a diferenciação celular foi acelerada<sup>9,11</sup>. Além de promover a proliferação e diferenciação celular de pré-adipócitos em adipócitos, a adiponectina pode aumentar o conteúdo lipídico e a responsividade insulínica do sistema de transporte de glicose nestas células.

## Adipogênese e o envelhecimento

A relação entre o aumento do tecido adiposo e a redução de rugas é intuitiva. Ela pode ser comparada aos efeitos dos procedimentos de injeção de preenchedores, como ácido hialurônico por exemplo, que é um paradigma dos procedimentos de rejuvenescimento facial<sup>12</sup>. De fato, o mercado de preenchedores faciais alcançou USD 3.5 bilhões em 2018, sendo projetado crescimento de 8% até 2026, onde o ácido hialurônico está presente em 77% deste mercado<sup>13</sup>. O sucesso das técnicas de preenchimento pode estar associado a uma teoria recente do envelheci-

mento cutâneo, que relaciona a aparência de pele envelhecida com a perda de volume do tecido adiposo (lipoatrofia)<sup>14</sup>. De fato, estudos demonstram que quanto maior é a lipoatrofia da face, mais ela parece envelhecida<sup>15</sup>. Portanto, o preenchimento de tecidos moles e o enxerto de gordura podem ser métodos válidos para combater os sinais de envelhecimento facial<sup>16</sup>. Uma alternativa não invasiva e tão eficaz quanto estas injeções podem ser alcançada com o desenvolvimento de produtos capazes de estimular a adipogênese. A ativação e proliferação de células do tecido adiposo, e expansão de adipócitos maduros, desempenham um papel crucial no aumento de volume de tecidos como a pele<sup>16</sup>, portanto, a constante manutenção do tecido adiposo pela aplicação de substâncias pró adipogênese pode evitar ou ainda remediar os sinais da idade.

Buscando uma alternativa não invasiva para os preenchedores da pele injetáveis, a Chemyunion desenvolveu Cellfie, um ingrediente vegetal com sistema preciso e eficiente de delivery para estimular a adipogênese através do estímulo da adiponectina de forma a amenizar os sinais de envelhecimento.

## DIFERENCIAIS/VANTAGENS

- Induz a adipogênese através da expressão da adiponectina e PPAR $\gamma$  para induzir o preenchimento da pele reduzindo os sinais do envelhecimento;
- Reduz em 60 dias a área, comprimento e profundidade das rugas periorais em até 28%, 30% e 9%, respectivamente;
- Reduz em 60 dias a área, comprimento e profundidade das rugas periorbitais (pés de galinha) em até 27%, 29% e 9,5%, respectivamente;
- Reduz em 60 dias a área, comprimento e profundidade das linhas do sorriso em até 60%, 47% e 29%, respectivamente;
- Reduz em 60 dias a área, comprimento e profundidade das linhas nasolabiais em até 23%, 25% e 8%, respectivamente;
- Melhora e modifica o contorno facial através do estímulo do preenchimento, sendo uma alternativa definitiva aos preenchimentos invasivos disponíveis no mercado.

## FABRICANTE

Chemyunion

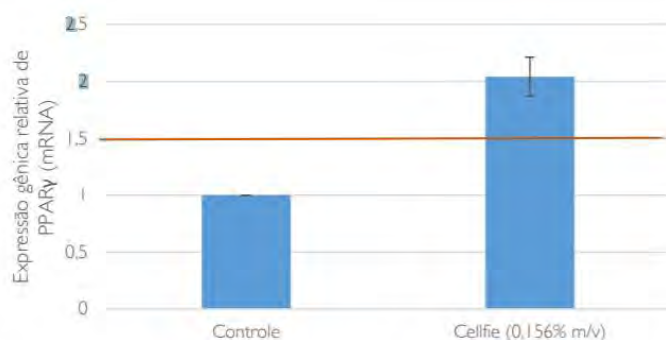
## ESTUDOS DE EFICÁCIA

### 1. Eficácia In Vitro

#### 1.1. Estímulo de Produção de PPAR $\gamma$

Para avaliar o potencial do Cellfie em estimular a expressão gênica do PPAR $\gamma$ , pré-adipócitos diferenciados dos fibroblastos 3T3-L1 (banco de células do Rio de Janeiro, Brasil) utilizados. Após 24 horas de cultivo à 37°C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>, as células foram incubadas por mais 24 horas com 0,156% (m/v) de Cellfie. Em seguida, os lisados celulares foram coletados para posterior extração de RNA e avaliação da expressão gênica por PCR em tempo real (RT-PCR).

O RNA total foi extraído usando o Mini Kit PureLink™ RNA (Life Technologies) e quantificado por espectrofotometria usando NanoDrop Lite (Thermo Scientific). O ensaio de RT-PCR foi realizado no equipamento StepOnePlus (Applied Biosystems). Para análise da expressão do gene PPAR $\gamma$ , foi utilizado um sistema de teste disponível comercialmente (TaqMan® Assays Gene Expression; PPARG: Mm00440940\_m1, Applied Biosystems) com os iniciadores e sondas apropriados. O ensaio foi realizado usando o kit de 1 etapa TaqMan® RNA-to-CT™ (Applied Biosystems). A quantidade relativa de mRNA foi calculada conforme descrito em publicações científicas<sup>25,26</sup>. A expressão gênica foi considerada relevante (ou significativa) quando valores obtidos no experimento foram superiores a 1,5 vezes em relação ao controle.



