

COSMETIC[®] TECHNOLOGY

RIVISTA DI SCIENZE COSMETOLOGICHE

ISSN 1127-6312 Bimestrale. Poste Italiane s.p.a. - Spedizione in Abbonamento Postale - D.L. 353/2003 (convertito in Legge 27/02/2004 n° 46) art. 1, comma 1, LO/MI

4

LUGLIO-AGOSTO

Ingredienti
Naturali
e sostenibilità



CEC
EDITORE

Alpin Heilmoor Extract

Principio attivo innovativo multifunzionale e brevettato

GALE & COSM - PREMIUM ORGANIC

Per informazioni

Alessandra Brocca

Technical Sales

tel 02 9315076/93506389

info@galecosm.com

Gale & Cosm in a nutshell

Gale & Cosm è produttore e distributore di materie prime per l'industria cosmetica e nutraceutica, con una lunga esperienza nel mercato italiano e internazionale. L'efficiente supporto tecnico, la continua attività di ricerca e la velocità di esecuzione ordini hanno portato Gale & Cosm, nel corso degli anni, a essere un punto di riferimento nel settore. La società ha implementato il proprio portfolio prodotti con ingredienti a marchio di produzione propria, venduti in tutto il mondo tramite un network di distributori esclusivi. Nel proprio laboratorio di ricerca e sviluppo si eseguono prove formulative e test su richiesta dei clienti.

Premium Organic in a nutshell

L'austriaca Premium Organic è un'azienda biotecnologica specializzata in ricerca e sviluppo e produzione di estratti naturali per l'industria cosmetica.

L'ausilio delle tecnologie più innovative, l'applicazione degli standard più elevati, la grande attenzione alla naturalità e alla sostenibilità hanno permesso all'azienda di sviluppare, in collaborazione con le più importanti università europee, il loro primo ingrediente bioattivo multifunzionale: l'Alpin Heilmoor Extract.

Per la medicina tradizionale, tutti i materiali utilizzati a scopo terapeutico sotto forma di impacchi e costituiti da una miscelazione di acqua minerale con materie organiche e/o inorganiche sono denominati peloidi.

Storicamente il peloide veniva impiegato per il trattamento di processi reumatici cronici, osteoartrosi degenerativa, postumi di lesioni osteoarticolari, fratture, lussazioni, malattie dermatologiche, ecc. (1).

Oggi, grazie all'Alpin Heilmoor Extract (AHE), le proprietà maggiormente efficaci e preziose del fango curativo sono rese disponibili in una forma più concentrata, pura e versatile; una polvere scura micronizzata e stabilizzata che, rispetto alla sua origine, risulta priva di acqua e di qualsiasi contaminazione microbiologica, perfetta per un nuovo uso in ambito cosmetico.

AHE, infatti, viene estratto da una torbiera accreditata (Heilmoor) nel sud dell'Austria, in Carinzia, nei pressi del lago di Längsee, tramite un processo del tutto sostenibile.

Alpin Heilmoor Extract è un principio attivo multifunzionale 100% naturale, brevettato e certificato (NATRUE, COSMOS e Vegan), prodotto da *Premium Organic GmbH* e distribuito in esclusiva per l'Italia da *Gale & Cosm*.

Composizione e Specifiche tecniche

Le principali caratteristiche tecniche dell'Alpin Heilmoor Extract (nome INCI: Peat Extract) sono riportate in *Tabella 1*.

Efficacia

Nei test eseguiti, e che sono descritti in dettaglio di seguito, AHE è stato sciolto in tampone fosfato salino (PBS buffer) (100 mg/ml).

Studi in vitro

La pelle umana supporta un ecosistema diversificato e complesso di specie batteriche e fungine, chiamato "microbioma

Caratteristiche Organolettiche

Aspetto	Polvere micronizzata
Colore	Marrone scuro
Odore	Inodore

Caratteristiche Chimico-Fisiche

pH (in soluzione al 10%)	5,5-7,5
Viscosità	125.000-150.000 mPas
Densità (25°C)	25-40 g/100 ml
Solubilità	Lipodispersibile

Composizione (%)

Organica	90- 95
Inorganica	5-10

Contaminanti (ppm)

Metalli pesanti	<10
Arsenico	<5
Cadmio	<1
Piombo	<5
Mercurio	<1

Caratteristiche Microbiologiche

Batteri mesofili aerobici/g (UFC/g)	<100
Lieviti e muffe (UFC/g)	<10
<i>Escherichia coli</i> in 1 g	Non rilevabile
<i>Staphylococcus aureus</i> in 1 g	Non rilevabile
<i>Candida albicans</i> in 1 g	Non rilevabile

Stabilità e Conservazione

Conservare in luogo fresco e asciutto. Proteggere dal calore e dalla luce solare diretta

Tabella 1 • Caratteristiche tecniche di Alpin Heilmoor Extract

cutaneo". I microrganismi che lo popolano, sebbene costituiscano comunità distinte e specializzate nei vari distretti del corpo, sono in grado di lavorare in sinergia per proteggere la pelle dalla colonizzazione dei patogeni, e promuovere il mantenimento e la riparazione della barriera cutanea. AHE, inserito in prodotti dermocosmetici all'1%, favorisce la vitalità (Fig.1A,B) e la biodiversità (Fig.1C) dei microrganismi (ad esempio *Staphylococcus epidermidis* e *Corynebacterium amycolatum*) naturalmente presenti sulla pelle.

