



Rubrique animée par le gDEC
Coordination Sabine BÉCHAUX,
www.grdec.com



SE FORMER
DERMATOLOGIE ESTHÉTIQUE ET CORRECTRICE

Quels sont les critères de choix d'un actif anti-âge en cosmétologie ?

Xavier **CHIRICO**, Sabine **BECHAUX**
Paris - xchirico@medispa.fr
Thonon - sabine.bechaux@gmail.com

PRÉAMBULE

Dans la définition actuelle de la cosmétologie, l'anti-âge fait partie de la fonction « maintenir en bon état ». Les actifs anti-âge ayant été inclus dans une crème (après avoir fait preuve de leur efficacité) ont suivi un long parcours dans les laboratoires de Recherche et Développement (R & D). Les plus connus des dermatologues sont : les AHA, la vitamine C, les fragments peptidiques d'acide hyaluronique, les isoflavones de soja, les stimulateurs de sirtuines et d'aquaporines. Mais d'autres actifs méritent d'être connus car ils agissent à des niveaux différents du mécanisme du vieillissement cutané. À travers deux exemples d'actifs originaux reconnus pour leur efficacité, Phytokine® (biopeptides de soja) et Lys'Lastine® V (extrait végétal d'aneth), l'auteur se propose de décrire leur parcours, depuis le moment où ils ont été criblés parmi des milliers d'autres substances, sélectionnés pour leur activité anti-âge, puis testés selon des modèles appropriés *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* afin de confirmer, valider et quantifier les effets biologiques qui seront revendiqués pour le produit fini [1, 2]. Ce cosmétique est disponible sur le marché français pour la prescription en cosmétologie.

Bases fondamentales et pré-requis

Sur le plan histologique, au cours du vieillissement [3], on observe que :

- l'épiderme s'affine ;
- la jonction dermo-épidermique (JDE) s'aplatit ;
- le derme se désorganise avec une vascularisation amoindrie et une population cellulaire en diminution, laissant place à des cellules sécrétant des protéines constitutives en moins grande quantité et de moins bonne qualité. Les fibres de collagènes (FC) se fragmentent et les fibres élastiques (FE) s'altèrent.

Sur les plans biochimique et moléculaire, l'homéostasie est perturbée : il y a moins de synthèse et plus de protéolyse.

L'expression des composants principaux de la matrice extracellulaire (MEC), à savoir les collagènes, les FE et les glycosaminoglycanes (GAG), est modifiée, conduisant à un tissu dermique de soutien de moins bonne qualité.

Les fibres de collagène

STRUCTURE

Le collagène, protéine structurale la plus abondante du corps humain, se compose de trois chaînes polypeptidiques sous forme de triple hélice. 27 types de collagènes ont déjà été dénombrés. Chacun possède une structure propre et se retrouve dans des organes particuliers. Dans la peau, les collagènes de type I et III sont majoritaires.

FONCTIONNALITÉ

Les FC sont responsables des propriétés d'étirement cutané ; elles confèrent à la peau sa flexibilité et ses propriétés de résistance mécanique à l'étirement. Au cours du vieillissement, la diminution de la teneur en collagène de type I et III est réelle : 1 % par an à partir de l'âge de 20 ans ! Celle-ci s'accompagne de perturbations dans la migration et l'adhésion cellulaire avec une augmentation des collagénases, consécutive à une diminution des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases de la matrice : les TIMP (*Tissue Inhibitors of MMPs*) [4].

Les fibres élastiques

En matière de vieillissement, la molécule d'élastine était jusqu'à présent moins connue. Grâce à un travail mené conjointement avec le CNRS, BASF a réalisé des découvertes majeures sur l'élastine (**Fig. 1, 2 et 3**).

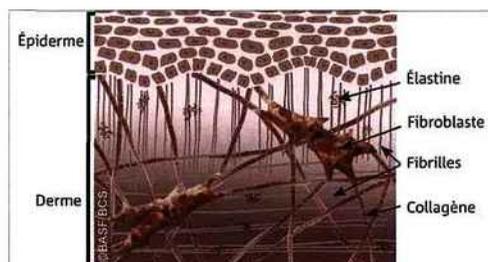


Fig. 1 : Schéma du réseau de fibres de la MEC entrecroisées (Collection BASF BCS)

