

Prof. FULVIO MARZATICO  
Docent na SVEUČILIŠTU U PAVIJI  
FARMAKOLOŠKO-BIOKEMIJSKI LABORATORIJ  
Odsjek BIOLOGIJE I BIOTEHNOLOGIJE

## **TANNING TEST**

**013729 PRELINE - RAPID BRONZ  
LOTTO 259612**

**Placebo kontrolirana, kliničko-instrumentalna  
procjena učinkovitosti kozmetičkog proizvoda koji  
pospješuje tamnjenje kože nazvanog**

**RAPID BRONZ**

# DIZAJN STUDIJE

## 1.1. Naziv

Placebo kontrolirana, kliničko-instrumentalna procjena učinkovitosti kozmetičkog proizvoda koji pospješuje tamnjenje kože.

## 1.2. Priroda i cilj studije

Studija ima za cilj procijeniti učinkovitost kozmetičkog proizvoda namijenjenog pospješivanju tamnjenja kože. U tu svrhu provedena je placebo kontrolirana klinička studija na 10 zdravih subjekata ženskog roda, randomiziranih od strane osobe odgovorne za provođenje studije prema mjestu primjene aktivnog proizvoda i placeba.

Procjena učinkovitosti proizvoda izvršena je nakon ponovljene primjene proizvoda i kontroliranog izlaganja UV zrakama na dijelu kože. Susjedno područje kože tretirano je placebo. Učinkovitost proizvoda procijenjena je pomoću kolorimetrijske sonde koja može registrirati promjene boje kože.

## 1.3. Proizvod uključen u studiju

### 1.3.1. Obavijesti dane klijentu

#### Naziv proizvoda:

013729 PRELINE RAPID BRONZ LOTTO 259612 - Aktivan

013729 PRELINE RAPID BRONZ LOTTO 259612 - Placebo

Kozmetički proizvodi uključeni u ovu studiju ne sadrže tvari čija je primjena zabranjena u kozmetičkim proizvodima, kao i proizvodima za tjelesnu higijenu (zakonodavstvo EU), konzervanse, a UV filtri, uključeni u formulu proizvoda, nalaze se na pozitivnoj listi koju je EU objavila i korišteni su u koncentracijama koje su u skladu s predviđenom primjenom ovog zakona kao i svih tvari kod kojih postoji granica koncentracije, poštuju se limiti i upozorenja navedena u odgovarajućim dodacima Zakonodavstvu EEZ 76/768.

Kozmetički proizvodi uključeni u studiju ispitani su zbog sigurnosti primjene na humanim dobrovoljcima (kozmetički dossier).

Način primjene: nanijeti proizvod jednom dnevno uz blagu masažu kružnim pokretima sve dok koža u potpunosti ne upije proizvod. Subjekti su upućeni da nanose oko 2 mg/cm<sup>2</sup> proizvoda. Prije (oko 30 minuta) izlaganja UV zrakama ispitanik nanosi 100 mg aktivnog proizvoda ili placebo na područje od 50 cm<sup>2</sup> unutar kojeg su označena mjesta koja se izlažu zračenju.

## 1.4. Etičke norme

Studija je provedena u skladu sa sljedećim etičkim normama.

1.4.1. Svi subjekti koji sudjeluju u studiji su dragovoljno pristali sudjelovati, zdravi su i imaju barem 18 godina.

1.4.2. Svi subjekti koji sudjeluju u studiji izabrani su uz superviziju dermatologa prema kriterijima za uključivanje/neuključivanje (pogledati § 1.5.1.1.-2.).

1.4.3. Sudjelovanje dobrovoljaca u studiji je u potpunosti slobodno.

1.4.4. Svi subjekti koji sudjeluju u studiji su dragovoljci upoznati s ciljem i prirodom studije.

1.4.5. Svi subjekti koji sudjeluju u studiji upoznati su s mogućim rizikom pri provođenju studije.

1.4.6. Svi subjekti koji sudjeluju u studiji dostavili su potpisani informativni pristanak prije početka provođenja ove studije.

1.4.7. Prije no što su dobrovoljci došli u kontakt s ispitivanim proizvodom obrađene su sve informacije vezane uz sigurnost proizvoda kao i njegove pojedinačne komponente.

1.4.8. Sve procedure vezane uz studiju provedene su u skladu s etičkim načelima istraživanja na medicinskom polju (Etička načela za medicinsko istraživanje koje uključuje humane subjekte, prihvaćena na 18. Općoj skupštini Svjetskog medicinskog udruženja, AMM-a, u Helsinkiju, Finska, u lipnju 1964. uz naknadne izmjene).