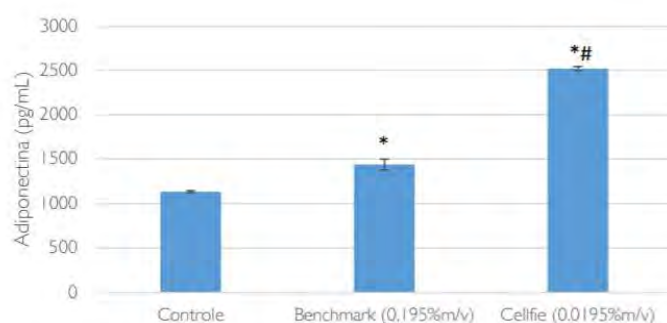
**Figura 3.** Avaliação dos efeitos de **Cellfie** na expressão gênica de PPAR $\gamma$  na cultura de pré-adipócitos. (ANOVA, Dunnet)

Cellfie foi capaz de aumentar significativamente ( $p < 0,01$ ) em 104% a expressão gênica de PPAR $\gamma$  quando comparada ao grupo controle, demonstrando influenciar positivamente o processo de adipogênese.

## 1.2. Estímulo de Adiponectina

Para detectar a indução da Adiponectina, pré-adipócitos diferenciados de fibroblastos 3T3-L1 (Cell Bank do Rio de Janeiro, Brasil) foram semeados em placa de 24 poços e cultivados em atmosfera úmida, a 37°C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>, utilizando meio de cultura específico até diferenciação completa. As culturas celulares foram, então, incubadas com concentrações não citotóxicas de Cellfie e um produto de mercado (benchmark), por 7 dias, para posterior coleta do sobrenadante e avaliação do parâmetro proposto.

Os níveis de adiponectina foram quantificados no sobrenadante das células 3T3-L1 usando um kit de ensaio imunoenzimático comercialmente disponível (ELISA sandwich) (R&D Systems, EUA). O anticorpo monoclonal de captura anti-adiponectina foi adicionado à placa de 96 poços que foi então incubada por 12 horas. As amostras foram adicionadas e a placa foi incubada por 2 horas. O anticorpo de detecção anti-adiponectina foi então incubado por mais 2 horas. Uma solução de estreptavidina-peroxidase foi adicionada e incubada por 1 hora. Finalmente, a solução de substrato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e TMB-tetrametilbenzidina) foi adicionada à placa. A reação de coloração foi interrompida pela adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N e a leitura foi realizada em um leitor de microplacas a 450 nm. Os níveis de adiponectina foram expressos em pg/mL, calculados a partir dos valores de referência obtidos com uma curva padrão construída com concentrações conhecidas de adiponectina.



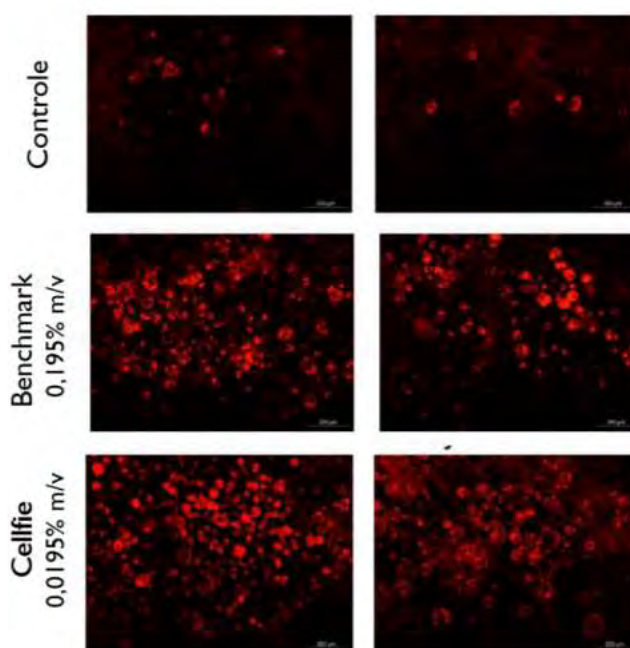
**Figura 4.** Avaliação dos efeitos de Cellfie na síntese de adiponectina na cultura de pré-adipócitos. \* $p < 0,01$  em relação ao grupo controle # $p < 0,001$  em relação ao benchmark (ANOVA, Tukey).

Cellfie demonstrou regular positivamente a adiponectina em 122% em relação ao controle sendo significativamente superior ao benchmark cuja regulação representou aumento de apenas 27% deste relevante hormônio regulador da adipogênese (Figura 4). Importante notar que Cellfie apresentou superioridade de eficácia.