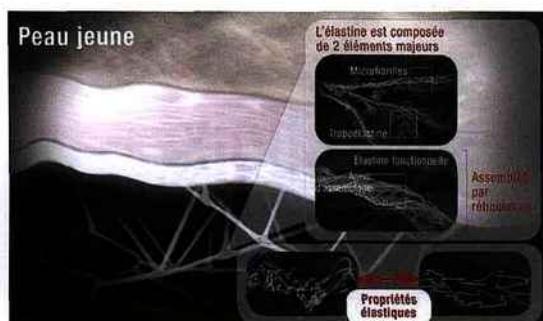


Fig. 2 : Schéma d'une peau jeune
(Collection BASF BCS)

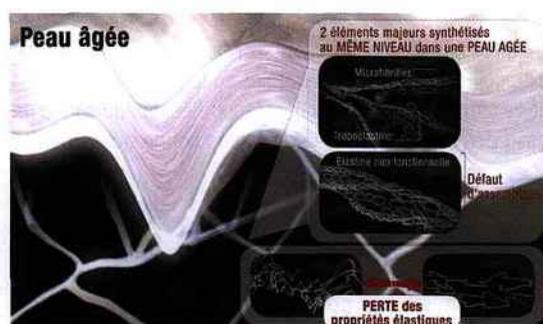


Fig. 3 : Schéma d'une peau âgée
(Collection BASF BCS)

La réticulation de l'élastine

L'élastine fonctionnelle est une élastine insoluble, obtenue après :

- réticulation par deux enzymes de la famille des lysyl oxydases (LOX) et la lysyl oxydase-like (LOX-L) ; elles seraient impliquées dans la maladie du Cutis Laxa ;
- et dépôt sur les microfibrilles qui jouent le rôle de charpente.

Si l'enzyme LOX réticule préférentiellement le collagène et l'élastine, il a été démontré que l'enzyme LOX-L réticule quasiment exclusivement l'élastine [5] : ainsi, l'expression du gène LOX-L (ARNm et protéine) est préférentiellement coordonnée à celle du gène de l'élastine. Ainsi avec l'âge, la peau devient plus fine, plus fragile et moins élastique : elle serait moins bien protégée. Les premiers signes cliniques du vieillissement se traduisent par des altérations de la texture, de la transparence et de la couleur de la peau. L'ovale du visage est moins net, rides et ridules s'installent, les volumes se modifient, les tissus s'affaissent.

■ Postulat pour un cosmétique anti-âge

Un cosmétique anti-âge contenant un ou plusieurs actifs stimulant la néo-synthèse du collagène dermique et la synthèse de fibres élastiques fonctionnelles serait très innovant pour notre prescription en cosmétologie.

Procédé

Une des voies principales de la lutte contre le vieillissement cutané consiste à stimuler les synthèses fibroblastiques des collagènes, de l'élastine et des GAG. De nombreuses publications internationales soutiennent le bien-fondé d'une telle démarche.

Ainsi, il apparaît pertinent de sélectionner une ou plusieurs molécules capables d'agir sur ces trois classes de macromolécules de manière simultanée. Ces actifs, en plus de leur innocuité, doivent avoir fait l'objet d'un développement rigoureux, fondé sur un ensemble de tests d'efficacité permettant de garantir et de quantifier l'effet biologique recherché. Les actifs décrits ci-après ont été développés en adoptant la stratégie suivante :

- criblage de plusieurs centaines de molécules sur culture de cellules cutanées en monocouche (fibroblastes humains dans le cas présent) : ce modèle bidimensionnel permet de faire une présélection des quelques composants pour lesquels l'investigation est poursuivie ;
- vérification des effets doses qui, le cas échéant, confirme que l'actif a un réel effet biologique et non un simple effet nutritif pour les cellules cutanées ;
- démonstration de l'effet observé en modèles de culture cellulaire tridimensionnelle, dosage et marquage histo-chimique. À ce stade, seul le meilleur actif est retenu ;
- confirmation *in vivo* des effets observés *in vitro* ;
- étude de tolérance (cutanée, oculaire, orale) ;
- et, enfin, la formulation !

Deux exemples d'actifs anti-âge : Phytokine® et Lys'Lastine® V

PHYTOKINE® (Fig. 4)

Étude dans un modèle de culture monocouche standard

Il a été démontré que Phytokine® ajouté à 1,25 % dans un milieu de culture standard stimule de manière significative :

- la prolifération cellulaire des fibroblastes (+ 36 %) ;
- la production des collagènes I et III (+ 60 %) ;
- la production des GAG, dont les principaux sont l'acide hyaluronique (AH) (+ 25 %) et la chondroïtine 4-sulfate (C4S) (+ 28 %) ;
- la néo-synthèse d'élastine (+ 34 %).



