

## Les modèles cellulaires 3D : un accès puissant à la physiologie cutanée et aux développements innovants de principes actifs cosmétiques

### 3D cellular models: a powerful access to cutaneous physiology and to innovative developments of cosmetic active compounds

V. André \*, S. Grenier, F. Pivard, E. Perrier

*Coletica, 32, rue Saint-Jean-de-Dieu, 69007 Lyon, France*

Reçu le 30 novembre 2004 ; accepté le 3 décembre 2004

Disponible sur internet le 25 janvier 2005

Présenté lors du 12<sup>e</sup> Forum des jeunes chercheurs en GBM du 21 au 23 mai 2003 à Nantes

#### Résumé

Deux principes actifs cosmétiques anti-âge respectivement fondés sur la régénération du compartiment dermique, et sur le renforcement de la jonction dermoépidermique, ont été développés grâce à des modèles d'ingénierie tissulaire. L'utilisation conjointe de différents modèles tridimensionnels innovants tels que des dermes et des peaux reconstruites, mis en œuvre avec des cellules issues de donneurs d'âge variable ont permis d'une part, une meilleure compréhension des modifications matricielles ayant lieu au cours du vieillissement et d'autre part, le criblage de principes actifs hautement ciblés visant à reverser les déficits observés. La validité des modèles tridimensionnels est confirmée par la réalisation d'études *in vivo* sur volontaires sains.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

#### Abstract

Two different anti-ageing cosmetic actives based respectively, on dermal compartment regeneration and on dermoepidermal reinforcement, have been developed using tissular engineering models. Conjointly use of different innovative three-dimensional models such as reconstructed dermis and skin built with human cells coming from variable aged donors allowed first, a better understanding of matrix modifications due to ageing and second, the screening of active ingredients highly targeted to reverse observed damages. The validity of such three-dimensional models has been then confirmed by *in vivo* studies on healthy volunteers.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

*Mots clés* : Derme reconstruit ; Études d'efficacité ; Ingénierie tissulaire ; Peau reconstruite ; Soins de la peau

*Keywords*: Cellular engineering; Efficacy studies; Reconstructed dermis; Reconstructed skin; Skin care

#### 1. Introduction

En 20 ans, les techniques d'ingénierie de la peau ont considérablement progressé. Après avoir longtemps utilisé des cultures en monocouche de lignées cellulaires pour les tests

d'efficacité et de toxicité, la cosmétique a aujourd'hui intégré les nombreux progrès réalisés en ingénierie tissulaire destinée à la thérapeutique, ce qui a permis le développement de nombreux modèles tridimensionnels tels que les modèles de dermes et d'épidermes reconstruits mais également les modèles de peaux reconstruites, la plupart de ces modèles étant aujourd'hui réalisés à partir de cellules humaines non issues de lignées et non transformées. Les champs d'application de

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [vandre@coletica.fr](mailto:vandre@coletica.fr) (V. André).

ces modèles sont nombreux et les modèles reconstruits *in vitro* permettent, par la recherche fondamentale, une meilleure compréhension des interactions des différents constituants cellulaires et moléculaires au sein de la peau normale. Ces modèles permettent également d'envisager des tests alternatifs aux modèles animaux qui tendent à être supprimés [1–3] en cosmétique.

Dans cette optique, Coletica a développé en collaboration avec le laboratoire des substituts cutanés de l'hôpital Édouard-Herriot (Lyon), des modèles tridimensionnels de dermes équivalents, d'épidermes reconstruits et de peaux reconstruites. Ces systèmes sont aujourd'hui de plus en plus utilisés très en amont des développements de principes actifs cosmétiques afin d'identifier de nouvelles molécules actives. En effet outre leur très grande similitude avec le tissu cutané, ces modèles présentent de nombreux avantages : tout d'abord, ils permettent de tester des ingrédients non hydrosolubles et surtout des formulations de type « émulsions » dans des conditions proches de leur application finale (utilisation de type consommateur). Ensuite, ces modèles permettent l'accès aux mécanismes d'action des principes actifs. Enfin, ils offrent la possibilité, à terme, de tester un grand nombre de produits dans des conditions plus proches de la réalité que les cultures en monocouche.