### 1.3. Indução de Adipogênese

Pré-adipócitos diferenciados de fibroblastos 3T3-L1 (Cell Bank do Rio de Janeiro, Brasil) foram semeados em placa de 24 poços e cultivados em atmosfera úmida, a 37°C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>, utilizando meio de cultura específico até diferenciação completa. As culturas celulares foram, então, incubadas com concentrações não citotóxicas de Cellfie e um produto de mercado (benchmark), por 7 dias, para avaliação do parâmetro proposto. Como controle da indução da adipogênese foi utilizado IBMX (isobutil metil xantina). As células foram então coradas com o corante AdipoRed™, que tem a propriedade de se ligar aos lipídios intracelulares, por 15 minutos. Imediatamente, as imagens foram gravadas por microscopia óptica de fluorescência (DM1000, Leica), a fim de avaliar qualitativamente o aumento da adipogênese em comparação com os grupos controle e produto de referência (benchmark).



**Figura 5.** Avaliação dos efeitos do ingrediente **Cellfie** e seu benchmark, sobre a indução de adipogênese na cultura de pré-adipócitos. Aumento de 40X.

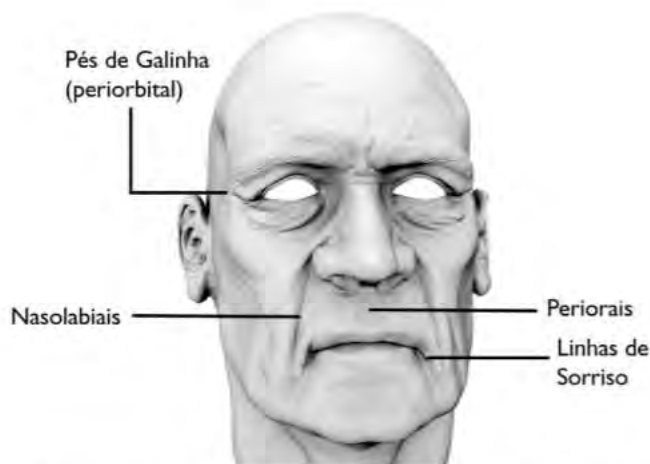
Ao avaliar a intensidade da coloração, podemos perceber que Cellfie foi capaz de induzir a adipogênese de forma superior ao benchmark já que foi testado em uma concentração 10X inferior à ele, demonstrando eficácia sig-nificativa no acúmulo de gordura nos pré-adipócitos.

## 2. Eficácia In Vivo

A avaliação clínica do Cellfie foi realizada com mulheres de 40 a 60 anos sendo que 2 grupos de 20 voluntárias/cada foram submetidos a tratamento tópico na face e no pescoço duas vezes ao dia por 60 dias com uma formulação gel placebo ou uma formulação gel com 2% de Cellfie.

Dos 20 voluntários iniciais por grupo, finalizaram o estudo 18 voluntários no grupo que utilizou a formulação placebo e 19 voluntários no grupo que utilizou a formulação contendo Cellfie. As áreas avaliadas para eficácia na redução das rugas foram: rugas periorais, pés de galinha (rugas periorbitais), linhas de sorriso e nasolabiais (Figura 6).

Para avaliação das rugas, diferentes imagens 2D foram obtidas através do scanner de luz estruturada Bio3D antes do início do tratamento (dia 0), após 30 dias de tratamento (dia 30) e após 60 dias de tratamento (dia 60). As imagens foram processadas para gerar reconstruções 3D, e três parâmetros (área total, comprimento e profundidade das rugas) foram obtidos para cada voluntário em cada uma das áreas.

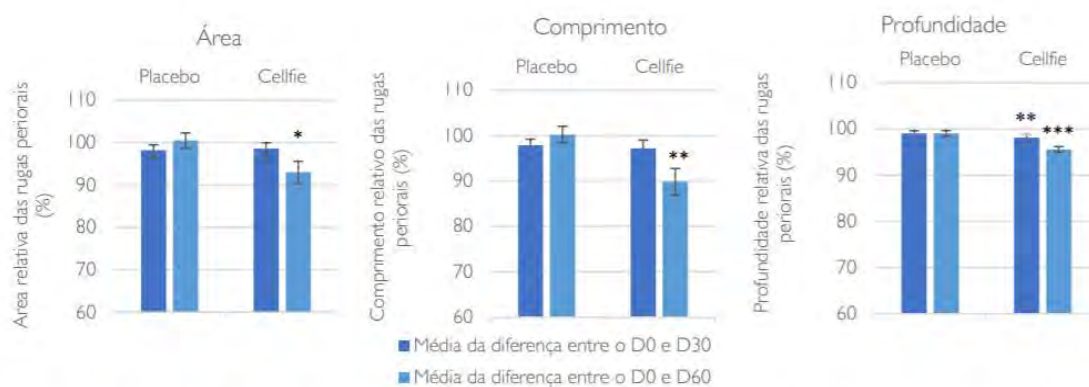


**Figura 6.** Esquema mostrando as áreas avaliadas para rugas neste estudo: rugas periorais, linhas nasolabiais, pés de galinha (rugas periorbitais) e linhas de sorriso.

