

Exossomos, peptídeos e gestão periprocedimento – investigações comparativas

Resumo

Introdução: A tecnologia de exossomos é um novo avanço promissor em opções terapêuticas, mas ainda está em seus estágios iniciais, levando a incertezas. Um pequeno estudo piloto comparou a tecnologia de peptídeos tradicional (Regenerating Skin Nectar com TriHex Technology® e TriHex Technology® peptide + Octapeptide) a dois produtos de exossomos líderes (exossomos liofilizados derivados de células-tronco e exossomos derivados de plaquetas) para uso pós-procedimento. Esses estudos foram realizados em pré-clínicos (*ex vivo*) e clínica para investigar os efeitos na matriz extracelular, na junção dermoepidérmica e na tolerância da pele como resultados pós-procedimento.

Métodos e materiais: O *ex vivo* estudo do modelo foi conduzido pela 3D Genomics usando pele fotodanificada de pacientes de lifting facial. A pele foi dividida, processada sob condições BSL2 e cultivada em transwells com meios específicos. Os tratamentos, incluindo peptídeos e produtos derivados de plaquetas, foram aplicados diariamente por 7 dias, enquanto os exossomos derivados de células-tronco foram aplicados como uma única aplicação conforme o uso descrito. Um conjunto foi deixado sem tratamento como controle.

Amostras de pele foram tratadas e analisadas usando coloração imuno-histoquímica para tropoelastina e CD44. O RNA foi isolado após os tratamentos e sequenciado para avaliar as mudanças na expressão gênica. O estudo teve como objetivo comparar os efeitos de diferentes tratamentos na regeneração e tolerância da pele. Clinicamente, os participantes foram submetidos a microagulhamento do rosto e aplicaram exossomos e peptídeos em cada lado do rosto como comparações. Os participantes preencheram questionários no Dia 0. Nos Dias 0, 1, 2, 3 e 4, os participantes preencheram suas classificações de autocura e também foram avaliados por um avaliador em sua classificação de cura em uma escala de 5 pontos.

Resultados: Os produtos exossomais revestidos apresentaram toxicidade significativa no *ex vivo* modelo e nenhum dos produtos do exossomo produziu mudanças relevantes na expressão gênica ou efeitos regenerativos neste modelo. Os participantes da pequena série clínica experimentaram queimação e picadas desagradáveis, de acordo com os efeitos observados no *ex vivo* modelo. Em contraste, a tecnologia de peptídeos mostrou upregulation favorável da expressão gênica e mudanças histológicas na matriz extracelular e foi bem tolerada e confortável para uso pós-procedimento, como foi demonstrado em vários ensaios clínicos.

Conclusão: A impressão geral desses estudos piloto sugere que as formulações de peptídeos são mais bem toleradas e visam mais efetivamente os efeitos regenerativos da MEC. Por outro lado, as preparações de exossomos parecem ser propensas a reações cutâneas e carecem de direcionamento das vias regenerativas da pele.

Palavras-chave: tecnologia de exossomos, cuidados com a pele, tolerabilidade pós-procedimento, lifting facial

Volume 8 Edição 3 - 2024

Alan DWidgerow,^{1,2} Maria E Ziegler,^{1,2} Faiza Shafiq,¹ Lora Colvan,¹ Stacy Osborne¹

¹Laboratórios Galderma (Dallas, EUA)

²Centro de Engenharia de Tecidos, Departamento de Cirurgia Plástica, Universidade da Califórnia, Irvine

Correspondência: Alan DWidgerow, Diretor Científico Galderma, Chefe do Centro de Inovação em Ciências da Pele, Chefe da Alastin Innovations, Chefe de Divisão, Pesquisa, Centro de Engenharia de Tecidos, Professor de Cirurgia Plástica, Universidade da Califórnia, Irvine, Tel. +1 949 394 5059, E-mail alan.widgerow@galderma.com

Recebido: 02 de setembro de 2024 | **Publicado:** 16 de setembro de 2024

Introdução

A tecnologia de exossomos fornece um novo e empolgante avanço em opções terapêuticas particularmente relacionadas a processos de doenças específicas. No entanto, é relativamente precoce em sua evolução em comparação a outras modalidades de tratamento, o que cria incertezas e desafios em várias frentes. Em cuidados com a pele, em particular, os mecanismos de ação e os resultados esperados são mal definidos no momento e a validação da tecnologia tem sido quase exclusivamente limitada à presença dessas vesículas e seu tamanho, em vez da natureza precisa de sua carga e sua função esperada. Além disso, a indicação de cuidados com a pele foi estendida para incluir o gerenciamento periprocedimento sem boa validação e confirmação prática de sua eficácia e segurança.

Com isso em mente, foi realizado um pequeno estudo piloto comparando a tecnologia tradicional de peptídeos validados (Regenerating Skin Nectar with TriHex Technology® (T1) e TriHex Technology® peptide + Octapeptide (TO) – Alastin® Skincare Carlsbad CA, uma Galderma

empresa) para a de dois produtos de exossomos líderes recomendados para uso pós-procedimento no mercado. Esses produtos de exossomos eram os principais exossomos liofilizados derivados de células-tronco (Lyo) e os principais exossomos derivados de plaquetas (Pltd). *Ex vivo* efeitos relacionados à matriz extracelular (MEC), junção dermoepidérmica e tolerância da pele foram investigados, e uma pequena série de casos também foi realizada para observar e registrar a tolerabilidade pós-procedimento, conforto e parâmetros de resultados.

