

# Fitocosmesi funzionale

## La linea

Formulazione esclusiva e mirata per pelli delicate come quella del bambino, per pelli soggette a prurito, desquamate e sensibili. Rispetta la fisiologica attitudine della pelle a strutturarsi per una naturale protezione. Con principi attivi nutritivi, attivi schiumogeni di origine vegetale, con il prezioso olio di emu ricco di omega 3, 6 e 9. La gamma è priva di SLS, SLES, paraffina, PEG, cessori di formaldeide e nitrosammine. La prima linea testata per il sottoprodotto 1,4-Diossano ad ogni lotto.



## Integrità di barriera

Una tra le funzioni più importanti della cute è il mantenimento della funzione di barriera che ha il compito di limitare la perdita d'acqua transepidermica e di proteggere l'organismo dall'attacco di agenti esterni. A livello epidermico, ed in particolare a livello dello strato granuloso, le cellule sintetizzano delle vescicole lamellari ricche di lipidi trasformati in seguito da particolari enzimi in acidi grassi liberi. È a livello dello strato corneo che i lipidi formano insieme ai corneociti una barriera fisiologica e funzionale definita "a mattoni e a malta".

I "mattoni" sono i corneociti e la "malta" i lipidi intercellulari ed insieme costituiscono la barriera fisiologica.

Minor produzione di lipidi → Aumento di TEWL  
(perdita di acqua transepidermica)

- pelle secca
- perdita di integrità di barriera
- anticamera per irritazione

La perdita di integrità di barriera porta a diversi stadi di secchezza.  
Fig. 1: la foto mostra un'areola mammaria con grado di secchezza elevato. Valore di idratazione 28 u.c. (unità convenzionale su campo 0-100).

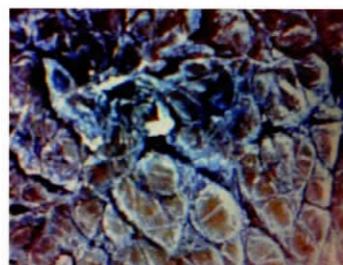


Fig. 1 Areola mammaria

Fig. 2 La ragade definita come una fessurazione o ulcerazione della cute si manifesta con una certa incidenza a carico del seno nelle donne durante la prima settimana di allattamento. Le ragade del seno sono molto dolorose e la secrezione latte tende naturalmente a diminuire tanto da impedire ad alcune donne di allattare.



Fig. 2 Ragade su areola mammaria

## La rigenerazione fisiologica è

# Clemulina<sup>®</sup> S plus

Per facilitare la guarigione, alleviare il dolore e favorire una rapida riepitelizzazione, può essere utile l'applicazione di creme eudermiche e idratanti come Clemulina S plus: crema eudermica idratante ad azione preventiva e lenitiva per ragadi, con omega 3, 6 e 9 grazie alla presenza di olio di emu dalle note proprietà antinfiammatorie, elasticizzanti e riepitelizzanti. Clemulina S plus, formula esclusiva con estratto di aloe, colostro, lanolina senza alcoli e sali tissutali (minerali inorganici), promuove la rigenerazione e il risanamento cutaneo in caso di ragadi migliorando la struttura e l'elasticità cutanea offrendo idratazione al tessuto.

## Testata

- dermatologicamente
- sui pesticidi
- sul sottoprodotto 1,4-Diossano
- valutazione di sicurezza per l'ingestione durante l'allattamento

Senza paraffina, coloranti, profumi, alcoli della lanolina, conservanti aggressivi, attivi di sintesi.

## Modo d'uso:

- quotidiano idratante ed elasticizzante preventivo: applicare un piccolo quantitativo 3 volte al giorno, massaggiare fino a completo assorbimento
- in caso di ragadi al seno, mani, anali: applicare un piccolo quantitativo 6 volte al giorno e massaggiare fino a completo assorbimento

**RAPIDO ASSORBIMENTO, ATTIVITÀ TERMOSTATANTE, NON UNGE, NON È NECESSARIO LAVARE LA PARTE TRATTATA PRIMA DELL'ALLATTAMENTO SUCCESSIVO**

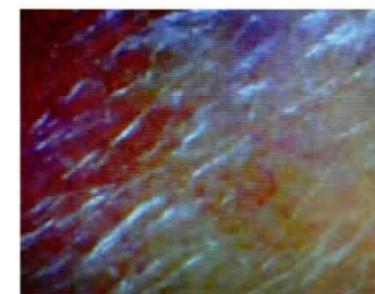


Fig. 3 Immagine areola mammaria trattata con Clemulina S plus  
Valore idratazione 60 u.c.