Além disso, foi analisado o volume de contorno da face. As análises ocorreram nos dias: 0 (antes do tratamento), 30 (após 4 semanas de tratamento) e 60 (após 8 semanas de tratamento), utilizando o equipamento Bio3D Structured-scanner de luz. Para o volume de contorno da face, foram tiradas diferentes imagens 2D das áreas da face e pescoço para cada um dos voluntários em cada um dos pontos no tempo. As reconstruções em 3D foram obtidas a partir dessas imagens 2D e comparadas (Dia 0 x Dia 30 e Dia 0 x Dia 60).

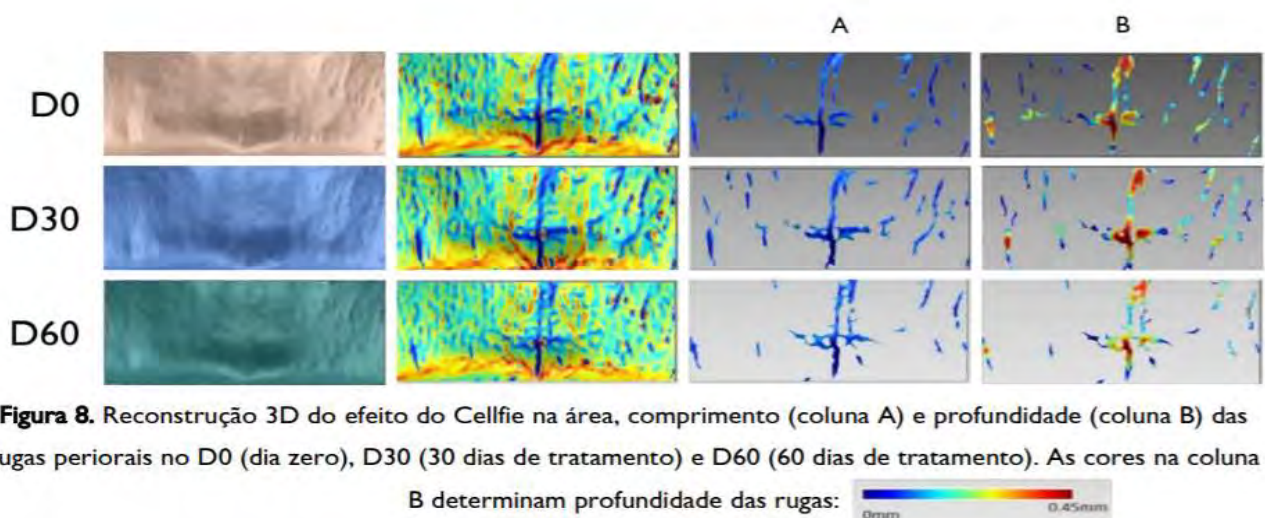
## 2.1. Eficácia objetiva na redução de rugas

Cellfie reduziu de forma significativa após 60 dias a área, comprimento e profundidade das rugas periorais em 7%, 10% e 4,5%, respectivamente (Figura 7) em comparação ao D0. Em 30 dias, Cellfie já apresentou redução significativa de 2% na profundidade das rugas periorais.



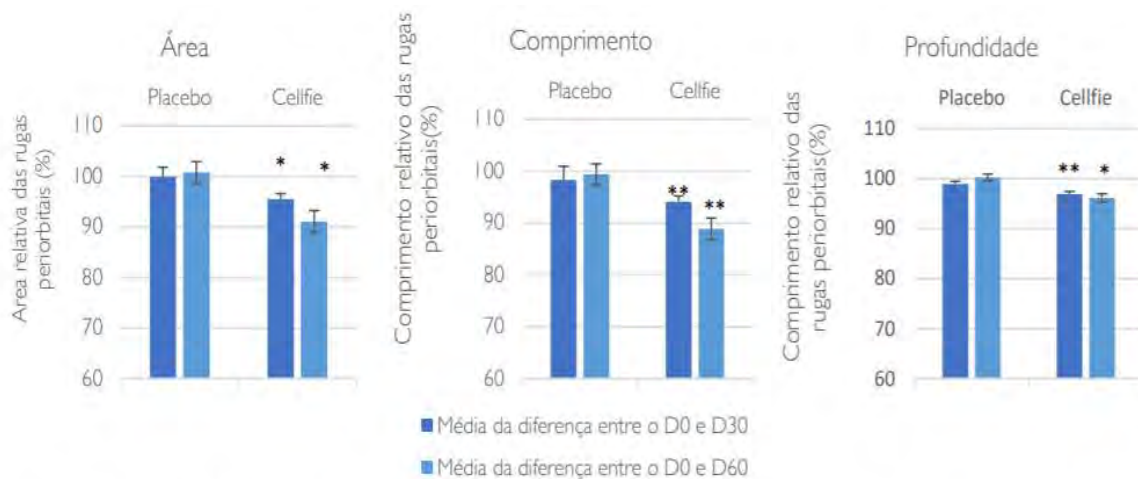
**Figura 7.** Efeito do **Cellfie** e do seu placebo na área, comprimento e profundidade das rugas periorais. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao D0 (Paired Student's t-test).