Foram identificados problemas com os produtos do exossomo relacionados à tolerância da pele e à ausência de alterações relevantes discerníveis na expressão gênica e nos efeitos regenerativos no *ex vivo* modelo. Isso foi ecoado em termos práticos por queimaduras e picadas desagradáveis experimentadas pelos participantes após o procedimento. Isso está em forte contraste com as mudanças favoráveis da ECM e a expressão gênica provocadas pela tecnologia de peptídeos no *ex vivo* modelo e a tolerabilidade, conforto e facilidade de uso pós-procedimento com esta tecnologia, conforme demonstrado anteriormente em vários ensaios clínicos.¹⁻⁴

Materiais e métodos

Ex vivomodelo e investigações

Todos os experimentos foram conduzidos por um laboratório independente na 3D Genomics (Carlsbad, CA) usando um modelo estabelecido *ex vivomodelo*.^s Pele fotodanificada derivada de pacientes submetidos a procedimentos de lifting facial foi usada (estudo aprovado pelo Veritas Institutional Review Board — estudo ID # 3192). Pele facial descartada recebida dentro de 2 horas da cirurgia foi usada e o processamento foi conduzido sob condições de laboratório BSL2. A pele foi lavada em PBS, desengordurada e os pelos foram raspados usando um bisturi. A pele foi então cortada em pedaços quadrados de aproximadamente 5 mm x 5 mm e colocada em transwells suspensos em placas de 6 poços. Cerca de 2,0 ml de Skin Media (DMEM/F12 Media, Adenina (50 uM), CaCl₂ (1,88 mM), T3 Tri-iodotironina (0,02 nM), Insu-lin-Transferrina-Selênio-Etanolamina (ITS -X), Antibiótico-Antimicótico/Penicilina/Estreptomicina 1%, 2% FBS Inativado pelo Calor, Glutagro 1% e Gentamicina (0,01 mg/ml) foram adicionados a cada poço, e cerca de 200 ul a 300 ul foram adicionados a cada transwell para circundar a amostra de pele, mantendo uma superfície epidérmica exposta ao ar. O meio foi trocado diariamente. A pele nas culturas transwell foi mantida sob condições padrão na incubadora de 37° C 5% CO₂ por cerca de 72 horas antes de iniciar o tratamento.

Todos os tratamentos foram aplicados no primeiro dia e as amostras foram examinadas em 24 horas. Então, o peptídeo e as formulações plaqueadas foram aplicados diariamente por 7 dias. O produto do exossomo de células-tronco foi reconstituído conforme as instruções da empresa e aplicado apenas uma vez, conforme as instruções. Um conjunto foi deixado sem tratamento como controle de linha de base. Um total de 18 amostras de pele foram processadas, todas de um indivíduo. Doze amostras de pele foram usadas para o braço de imuno-histoquímica e 6 para o braço de expressão gênica.

Para a análise imuno-histoquímica, amostras de pele duplicadas (do mesmo doador) foram tratadas ou não tratadas com T1, TO, Pltd ou Lyo. Após 24 horas e 7 dias, a pele foi fixada em formalina, embebida em parafina e processada para detectar tropoelastina (vermelha) (Elastin Products Co.) e CD44 (amarelo) (Abcam). Foram usados anticorpos secundários de cabra anti-IgG de coelho Alexa647 conjugados e de cabra anti-IgG de camundongo Cy3 conjugados. As seções foram contracoradas com DAPI para detectar os núcleos. As imagens foram adquiridas usando uma microscopia de imunofluorescência (Zeiss) para obter uma imagem costurada de toda a seção.

Para o braço de expressão gênica, o RNA total foi isolado após os tratamentos de 24 horas e 7 dias. O sequenciamento de RNA em massa foi realizado pela Medgenome (Foster City, CA). O Takara SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v3 - Pico Input Mammalian foi usado para a preparação da biblioteca. O sequenciamento foi realizado em um sequenciador NovaSeq com um comprimento de leitura de 150 bp.

Casos clínicos

Quatro participantes optaram por usar produtos Peptide e Exosome em cada lado do rosto após os procedimentos de microagulhamento. Cada participante recebeu tratamento de microagulhamento no rosto. Após o microagulhamento, o primeiro participante aplicou o produto tópico Stem Cell Derived Lyophilized Exosome em um lado do rosto e aplicou o peptídeo TriHex no outro lado do rosto. O segundo participante comparou Pltd em um lado com o peptídeo TriHex no outro lado do rosto após o microagulhamento. Da mesma forma, os outros dois participantes foram observados usando o produto Lyo exossomo em um lado do rosto e TO no outro lado e Pltd em um lado, comparando com TO no outro lado, respectivamente. Todos os participantes preencheram questionários sobre sua experiência com os produtos e também foram observados por um avaliador

para avaliar sua classificação pós-procedimento de eritema, edema e crostas.