# TEST IN VITRO

## 1. Valutazione in vitro dell'immunità locale in presenza di infiammazioni su corneociti immortalizzati

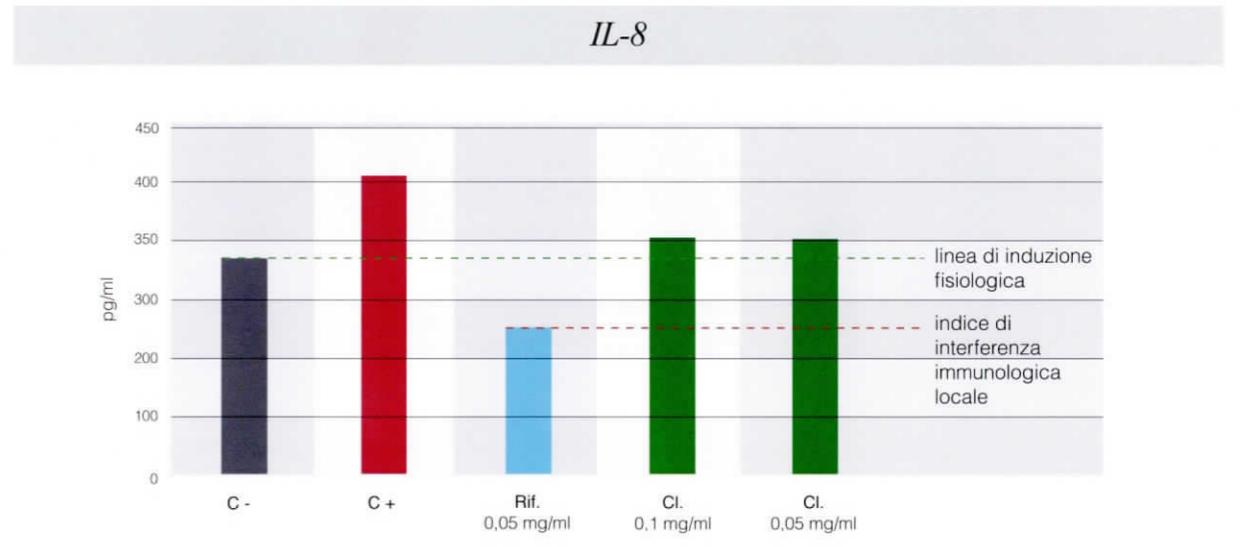
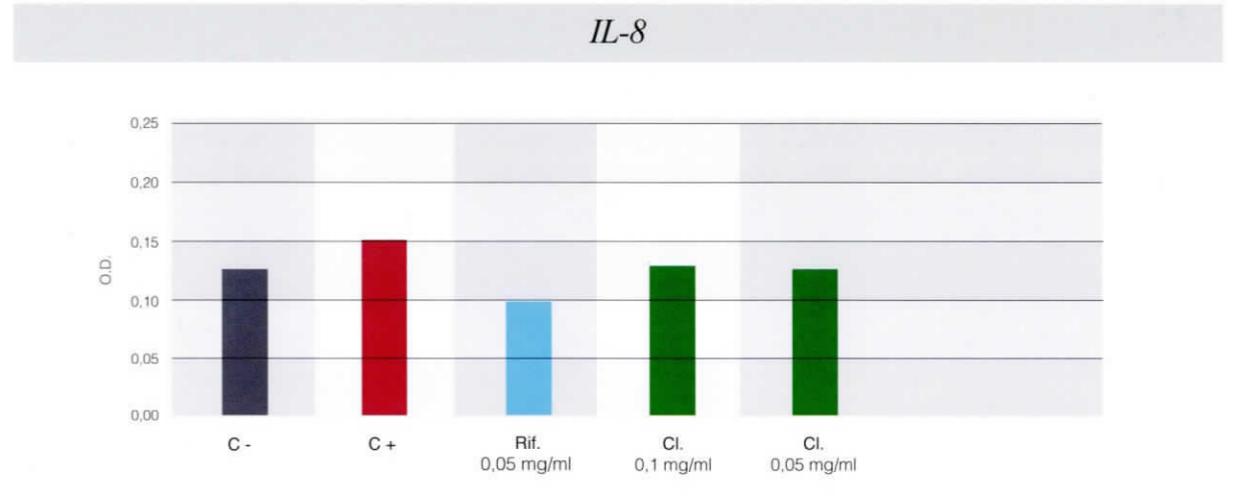
La cute è l'organo umano più esteso e la sua funzione immunitaria ha attratto l'attenzione di immunologi e dermatologi. Prove sempre più evidenti dimostrano che le citochine dell'epidermide possono avere un ruolo importante nel mediare il processo infiammatorio e la risposta immunitaria della cute. Sono molte le cellule dell'epidermide in grado di secernere citochine: cheratinociti, cellule di Langerhans, melanociti e perfino cellule di Merkel. I cheratinociti sono i maggiori produttori di citochine nell'epidermide e si è dimostrato che secernono IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, CSF, TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , TGF $\beta$  e PDGF. La produzione di citochine da parte dei cheratinociti ha diverse conseguenze nella migrazione delle cellule infiammatorie, può avere effetti sistemici sul sistema immunitario, influenze sulla proliferazione dei cheratinociti e sui processi di differenziazione, infine interessa la produzione di altre citochine da parte degli stessi cheratinociti. Allo scopo di non alterare la zona infiammata è stata analizzata la sintesi di Interleuchina 8 (IL-8) in cheratinociti immortalizzati (linea cellulare HaCaT).