In entrambi i casi, la quantizzazione dei risultati è stata effettuata dal *Microbiological testing competence* di Norimberga utilizzando una scala numerica qualitativa che va da 1 a >2, dove 1-1,5 significa "eccellente compatibilità con il microbioma cutaneo", 1,5-2 "buona compatibilità con il microbioma cutaneo" e >2 "incompatibilità con il microbioma cutaneo". Il risultato di ogni prova è sempre 1, a conferma che la presenza di AHE non altera in alcun modo la popolazione microbiologica residente sulla pelle.

Non solo: come da test di crescita in *Figura 2*, sia la specie *Staphylococcus* che *Corynebacterium*, componenti centrali del nostro sistema microbioma cutaneo, crescono più velocemente in presenza di AHE. Ciò potrebbe portare a un ripristino più rapido del normale microbioma cutaneo, anche in condizioni di disbiosi o di neurodermite.

Miglioramento dell'integrità della barriera cutanea

L'epidermide si rinnova ciclicamente attraverso un processo di proliferazione e differenziazione dei cheratinociti che porta le nuove cellule, generate nello strato più profondo, a migrare e trasformarsi fino al raggiungimento dello strato corneo più superficiale. Durante questo tragitto, alcune particolari proteine dette citocheratine (CK), che costituiscono il citoscheletro



Figura 1 • Mantenimento della vitalità (A,B) e della biodiversità (C) del microbioma con e senza AHE

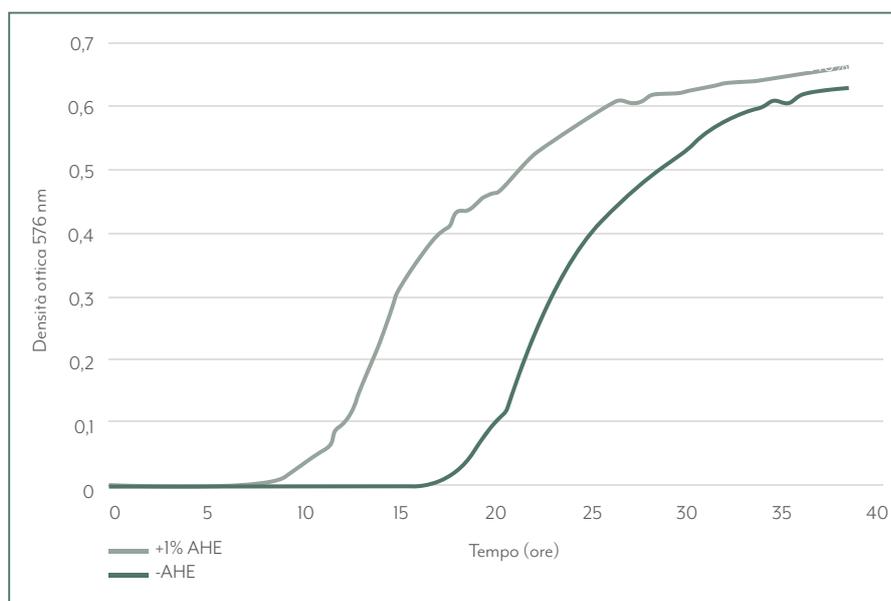


Figura 2 • Curva di crescita di *S. epidermidis* con e senza AHE

intracitoplasmatico delle cellule epiteliali, vanno incontro ad alcune trasformazioni. In particolare, affinché avvenga la differenziazione cellulare viene espressa la citocheratina 10 (CK10), mentre in caso di danneggiamento della barriera cutanea o in caso di disturbi, quali dermatite atopica e psoriasi, viene indotta la citocheratina 16 (CK16). CK10 e CK16 sono quindi essenziali per garantire l'integrità della barriera cutanea (2).

Per capire meglio l'effetto di AHE su CK10 e CK16, ne è stata valutata l'espressione in cellule HaCaT previa stimolazione con frammenti di membrana di *P. acnes*. L'analisi Western blot ha rivelato un'induzione di CK10 e una diminuzione dell'espressione di CK16 negli estratti ottenuti da cellule HaCaT dopo il trattamento con AHE.