Os participantes preencheram questionários no dia 0 usando uma escala Likert de 5 pontos (1 = Discordo totalmente, 2 = Discordo, 3 = Nem concordo nem discordo, 4 = Concordo, 5 = Concordo totalmente), logo após a aplicação dos produtos em cada lado do rosto. Os participantes também preencheram a autoavaliação da cicatrização nos dias 0, 1, 2, 3 e 4. Um avaliador independente também concluiu a avaliação da cicatrização e classificou cada lado do rosto nos dias 0, 1, 2, 3 e 4 após a microagulhamento. Os questionários pós-procedimento no dia 0 (após a aplicação dos produtos em cada lado do rosto) incluíram as seguintes perguntas para cada lado do rosto 1. O produto não ardeu na aplicação 2. O produto não queimou na aplicação 3. O produto acalma minha pele 3. O produto reduz o desconforto da pele (calor) 4. O produto reduz a dor 5. O produto não irrita minha pele 6. O produto faz minha pele se sentir melhor.

Em cada visita (dias 0, 1, 2, 3 e 4), a autoavaliação do sujeito sobre as avaliações de cicatrização foi concluída para vermelhidão, inchaço, crostas, dor, calor e secura em uma escala de 5 pontos (0 = ausente, 1 = muito leve, 2 = leve, 3 = moderado, 4 = grave).

Em cada visita (dias 0, 1, 2, 3 e 4), avaliações de cicatrização foram concluídas por um avaliador para eritema, edema, crostas e exsudação em uma escala de 5 pontos (0 = ausente, 1 = muito leve, 2 = leve, 3 = moderado, 4 = grave).

Resultados

Ex vivo Tratamento 24 horas

Antes de analisar os resultados, é importante destacar algumas observações iniciais relacionadas à *ex vivo* tolerância do modelo a essas formulações. Após 24 horas, os tratamentos não tratados e T1 e TO pareceram estáveis e em linha com nossos estudos anteriores usando esse modelo. No entanto, o *ex vivo* O modelo respondeu mal à formulação Pltd após 24 horas com toxicidade óbvia se manifestando como descamação superficial da amostra. Isso foi menos óbvio com a formulação Lyo. Além disso, as tecnologias de peptídeos foram estáveis durante o período de tratamento de 7 dias. Vinte e quatro horas é um ponto de tempo muito precoce para observar mudanças na coloração e respostas em um nível biológico. No entanto, as áreas de resposta antecipada seriam a migração precoce da tropoelastina para a derme superficial e a junção dermoepidérmica (DEJ); estimulação de CD44 (biomarcador para ácido hialurônico – estimulação de HA) e observação geral de números e localização de células nucleadas (coloração DAPI). O modelo não tratado (mostrando réplicas) serve como uma linha de base. A amostra não tratada mostra quantidades razoáveis de tropoelastina restritas à derme, coloração mínima de CD44 (principalmente na epiderme) e uma distribuição normal de células nucleadas na derme e epiderme (Figura 1A).

As amostras tratadas com peptídeo demonstraram boas quantidades de tropoelastina com migração para o DEJ em ambos os grupos tratados (T1 e TO; Figuras 1B e Figura 1C). Para TO, houve uma resposta florida de CD44, conforme indicado pelo aumento do sinal amarelo na derme e epiderme representativo da estimulação de HA (Figura 1C). Células nucleadas saudáveis foram observadas em ambas as amostras tratadas e ambas demonstraram composição de ECM saudável (Figuras 1B - Figuras 1C).

As amostras tratadas com Lyo demonstraram tropoelastina principalmente restrita à derme sem extensão superior, sem aumento na coloração de CD44 ou alterações em células nucleadas (Figura 1D). Essas características foram semelhantes às amostras não tratadas (Figura 1A). Em contraste, as imagens de 24 horas das amostras tratadas com Pltd mostram sinais precoces de

toxicidade. Examinando a derme, uma aparência celular homogênea não distinta era óbvia com a perda de arquitetura e enquanto havia coloração amarela distinta da derme, havia conexão celular mal definida pela coloração CD44. Isso contrastava com outros grupos de tratamento, pois essa distribuição não específica sugere CD44 livre/não ligado em uma ECM disfuncional (Figura 1E).

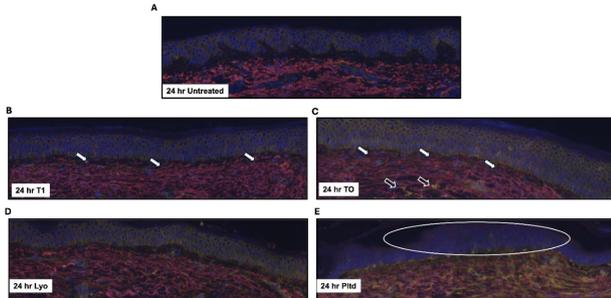


Figura 1 Avaliação do tratamento de 24 horas de elastina e CD44.

A pele descartada foi cultivada usando o método estabelecido *ex vivo* modelo e deixado sem tratamento (A) ou tratado com T1 (B), TO (C), Lyo (D) ou Pltd (E) por 24 horas. O tecido foi processado e as seções foram coradas para avaliar a tropoelastina (vermelho) e CD44 (amarelo) por imunofluorescência. DAPI foi usado para detectar os núcleos (azul). Imagens representativas são mostradas. As amostras foram preparadas em duplicata e imagens representativas são mostradas. As setas preenchidas em branco indicam áreas de migração de tropoelastina no DEJ. As setas abertas indicam áreas de Estimulação de HA. O oval representa células epidérmicas mal definidas.