IL-8 è un potente attrattore di neutrofili ed è prodotto dai cheratinociti, i quali sotto stimolo esterno, fungono da sensibilizzanti da contatto o irritanti. Per la valutazione in vitro, si sono utilizzate colture di cheratinociti immortalizzati (linea cellulare HaCaT) provenienti da epidermide umana.

### Dosaggio della citochina IL-8

Il dosaggio dell'Interleuchina viene effettuato dopo una preincubazione dei cheratinociti con l'allergene NiNO3 1 mg/ml. I risultati sono dati in termini di Densità Ottica (O.D.) e pg/ml, che risultano direttamente proporzionali alla quantità di IL-8 indotta.

Dosaggio citochina IL-8					
Campione	C -	C +	Rif. 0,05mg/ml	Clemulina 0,1mg/ml	Clemulina 0,05 mg/ml
O.D. valore medio	0,128	0,154	0,098	0,1345	0,1335
pg/ml valore medio	339,316	409,624	258,191	356,893	354,189



### Clemulina S plus non altera l'immunità locale

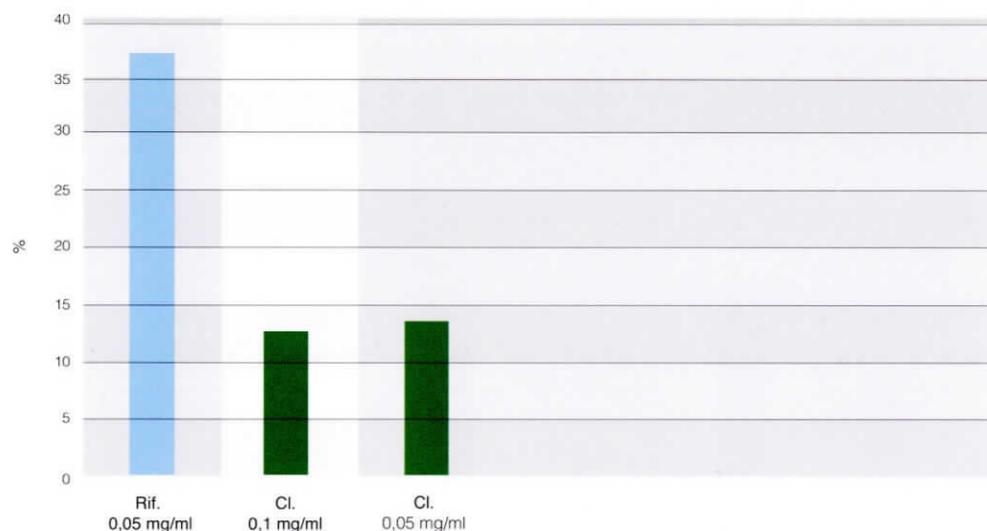
La quantità di Interleuchina 8 indotta da Clemulina S plus è "sovrapponibile" all'induzione fisiologica.

