

VERISOL® WHITE PAPER 2014

VERSÃO JANEIRO/2014

Definição do Produto

O **VERISOL®** é uma composição única de peptídeos específicos de colágeno derivados de hidrólise especial do colágeno suíno ou bovino tipo I. O produto é claramente caracterizado por picos de frações peptídicas específica (MALDI-MS), com um peso molecular médio de 2,0 kDa.

VERISOL®



- ingrediente natural
- clean label
- alta digestibilidade
- não alergênico

Estudos Pré-clínicos

O potencial de uso do **VERISOL®** para estimular o metabolismo das células da pele, melhorando os sinais clínicos da pele "de dentro para fora", foi estudado em diversos experimentos científicos.

Estudos de biodisponibilidade anteriores já haviam demonstrado que os peptídeos de colágeno podem ser detectados em diferentes órgãos e tecidos conjuntivos após a administração oral¹.

Quase 100% dos peptídeos do colágeno ingeridos via oral são rapidamente absorvidos no trato gastrointestinal, o que fica evidenciado pelo aumento significativo da quantidade destes peptídeos no plasma sanguíneo durante as primeiras 12 horas. Após este período, os peptídeos podem ser detectados em quantidades diversas em vários órgãos e tecidos, incluindo a pele.

A pele, por sua vez, é um dos órgãos que predominantemente acumula maior quantidade destes pequenos peptídeos; isso ocorre devido ao alto fluxo sanguíneo e boa capacidade de absorção dos mesmos pelo tecido² (Fig. 1).

Além da excelente biodisponibilidade, ficou evidenciado, através de inúmeros experimentos, o efeito positivo do **VERISOL®** no metabolismo das células da pele.

Estudos experimentais realizados em diferentes tipos de células primárias de pele humana revelaram o efeito estimulador do **VERISOL®** na biossíntese das macromoléculas da matriz extracelular. O tratamento levou as células da epiderme (os queratinócitos) a obterem aumento da regulação de filagrina, loricrina e involucrina, proteínas importantes para o bom funcionamento da barreira epidérmica e para a hidratação da pele saudável (dados não mostrados)³⁻⁵.

Detecção dos peptídeos específicos de colágeno na pele durante 192 horas após uma única aplicação oral.

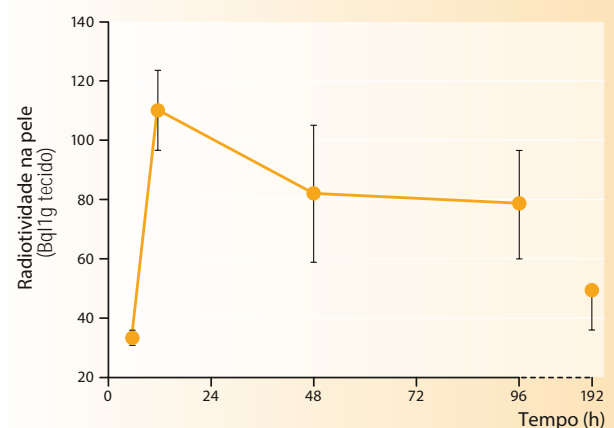


Figura 1

Nos fibroblastos da derme, foi detectado um aumento de RNA de colágeno tipo I e de proteoglicanas como versicana, decorina e biglicana (Fig. 2). Estas macromoléculas estruturais são importantes para a hidratação da pele e essenciais para a elasticidade e formação de fibras de colágeno na pele ^{6, 7}.

Além do estímulo eficaz proporcionado pelo VERISOL®, efeito anti-oxidativo significativo e aumento da enzima antioxidante primária superóxido dismutase (–manganes dependente, MnSOD) foi observado nas células dérmicas humanas saudáveis. Esse efeito positivo foi ainda mais pronunciado em células irritadas (dados não mostrados).

Os efeitos observados nos experimentos in vitro, foram confirmados por estudos em modelo animal. Estudo aleatório adicional, controlado por placebo, com camundongos sem pelo (*hairless mice*) foi realizado a fim de investigar a eficácia da administração via oral do VERISOL® na pele irritada e saudável de camundongos. Como esperado, em ambas as situações foi observado aumento da expressão do RNA de MnSOD na pele dos animais. Além disso, os processos inflamatórios após a irritação diminuíram nos animais tratados com VERISOL®, nos quais se observou uma diminuição da expressão das citosinas inflamatórias, TNF, IL-1 e IL-6 (dados não mostrados).