Ex vivo Tratamento de 7 dias: No dia 7 após o início do estudo, a amostra não tratada mostrou uma leve ruptura na DEJ, mas a ECM e os elementos dérmicos estavam relativamente intactos e saudáveis (Figura 2A). Ambas as tecnologias de peptídeos (T1 e TO) no dia 7 mostraram uma boa resposta regenerativa. T1 (Figura 2B) mostrou uma arquitetura relativamente boa com uma DEJ amplamente mantida e infiltração de tropoelastina na derme superficial e DEJ. Isso é particularmente evidente no espécime inferior (T1 (2)). Para TO (Figura 2C), observamos uma resposta semelhante para tropoelastina, mas novamente a coloração de CD44 ainda era dominante (Figura 2C).

Embora as amostras tratadas com Lyo tenham mantido uma arquitetura relativamente boa [Lyo da amostra superior (1) melhor que Lyo da amostra inferior (2)], houve relativamente pouca infiltração de tropoelastina nova e coloração limitada de CD44 (Figura 2D). A maior parte da amostra de Pltd descama no dia 7, com muito poucas células intactas sobrevivendo na superfície e uma arquitetura interrompida mais abaixo (Figura 2E).

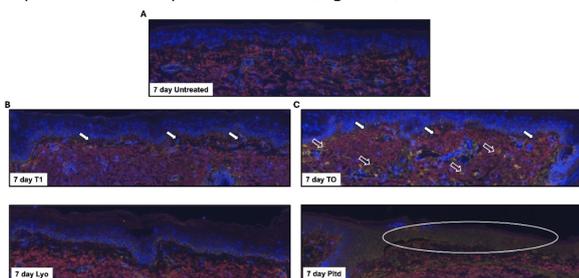


Figura 2 Avaliação do tratamento de 7 dias de elastina e CD44.

A pele descartada foi cultivada usando o método estabelecido *ex vivo* modelo e deixado sem tratamento (A) ou tratado com T1 (B), TO (C), Lyo (D) ou Pltd (E) por 7 dias. O tecido foi processado e as seções foram coradas por imunofluorescência para avaliar a tropoelastina (vermelho) e o CD44 (amarelo). O DAPI foi usado para detectar os núcleos (azul). Imagens representativas são mostradas. As amostras foram preparadas em duplicata e as imagens representativas são mostradas. As setas preenchidas em branco indicam áreas de migração da tropoelastina no DEJ. As setas abertas indicam áreas de Estimulação de HA. O oval representa uma área de perda de células epidérmicas.

Alterações na expressão gênica (sequenciamento de RNA em massa)

A correlação de perfis de expressão gênica é usada para auxiliar na interpretação biológica dos dados. Como todas as amostras eram da mesma pele doadora, elas devem mostrar alta correlação, não importa o tratamento. Ao comparar os diferentes grupos, ficou evidente que em 24 horas e no dia 7 o grupo 'Pltd' demonstrou a menor correlação (padrão de cor diferente) com quaisquer outros grupos, mas as réplicas de Pltd eram semelhantes entre si (Figuras 3A e Figuras 3B).

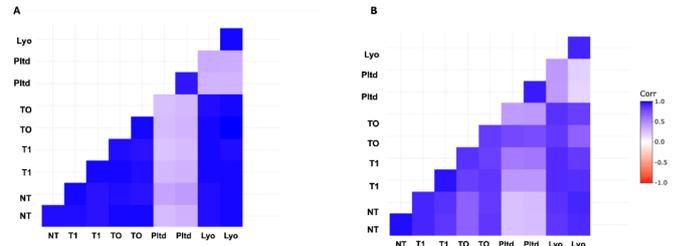


Figura 3 Correlação da expressão gênica codificadora de proteínas.

Contagens normalizadas por DESeq2 de genes codificadores de proteínas foram usadas para gerar as correlações. Correlações positivas são exibidas em azul e correlações negativas em vermelho. A legenda colorida mostra os coeficientes de correlação e as cores correspondentes. (A) Amostras tratadas por 24 horas (B) 7 amostras tratadas no dia.

No que diz respeito à expressão gênica, os genes significativamente expressos diferencialmente com essas formulações diferiram completamente de grupo para grupo em 24 horas e no dia 7. Em 24 horas, a assinatura dos genes regulados positivamente para T1 envolveu matriz de fibronectina, ciclo celular, sinalização de notch, endocitose e queratinização, enquanto a assinatura TO envolveu sinalização Wnt, cicatrização de feridas, expressão de PPARA e lipofagia. A assinatura Lyo mostrou inibição de fagocitose e glicosilação o-ligada de mucinas, enquanto o grupo 'Pltd' mostrou ativação do complemento e sinalização de morte celular (Figura 4).

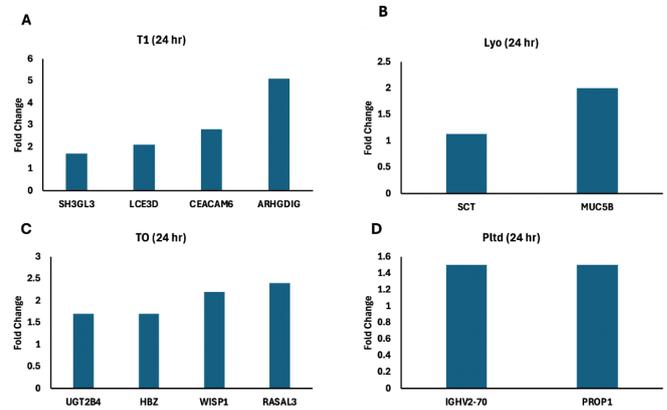


Figura 4 Genes expressos diferencialmente significativos 24 horas.