I risultati confermano, quindi, il ruolo di AHE nel miglioramento dell'integrità della barriera cutanea mediante la normalizzazione della differenziazione dei cheratinociti (Fig.3).

Repressione delle citochine pro-infiammatorie

L'espressione continua di citochine a seguito di uno stress provoca infiammazione cronica e danni alla pelle che, a loro volta, possono portare a malattie e invecchiamento precoce (3). Lo studio ha dimostrato l'attività antinfiammatoria dell'AHE, il quale sopprime l'induzione di marker infiammatori, come ad esempio il fattore di necrosi tumorale α (TNF- α), l'interleuchina-1 β (IL-1 β), l'interleu-

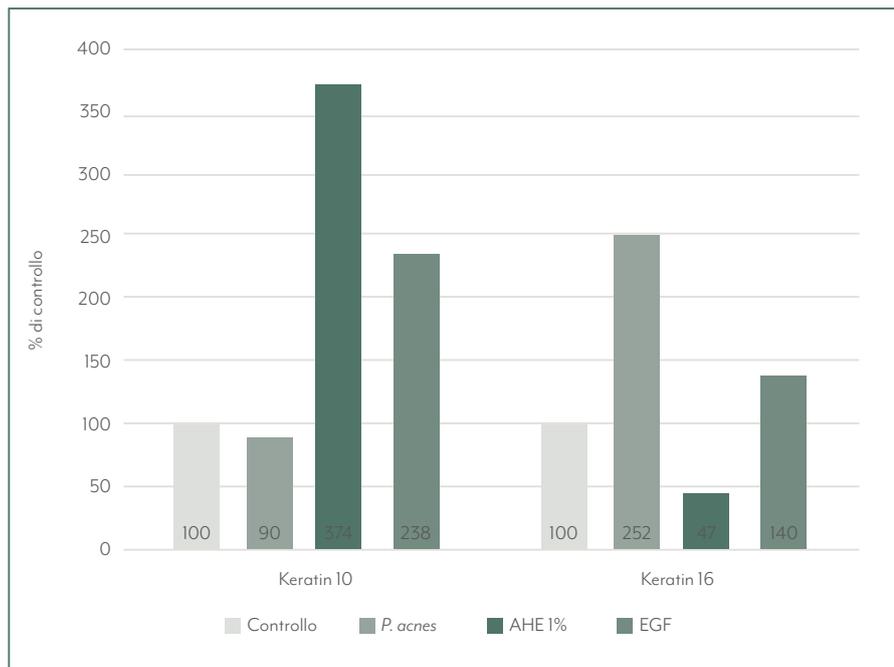


Figura 3 • I frammenti di membrana di *P. acnes* (*C. acnes*) inducono una differenziazione anormale dei cheratinociti. Keratin 10= citocheratina 10; Keratin 16= citocheratina 16; EGF= fattore di crescita epidermico

china-6 (IL-6) e l'interleuchina-8 (IL-8) nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMCs) ed epidermide umana ricostruita (RHE) dopo stimolazione con *C. acnes*. Questi i risultati sug-

geriscono un ruolo dell'AHE nella prevenzione delle malattie infiammatorie della pelle e nell'invecchiamento prematuro tramite la soppressione delle citochine pro-infiammatorie (**Fig.4**).

Inibizione della produzione di NO, 8-isoprostani e PGE2

Le perdite di funzionalità e le malattie cutanee legate all'età sono associate all'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS) (4), come il monossido di azoto (NO).

La maggior parte degli isoprostani viene prodotta dai ROS che catalizzano la perossidazione lipidica. La misurazione degli isoprostani è, quindi, un metodo molto accurato per valutare lo stress ossidativo *in vivo* e può essere correlato a numerose malattie (5). L'inibizione dell'espressione del collagene indotta da prostaglandine E2 (PGE2) e la promozione di *Matrix Metalloprotease-1* (MMP1), in grado di scomporre il collagene interstiziale di tipo I, II e III, sono due ulteriori meccanismi legati all'invecchiamento (6). In questo studio abbiamo valutato l'effetto dell'AHE sulla formazione di NO indotta da lipopolisaccaridi (LPS), 8-isoprostano e PGE2 in cellule RAW