Também foram obtidos outros dados experimentais padronizados em relação a parâmetros clínicos da pele dos animais. Os dados demonstraram alteração na função da barreira da pele, caracterizado por um aumento da perda de água transepidérmica (TEWL) nos animais alimentados com placebo, enquanto os animais tratados com VERISOL® a TEWL permaneceu inalterada. De acordo com esta observação, aumento significativo da hidratação da pele foi detectado após administração do VERISOL® tanto na pele saudável como na irritada (dados não mostrados). Além disso, aumento significativo da elasticidade da pele irritada dos animais foi observado 2 a 3 semanas depois do uso do VERISOL®, em comparação aos animais controlados por placebo (Fig. 3).

A expressão de RNA de diferentes moléculas da matriz dérmica foi significativamente aumentada em fibroblastos humanos durante o tratamento com VERISOL®.

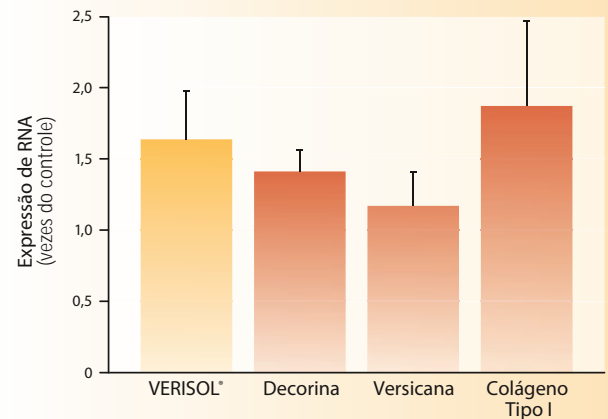


Figura 2

A elasticidade da pele irritada de camundongos aumentou de forma estatisticamente significativa após 3 semanas da administração oral do VERISOL®.

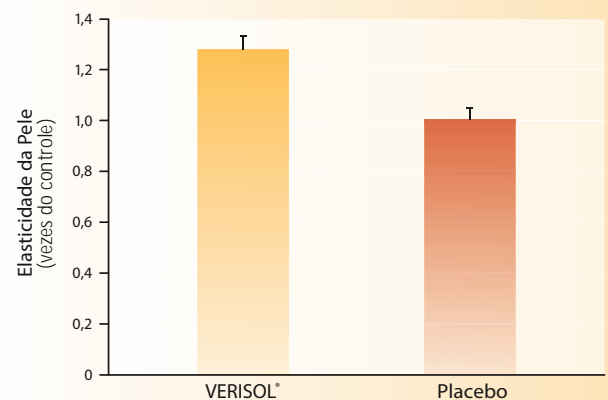


Figura 3

A melhora da elasticidade da pele pode ser explicada por um aumento da síntese de biglicana (Fig. 4), molécula importante na síntese de fibras elásticas na pele.

Concluindo, os dados pré-clínicos demonstram claramente os efeitos estimuladores do VERISOL® no metabolismo das moléculas da matriz extracelular das células da pele e do tecido cutâneo. O VERISOL® tem impacto positivo na função da barreira cutânea e promove o equilíbrio hídrico da pele. Além disso, tem influência positiva na manutenção e regeneração de elasticidade da pele.

Estudo Clínico I^B

A eficácia da administração oral do VERISOL® na saúde da pele foi investigada por um estudo clínico duplo-cego, aleatório, controlado por placebo ao longo de 12 semanas, utilizando-se de duas doses de VERISOL® em comparação com tratamento placebo. 69 mulheres saudáveis e qualificadas para o estudo foram recrutadas de forma voluntária e subdivididas em 3 grupos. Os 23 indivíduos de cada grupo receberam doses de 2,5g ou de 5g de VERISOL® ou placebo. O pó foi dissolvido em água ou outro líquido frio qualquer. Os produtos foram consumidos oralmente pelas voluntárias, de acordo com as instruções dadas pelo pesquisador. O cumprimento das recomendações na administração (dosagem e forma de ingestão) e a tolerância com os produtos foram verificados após períodos de uma, quatro e seis semanas da ingestão. 68 mulheres completaram o estudo corretamente. As voluntárias tinham entre 35,3 e 55,4 anos ($47,8 \pm 5,2$ anos em média).

Os locais de teste para avaliação de diversos parâmetros foram os lados internos de ambos os antebraços (um local por antebraço). Preliminarmente ao tratamento e ao levantamento de dados, as voluntárias se abstiveram de usar qualquer produto sobre a pele nos locais do teste durante um período de condicionamento de pelo menos 7 dias. As participantes do estudo não foram autorizadas a mudarem suas rotinas habituais de cuidados com a pele, e tratamento com terapias dermatológicas nas zonas de teste não foi permitido por 6 semanas antes do início do estudo. Foram proibidos também, durante o estudo, mudanças de vida ou hábitos alimentares, consumo de qualquer suplemento nutricional adicional ou preparado vitamínico, tratamento com cosméticos nos antebraços, cuidados da pele com produtos dermatológicos e exposição intensa ao sol ou luz UV.