A pele descartada foi cultivada usando o método estabelecido *ex vivo* modelo e deixado sem tratamento (A) ou tratado T1 (B), TO (C), Lyo (D) ou Pltd (E) por 24 h. O RNA foi extraído e o RNA-seq foi realizado. Os genes significativamente expressos diferencialmente foram submetidos ao Reactome Database e a foldchange daqueles associados a uma via relevante são apresentados.

Abreviações: SH3GL3, domínio SH3 contendo GRB2 como 3, endofilina A3; LCE3D, envelope cornificado tardio 3D; CEACAM6, molécula de adesão celular CEA 6; ARHGDI3, (inibidor de dissociação de GDP Rho gamma; UGT2B4, membro B4 da família 2 da UDP glucuronosiltransferase; HBZ, subunidade zeta da hemoglobina; WISP1, fator 4 da rede de comunicação celular (CCN4); RASAL3, ativador de proteína RAS como 3; SCT, secretina; MUC5B, mucina 5B, muco oligomérico/formador de gel; IGHV2-70, variável pesada de imunoglobulina 2-70; PROP1, PROP homeobox pareado 1.

No dia 7, o perfil de expressão gênica para o grupo T1 demonstrou vias envolvidas na sinalização Wnt, metabolismo de proteínas e mTOR; enquanto TO mostrou formação de fibrilas de ancoragem, reticulação de colágeno, interações célula-matriz e desenvolvimento da epiderme. O perfil de expressão gênica Lyo apontou para queratinização e regulação da resposta ao choque térmico, enquanto Pltd mostrou transporte mediado por aquaporina e cascata de complemento (Figura 5).

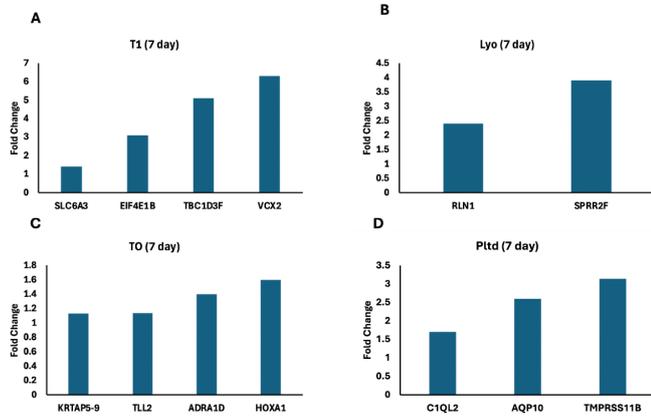


Figura 5 Significativo diferencialmente expressado genes 7 dias. A pele descartada foi cultivada usando o método estabelecido *ex vivo* modelo e deixado sem tratamento (A) ou tratado T1 (B), TO (C), Lyo (D) ou Pltd (E) por 24 h. O RNA foi extraído e o RNA-seq foi realizado. Os genes significativamente expressos diferencialmente foram submetidos ao Reactome Database e a foldchange daqueles associados a uma via relevante são apresentados.

Abreviações: SLC6A3, membro 3 da família de transportadores de soluto 6; EIF4E1B, membro 1B da família do fator de iniciação da tradução eucariótica 4E; TBC1D3F, membro 3F da família do domínio TBC1; VCX2, ligado ao X de carga variável 2; KRTAP5-9, proteína associada à queratina 5-9; TLL2, tolloid like 2; ADRA1D, adrenoceptor alfa 1D; HOXA1, homeobox A1; RLN1, relaxina 1; SPRR2F, proteína rica em prolina pequena 2F; C1QL2, complemento C1q like 2; AQP10, aquaporina 10; TMPRSS11B, serina protease transmembrana 11B.

Resultados de séries de casos clínicos

Resultados relatados pelos participantes: No dia 0 após a microagulhamento, os resultados relatados pelos participantes favoreceram o lado do peptídeo em todas as questões após a aplicação dos produtos (Tabela 1).

Tabela 1 Dia 0 pós-microagulhamento % de concordância dos participantes com a aplicação do produto

Questionários de produtos dos participantes	% de concordância do participante dia 0 após a aplicação do produto de microagulhamento	
	Peptídeo lado	Exossomo lado
O produto não arde ao ser aplicado	100%	0%
O produto não queima ao ser aplicado	100%	0%
O produto acalma minha pele	100%	0%
O produto reduz o desconforto da pele (calor)	75%	0%
O produto reduz a dor	25%	0%
O produto não irrita minha pele	75%	0%
O produto faz minha pele se sentir melhor	100%	0%

100% dos indivíduos relataram que o lado do peptídeo não ardia na aplicação, enquanto todos relataram ardência no lado do exossomo. 100% dos pacientes concordaram que o produto não queimou na aplicação no lado do peptídeo e 0% no lado do exossomo (todos sentiram queimação). 100% dos pacientes concordaram que o produto acalma a pele no lado do peptídeo, e nenhum relatou isso para o lado do exossomo. 75% dos pacientes relataram que o produto reduz o desconforto da pele (calor)

no lado do peptídeo, mas nenhum relatou isso para o lado do exossomo. 25% relataram que o produto reduz a dor no lado do peptídeo e nenhum relatou isso para o lado do exossomo. 75% dos participantes relataram que o produto não irrita a pele no lado do peptídeo do rosto, e nenhum concordou para o lado do exossomo. 100% dos participantes concordaram que o produto fez a pele ficar melhor no lado do peptídeo do rosto e nenhum concordou para o lado do exossomo.