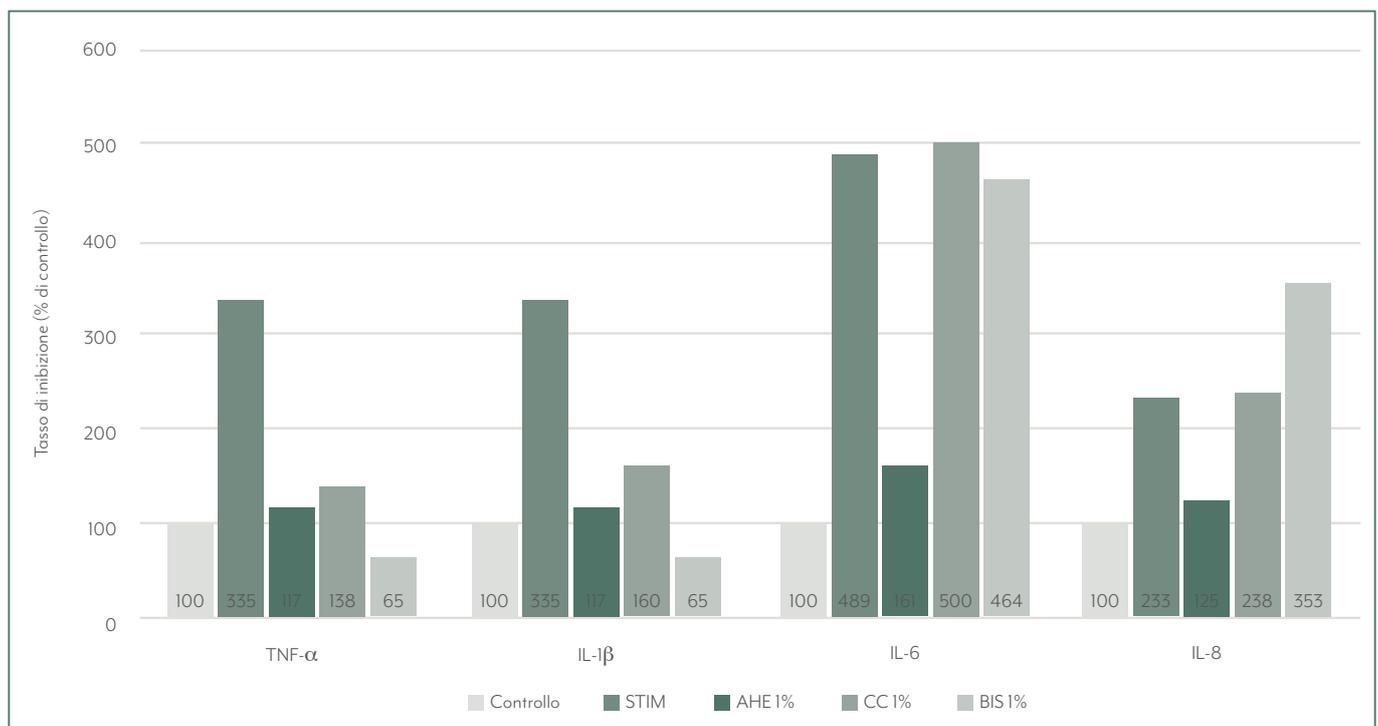


Figura 4 • Repressione indotta da AHE delle citochine infiammatorie TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-8 dopo stimolazione dell'epidermide umana ricostruita (RHE) con *C. acnes* (controllo: RHE non stimolato, non trattato; STIM: stimolazione con *C. acnes*, nessun trattamento; AHE 1%: stimolazione seguita da trattamento con l'1% di Alpin Heilmoor Extract; CC: seguita da stimolazione mediante trattamento con 1% di carbone vegetale; BIS: stimolazione seguita da trattamento con bisabololo 1%)

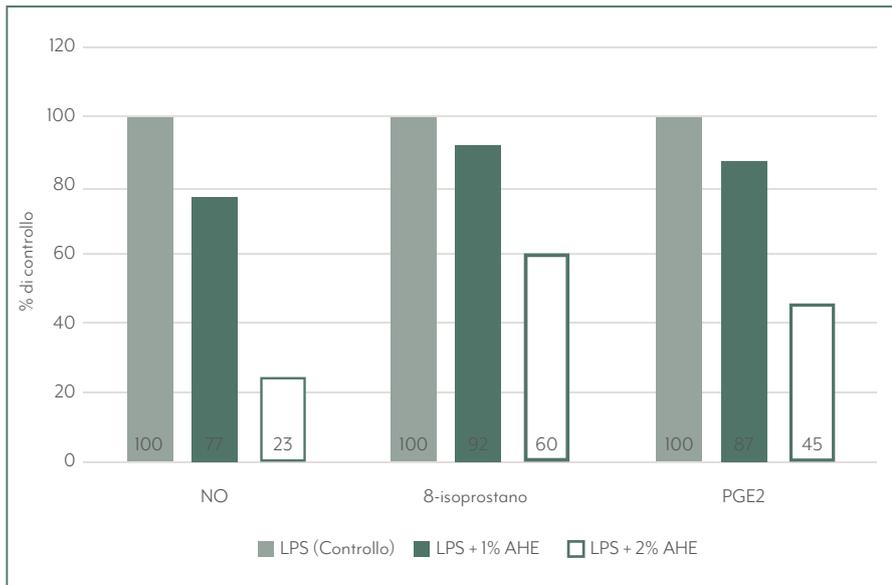


Figura 5 • Effetto dell'1% e del 2% di AHE sulla formazione di monossido di azoto (NO), 8-isoprostano e PGE2 nelle cellule RAW. I dati sono stati normalizzati come percentuale di controllo negativo con LPS (100 ng/ml)