Resultado Primário:

- Elasticidade da Pele (Cutometer® SEM 575, com 3 medições repetidas).

Resultado Secundário:

- Perda de água transepidérmica (TEWL, Dermalab®, com 3 medições repetidas).
- Hidratação da pele (Corneometer® CM825, com 10 medições repetidas).
- Rugosidade da pele (microrelevo cutâneo/replica (SILFLO) analisado por PRIMOS (So)).

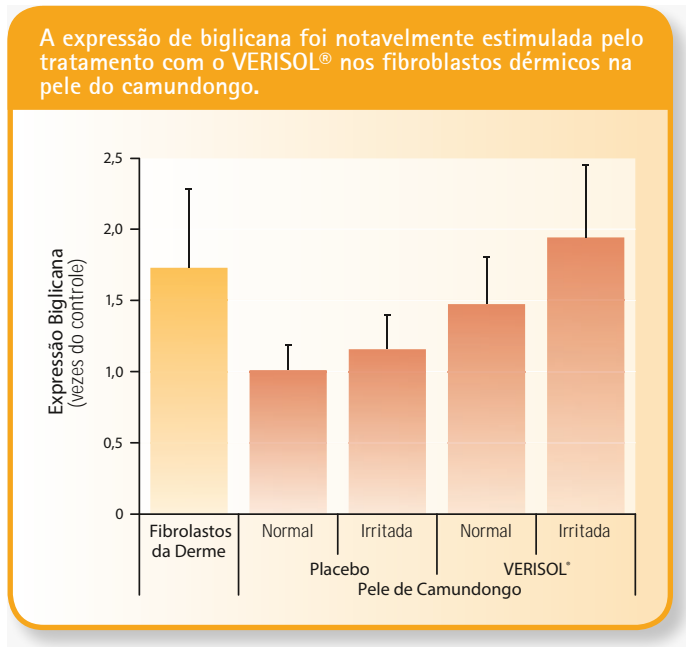


Figura 4

Antes da primeira ingestão oral do produto (t_0), após 4 (t_1) e 8 semanas (t_2), a perda de água transepidérmica (TEWL) e a hidratação da pele foram medidas no antebraço esquerdo e foram feitos moldes (réplicas, SILFLO) para a análise da rugosidade da pele (microrelevo da pele por PRIMOS (S_0)) no antebraço direito. A elasticidade da pele foi medida antes da primeira aplicação (t_0) do produto e depois de 4 (t_1) e 8 (t_2) semanas de uso, assim como 4 semanas após a última ingestão (t_3 , 4- semanas da fase de interrupção do tratamento - *washout*).

Todos os procedimentos de medição foram realizados em sala com temperatura controlada de 21,5 °C (\pm 1 °C) e 50% de umidade relativa do ar (\pm 5%), após período de 30 minutos de adaptação dos participantes ao clima interno.

Desistência

Houve apenas uma desistência por motivos particulares não definidos.

Desconforto e Reações Adversas

Não foram relatados desconfortos ou reações adversas.

Resultados

As duas dosagens do VERISOL® promoveram aumento estatisticamente significativo da elasticidade da pele, superior (até 15%) em comparação à ingestão do placebo. Os resultados foram observados logo após 4 semanas de ingestão do produto e o efeito progrediu após as 8 semanas de administração oral do VERISOL® (Fig. 5). Além disso, os níveis de elasticidade da pele mantiveram-se altos mesmo após 4 semanas do término do tratamento com VERISOL®, em comparação ao grupo placebo.

Os grupos tratados com VERISOL® apresentaram um aumento estatisticamente significativo da elasticidade após 4 e 8 semanas de ingestão do VERISOL® (média \pm SEM, $n \geq 22$, $p < 0,05$).

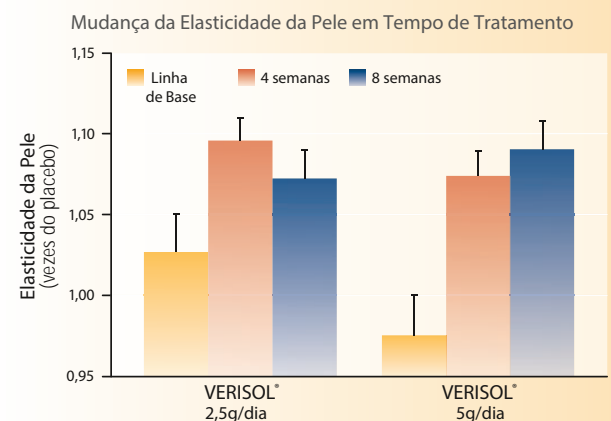


Figura 5

Na análise mais detalhada de subgrupo, o impacto positivo do tratamento com **VERISOL®** no aumento da elasticidade da pele foi ainda mais evidente em mulheres acima de 50 anos de idade. (Fig. 6).