**Legenda:**

- C- controllo non trattato
- C+ controllo positivo (NiNO3 1mg/ml)
- Rif. sostanza di riferimento standard 0.1% crema
- Cl. crema ragadi clemulina 0.1mg/ml
- Cl. crema ragadi clemulina 0.05mg/ml

### Riduzione IL-8

Campione	Rif. 0,05 mg/ml	Cl. 0,1 mg/ml	Cl. 0,05 mg/ml
% Riduzione	36,9688	12,873072	13,53323



**Risultati e conclusioni:** *il prodotto testato Clemulina S plus di Fiocchi di riso dimostra di non interferire negativamente sull'immunità locale dimostrando di possedere anche un'attività antinfiammatoria, essendo in grado di ridurre la sintesi di Interleuchina 8 in cheratinociti umani immortalizzati, indotta dall'allergene NiNO3 ad entrambe le concentrazioni utilizzate.*

## 2. Valutazione in vitro del potenziale pro-sensibilizzante

Nella definizione di un quadro di tollerabilità cutanea di un prodotto cosmetico è importante considerare, oltre al potenziale di irritazione, anche il potenziale sensibilizzante del prodotto in questione ai fini della sicurezza d'impiego, a maggior ragione nel caso di una tipologia di prodotto spesso soggetta ad uso prolungato nel tempo e quindi ad una esposizione cutanea cronica. L'analisi di modelli predittivi in vitro consente di effettuare una quanto più possibile completa valutazione della sicurezza d'impiego di un prodotto cosmetico, così come richiesto

dalla legislazione. I dati tossicologici forniti dai test su modelli cellulari non possono essere considerati integralmente sostitutivi dei test in vivo, ma senz'altro l'ampia letteratura scientifica pubblicata oggi consente di ritenerli affidabili e utilmente informativi circa le caratteristiche biologiche delle sostanze testate. Il test per valutare l'attività pro-sensibilizzante è stato condotto su una linea cellulare di monociti umani denominata THP-1, tale tipo cellulare è fortemente coinvolto nelle risposte immunitarie della cute, organo bersaglio tipico dei prodotti topici. Su queste cellule si è valutata la modulazione dell'espressione di due molecole co-stimolatorie, CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2). L'aumento dell'espressione di queste molecole nelle cellule indica l'attivazione di una risposta immunitaria in seguito all'esposizione ad un antigene potenzialmente allergizzante.

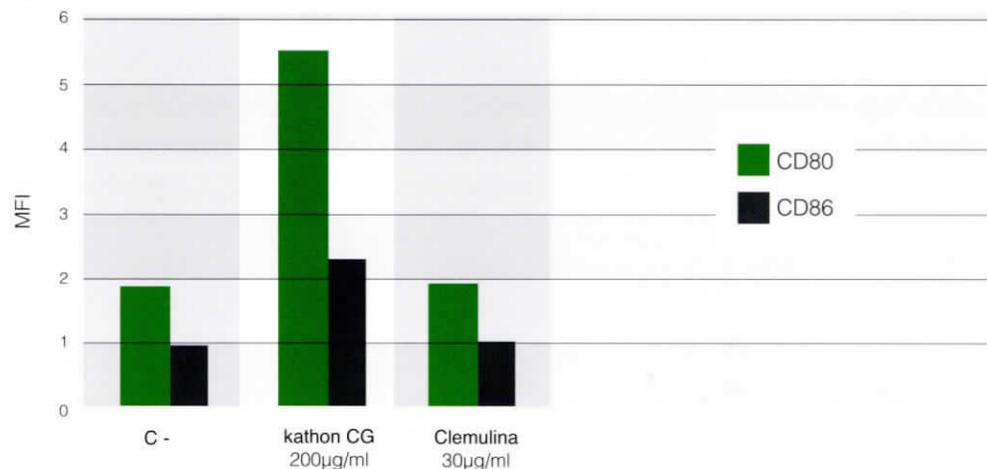
Come controllo positivo è stato utilizzato il Kathon CG (Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone), un conservante cosmetico dal potere sensibilizzante noto.