Um participante relatou que o produto Pltd teve uma sensação de queimação e ardência na aplicação, enquanto o lado da aplicação do TO pareceu calmante. Isso ficou evidente na inspeção visual Figura 6. Este participante teve que interromper o uso do produto Pltd no Dia 2 devido à sensação desagradável de queimação.

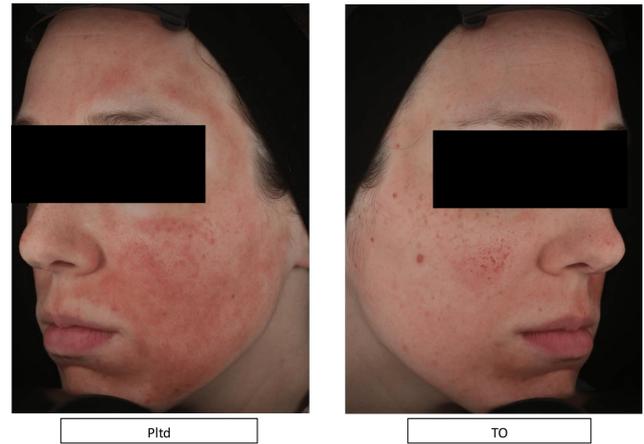


Figura 6 Dia 1 pós-microagulhamento, mostrando eritema persistente no lado da aplicação de Pltd enquanto o eritema estava desaparecendo no lado do TO.

Para a autoavaliação da cura do sujeito, melhorias em todos os parâmetros foram relatadas no lado do peptídeo em comparação ao lado dos exossomos.

Autoavaliação da cura

I. Vermelhidão:

51% menos vermelhidão com peptídeo no dia 1 em comparação ao lado do exossomo.

50% menos no Dia 2 e 67% menos no Dia 3.

II. Inchaço:

86% menos inchaço no lado do peptídeo no primeiro dia.

O inchaço diminuiu completamente no lado do peptídeo no segundo dia, mas persistiu no lado do exossomo.

III. Dor:

67% menos dor no lado do peptídeo nos dias 0 e 1.

A dor desapareceu no dia 2 no lado do peptídeo, mas persistiu no lado do exossomo.

IV. Crosta:

40% menos crostas no lado do peptídeo no 3º dia.

V. Secura e Calor:

67% menos ressecamento no lado do peptídeo no 2º dia.

40% menos calor no lado do peptídeo em comparação ao lado do exossomo.

Avaliação de cura do avaliador

As avaliações de cura concluídas pelo avaliador usando a escala de 5 pontos também relataram resultados favoráveis no lado do peptídeo em geral.

I. Eritema:

4% menos eritema no lado do exossomo no Dia 0.

42% menos eritema no lado do peptídeo no primeiro dia.

31% menos no Dia 2 e 18% menos no Dia 3 no lado dos peptídeos.

II. Edema:

40% menos edema no lado do peptídeo no 1º dia.

55% menos no Dia 2 e 33% menos no Dia 3 no lado dos peptídeos.

III. Crosta:

29% menos crostas no lado do peptídeo no 2º dia.

IV. Exsudação

Nenhuma exsudação foi observada em nenhum participante.

Discussão

A tecnologia de exossomos constitui um novo avanço na terapia para processos de doenças alvo. Disso, não há dúvidas e, à medida que novos ativos dentro de suas cargas são identificados e o direcionamento se torna mais preciso, a tecnologia fornecerá uma nova alternativa terapêutica para muitas entidades de doenças.⁷⁻¹⁰ O problema neste estágio de desenvolvimento é que, embora sejam feitas alegações relacionadas à eficácia e potência das formulações (particularmente em cuidados com a pele), essas alegações são baseadas na presença ou ausência pura de corpos extravesiculares dentro de uma certa faixa de tamanho, com a suposição de que a carga que essas vesículas carregam é apropriada para a indicação atendida. Até o momento, muito poucas, se alguma dessas empresas, fizeram análises abrangentes dos conteúdos reais da carga - o ácido nucleico, incluindo miRNAs, lipídios, proteínas e a multidão de conteúdo variável que pode ser transportado pelos exossomos. Isso pode muito bem estar relacionado ao fato de que criar lotes consistentes de carga dentro desses exossomos pode ser extremamente difícil e garantir a consistência nos resultados de lote para lote pode ser muito desafiador. Além disso, manter os produtos biológicos ativos e estabilizados, protegendo contra mudanças no pH, temperatura e ambientes locais, pode significar a adição de conservantes e agentes estabilizadores que podem não ser "amigos da pele". Assim, uma série de desafios ainda esperam para serem adequadamente respondidos, incluindo a origem dos exossomos, seu isolamento, proteção, conteúdo de carga, algumas preocupações de segurança não respondidas e uma definição real do resultado buscado para diferentes indicações. No geral, isso torna as formulações atuais usadas em cuidados e manutenção da pele periprocedimento não direcionadas, não validadas e imprevisíveis.