O efeito positivo na elasticidade da pele persistiu ao longo de um período de 4 semanas após a interrupção do tratamento. Na avaliação de seguimento após 4 semanas da última ingestão de **VERISOL®**, 92% a 98% de efeito positivo na elasticidade da pele foram observados em ambas as subcategorias etárias (mulheres abaixo e acima de 50 anos). (Fig. 7).

Paralelo a estas observações, o tratamento com **VERISOL®** resultou em um aumento da hidratação da pele (11-14%) das participantes com mais de 50 anos de idade. O efeito hidratante do **VERISOL®** também reduziu a perda de água transepidermica (6-7%), o que indica que o tratamento melhora a regeneração da barreira da epiderme e a síntese de proteoglicanas da matriz extracelular dérmica na pele envelhecida (Fig. 8 a, b).

A elasticidade da pele foi significativamente aumentada com o tratamento com o **VERISOL®**. Este efeito positivo foi observado com uma dosagem diária de 2,5g de **VERISOL®** e mais evidente em mulheres com mais de 50 anos.

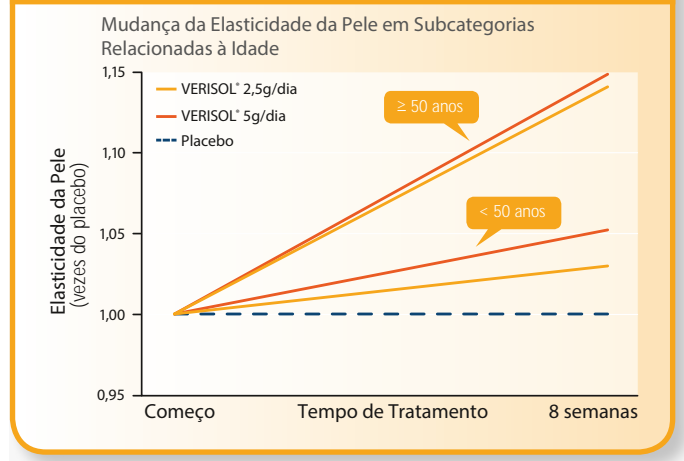
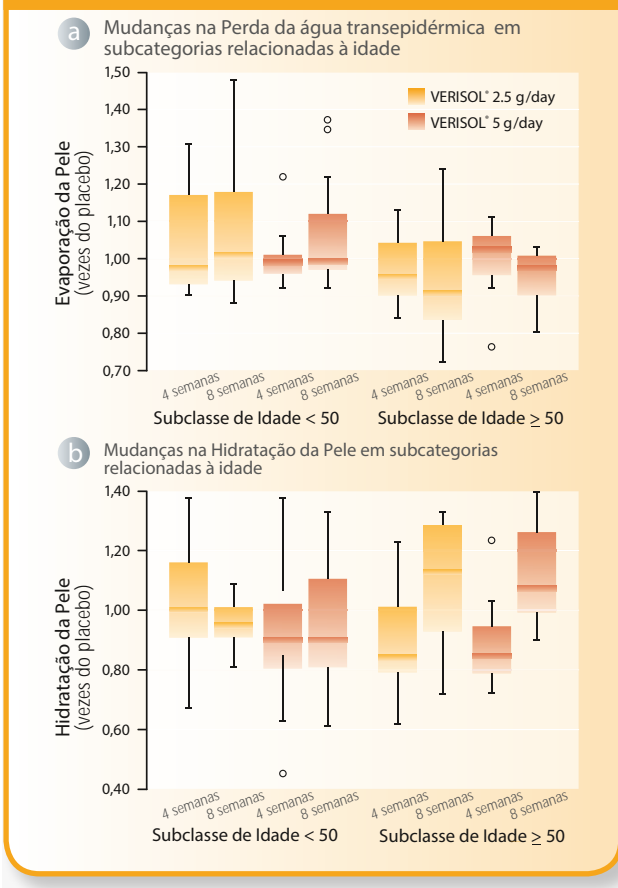


Figura 6

Perda de água transepidermica (a) e hidratação (b) são dois indicativos para manutenção da função de barreira da pele saudável e resultam do efeito estimulante do **VERISOL®** na regeneração das moléculas da matriz cutânea.