### Analisi dell'espressione di CD80 – CD86

In tabella sono riportati i risultati dell'analisi al citofluorimetro di flusso dell'espressione delle molecole co-stimolatorie CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2) dopo 24 h di reazione con i campioni e i controlli testati.

Controlli	CD 80/B7-1 (MFI*)	CD 86/B7-2 (MFI*)
THP-1 Controllo non trattato (C-)	1,86	0,975
THP-1 + kathon CG 200µg/ml	5,56	2,39
<hr/>		
Campione	CD 80/B7-1 (MFI*)	CD 86/B7-2 (MFI*)
Clemulina	1,93	1,028

\* MFI = Mean Fluorescence Intensity - è la media geometrica dell'intensità di fluorescenza delle cellule decorate con l'anticorpo fluoresceinato ed è proporzionale al numero di molecole decorate per cellula.



**Risultati e conclusioni:** *la risposta immunitaria, in termini di espressione di CD80/CD86, ottenuta con il campione testato risulta essere assente rispetto a quella ottenuta con il Kathon CG (controllo positivo) e sovrapponibile a quella del controllo non trattato (controllo negativo). Alle concentrazioni testate il prodotto valutato non determina un aumento dell'espressione di CD80 e di CD86 in colture cellulari di monociti.*

***Il prodotto Clemulina Fiocchi di riso non mostra attività pro-sensibilizzante.***

### 3. Valutazione dell'attività pro-rigenerante

Il test ha come obiettivo quello di dimostrare che il prodotto non interferisce con il metabolismo con effetti citossici, di cheratinociti e fibroblasti. Questa valutazione diventa così un indice dell'elevata dermocompatibilità del prodotto e assume il potenziale ruolo anche nel facilitare il turn-over cellulare. I prodotti topici sono applicati direttamente sulla cute umana, essi possono non avere tossicità alcuna o essere lievemente tossici nei confronti delle cellule che compongono la pelle. Le sostanze chimiche, o le miscele di sostanze chimiche, possono indurre una citotossicità generale, senza discriminare tra cellule di diverse origini, o una citotossicità selettiva, che può verificarsi quando cellule differenziate di un tessuto specifico sono più sensibili agli effetti di una sostanza tossica piuttosto che di un'altra.

Il saggio di citotossicità su cellule cutanee umane coltivate in vitro può essere eseguito al fine di valutare il potenziale tossico delle sostanze testate. Tale test viene anche utilizzato per individuare l'attività rigenerante di un prodotto.