Fig. 4 : Phytokine®
(Collection BASF BCS)

Étude sur des cultures tridimensionnelles : Mimederm® (Fig. 5)

Sur Mimederm®, il a été démontré que Phytokine® à 1,25 % dans un milieu de culture standard, stimule de manière significative :

- la néo-synthèse des protéines totales (+ 8 %) ;
- la production des collagènes I et III (+ 65 %) ;
- la production des GAG totaux (+ 66 %), dont l'AH (+ 74 %) et la C4S (+ 38 %).

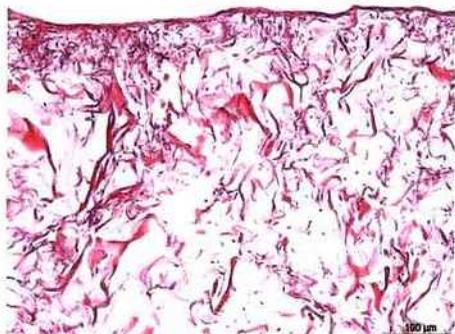


Fig. 5 : Histologie d'un derme reconstruit
Exemple du Mimederme® (Collection BASF BCS)

Étude sur des cultures tridimensionnelles de peau reconstruite : Mimeskin® (Fig. 6)

Phytokine® à 1,25 % dans un milieu de culture standard stimule de manière significative :

- la production des collagènes I et III (+ 38 %) ;
- la production d'AH (+ 3,2 %).

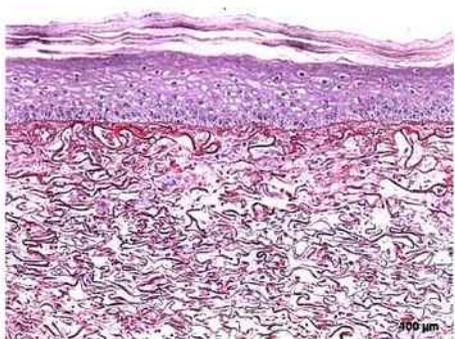


Fig. 6 : Histologie d'une peau reconstruite
Exemple du Mimeskin® (Collection BASF BCS)

Étude *in vivo*

Principe : *in vivo*, Phytokine® a été testée, en collaboration avec une équipe hospitalo-universitaire, sur des volontaires sains devant être opérés d'un lifting complet du visage. L'actif incorporé à 2 % dans une formulation cosmétique a été appliqué 2 fois par jour, pendant 4 semaines, en héli-visage avant le lifting (*versus* formulation placebo = l'excipient sans Phytokine® sur l'héli-visage opposé). Les dosages ont été effectués sur les résections cutanées du lifting.

Résultats : ils corroborent ceux obtenus dans les tests *in vitro*. Les quantités dermiques augmentent :

- pour la majorité des volontaires en collagène I et III ;
- pour l'ensemble des volontaires en GAG.

Ces derniers ont un effet « âge-dépendant » qui pourrait supposer un effet « normalisateur » des fonctions cutanées et, en tout état de cause, confirme la pertinence de l'utilisation de cet actif en cosmétique.

Ainsi, Phytokine® corrige efficacement le relâchement cutané et restaure le réservoir profond en eau du derme. Il agit en véritable « régénérateur » de la MEC en induisant la néo-synthèse des composants dermiques

impliqués dans le maintien de l'hydratation cutanée et des propriétés mécaniques de la peau [1].

Indications

Cet actif est conseillé dans des soins :

- visage : anti-âge, anti-ride (stabilisation, voire correction), restauration fermeté, réparateur d'élastose solaire, post-interventionnel cicatrisant, reconstructeur ;
- corps : remodelant fermeté.

LYS'LASTINE® V (Fig. 7)

Étude dans un milieu de culture monocouche standard

Dans ce modèle de fibroblastes âgés (59 ans), il a été démontré que Lys'Lastine® V utilisé à 1 % multiplie significativement par 1,6 le niveau d'expression du gène de LOX-L.