1.4.9. Sve potrebne mjere opreza moraju biti poduzete kako ne bi došlo do neželjenih reakcija na koži.

1.4.10. U slučaju da dođe do neočekivanih/neželjenih reakcija liječnik koji provodi studiju procijenit će njihovu težinu (bilježeći ih detaljno u obrascu za obradu podataka) i propisat će odgovarajuću terapiju.

## 1.5. Subjekti koji sudjeluju u studiji

### 1.5.1. Odabir subjekata

Subjekte koji sudjeluju u studiji odabrao je liječnik dermatolog iz baze zdravih subjekata ženskog i muškog roda (starijih od 18 godina) uz primjenu kriterija uključivanja ili neuključivanja navedenih u nastavku.

#### 1.5.1.1. Kriteriji za uključivanje

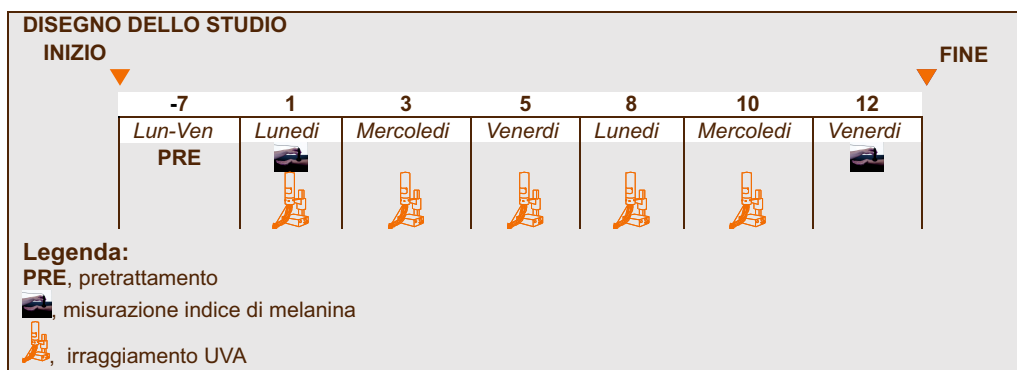
- SZdravi subjekti ženskog i muškog roda
- Dob: stariji od 18 godina
- Rasa: bijela (kavkaska)
- Subjekti koji u posljednja dva mjeseca nisu sudjelovali u sličnoj studiji
- Obveza nekorištenja topičkih ili sistemskih proizvoda koji mogu 'prekriti' djelovanje ispitivanog proizvoda, tijekom cijelog trajanja studije
- Subjekti koji se u razdoblju od dva mjeseca prije početka studije nisu izlagali sunčevim zrakama
- Odsustvo sunčanog eritema, preplanulosti, diskromije kože ili aktivnih oštećenja kože na područjima odabranim za studiju
- Uniformna boja područja koje sudjeluje u studiji: odsustvo madeža, mrlja ili sunčanih pjega i glabra
- Subjekti upoznati s izvođenjem studije i koji su potpisali informativni pristanak
- Odsustvo patologija kože
- Negativna anamneza na atopiju
- Obveza nemijenjanja uobičajene dnevne rutine
- Subjekti upoznati s izvođenjem studije i koji su potpisali informativni pristanak

#### 1.5.1.2. Kriteriji za neuključivanje

- Subjekti koji ne zadovoljavaju kriterije uključivanja
- Trudnice i dojilje
- Prethodne alergije, fotoalergije, fototoksičnost ili ostali nepravilni odgovori na izlaganje suncu
- Prethodna alergija ili osjetljivost na kozmetičke i higijenske proizvode, kao i na proizvode za sunce i/ili topičko liječenje
- Subjekti s dermatološkim problemima na područjima testiranja
- Subjekti koji su mjesec dana prije početka studije koristili proizvode za samotamnjenje kože
- Subjekti koji redovito odlaze u solarij
- Subjekti koji su u trenutku odabira ili mjesec dana prije početka studija bili uključeni u terapiju lijekovima koji imaju fotosenzibilni potencijal, lijekovima i/ili prehranbenim nadomjescima koji mogu dovesti do promjene boje kože, kortikosteroidima
- Subjekti koji su, u trenutku odabira ili tjedan dana prije početka studije, koristili terapiju antihistaminicima ili protuupalnim lijekovima

## 1.6. Provođenje studije

Nakon odabira, upućenim subjektima dan je proizvod kako bi moglo započeti s predtretmanom u trajanju od tjedan dana. Nakon isteka tjedna predtretmana subjekti su došli u naš studio u kojem su područja tretirana aktivnim proizvodom, kao i ona tretirana placebo proizvodom, bila izložena UVA zračenju (10 J/cm<sup>2</sup>, pojedinačna doza). Markerom za kožu bila su obilježena područja namijenjena izlaganju zrakama tijekom cijelog razdoblja provođenja studije (MEXAMETER MX 18 (Courage + Khazaka electronic GmbH)). Daljnja izlaganja/ mjerenja izvođena su u razmaku od 2 dana, uz iznimku vikenda (razmak od 3 dana). U donji pravokutnik unijeti analitički plan studije.