ad attività macrofagica (**Fig.5**). Il trattamento con AHE ha indotto una marcata diminuzione della formazione di NO e 8-isoprostano rispetto ai controlli trattati con LPS. Inoltre, l'espressione di PGE2 è stata ridotta della metà durante il trattamento con il 2% di AHE. Questi dati confermano che AHE esercita un effetto antietà tramite la riduzione dei marcatori dello stress ossidativo.

Inibizione della formazione di ROS e soppressione dell'espressione di RCAN1

Per confermare il potere antiossidante di AHE, si è valutato il comportamento dei due principali indicatori dello stress ossidativo in *Normal Human Dermal Fibroblasts* (NHDF): i ROS-scavenger (scavenger di specie reattive dell'ossigeno) e il

regolatore della calcineurina-1 (RCAN1) presente nei mitocondri, siti primari per l'accumulo di ROS (**7**).

Si è visto come l'AHE, in concentrazione all'1% e al 5%, produce una forte riduzione dei ROS nelle cellule NHDF dopo trattamento con H₂O₂ (saggio DCFHDA), in misura anche maggiore rispetto all'uso del trolox, un antiossidante e strutturale analogo della vitamina E (**Fig.6**).

Inoltre, è stata osservata una sensibile diminuzione dell'espressione di RCAN1 (**Fig.7**), con conseguente diminuzione della risposta immunitaria.

Contrasto degli effetti provocati dagli AGEs

I prodotti finali della glicazione avanzata (AGEs) originano da reazioni non enzimatiche di proteine con zuccheri riducenti. Gli AGEs sembrano accumularsi anche nella pelle matura (**8**), in particolare nell'elastina e nel collagene, interagendo in modo aspecifico con la membrana cellulare dei fibroblasti dermici (**9**). Pertanto, gli AGEs svolgono un ruolo importante nel processo di invecchiamento cutaneo, poiché il loro legame con i rispettivi recettori, detti RAGE, è noto per indurre stress ossidativo e risposte infiammatorie. Fortunatamente esistono anche altri recettori specifici per gli AGEs, come AGE-R1, AGE-R2 e AGE-R3, che contrastano l'attività di RAGE sopprimendo lo stress ossidativo e l'infiammazione. AHE riduce lo stress ossidativo e la risposta infiammatoria indotta dagli AGEs in due modi: influenza negativamente l'espressione di recettori RAGE (downregulation) (**Fig.8A**), mentre favorisce positivamente l'espressione di AGE-R1 (up-regulation) (**Fig.8B**).

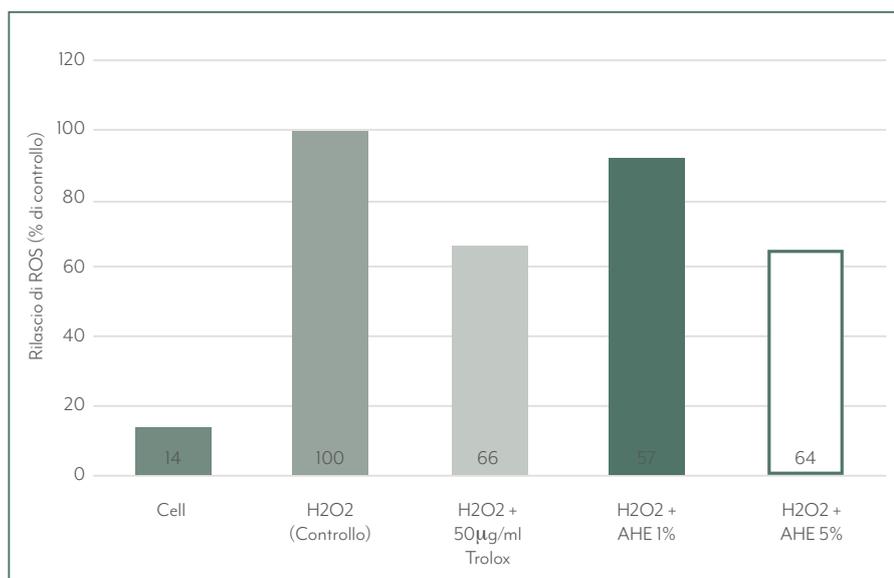


Figura 6 • Effetto di AHE sulla formazione di ROS nelle cellule NHDF dopo trattamento con H₂O₂ (saggio DCFHDA). I valori dopo 3 ore di esposizione a H₂O₂ sono stati normalizzati al valore del controllo con 100 µM di H₂O₂