Quatro semanas após a última ingestão de **VERISOL®** a elasticidade da pele de mulheres acima de 50 anos manteve-se aumentada de forma significativa em comparação com o tratamento controlado com placebo (média ± SEM, n ≥ 9, p < 0,05).

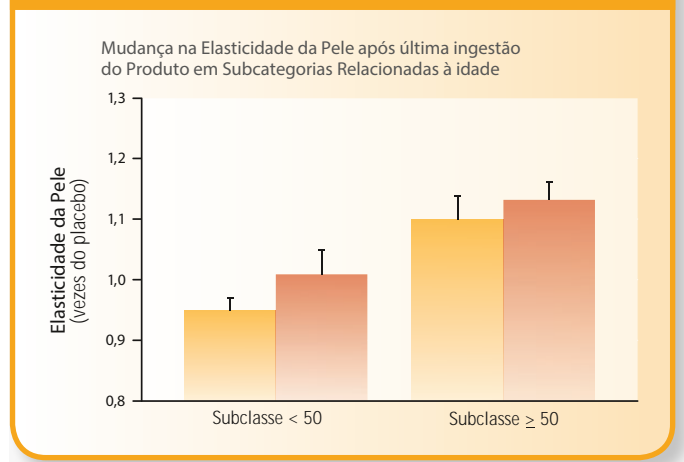


Figura 7

Figura 8 a, b

Alterações na rugosidade da pele também foram avaliadas no estudo, mas os resultados não chegaram a um nível de significância estatística. A rugosidade da pele após tratamento com baixa dose de **VERISOL®** foi reduzida na faixa de 2-4% em todos os indivíduos participantes.

Estudo Clínico II⁹

Como objetivo primário de investigar a eficácia da administração oral do VERISOL® na suavização de rugas ao redor dos olhos, foi realizado um estudo clínico, duplo-cego, aleatório, controlado por placebo, por 12 semanas. O objetivo secundário deste estudo foi investigar os efeitos do tratamento com VERISOL® no conteúdo de moléculas da matriz dérmica, incluindo pró-colágeno tipo I, tropo-elastina e fibrilina nos fluidos da pele das participantes do estudo.

115 participantes, qualificadas, saudáveis, do sexo feminino foram recrutadas e subdivididas em grupos de tratamento com 57 integrantes. 114 participantes terminaram o estudo corretamente. As voluntárias tinham idades entre 45 e 65,4 anos (média de 55,6 anos \pm 6 anos). 48 das 115 participantes (24 por grupo de tratamento) foram selecionadas para avaliação do objetivo secundário do estudo, ou seja, para detecção do conteúdo das macromoléculas da matriz dérmica nos fluidos da pele das participantes.

O lado interno do antebraço direito foi escolhido como local de coleta de fluido da pele para quantificação das moléculas da matriz dérmica. A área com rugas ao redor do olho esquerdo foi indicada para medições das rugas dos olhos e toda a área do rosto foi documentada por fotos. Como descrito no estudo anterior, antes do início do tratamento por via oral e do levantamento de dados, foi realizado um cuidadoso pré-condicionamento de pelo menos 7 dias com as participantes. Dentro desse período, elas tiveram de se abster de utilizar qualquer produto oleoso ou hidratante no braço direito e na área dos olhos. Elas também foram orientadas a não mudar a rotina normal de cuidados com a pele e não expor os locais de teste de forma intensiva à luz UV. O tratamento com terapias dermatológicas nas áreas de teste não foi permitido por 4 semanas antes do início do estudo. Também foram proibidas alterações nos cuidados cotidianos e nos hábitos alimentares, e vedados o consumo de qualquer suplemento nutricional adicional ou preparado vitamínico. O tratamento do antebraço direito com cosméticos e o uso de produtos dermatológicos na pele também não foi permitido.

Resultado Primário:

- Mensuração *in vivo* do volume de ruga selecionada ao redor do olho esquerdo usando o sistema 3D de medição compacto *in vivo* PRIMOS® (3 medições repetidas em mm³).

Resultado Secundário:

- Detecção do conteúdo de macromoléculas da matriz dérmica, inclusive pró-colágeno tipo I, tropo-elastina e fibrilina, nos fluidos da pele, por meio da técnica conhecida como sucção da bolha de líquidos (*suction blister fluids*).
- Documentação fotográfica usando o Foto Finder Mediscope Studio (fotos tiradas em um ângulo de 45°, as fotos foram tiradas para serem entregues pelo patrocinador do estudo aos participantes conforme acordo).