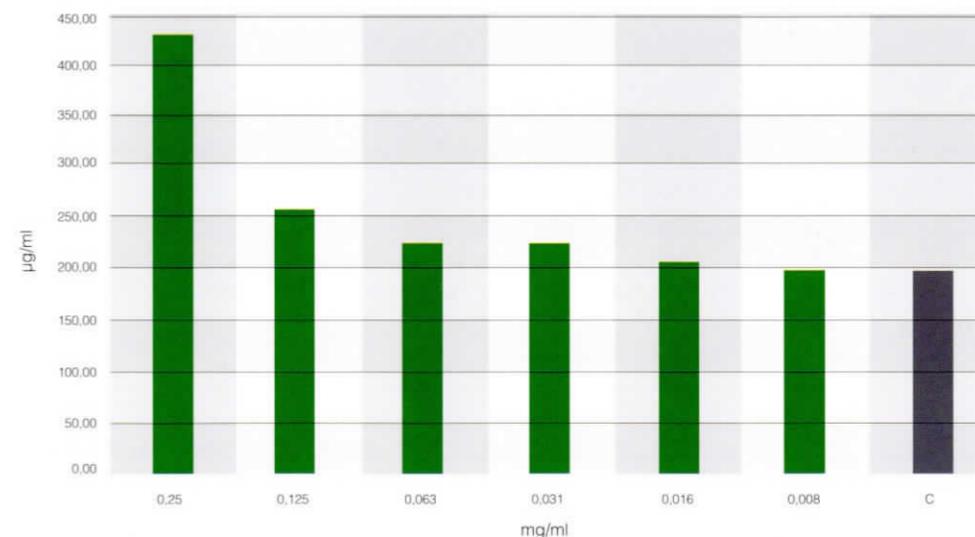
I fibroblasti sono presenti nel derma, lo strato cutaneo sottostante l'epidermide, e il loro compito è quello di sintetizzare il collagene e le altre fibre che compongono la matrice extracellulare del derma. I fibroblasti che sono stati utilizzati negli esperimenti sono di tipo primario,

derivati da derma umano. La metodica MTT valuta la vitalità di cellule in vitro esposte a diverse concentrazioni di prodotto rispetto a cellule non trattate. Il test MTT consente inoltre di evidenziare, se esiste, la dose in grado di stimolare la crescita cellulare. La valutazione della sintesi proteica completa l'analisi. Le cellule in coltura sono trattate con concentrazioni scalari del prodotto testato comprese tra 0,008 e 0,25 mg/ml.

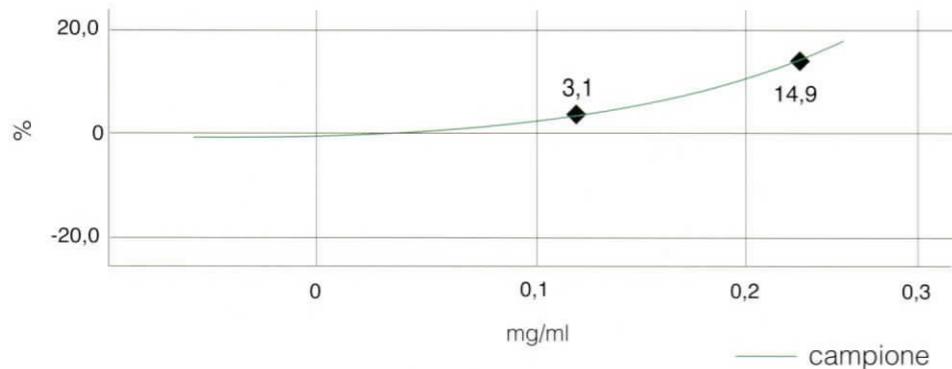
#### Dopo 72 ore di incubazione con il campione

Concentrazione del campione (mg/ml)	Proteine totali (µg/ml)
0,25	431,3
0,125	256,3
0,063	225,0
0,031	225,0
0,016	206,3
0,008	196,9
Controllo: C	196,875

#### Proteine dopo 72 ore



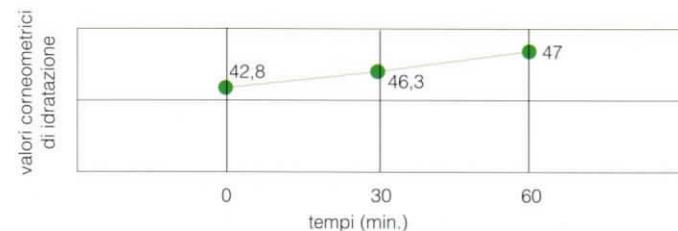
### % di stimolazione della crescita cellulare



**Risultati e conclusioni:** il prodotto Clemulina S plus di Fiocchi di riso non interferisce con il metabolismo con effetti citotossici ma è in grado di stimolare la crescita cellulare e la sintesi proteica per la concentrazione testata pari a 0,250 mg/ml.