Nas imagens de reconstrução 3D obtidas para a região perioral, percebe-se significativa redução da área, comprimento e profundidade das rugas (Figura 8), obtendo-se resultados máximos de redução de 28%, 30% e 9%, respectivamente.



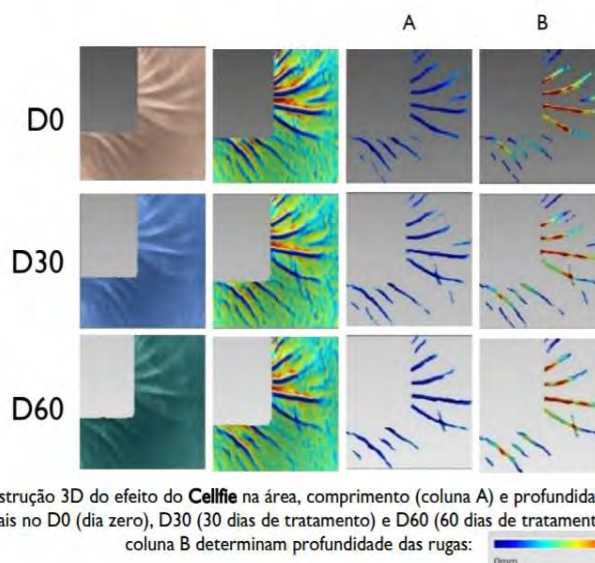


Já no caso das rugas periorbitais, Cellfie foi capaz de reduzir significativamente a área, comprimento e profundidade deste tipo de rugas a partir de 30 dias com redução de 4,5%, 6% e 3% em relação ao D0, respectivamente. Em 60 dias, Cellfie apresenta resultados ainda melhores reduzindo 9%, 11% e 4% a área, comprimento e profundidade das rugas periorbitais em comparação ao D0 (Figura 9).



**Figura 9.** Efeito do **Cellfie** e do seu placebo na área, comprimento e profundidade das rugas periorbitais (pés de galinha). \* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,0001$  em relação ao D0 (Paired Student's t-test).

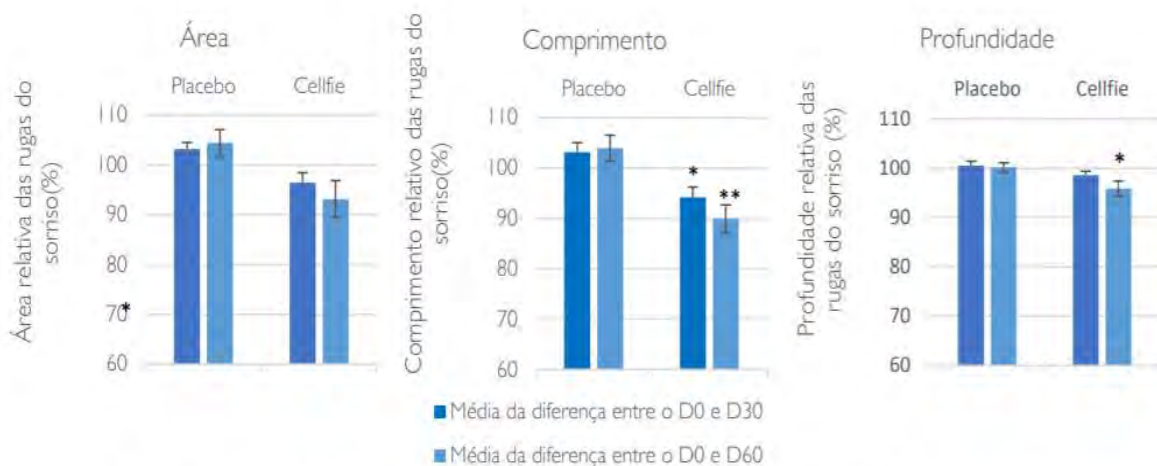
A região periorbital apresentou resultados máximos de 27%, 29% e 9,5% nos parâmetros área, comprimento e profundidade conforme resultados obtidos pelas reconstruções 3D (Figura 10).



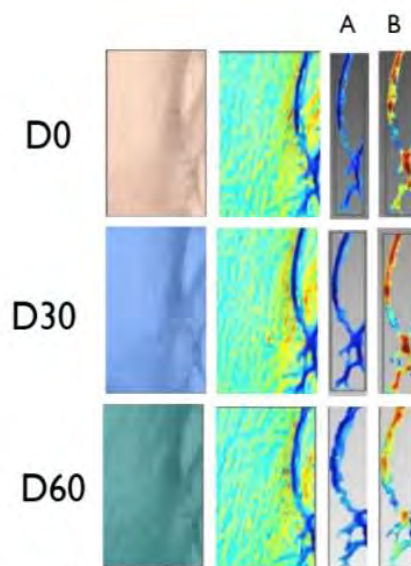
**Figura 10.** Reconstrução 3D do efeito do **Cellfie** na área, comprimento (coluna A) e profundidade (coluna B) das rugas periorbitais no D0 (dia zero), D30 (30 dias de tratamento) e D60 (60 dias de tratamento). As cores na coluna B determinam profundidade das rugas:



Cellfie também apresentou resultados significativos após 60 dias na redução do comprimento e na profundidade das linhas do sorriso em 10% e 4%, respectivamente (Figura 11). Neste caso, os melhores resultados obtidos reduziram em 60%, 47% e 29% a área, comprimento e profundidade das linhas de sorriso conforme observado na reconstrução 3D (Figura 12).