Fig. 7 : Solution de Lys'Lastine V® (Collection BASF BCS)

Étude sur des cultures tridimensionnelles : Mimederme®

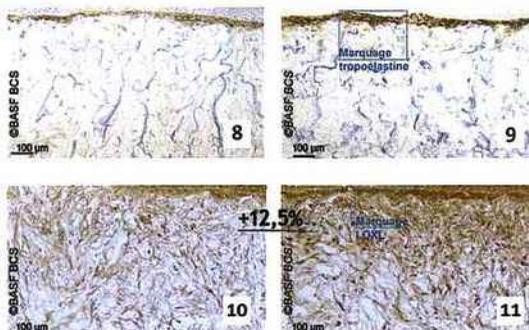
Il a été démontré sur Mimederme® (Fig. 5), que Lys'Lastine® V à 1 % dans un milieu de culture standard stimule de manière significative à + 64 % l'expression du gène de LOX-L.

Étude sur des cultures tridimensionnelles de peau reconstruite : Mimeskin®

Sur Mimeskin®, et par analyse d'intensité de marquage de coupes histologiques, il a été démontré que Lys'Lastine® V à 1 % dans un milieu de culture standard (Fig. 8 à 11) :

- induit la formation d'une MEC plus dense et plus présente ;
- stimule de manière significative l'expression du gène de LOX-L (+ 12,5 %).

De plus, ces modèles tridimensionnels Mimederme® ont été étudiés par microscopie électronique à transmission.



Coupes histologiques de Mimeskin®

Fig. 8 : Témoin non traité ; coloration bleue, marquage de la tropoélastine

Fig. 9 : Mimeskin® traité par Lys'Lastine® V 1 % appliquée en surface

Fig. 10 : Témoin non traité : coloration brune, marquage de l'expression du gène de l'enzyme LOX-L

Fig. 11 : Augmentation significative de 12,5 % de l'intensité de marquage de la tropoélastine et de l'enzyme LOX-L après application de l'actif en surface (Collection BASF)

Une augmentation du dépôt d'élastine sur des microfibrilles a été observée, confirmant la capacité de Lys'Lastine® V à stimuler la néo-synthèse de FE fonctionnelles.

Enfin, l'étude des propriétés mécaniques des dermes reconstruits cultivés en présence de Lys'Lastine® V a montré une augmentation significative de leur élasticité. Ainsi, l'augmentation de LOX-L dans la peau induit l'assemblage des microfibrilles et de la tropoélastine et améliore *in fine* les propriétés mécaniques de la peau reconstruite (Fig. 10 et 11) [5].

Étude clinique, biométrique et autoévaluation [9]

Il s'agit d'une étude randomisée, réalisée en double-aveugle sur 50 femmes âgées de 43 à 56 ans, réparties en deux groupes de 25 sujets. Pendant 3 mois, un groupe a testé une émulsion (H/E) contenant 1 % de Lys'Lastine® V à raison de 2 applications/jour sur le visage, l'autre groupe a suivi le même protocole mais avec la formulation placebo (= émulsion H/E sans Lys'Lastine® V). Des mesures biométriques et cliniques ainsi qu'une autoévaluation par les femmes ont été réalisées à J56 et à J84 :

- biométriques :

- au cutomètre : + 19 % d'élasticité-résilience pour le groupe traité par le produit contenant Lys'Lastine® V, pas d'évolution favorable pour le groupe placebo ;
- avec prise d'empreintes Siflo® sur les pattes d'oie et analyse du relief en profilométrie : - 13 % de longueur des rides et - 20 % de surface des rides, aucun effet significatif avec le groupe placebo ;

- cliniques : + 10 % de tonicité de l'ovale pour le groupe ayant appliqué l'actif (amélioration du relâchement du bas du visage, mesurée par évaluations cliniques visuelles et tactiles, à l'aide d'une échelle analogique définie par les extrêmes) ;

- autoévaluation (questionnaire, fréquence des réponses « complètement d'accord » et « d'accord ») :

- 90 % des femmes trouvent la texture de leur peau améliorée ;
- 95 % la trouvent plus élastique ;
- 81 % trouvent l'architecture de leur visage amélioré ;
- 100 % sont satisfaites du traitement proposé.