## 4. Test per la valutazione dell'efficacia idratante sull'avambraccio

Valutazione dell'efficacia idratante (test a breve termine - short term) di un prodotto cosmetico applicato in dose singola su cute umana intatta su 20 volontari adulti, di età compresa tra i 20 e i 41 anni. L'efficacia del prodotto viene valutata misurando l'idratazione, prima e dopo l'applicazione del prodotto, mediante Corneometer CM825.



Tempi (minuti)	Valori corneometrici di idratazione
0	42,8
30	46,3
60	47,0

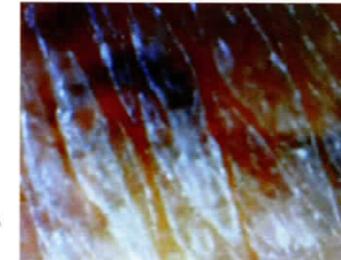
**Risultati e conclusioni:** il prodotto Clemulina S plus di Fiocchi di riso dimostra di avere attività idratante sensibile già nei primi 60 minuti dall'applicazione.

*I test in vitro e in vivo sono stati effettuati presso laboratori accreditati in Italia e in collaborazione con l'Università degli studi di Pavia*

## 5. Studio in vivo su areola mammaria

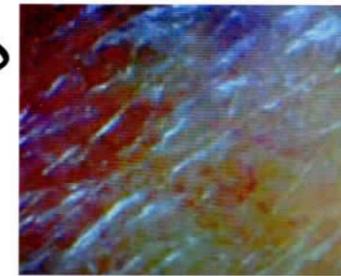
Lo studio in vivo su 100 neomamme, effettuato presso il Policlinico di Abano Terme, divisione Medicina Perinatale, rileva l'azione idratante e cicatrizzante di Clemulina S plus. La misura dell'idratazione viene effettuata con sonda specifica dello strumento *soft plus Callegari* espressa in unità convenzionale (u.c.).

Campo: 0-100 u.c. / risoluzione 1 u.c. / precisione 5%



La misura dell'idratazione è stata effettuata sull'areola mammaria sinistra non trattata con alcun prodotto.

**Misura pre-trattamento valore medio 41 u.c.**  
(grado di secchezza intermedio)



La misura dell'idratazione è stata effettuata sull'areola mammaria sinistra a distanza di 24 ore dall'applicazione di Clemulina S plus ad ogni poppata.

**Misura post-trattamento valore medio 62 u.c.**  
(grado di idratazione elevato)

**Risultati e conclusioni:** il test in vivo conferma che il prodotto Clemulina S plus applicato sul seno dopo ogni poppata, migliora del 30% l'idratazione nelle 24 ore successive.

*Disponibile l'abstract dello studio clinico del test in vivo su areola mammaria*

## Bibliografia

- Antczak S. Antczak G. "Cosmetics Unmasked: your family guide to safe cosmetics and toiletries" London: Thorsons, 2001
- Clark N. The study of four methods of nipple care offered to post partum mothers. New Zeland Journal. 1985;78(6): 16-18.
- Gunther M. Sore nipples causes and prevention, Lancet 1945;2: 590-593.
- Politis M.J., Dmytrowich A. "Promotion of second intention wound healing by Emu oil lotion: comparative results with furasin, polysporin and cortisone" in Plastic and reconstructive surgery, 1998
- Proserpio G., Racchini E. "Manuale di cosmetologia", BCM Editrice 2008
- Smith P.C., Craig Schmidt M. "Oil as a Medicine Carrier" in AEA News, March 1995
- Whitehouse M.W., Turner A.G., Davis C.K.C., Roberts M.S. "Emu oil(s): a source of non-toxic transdermal anti-inflammatory agents in aboriginal medicine" in Inflammopharmacology 1998; 6: 1-8.
- Zemstov A., Gaddis M., Montalvo Lugo V. "Moisturising and Cosmetic Properties of Emu Oil: A Double Blind Study" published in AEA News, October/November 1994
- Clark N. The study of four methods of nipple care offered to post partum mothers. New Zeland Journal. 1985;78(6): 16-18.
- Gunther M. Sore nipples causes and prevention, Lancet 1945;2: 590-593.