## 1.7. MATERIJALI I METODE

U sljedećim odlomcima detaljno su opisani materijali, metode i postupci tijekom provođenja studije.

### 1.7.1. Izvor UV zračenja i kontrola UV zračenja

Izvor UV zračenja primijenjenog u studiji jest solarni simulator Multiport™ Output 601 300 Watts koji proizvodi tvrtka Solar Light Co. Inc., PA. Ovaj uređaj ima izvor UV zračenja (predstavljen Xenon lampom kratkog luka) i odgovarajuće filtre (Schott WG 345 i UG11) za stvaranje kvalitete spektra koja odgovara prihvatljivim okvirima određenim metodom JCIA Persistent Pigmentation Darkening (PPD).

Sukladno ovoj metodi korišteni solarni simulator:

- odašilje ukupnu energiju < 150 mW/cm<sup>2</sup>,
- posjeduje 92%-100% komponente UVA u odnosu na ukupno zračenje
- posjeduje odnos UVB/UVA < 0.1%
- posjeduje odnos UVII/UVA u rasponu od 8.0 do 20.0%.
- stvara UV zračenje koje je pri izlazu stabilno i jednoobrazno uzduž cijele UV zrake.

Doza UV zračenja koje se primjenjuje pri svakom izlazu lampe regulirana je radiometrom PMA 2100 (Solar Light Co. Inc., PA) i posjeduje detektor UVA PMA 2113 (Solar Light Co. Inc., PA).

Solarni simulator Multiport™ Output 601 300 Watta, radiometar PMA2100 i odgovarajući detektor UVA PMA 2113 podvrgnuti su, kako vanjskoj godišnjoj provjeri i tariranju u matičnoj kući, tako i periodičnim internim kontrolama.

### 1.7.2. Procjena boje kože

Intenzitet pigmentacije ocjenjuje se kolorimetrijskom sondom MEXAMETER MX 18 (Courage + Khazaka electronic GmbH). Procjena se izvodi unutar dva područja na koži dijametra 1.0 cm<sup>2</sup> obilježenih tijekom cijelog trajanja studije uz pomoć markera za kožu.

Instrument MEXAMETER MX 18 mjeri posebno sadržaj melanina u koži. Mjerenje se zasniva na principu adsorpcije. Sonda instrumenta emitira svjetlost tri određene duljine valova. Prijamnik mjeri svjetlost koju koža reflektira. Položaj odašiljača i prijamnika osigurava mjerenje samo one svjetlosti koja je difuzna i raspršena. Budući da je količina emitirane svjetlosti određena, može biti izračunata količina koju koža adsorbira. Za mjerenje indeksa melanina primjenjuju se dvije različite duljine valova koje se odabiru u skladu s vršnom vrijednosti adsorpcije melanina. Dakle, instrument izračunava parametar koji je poznat kao indeks melanina na temelju podataka o adsorpciji.

## 1.8. Rezultati i statistika

### 1.8.1 Rezultati

Rezultati su prikazani u odgovarajućim mjernim jedinicama u tablicama.

1) Srednje vrijednosti izračunate su kao:

$$\bar{m} = \frac{\sum_{i=1}^{10} p_i}{10} \quad [1]$$

gdje je:

p vrijednost parametra pri analizi.

2) Standardna greška (SEM) podataka izračunata kao:

$$SEM = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (p_i^2) - \frac{(\sum_{i=1}^n p_i)^2}{n}}{n-1}}}{\sqrt{n}} \quad [2]$$

Svi izračuni napravljeni su uz primjenu lista za izračun Microsoft® Excel.

### 1.8.2. Statistička analiza

Podaci su obrađeni po t-testu Student za uparene podatke.