Com isso como pano de fundo, começamos a tentar entender algumas das nuances envolvidas no uso dessas formulações na pele e como adjuvantes de procedimentos. Usamos uma base de tempo de comparação e formulações de peptídeos clinicamente testadas que foram projetadas com alvos específicos em mente, criadas em forma não aquosa para serem amigáveis à pele, particularmente relacionadas à pele vulnerável após procedimentos. Embora informações limitadas possam ser obtidas de aspectos deste estudo relacionados às nuances dessas formulações, há novas questões interessantes que surgem, a principal delas sendo: abandonamos ativos sintéticos bem pesquisados e testados pelo tempo em formulações para os novos brinquedos biológicos brilhantes ou avançamos mais a ciência ou buscamos alternativas que sejam mais seguras, mais direcionadas e previsíveis?

Analisando este estudo em particular, os pontos de discussão relevantes precisam cobrir – tecnologias de estabilização de formulação e seu efeito imediato na pele; abordagens direcionadas para manutenção e procedimentos da pele, e a obtenção de resultados previsíveis.

No que diz respeito às nuances de estabilização da formulação, não há dúvida de que algo na formulação 'Pltd' não era amigável ao *ex vivo* modelo e, de fato, para a pele do cliente na série clínica pós-procedimento. Isso limitou as conclusões que podem ser tiradas das análises de expressão gênica, pois os genes regulados positivamente foram provavelmente resultado de toxicidade para o modelo (cascata do complemento, sinalização de morte celular). A perda de arquitetura nas imagens de 24 horas e, particularmente, do dia 7, confirmou essa teoria. No entanto, isso levanta a questão de se algo no processo de estabilização pode não ser amigável à pele. Isso se relaciona a uma série de conservantes que são conhecidos por reagir com a pele em outros estudos que realizamos com outras formulações no passado.¹¹ Embora estudos clínicos tenham relatado melhora na saúde da pele em relatórios publicados, a análise dos "melhores resultados" ou uma "subanálise estruturada utilizando os 75º percentil" (ou seja, 14 de 56 participantes do teste), o que coloca em questão a validade das conclusões.¹² A formulação Lyo pareceu ser mais "amigável à pele". Se isso se relaciona ao fato de que múltiplos peptídeos estão nesta preparação, ou se as rotinas de estabilização são diferentes, está aberto à especulação. No entanto, isso nos permitiu cavar um pouco mais fundo nos aspectos de direcionamento da pele.

Um dos temas dominantes nas formulações da tecnologia TriHex® sempre foi a modulação da MEC, a eliminação de resíduos antigos (colágeno fragmentado, elastina, produtos AGE etc.) e a substituição por novos componentes regenerativos da MEC.^{2-4,13,14} As 2 variações testadas neste estudo envolveram a combinação regular de Tripeptídeo-1 e Hexapeptídeo-12 em T1 e a mesma combinação com TO compreendendo a adição de um novo octapeptídeo-45, patenteado pela Alastin® Skincare, descoberto internamente.¹⁵ Descobriu-se que esse novo peptídeo é muito eficaz na estimulação do ácido hialurônico intrínseco nas camadas da pele.¹⁶ De uma perspectiva de alto nível, as tecnologias de peptídeos apresentam grandes vantagens – amigáveis à pele *ex vivo* e casos clínicos; formulações e resultados de lote consistentes e previsíveis, múltiplos estudos de validação anteriores documentando mudanças biológicas e histológicas e resultados clínicos; e, muito importante, uma funcionalidade direcionada envolvendo ECM e mudanças regenerativas documentadas em estudos anteriores, mas confirmadas mais uma vez neste estudo, com ambas as variações demonstrando vias intrinsecamente envolvidas na remodelação da ECM. Isso está em forte contraste com a formulação Pltd, que realmente não permitiu uma avaliação realista devido ao efeito no tecido, e a formulação Lyo, que realmente não mostrou nenhuma segmentação de funcionalidade da pele.

De uma perspectiva clínica, esta série de casos é muito pequena para tirar conclusões definitivas, mas é o suficiente para indicar a tolerância da pele do cliente e a experiência geral com essas formulações tópicas. Esta é uma observação importante, pois muitos desses procedimentos superficiais são repetidos e uma memória desagradável de queimação e ardência diminui a disposição do cliente de refazer um procedimento ou usar o produto tópico desejado após o procedimento. Além disso, deve-se considerar que alguns desses procedimentos têm anestesia local ativa nas primeiras horas e o desconforto real geralmente ocorre apenas na exposição posterior ao produto tópico, portanto, a avaliação da tolerância da pele precisa ser feita imediatamente, mas também após algumas aplicações da formulação tópica.

As limitações deste estudo incluem a incapacidade de avaliar verdadeiramente o mecanismo de ação do produto Pltd devido à toxicidade do tecido e

reações. Este é um elemento importante a ser descoberto e parece ser espelhado na experiência clínica. Os números nos casos clínicos são pequenos, mas isso foi realizado para ver se a hostilidade da pele vista no *in vivo* componente também ocorreu no contexto clínico. Curiosamente, isso pareceu ocorrer com ambas as formulações 'biológicas', levantando a questão de fatores na formulação que precisam ser melhorados antes de usar esses produtos como aplicações diárias na pele. O monitoramento de eventos adversos será crítico.