RÉFÉRENCES

1. BASF Beauty Care Solutions. Documentation Phytokine®. Levallois-Perret.
2. BASF Beauty Care Solutions. Documentation Lys'lastine® V. Levallois-Perret. Décembre 2007.
3. Kurbhan R, Bhawan J. Histologic changes in skin associated with aging. J Dermatol Surg Oncol 1990 ; 16 : 908-14.
4. West MD, Pereira-Smith OM, Smith JR. Replicative senescence of human skin fibroblasts correlates with a loss of regulation and over expression of collagenase activity. Exp Cell Res 1989 ; 184 : 138-47.
5. Noblesse E, Cenizo V, Bouez C, Borel A, Gleyzal C, Peyrol S, et al. Lysyl oxidase-like and lysyl oxidase are present in the dermis and epidermis of a skin equivalent and in a human skin and are associated to elastic fibers. J Invest Dermatol 2004 ; 122 : 621-30.
6. Cenizo V, André V, Reymermier C, Sommer P, Damour O, Perrier E. LOXL as a target to increase the elastin content in adult skin : a dill extract induces the LOXL gene expression. Exp Dermatol 2006 ; 12 : 1-10.
7. Frei V, Perrier E, Orly I, Hue A, Augustin C, Damour O. Activation of fibroblast metabolism in a dermal and skin equivalent model : a screening test for activity of peptidases. Int J Cosmet Sci 1998 ; 20 : 159-73.
8. Black AF, Bouez C, Perrier E, Schlotmann K, Chapuis F, Damour O. Optimization and characterization of an engineered human skin equivalent. Tissue Eng 2005 ; 11 : 723-33.
9. Sohm B, Cenizo V, André V, Zahouani H, Pailler-Mattei C, Vogelgesang B. Evaluation of the efficacy of a dill extract *in vitro* and *in vivo*. Int J Cosmet Sci 2010.

L'ensemble des tests effectués permet de démontrer que Lys'Lastine® V améliore de façon significative l'élasticité cutanée. Ainsi, en activant la production de l'enzyme qui permet l'assemblage des fibres fonctionnelles, cet actif innovant joue le rôle de véritable réformateur de l'élasticité cutanée.

Indications

Cet actif est incorporé dans des soins :

- visage : anti-âge, anti-ride (stabilisation, voire correction), prévention du vieillissement chez la femme jeune, traitement de l'héliodermie de la femme mûre ;
- corps : remodelant fermeté.

ASPECTS MÉDICO-LÉGAUX

La législation française des cosmétiques est la plus rigoureuse de toute l'Europe. Elle s'est imposée suite à l'affaire du talc Morhange en 1972. Le cahier des charges est très précis. Ne peut pas mettre un cosmétique sur le marché français qui veut. Les tests sur animaux sont interdits depuis la loi votée au Parlement Européen (3 avril 2001). La présentation du dossier d'efficacité est régie par les lignes directrices émises par la DGCCRF.

EFFETS SECONDAIRES

Les études de toxicité (photo-allergénicité, phototoxicité, hypo-allergénicité, mutagénicité) et de tolérance (cutanée, oculaire, orale) ont été réalisées selon le cahier des charges obligatoires. À ce jour, aucune allergie et aucun effet secondaire n'ont été déclarés en cosmétovigilance ou auprès de l'Afssaps.

Conclusion

La mise sur le marché d'un actif cosmétique suit un parcours long et rigoureux que s'imposent les fournisseurs afin de répondre aux nouvelles exigences des fabricants. En effet, bien au-delà de la notion de plaisir, le cosmétique doit offrir un bénéfice réel, visible et rapidement perceptible par l'utilisatrice. Le fabricant souhaite revendiquer ce bénéfice et doit être en mesure de le quantifier. À ce stade, on mesure davantage les critères de choix des actifs en cosmétologie.

Au travers de deux exemples originaux, Phytokine® et Lys'Lastine® V, l'auteur décrit l'ensemble des tests mis en œuvre pour démontrer l'efficacité d'actifs anti-âge. Formulés aux bonnes concentrations, dans une galénique originale, ces 2 actifs offrent un effet additif et synergique sur l'intégrité des composants principaux de la MEC. Utilisé quotidiennement, ce cosmétique issu d'une véritable expertise médicale est utile pour optimiser les actes de dermatologie esthétique. Grâce à sa conception, il reflète l'acte médical esthétique tel qu'il est pratiqué chez le médecin. Sa prescription sera utile pour préparer, prolonger et compléter l'acte par son application à domicile par la patiente. ■

Conflit d'intérêt : le Dr Xavier Chirico est consultant pour le Laboratoire MediCeutic.