Induzione dei fattori di guarigione delle ferite

Nel complesso processo di riepitelizzazione di una ferita, l'E-caderina svolge un ruolo chiave, promuovendo la migrazione

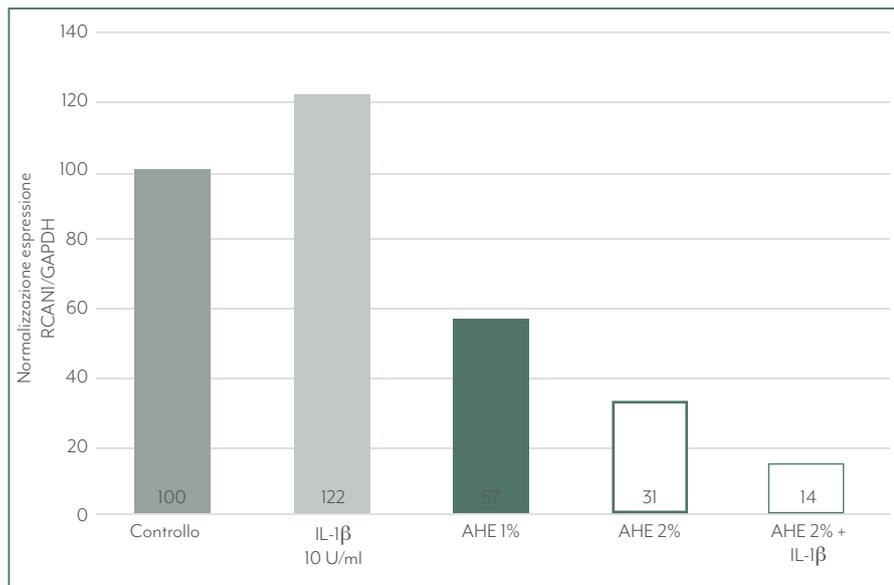


Figura 7 • Effetto di AHE sull'espressione di RCAN1. GAPDH è stato utilizzato come controllo interno per la normalizzazione

direzionale delle cellule epiteliali (10). La proteina viene espressa in due isoforme di diverso peso molecolare: E-caderina B1 (120 kDa), con maggiore capacità migrante, ed E-caderina B2 (90-100 kDa), con minore capacità migrante. I risultati del test in *Figura 9* dimostrano come già l'1% di AHE ha un effetto positivo sulla guarigione delle ferite, con la promozione dell'espressione di entrambe le tipologie di E-caderine.

Studi in vivo

Una riduzione dei livelli di collagene nel derma determina la comparsa di rughe

e la riduzione di elasticità, caratteristiche cliniche dell'invecchiamento cutaneo (11).

Dopo 28 giorni di trattamento con una crema da giorno viso contenente AHE al 2,5%, un gruppo di 22 soggetti di età media 56 anni ha riscontrato un miglioramento significativo di parametri come:

- compattezza cutanea (effetto tensore del prodotto) dal 4 al 43%;
- viscoelasticità (azione anti-tensione del prodotto) dall'11 al 67%;
- plasticità dal 12 al 48%;
- tasso di idratazione cutanea dal 6 al 53%;

- tasso di luminosità sotto gli occhi dal 17 al 67%.

In *Figura 10* è ben visibile l'effetto di AHE a livello delle borse oculari.

Efficacia detergente ed effetto anti-pollution

Un detergente viso arricchito con AHE all'1,5% ha mostrato una forte efficacia (circa il 98%) nell'eliminare le microparticelle di carbonio sulla pelle, deposito dell'inquinamento atmosferico. Il miglioramento dell'aspetto della pelle nel gruppo trattato rispetto al gruppo di controllo risulta significativo ($p < 0,006$); pertanto, AHE esercita un efficace effetto detergente/antiquinamento (*Fig.11*).

Efficacia anti-acne e tollerabilità cutanea

Tra le cause di formazione dell'acne, svolge un ruolo essenziale l'attivazione dell'immunità innata tramite l'espressione di citochine da parte dei cheratinociti, con conseguente ipercheratinizzazione dell'unità pilosebacea (12). Uno studio che ha coinvolto 22 soggetti di età compresa tra i 14 e i 40 anni conferma che, dopo 28 giorni di applicazione due volte al giorno di una crema viso all'1,5% di AHE, l'attivo induce una significativa diminuzione del numero di