Conclusão

Novos avanços na ciência são empolgantes e devem ser adotados. Ao mesmo tempo, aspectos de segurança, validação de eficácia e resultados previstos devem ser claramente definidos. Este estudo comparou a tecnologia de peptídeos validada com 2 formulações baseadas em exossomos usando *ex vivo* avaliação histológica do modelo, bem como expressões gênicas em 24 horas e 7 dias, e uma pequena série de casos comparando os produtos. A impressão geral obtida é que a tecnologia de peptídeos é amigável à pele com efeitos regenerativos de ECM direcionados, enquanto as preparações de exossomos exibem algumas reações cutâneas problemáticas sem direcionamento óbvio das vias regenerativas da pele. Mais pesquisas precisam ser feitas para que essas novas tecnologias possam competir com formulações testadas e comprovadas que são direcionadas, validadas e previsíveis.

Reconhecimento

Drs Su Yang e Ted Choi da 3D Genomics para *ex vivo* criação de modelos e investigações.

Conflito de interesses

Todos os autores são funcionários ou consultores da Galderma.

Financiamento

O financiamento foi fornecido pela Alastin Skincare®, uma empresa Galderma.

Referências

1. Vanaman Wilson MJ, Bolton J, Fabi SG. Um ensaio randomizado, simples-cego, de um regime de cura de tripeptídeo/hexapeptídeo após resurfacing a laser da face. *J Cosmet Dermatol*. 2017;16(2):217–222.
2. Chilukuri S, Day D, SG F, et al. "Recycling the Matrix" – ALASTIN Skincare™ com TriHex Technology™ fornece uma nova abordagem para otimizar os resultados dos procedimentos de rejuvenescimento e tratar o envelhecimento da pele. *Aesthetic Guide*. 2016;(Suplemento de setembro de 2016):1–8.
3. Widgerow AD, Fabi SG, Palestine RF, et al. Modulação da matriz extracelular: otimizando procedimentos de cuidados com a pele e rejuvenescimento. *J Drogas Dermatol*. 2016;15(4 Supl):S63–S71.
4. Widgerow AD, Cohen SR, Fagien S. Condicionamento pré-operatório da pele: limpeza da matriz extracelular e preparação do leito cutâneo, um novo paradigma. *Esteta Cirúrgica J*. 2019;39(Suppl_3):S103–S111.
5. Widgerow AD, Ziegler ME, Garruto JA, et al. Antioxidantes com eficácia comprovada e vitamina CA conservadora de elastina, nova abordagem para defesa de radicais livres. *J Cosmet Dermatol*. 2023;22(12):3320–3328.
6. Tian Y, Zhang T, Li J, et al. Avanços no desenvolvimento de exossomos para terapêutica oftálmica. *Rev. de entrega de medicamentos avançados*. 2023;199:114899.
7. Phinney DG, Pittenger MF. Revisão concisa: exossomos derivados de MSC para terapia sem células. *Células-tronco*. 2017;35(4):851–858.
8. Mianehsaz E, Mirzaei HR, Mahjoubin-Tehran M, et al. Exossomos derivados de células-tronco mesenquimais: uma nova abordagem terapêutica para osteoartrite? *Res Ther de células-tronco*. 2019;10(1):340.
9. Li X, Xie X, Lian W, et al. Exossomos de células-tronco derivadas de tecido adiposo que superexpressam Nrf2 aceleram a cicatrização de feridas cutâneas promovendo a vascularização em um modelo de úlcera de pé diabético em ratos. *Exp Mol Med*. 2018;50(4):1–14.
10. Oveili E, Vafaei S, Bazavar H, et al. O uso potencial de exossomos derivados de células-tronco mesenquimais como sistemas de entrega de microRNAs em diferentes doenças. *Sinal de comunicação celular*. 2023;21(1):20.
11. Widgerow AD, Garruto J. Estudos de expressão gênica relativos à integridade e remodelação da matriz extracelular: nuances e armadilhas das investigações *in vitro*. *J Drogas Dermatol*. 2019;18(12):1255–1259.
12. Proffer S, Paradise CR, DeGrazia E, et al. Eficácia e tolerabilidade de exossomos plaquetários tópicos para rejuvenescimento da pele: resultados de seis semanas. *Esteta Cirúrgica J*. 2022;42(10):1185–1193.
13. Calame A, Widgerow A. Alterações histológicas associadas à terapia tópica de remodelação da matriz extracelular. *Relatos de Casos de Dermatologia*. 2017;2(3):1000126.
14. Widgerow AD, Jiang LI, Calame A. Um ensaio clínico de centro único para avaliar a eficácia de um regime antienvhecimento de tripeptídeo/hexapeptídeo. *J Cosmet Dermatol*. 2018; 18(1):176–182.
15. Widgerow AD. Então vamos projetar um peptídeo... uma abordagem médica. *J Drogas Dermatol*. 2024;23(5):347–352.
16. Widgerow AD, Ziegler ME, Garruto JA, et al. Projetando tecnologia de ácido hialurônico tópico — o tamanho importa. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21(7):2865–2870.