\*, p<0.05, značajno

\*\*, p<0.01, umjereno značajno

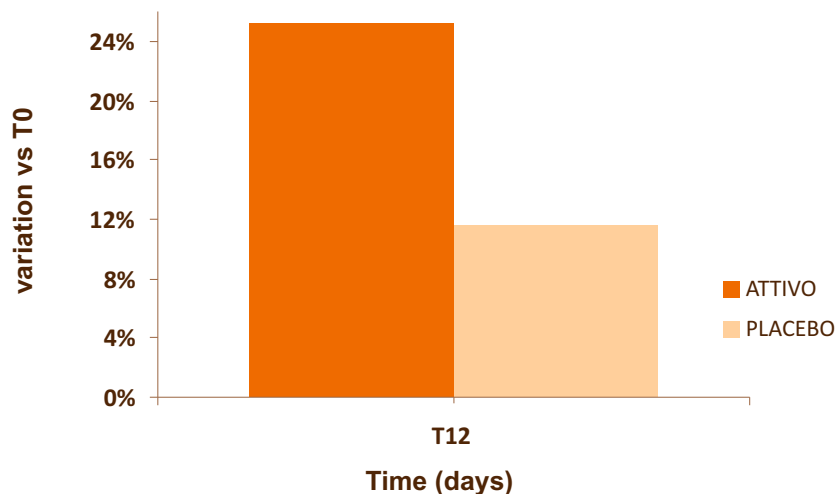
\*\*\*, p<0.001, jako značajno

# REZULTATI

**TABLICA BR. 1** – U donjoj tablici navedeni su podaci dobiveni tijekom studije, bilo vezano uz netretirano područje, bilo uz ono tretirano. Podaci su izraženi kao srednji  $\pm$  SEM.

| ATTIVO       |        |       |       |         | PLACEBO      |        |       |       |         |
|--------------|--------|-------|-------|---------|--------------|--------|-------|-------|---------|
| n            | Vol ID | T0    | T12   | T12vsT0 | n            | Vol ID | T0    | T12   | T12vsT0 |
| 01           | VOL.1  | 93    | 121   | 30,1%   | 01           | VOL.1  | 91    | 105   | 15,4%   |
| 02           | VOL.2  | 114   | 136   | 19,3%   | 02           | VOL.2  | 116   | 130   | 12,1%   |
| 03           | VOL.3  | 99    | 131   | 32,3%   | 03           | VOL.3  | 95    | 108   | 13,7%   |
| 04           | VOL.4  | 130   | 150   | 15,4%   | 04           | VOL.4  | 131   | 147   | 12,2%   |
| 05           | VOL.5  | 118   | 149   | 26,3%   | 05           | VOL.5  | 119   | 130   | 9,2%    |
| 06           | VOL.6  | 93    | 122   | 31,2%   | 06           | VOL.6  | 95    | 107   | 12,6%   |
| 07           | VOL.7  | 123   | 152   | 23,6%   | 07           | VOL.7  | 130   | 147   | 13,1%   |
| 08           | VOL.8  | 101   | 120   | 18,8%   | 08           | VOL.8  | 106   | 117   | 10,4%   |
| 09           | VOL.9  | 131   | 161   | 22,9%   | 09           | VOL.9  | 130   | 142   | 9,2%    |
| 10           | VOL.10 | 116   | 153   | 31,9%   | 10           | VOL.10 | 121   | 130   | 7,4%    |
| Media/Mean   |        | 111,8 | 139,5 | 25,2%   | Media/Mean   |        | 113,4 | 126,3 | 11,5%   |
| SEM*         |        | 4,6   | 4,8   |         | SEM*         |        | 4,9   | 5,2   |         |
| t-test vs T0 |        | 0,000 |       |         | t-test vs T0 |        | 0,000 |       |         |

**GRAF BR. 1** - U donjem grafu navedeni su podaci dobiveni tijekom studije vezano uz netretirano i tretirano područje (izvor podataka: tablica br. 1).



## Komentar

Na području tretiranom placebo doza primijenjenog zračenja znatno je utjecala na instrumentalno povećanje pigmentacije kože.

U području tretiranom aktivnim proizvodom, učinak UVA zračenja na pigmentaciju kože je veći u odnosu na onaj uočen na području tretiranom placebo proizvodom. Navedeno ukazuje na učinkovitost proizvoda pri fiziološkom procesu pospješenja foto-inducirane pigmentacije.

## Zaključci

Dobiveni podaci ukazuju na to kako kožna primjena proizvoda 013729 PRELINE RAPID BRONZ LOTTO 259612, zajedno s ponovljenim izlaganje UVA zračenju, može dovesti do statistički značajnih promjena pigmentacije kože, za razliku od rezultata dobivenih na području tretiranom placebo.

U eksperimentalnim uvjetima primijenjenim u studiji, proizvod 013729 PRELINE RAPID BRONZ LOTTO 259612 pojačava prirodnu pigmentaciju kože uslijed izlaganja UV zračenju.