

Pisani Chiara

Sviluppo di strategie e protocolli per la valutazione dei prodotti cosmetici

Riassunto

La sicurezza è un requisito fondamentale dei prodotti cosmetici. Ad essa si richiamano le leggi nazionali e le linee guida europee che regolano la produzione e commercializzazione di tali prodotti, con norme che sanciscono che i prodotti cosmetici devono essere fabbricati, manipolati, confezionati e venduti in modo tale da non causare danni alla salute umana se applicati nelle normali condizioni d'uso. A tal fine l'industria cosmetica si avvale di numerosi test, che per alcune procedure prevedono l'impiego di animali di laboratorio.

Una recente Direttiva del Parlamento Europeo e del Consiglio (Direttiva 2003/15) ha stabilito che i prodotti cosmetici non possono essere saggiati su animali. In particolare la suddetta Direttiva sancisce, a partire dal 2009, il divieto assoluto di testare ingredienti su animali in tutti i paesi dell'Unione Europea ed il divieto di vendita di cosmetici che usano ingredienti saggiati su animali in qualunque paese siano stati prodotti per la maggior parte dei test, eccetto quelli diretti a valutare tossicocinetica, tossicità riproduttiva e tossicità a dosi ripetute. Inoltre, a partire dal 2013, il divieto di vendita per tutti i cosmetici testati su animali comprese le tre aree rimaste escluse dal punto precedente, ma con possibilità di slittamento se non sono stati sviluppati test alternativi adeguati.

Su queste basi, negli ultimi anni, è stato dato molto impulso alla ricerca di test alternativi.

Al momento attuale, metodi in vitro o comunque alternativi all'uso degli animali sono comunemente usati nella ricerca di base con risultati soddisfacenti per lo studio di fenomeni di natura diversa. La cosa si complica quando si tratta di sviluppare metodi alternativi, che possano sostituire i saggi in vivo. In questo caso, infatti, i nuovi metodi sviluppati e che hanno mostrato una certa attendibilità, devono essere sottoposti al processo di validazione, che serve ad accertare l'affidabilità (riproducibilità del metodo nel tempo e in laboratori diversi) e la rilevanza (significatività ed utilità di una procedura per il fine prefissato) di un metodo per uno scopo specifico. Questo è un processo piuttosto lungo ed è stato calcolato che intercorrono in media dieci anni per il compimento delle diverse fasi. Esso prevede, infatti: a) lo sviluppo del saggio nel laboratorio d'origine; b) la prevalidazione mirata alla verifica della trasferibilità del metodo e all'ottimizzazione del suo protocollo; c) lo studio di validazione vero e proprio; d) la valutazione indipendente dello studio e delle proposte; e) l'avvio delle procedure per l'accettazione a livello regolatorio.

L'impiego di colture cellulari derivate da cute umana è al momento il settore più promettente e ricco di prospettive. Il suo sviluppo coincide con la messa a punto di un metodo (Rheinwald e Green, 1975), in grado di far proliferare molto attivamente i cheratinociti umani a partire da piccoli frammenti di cute. Mediante questa tecnica si possono ottenere cheratinociti che si organizzano in una architettura sotto certi aspetti simile a quella della epidermide in vivo.

Una successiva evoluzione di questa metodica ha portato alla realizzazione dei cosiddetti skin equivalents, ovvero strutture composte da due strati ben definiti, l'epidermide ed il derma. Due differenti tipi di skin equivalents sono realizzabili: quelli costituiti da cheratinociti umani pluristratificati e ben differenziati cresciuti su una matrice sintetica; quelli composti da cheratinociti umani pluristratificati e ben differenziati cresciuti su una matrice di collagene o altro materiale contenente fibroblasti. Il successivo innalzamento di queste colture all'interfaccia aria-liquido permette la differenziazione dell'epidermide in entrambi i sistemi, ma solamente l'interazione tra cheratinociti e fibroblasti induce la formazione della giunzione dermo-epidermica.

Le colture "organoidi" composte così ottenute possono quindi essere impiegate come modello per lo studio di prodotti da applicare sulla pelle. Queste colture infatti consentono di realizzare un contatto con singole sostanze o con prodotti finiti in condizioni sperimentali molto simili a quelle realizzabili in vivo. L'esame morfologico delle colture in tal modo stimulate consente di valutare l'entità e la natura dei fenomeni verificatisi in conseguenza del contatto con la sostanza in esame.

Recenti acquisizioni hanno dimostrato che i cheratinociti non sono solo il bersaglio passivo delle sostanze che vengono a contatto con la cute, ma sono essi stessi capaci di secernere sostanze, le citochine, la cui liberazione è ritenuta espressione di flogosi. Pertanto, lo studio delle alterazioni tessutali può essere integrato con il dosaggio nel liquido di coltura, di sostanze come le interleuchine, che sono espressione della flogosi tessutale.

In definitiva, data la relativa facilità con cui è possibile ottenere le colture di cheratinociti (attualmente esistono in commercio vari tipi di skin equivalent) si può ipotizzare che queste possano in gran parte sostituire l'animale da esperimento negli studi tossicologici dei prodotti cosmetici, ossia per la valutazione del loro potenziale irritativo.

In collaborazione con la Banca della Pelle del Dipartimento di Medicina Clinica e Scienze Immunologiche (Sezione di Scienze Dermatologiche) sono state condotte una serie di indagini preliminari dirette a definire i modelli e le condizioni più idonee per lo studio della tossicità ed efficacia di alcuni prodotti. Da tali indagini è emerso che le colture composte, cioè costituite da cheratinociti cresciuti su derma equivalente, sembrano il modello più affidabile per lo studio dei prodotti finiti, mentre le colture di soli cheratinociti appaiono più adatte per lo studio delle materie prime.