57 participantes foram tratadas com **VERISOL®** e outras 57 participantes com placebo durante 8 semanas, período seguido por uma fase de *washout* (interrupção do tratamento) de 4 semanas. Uma dosagem de 2,5g foi aplicada uma vez por dia. O pó foi dissolvido em água ou outro líquido frio qualquer. Os produtos foram tomados pelas participantes em casa, por via oral, de acordo com o diário de tratamento e as instruções determinadas pelo pesquisador. O cumprimento das recomendações (dosagem, forma correta de ingestão e hábitos alimentares) e a tolerância com os produtos foram verificados duas vezes, após uma e seis semanas de ingestão.

A medição do volume das rugas foi realizada nos locais escolhidos antes da primeira aplicação oral do produto (t_0), após quatro (t_1) e oito semanas (t_2) de ingestão, e quatro semanas após a última ingestão (t_3 , 4 semanas da fase de *washout*). Documentação fotográfica foi feita antes do início do tratamento (t_0) e após oito semanas de ingestão (t_2). Para um subgrupo bolhas de sucção foram geradas antes do início do tratamento (t_0) e depois de oito semanas (t_2) de ingestão.

Todos os procedimentos foram realizados numa sala com temperatura controlada de 21,5 °C (± 1 °C) e umidade relativa do ar de 50% ($\pm 5\%$), sempre depois que as áreas de teste das participantes se adaptassem, por pelo menos 30 minutos, a essas condições de clima interno.

Desistências

Houve 8 desistências (5 participantes que estavam sendo tratadas com **VERISOL®** e 3 que estavam sendo tratadas com placebo) por motivos particulares, doença ou falta de aderência às orientações.

Desconforto e reações adversas

Sete participantes (2 do grupo do **VERISOL®** e 5 do grupo do placebo) relataram sensação de desconforto e indigestão (flatulência, dor de estômago ou pirose), mas as queixas não foram consideradas como relacionadas à ingestão do produto ou qualquer procedimento do estudo. Não houve outros relatos de desconforto ou reação adversa.

Resultados

Os resultados indicaram que a ingestão diária de 2,5 g de **VERISOL®** promoveu redução pronunciada e estatisticamente significativa do volume de ruga (7,2% com $p < 0,05$) em comparação com a ingestão do placebo, após 4 semanas de tratamento. Esse efeito foi mais notável depois de 8 semanas, quando o volume da ruga no grupo tratado com **VERISOL®** teve redução estatisticamente significativa (de 20,1%) em comparação ao grupo tratado com placebo (*Figura 9a*).

A ingestão de **VERISOL®** promoveu redução estatisticamente significativa do volume das rugas ao redor os olhos após 4 e 8 semanas de tratamento. No mesmo período de tempo o volume das rugas no grupo tratado com placebo aumentou continuamente (média \pm SEM, $n = 57$, $p < 0,05-0,01$).

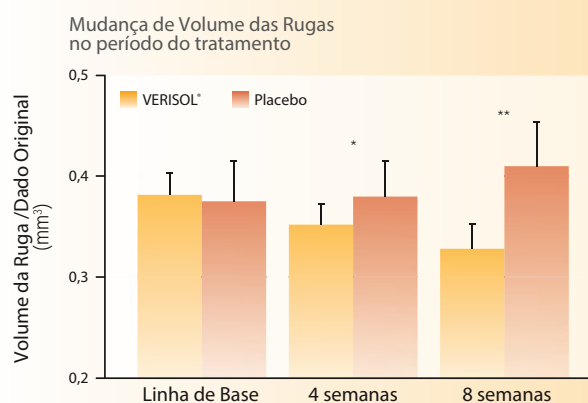


Figura 9a

Calculou-se uma diferença do volume das rugas de 32,2% entre o grupo tratado com **VERISOL®** e o tratado com placebo depois de 8 semanas, em relação às situações evidenciadas no início do estudo. O volume das rugas após o tratamento com **VERISOL®** diminuiu 17,7% em média, chegando a níveis máximos de redução de 50%, em comparação com a situação inicial, enquanto que no grupo tratado com placebo o volume de enrugamento aumentou 14,5% no mesmo período.

No final das 4 semanas da fase de interrupção do tratamento, o volume das rugas no grupo tratado com **VERISOL®** ainda foi 16% menor do que o verificado nas mulheres do grupo tratado com placebo. (Fig. 9 b; $p < 0,05$).

Além disso, o tratamento com **VERISOL®** levou a um notável acúmulo das fibras elásticas dérmicas nos fluidos da pele (Fig. 10). Os resultados demonstraram aumento estatisticamente significativo de pró-colágeno (cerca de 65%, $p < 0.01$) e elastina (cerca de 18% $p < 0.01$) após 8 semanas de ingestão diária de 2,5g do **VERISOL®** em comparação com o grupo tratado com placebo. Também foi constatado um aumento de 6% em relação a concentração de fibrilina após o período de tratamento.