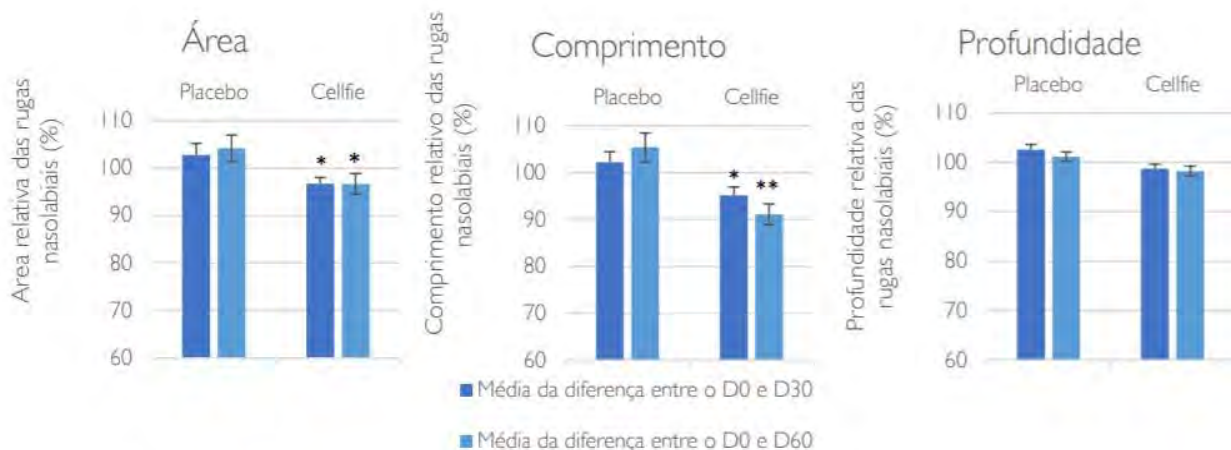
**Figura 11.** Efeito do **Cellfie** e do seu placebo na área, comprimento e profundidade das linhas do sorriso. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  em relação ao D0 (Paired Student's t-test).



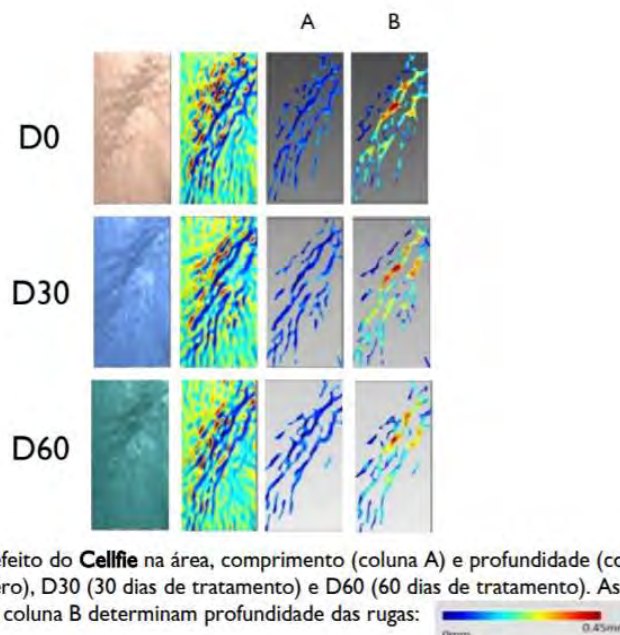
**Figura 12.** Reconstrução 3D do efeito do **Cellfie** na área, comprimento (coluna A) e profundidade (coluna B) das linhas do sorriso no D0 (dia zero), D30 (30 dias de tratamento) e D60 (60 dias de tratamento). As cores na coluna B determinam profundidade das rugas:



Finalmente, durante a avaliação das linhas nasolabiais, uma redução no comprimento de 5% foi significativamente aferida após 30 dias culminando em 9% de redução significativa após 60 dias (Figura 13). Na reconstrução 3D foram reportados resultados máximos de redução de 23%, 25% e 8% na área, comprimento e profundidade, respectivamente (Figura 14)



**Figura 13.** Efeito do **Cellfie** e do seu placebo na área, comprimento e profundidade das linhas nasolabiais. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$  em relação ao D0 (Paired Student's t-test)



**Figura 14.** Reconstrução 3D do efeito do **Cellfie** na área, comprimento (coluna A) e profundidade (coluna B) das linhas nasolabiais no D0 (dia zero), D30 (30 dias de tratamento) e D60 (60 dias de tratamento). As cores na coluna B determinam profundidade das rugas:

Os resultados de preenchimento das rugas nas quatro regiões avaliadas podem ser facilmente evidenciados nas documentações fotográficas obtidas durante o estudo (Figura 15), corroborando a excepcional eficácia do produto.