Parmi les modèles développés par Coletica, le derme reconstruit est une matrice poreuse à base de collagène ou collagène–glycosaminoglycannes–chitosane (Duplidisc<sup>®</sup> et Mimedisc<sup>®</sup> respectivement) dont la structure tridimensionnelle permet l'adhésion, la prolifération et la migration de fibroblastes qui sont ensemencés à leur surface. Lorsque le substrat dermique est ensemencé par des fibroblastes humains normaux, un véritable néoderme est obtenu en deux semaines de culture. À l'intérieur de ce derme équivalent, aussi appelé Dupliderm<sup>®</sup> ou Mimederm<sup>®</sup>, les fibroblastes peuvent proliférer et synthétiser toutes les molécules présentes dans la matrice extracellulaire (collagènes de type I et III, fibronectine, laminines, glycosaminoglycannes, etc.) afin de créer un véritable tissu bioactif pouvant progressivement libérer par exemple des facteurs de croissance et servir ensuite de base pour l'élaboration d'une peau reconstruite [4–6].

Afin d'obtenir en trois semaines une peau reconstruite (Mimeskin<sup>®</sup>), il est nécessaire d'ensemencer des kératinocytes humains normaux sur Mimederm<sup>®</sup>, ces kératinocytes se différenciant rapidement en un épiderme pluristratifié. Cet épiderme est caractérisé par une couche de cellules basales organisées et adhérentes, et par des couches suprabasales dans lesquelles sont identifiés les principaux marqueurs de la différenciation (filaggrine, transglutaminase et involucrine) ainsi que les kératines 10 et 14. Au niveau de la jonction dermoépidermique, les études immunohistochimiques ont révélé le dépôt linéaire des constituants tels que les collagènes de type IV et VII, les laminines et plus particulièrement la laminine 5 ainsi que la sous-unité  $\alpha 6$  des intégrines [7,8].

Par ailleurs, grâce à l'utilisation de cellules issues de donneurs d'âge variable (jeunes ou âgés) pour l'élaboration de ces modèles, Coletica a développé des dermes et des peaux

reconstruites dits « jeunes et matures ». Ces modèles ont permis une meilleure compréhension des phénomènes biologiques ayant lieu au cours du vieillissement, ainsi qu'une clarification des phénomènes de sur ou sous-expression de certaines protéines matricielles, décrits dans la littérature. En effet, selon le type d'expérimentations réalisées, immunomarquage sur biopsies issues de donneurs de différents âges, Elisa ou biologie moléculaire sur milieu de culture ou cellules issues également de donneurs de différents âges mais cultivées en monocouche par exemple, les résultats étant contradictoires, aucune conclusion ne pouvait être réalisée concernant par exemple la synthèse de fibronectine au cours du vieillissement [9,10]. Il était donc très difficile de décider d'une stratégie de développement de principes actifs dans ces conditions. Seule l'utilisation combinée de différents modèles tridimensionnels, monocellulaires ou pluricellulaires, jeunes ou matures, a permis par exemple, de comprendre plus précisément les modifications liées au vieillissement et donc de développer des principes actifs pertinents, permettant de promouvoir par exemple la restructuration du derme mature (Deliner<sup>®</sup>-Coletica, France).

Ces modèles permettent non seulement de proposer de nouveaux actifs cosmétiques hautement spécifiques en fonction de la cible recherchée, mais également des actifs dits « intelligents ». Ainsi, l'étude réalisée pour le développement d'un extrait issu de la fermentation d'un extrait de malt (Baseline<sup>®</sup>, Coletica, France), actif dédié au renforcement de la jonction dermoépidermique, a pu démontrer qu'il était possible de retrouver *in vitro* les déficits en laminine liés au vieillissement de la peau observés *in vivo*. Par ailleurs, ce nouveau principe actif cosmétique permet de restaurer le « potentiel jeunesse » uniquement dans le cas des peaux reconstruites matures traitées *in vitro*, les synthèses des peaux reconstruites jeunes n'étant pas affectées [3].

Dans cette étude, l'utilisation des modèles d'ingénierie tissulaire a permis la sélection de deux principes actifs parmi une très vaste librairie de substances, sur la base de connaissances fondamentales validées dans un premier temps, puis sur celle de tests d'efficacité *in vitro* dans un second temps. Cette efficacité a pu ensuite être corrélée par des tests *in vivo*, confirmant la prédictibilité des modèles développés.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Ingénierie tissulaire

#### 2.1.1. Préparation de Duplidisc<sup>®</sup> (Coletica)

Le substrat dermique est préparé industriellement en réticulant des éponges de collagène bovin de type I et III, par du diphényl-phosphoryl azide [11]. Après lyophilisation et découpe à l'emporte pièce d'unités d'un centimètre de diamètre, les substrats dermiques sont stérilisés par irradiation gamma à 25 kGy dans des puits de plaque de culture ou des inserts de culture (Costar).

#### 2.1.2. Préparation de Mimedisc<sup>®</sup> (Coletica)

Le substrat dermique est préparé industriellement en mélangeant 72 % de collagène bovin de type I et III, 8 % de

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9366945>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9366945>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)