A quantidade de pró-colágeno tipo I e elastina foi estatisticamente e significativamente aumentada após 8 semanas da administração do **VERISOL®**, em contraste com o tratamento com placebo. O teor de fibrilina no fluido da pele aumentou após 8 semanas da ingestão do **VERISOL®** (média \pm SEM, $n = 20$, $p < 0,05$).

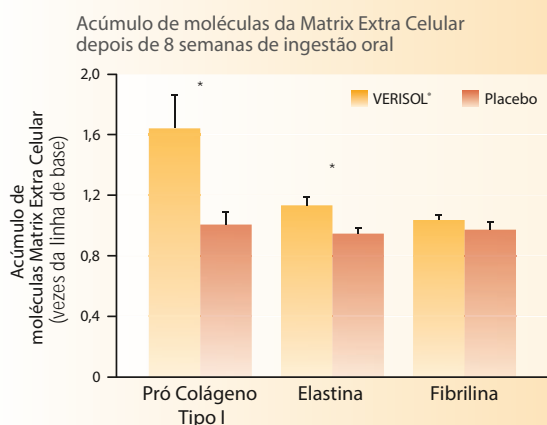


Figura 10

A redução do volume das rugas persistiu nos voluntários tratados com **VERISOL®** após 4 semanas da última ingestão (média \pm SEM, $n = 57$, $p < 0,01$).

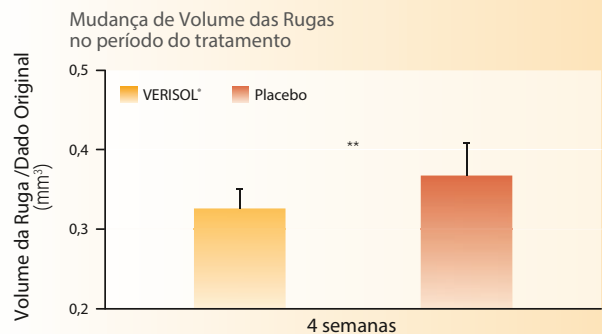


Figura 9b

Após o período de tratamento, além das mudanças observadas em relação ao colágeno e elastina, também foi notado um acúmulo significativo de biglicana (40%), importante proteoglicana que atua na formação dos feixes de fibras elásticas e contribui para a hidratação da pele. (Fig. 11).

Em resumo, pode-se concluir que a dose diária de 2,5g de **VERISOL®** tem impacto benéfico sobre a saúde da pele, como indicado pela redução acentuada e significativa no volume das rugas ao redor dos olhos. Os dados sugerem que o efeito positivo é causado pelo aumento detectado de colágeno dérmico, elastina e síntese do biglicana.

O acúmulo das moléculas da matriz extracelular, biglicana, elastina e colágeno tipo I foi estatisticamente e significativamente aumentado após 8 semanas de ingestão oral do **VERISOL®**, em comparação com o tratamento com placebo.

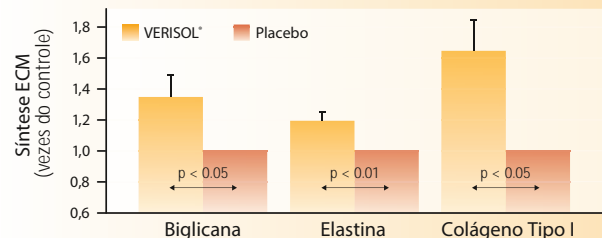


Figura 11

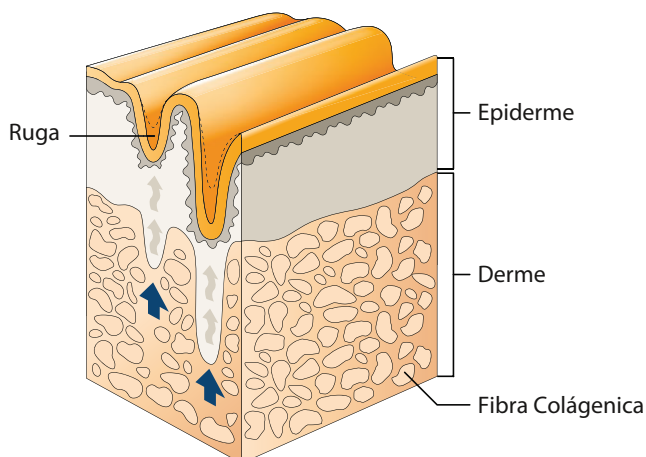
Resumo Geral

VERISOL® reduziu a profundidade da ruga em mais de 30% após 8 semanas do consumo de uma dose diária de 2,5g. O efeito positivo do **VERISOL®** na redução das rugas se manteve e foi claramente visível 4 semanas após o fim do tratamento (16%). Essa melhora clínica na saúde da pele corresponde a um aumento da síntese de colágeno e elastina (1,2 - 1,6 vezes).