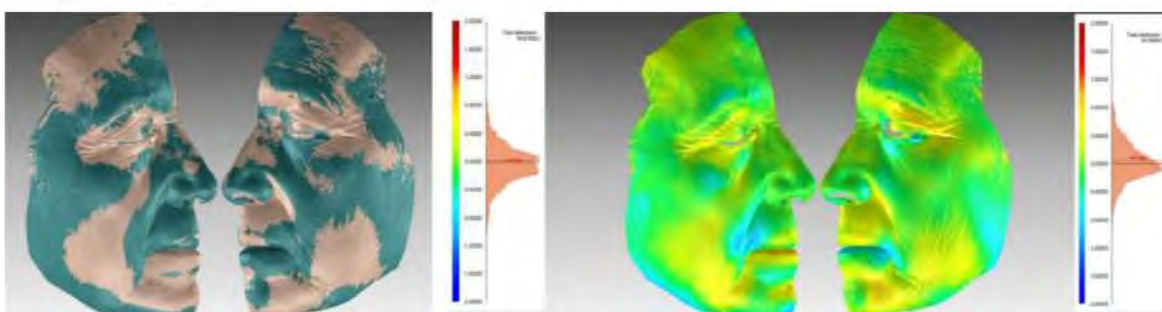


**Figura 15.** Efeito do **Cellfie** nas rugas periorais, periorbitais, linha do sorriso e nasolabial após 60 dias de tratamento.

## 2.2. Eficácia objetiva no contorno do rosto

Imagens 2D dos voluntários foram obtidas e processadas para gerar as reconstruções 3D. As reconstruções 3D dos tempos 0 e 30 dias, e do tempo 0 e 60 dias, foram sobrepostas conforme exemplo na Figura 16 cujas diferenças podem ser verificadas para ambos os lados da face.





**Figura 16.** Efeito do **Cellfie** no contorno facial obtidos através da sobreposição da reconstrução 3D (D60-D0). Do lado esquerdo, sobreposições correspondentes às avaliações do D0 e D60. Neste caso, a cor da pele representa áreas que não sofreram modificações de volume e a cor verde representa áreas com modificação do volume. À direita, de acordo com a escala, áreas com reduções de volume são marcadas em nuances de vermelho e áreas com aumento de volume marcadas em azul e esverdeado. A cor amarela mostra áreas onde não foram observadas diferenças significativas pelo tratamento.

Podemos perceber que, em geral, Cellfie é capaz de modificar o contorno facial através do estímulo do preenchimento conforme observado nas Figuras 16 e 17. As eventuais reduções de volume podem ser explicadas pela mudança do referencial devido ao preenchimento da pele em regiões próximas ou diferenças anatômicas individuais (maior ou menor lipoatrofia). De qualquer forma, Cellfie demonstrou ser uma alternativa definitiva aos preenchimentos invasivos disponíveis no mercado.



**Figura 17.** Efeito do **Cellfie** no contorno facial obtido por sobreposição das reconstruções 3D do D0 e D60. Áreas com reduções de volume maiores que 0,4 mm em profundidade (em amarelo) e áreas com aumento de volume maiores que 0,5 mm (em azul). A cor da pele mostra a área em que não foram obtidas diferenças.



## APLICAÇÕES/INDICAÇÕES

- Géis, emulsões e sérums com benefícios antienvhecimento.

## FARMACOTÉCNICA

- Dispersível em água. Adicionar Cellfie nno final do processo à temperatura ambiente.

**Estabilidade:** Produto estável sob condições normais de uso.

**Compatibilidade:** O produto é composto de um sistema de delivery lipossomado. Importante considerar que o uso de tensoativos em altas concentrações pode desestruturar o sistema de delivery, diminuindo/impactante na eficácia do produto. Portanto, recomenda-se evitar formulações com a presença de etanol ou altas concentrações de tensoativos.

**pH:** 5,5- 7,0

## ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS

Estado físico (25°C): Líquido viscoso a gel

Cor: marrom claro à marrom escuro

Odor: Característico

## INCI

Sugerido: Water (and) Propanediol (and) Lecithin (and) Glycerin (and) Thymus Vulgaris (Thyme)

Flower/Leaf Extract

## CONCENTRAÇÃO SUGERIDA

2% p/p

## SUGESTÕES DE FÓRMULAS

| SÉRUM PELES MADURAS |     |
|---------------------|-----|
| Cellfie             | 2%  |
| Revinage            | 2%  |
| Sérum facial qsp    | 50g |

**Posologia:** Aplicar na face duas vezes ao dia ou conforme indicação médica

| CUIDADO FACIAL 3D       |     |
|-------------------------|-----|
| Cellfie                 | 2%  |
| Activespheres Vit C PMg | 5%  |
| AcquaBio                | 2%  |
| Gel creme qsp           | 50g |

**Posologia:** Aplicar na face duas vezes ao dia ou conforme indicação médica

## CONSERVAÇÃO/ARMAZENAMENTO

Estocar em área coberta, seca, arejada e à temperatura ambiente;

Produto permanece estável até a data de validade indicada se armazenado em sua embalagem original;

Homogeneizar antes de usar ou amostrar;

Certificar que a embalagem está adequadamente lacrada após uso ou amostragem.