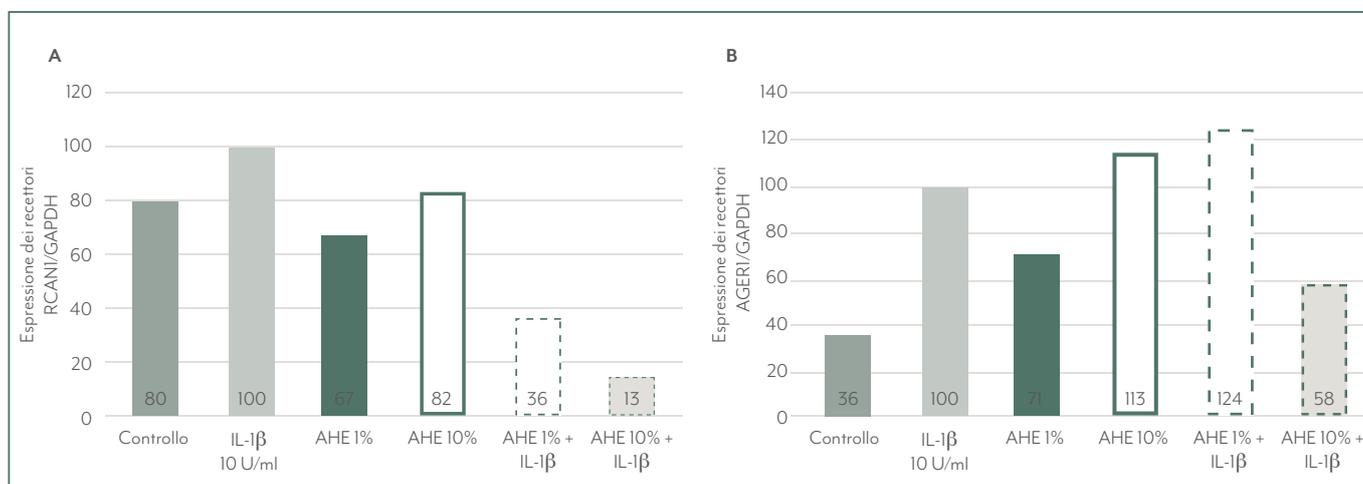


Figura 8 • Effetto di AHE sull'espressione genica di RAGE (A) e AGE-R1 (B) in cellule NHDF e stimolate con IL-1β. GAPDH è stato utilizzato come controllo. Il grafico vuole mostrare sia l'effetto benefico di AHE al suo dosaggio ottimale (1%), sia a una concentrazione che supera la dose massima consentita (10%)

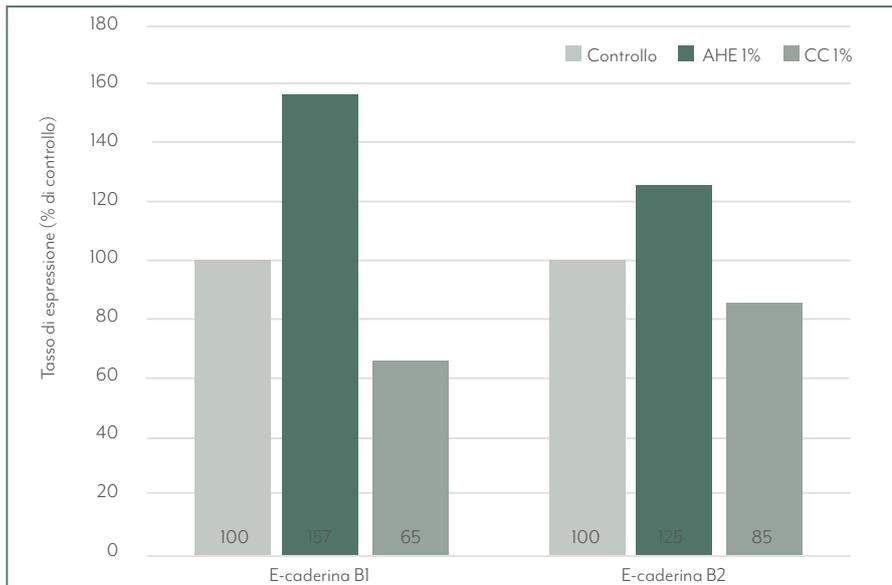


Figura 9 • Tasso di espressione di E-caderina dopo trattamento con 1% di AHE; si ha un aumento dell'espressione di E-caderina B1 ed E-caderina B2, rispettivamente di 1,6 volte e 1,3 volte, rispetto al modello di cute lesa usato come controllo (AHE: estratto Alpin Heilmoor, CC: carbone attivo)



Figura 10 • Effetto *pro-ageing* con 2,5% di AHE al giorno 0 (A) e al giorno 28 (B)



Figura 11 • Aspetto della pelle prima e dopo una singola detersione con AHE all'1,5%. L'acquisizione delle immagini è avvenuta tramite videodermoscopia C-Cube, la quantificazione del numero di micro-particelle tramite software ImageJ