O aumento da elasticidade da pele pelo tratamento com **VERISOL®** nas dosagens mencionadas (2,5g e 5g por dia) foi de cerca de 6% a 8% após 4 e 8 semanas da ingestão, na comparação com a administração de placebo.

O fato do aumento da elasticidade da pele não se verificar apenas na melhoria da hidratação da epiderme indica que, em paralelo a regeneração da barreira cutânea, os efeitos estimulantes do **VERISOL®** estão localizados principalmente na matriz dérmica. Juntamente com a melhoria na elasticidade da pele, a administração por via oral de **VERISOL®** demonstrou ter influência positiva no metabolismo das moléculas da matriz dérmica.

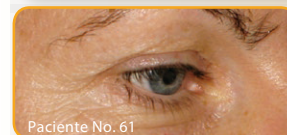
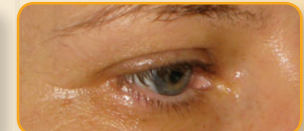
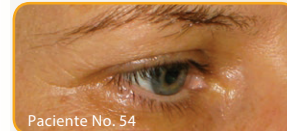
O tratamento com **VERISOL®** levou a um aumento da expressão de colágeno do tipo I e fibras elásticas da pele. Ou seja, o aumento da elasticidade da pele, o parâmetro mais importante contra o envelhecimento cutâneo, é um resultado das notáveis mudanças na derme após o tratamento por via oral com **VERISOL®**.



VERISOL®

Linha de base

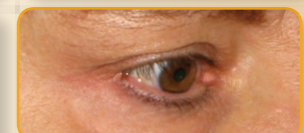
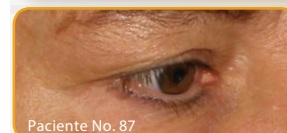
8 semanas de Tratamento



Placebo

Linha de base

8 semanas de Tratamento



Conclusão

Em resumo, está comprovado que uma dose diária de 2,5g de **VERISOL®** tem impacto benéfico na saúde da pele, que se beneficia de uma pronunciada e significativa redução no volume das rugas e de melhoria significativa na elasticidade. O resultado benéfico, com base nos dados científicos, é provocado pelo aumento do colágeno dérmico, da fibrilina e da síntese de biglicana e elastina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Oesser S, Adam M, Babel W, Seifert J: Oral administration of (14)C labeled gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL). *J Nutr* 1999;129:1891 – 1895.
- ² Watanabe-Kamiyama M, Shimizu M, Kamiyama S, Taguchi Y, Sone H, Morimatsu F, Shirakawa H, Furukawa Y, Komai M: Absorption and effectiveness of orally administered low molecular weight collagen hydrolysate in rats. *J Agric Food Chem* 27-1-2010;58:835 – 841.
- ³ Rawlings AV, Harding CR: Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 2004;17 Suppl 1:43 – 48.
- ⁴ Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH: Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 1-5-2009;122:1285 – 1294.
- ⁵ Primavera G, Berardesca E: Clinical and instrumental evaluation of a food supplement in improving skin hydration. *Int J Cosmet Sci* 2005;27:199 – 204.
- ⁶ Shin JE, Oh JH, Kim YK, Jung JY, Chung JH: Transcriptional regulation of proteoglycans and glycosaminoglycan chain-synthesizing glycosyltransferases by UV irradiation in cultured human dermal fibroblasts. *J Korean Med Sci* 2011;26:417 – 424.
- ⁷ Reinboth B, Hanssen E, Cleary EG, Gibson MA: Molecular interactions of biglycan and decorin with elastic fiber components: biglycan forms a ternary complex with tropoelastin and microfibril-associated glycoprotein 1. *J Biol Chem* 8-2-2002;277:3950 – 3957.
- ⁸ Proksch E, Segger D, Degwert J, Schunck M, Zague V, Oesser S: Oral Supplementation of Specific Collagen Peptides has Beneficial Effects on Human Skin Physiology: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Skin Pharmacol Physiol* 2014;27:47 – 55.
- ⁹ Proksch E, Schunck M, Zague V, Segger D, Degwert J, Oesser S: Oral Intake of Specific Bioactive Collagen Peptides Reduces Skin Wrinkles and Increases Dermal Matrix Synthesis. *Skin Pharmacol Physiol* 2014;27:113-119.