Evitar a exposição do produto ao ar ou à contaminação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee MJ. Hormonal Regulation of Adipogenesis. *Compr Physiol*. 2017; 7(4):1151-1195.
2. Chen MH, Tong Q. An update on the regulation of adipogenesis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 2013; 10(1-2): e15-e19.
3. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI, Lima FB. The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50(2):216-29.
4. Ghaben AL, Scherer PE. Adipogenesis and metabolic health. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(4):242-258.
5. Mota de Sá P, Richard AJ, Hang H, Stephens JM. Transcriptional Regulation of Adipogenesis. *Compr Physiol*. 2017; 7(2):635-674.
6. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*. 2002; 53:409-35.
7. Mosesti D, Regassa A, Kim WK. Molecular Regulation of Adipogenesis and Potential Anti-Adipogenic Bioactive Molecules. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(1): pii: E124.
8. Chang E, Kim CY. Natural Products and Obesity: A Focus on the Regulation of Mitotic Clonal Expansion during Adipogenesis. *Molecules*. 2019; 24(6). pii: E1157.
9. Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function. *Compr Physiol*. 2018 Jun 18;8(3):1031-1063.
10. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, Shimomura I. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*. 2003; 52(7):1655-63.
11. Balsan GA, Vieira JL, Oliveira AM, Portal VL. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras* 2015; 61(1):72-80.
12. Kruglikov IL, Wollina U. Soft tissue fillers as non-specific modulators of adipogenesis: change of the paradigm? *Exp Dermatol*. 2015; 24(12):912-5.
13. Fortune Business Insights. Dermal Fillers Market 2019. Available at <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/dermal-fillers-market-100939>. Accessed on Jan, 29th, 2020.
14. Wollina U, Wetzker R, Abdel-Naser MB, Kruglikov IL. Role of adipose tissue in facial aging. *Clin Interv Aging*. 2017;12:2069-2076.

15. Ascher B, Coleman S, Alster T, Bauer U, Burgess C, Butterwick K, Donofrio L, Engelhard P, Goldman MP, Katz P, Vlegaar D. Full scope of effect of facial lipoatrophy: a framework of disease understanding. *Dermatol Surg.* 2006; 32(8):1058-69.
16. Kruglikov IL, Scherer PE. Skin aging: are adipocytes the next target? *Aging (Albany NY).* 2016; 8(7):1457- 69.
17. Abdulkarimi R, Daneshyar M, Aghazadeh A. Thyme (*Thymus vulgaris*) extract consumption darkens liver, lowers blood cholesterol, proportional liver and abdominal fat weights in broiler chickens. *Italian journal of animal science,* 2011; 10(2): e20.
18. Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, Armand R. The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine* 2015; 6: 635-642.
19. Reddy V P, Kandisa RV, Varsha PV, Satyam S. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Med Aromat Plants* 2014; 3(3): 164- 166.
20. Dunn B. A Brief History of Thyme. History Channel. 2018. Available at <https://www.history.com/news/abriefhistory-of-thyme>. Accessed on Nov, 5th , 2019. Cellfie Pág. 16/16 FQ MKT\_003 (06/17) SA 14006/20 LT 1482 – Rev. 01
21. Rtibi K, Selmia S, Wannesa D, Jridib M, Marzoukia L, Sebaia H. The potential of *Thymus vulgaris* aqueous extract to protect against delayed gastric emptying and colonic constipation in rats. *RSC Adv.* 2019; 9: 20593-20602.
22. Komaki A, Hoseini F, Shahidi S, Baharlouei N. Study of the effect of extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats. *J Tradit Complement Med.* 2015; 6(3):257-61.
23. Naowaboot J, Chung CH, Choi R. Rutin Stimulates Adipocyte Differentiation and Adiponectin Secretion in 3T3-L1 Adipocytes. *J Med Assoc Thai.* 2015; 98 Suppl 3:S1-6.
24. Peng SG, Pang YL, Zhu Q, Kang JH, Liu MX, Wang Z. Chlorogenic Acid Functions as a Novel Agonist of PPAR $\gamma$ 2 during the Differentiation of Mouse 3T3-L1 Preadipocytes. *Biomed Res Int.* 2018; 8594767.
25. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res,* 2001; 29: 2000-2007.
26. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2 $\Delta\Delta$  CT Method. *Methods,* 2001; 25: 402–408.

Histórico de alteração de documento: 30/07/2020– RW – Rev. 00