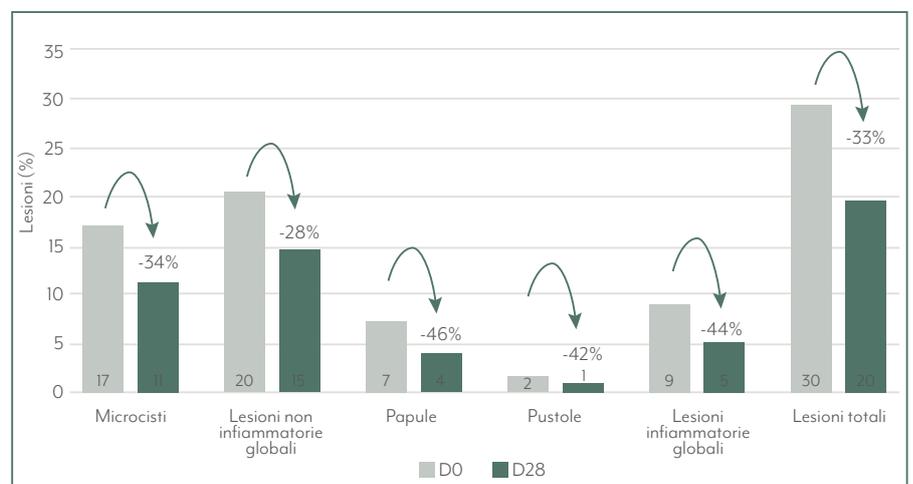


Figura 12 • Efficacia anti-acne dell'applicazione dell'1,5% di AHE per 28 giorni; statisticamente significativa la diminuzione del numero di microcisti, lesioni infiammatorie globali, non infiammatorie globali, lesioni, papule e lesioni totali ($p < 0,0001$). D0: giorno prima dell'inizio del trattamento, D28: giorno 28 di trattamento.

microcisti, papule e pustole, oltre a una diminuzione significativa del numero di lesioni non infiammatorie e infiammatorie (**Figg.12,13**). Durante lo studio non è stata osservata alcuna reazione comedogena, anzi, AHE si è dimostrato ben tollerato.

Sicurezza

AHE è stato valutato relativamente agli effetti sulla salute umana ed è risultato non irritante e/o sensibilizzante. Può essere considerato sicuro per l'uso cosmetico, secondo le applicazioni e le modalità d'uso consigliate.

Applicazioni e Modalità d'uso

Con l'AHE il fango termale non è più solo un composto umido da applicare su diverse parti del corpo, ma è l'ingrediente chiave per formulazioni cosmetiche diversificate. Il range di utilizzo consigliato è 1-5% e può anche essere usato in combinazione con altri ingredienti, in quanto ben tollerato e facile da inserire in formula. Grazie alla sua buona compati-



Figura 13 • Efficacia anti-acne di AHE all'1,5% al giorno 0 (A) e al giorno 28 (B)

lità con la pelle e le sue proprietà benefiche, AHE è adatto a una vasta gamma di applicazioni sia rinse-off (nel *particle size* 0-40 μm) che leave-on (nel *particle size* 0-8 μm).

Bibliografia

- Gomes C, Carretero MI, Pozo M *et al* (2013) Peloids and pelotherapy: Historical evolution, classification and glossary. *Appl Clay Sci* (75-76):28-38
- Kumar V, Bouameur JE, Bär J *et al* (2015) A keratin scaffold regulates epidermal barrier formation, mitochondrial lipid composition, and activity. *J Cell Biol* 211(5):1057-1075
- Borg M, Brincaat S, Camilleri G *et al* (2013) The role of cytokines in skin aging. *Climacteric* 16(5):514-521
- Liguori I, Russo G, Curcio F *et al* (2018) Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* 13:757-772
- Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ 2nd (2004) Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J* 18(15):1791-1800
- Shim JH (2019) Prostaglandin E2 Induces Skin Aging via E-Prostanoid 1 in Normal Human Dermal Fibroblasts. *Int J Mol Sci* 20(22):5555
- Peiris H, Dubach D, Jessup CF *et al* (2014) RCANI regulates mitochondrial function and increases susceptibility to oxidative stress in mammalian cells. *Oxid Med Cell Longev* 2014:520316
- Zhang S, Duan E (2018) Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplant* 27(5):729-738
- Lohwasser C, Neureiter D, Weigle B *et al* (2006) The receptor for advanced glycation end products is highly expressed in the skin and upregulated by advanced glycation end products and tumor necrosis factor-alpha. *J Invest Dermatol* 126(2):291-299
- Li L, Hartley R, Reiss B *et al* (2012) E-cadherin plays an essential role in collective directional migration of large epithelial sheets. *Cell Mol Life Sci* 69(16):2779-2789
- Shin JW, Kwon SH, Choi JY *et al* (2019) Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *Int J Mol Sci* 20(9):2126
- Dréno B (2017) What is new in the pathophysiology of acne, an overview. *J Eur Acad Dermatol Venereol Suppl* 5:8-12