

## RAPPORTO FINALE

# VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA IDRATANTE DI UN NUOVO PRODOTTO COSMETICO SU 20 VOLONTARI (TEST IN VIVO A BREVE E LUNGO TERMINE)

Dr. Stefano Todeschi<sup>1</sup>, Dr.ssa Anna Cammisa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Direttore studi clinici Abich S.r.l.; <sup>2</sup>Dermatologo, consulente Drex Pharma S.r.l., Milano.

### Scopo del lavoro

Valutazione in vivo dell'efficacia idratante a breve e lungo termine di un prodotto a base di acido ialuronico ad alto peso molecolare - Florderm Idratante XL.

### Introduzione

L'acqua è indispensabile al fisiologico funzionamento della pelle, in particolare dello strato corneo dell'epidermide, e la sua distribuzione intra-tissutale è strettamente controllata (Verdier-Sevrain and Bonte, 2007). La ritenzione idrica dell'epidermide dipende da due fattori principali: 1) agenti igroscopici naturali tra i corneociti, collettivamente indicati come fattori idratanti naturali; 2) lipidi intercellulari dello strato corneo, ordinati in maniera da costituire una barriera alla perdita d'acqua (TEWL, Trans Epidermal Water Loss), Figura 1.

Elementi morfo-funzionale molto importanti nel controllo dell'idratazione cutanea sono le "tight junctions"; o "zonula occludens"(Brandner et al., 2006; Proksch et al., 2008), aree localizzate tra due cellule le cui membrane sono strettamente associate a formare una barriera impermeabile ai fluidi, tipiche dei vertebrati (corrispondenti alle giunzioni settali degli invertebrati). Infine, in questo contesto, svolge inoltre un ruolo cruciale l'acquaporina 3 (Boury-Jamot et al., 2009), una proteina di trasporto dell'acqua e del glicerolo, a localizzazione epidermica, che attraverso tali funzioni influenza la proliferazione e differenziazione dei cheratinociti.

Il glicerolo è uno dei migliori componenti endogeni con funzione idratante. Inoltre, l'acido ialuronico, tradizionalmente considerato parte costitutiva strutturale del derma, in realtà è estremamente importante nel regolare l'equilibrio del contenuto di acqua e la funzione barriera dell'epidermide (Rawlings e Harding, 2004).

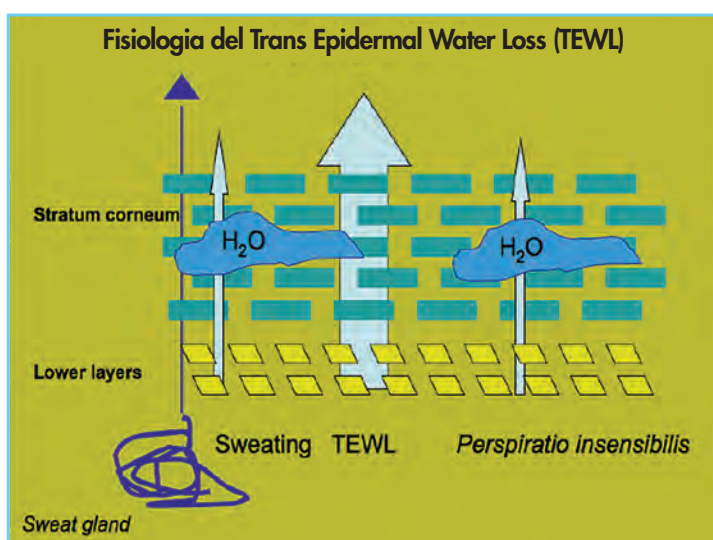


Figura 1

La corneometria è un metodo scientificamente riconosciuto per la misurazione dell'idratazione cutanea, basato sulla determinazione della capacità dello strato corneo superficiale. Come gli altri parametri biofisici cutanei, tale misurazione è dipendente da alcuni fattori fisici ambientali, quali umidità e temperatura, che devono essere strettamente controllate. Le condizioni ideali di misurazione sono 20 °C e 50% di umidità relativa. Le stagioni e il clima influenzano il livello di idratazione cutaneo, per questo in inverno l'idratazione cutanea è in media più bassa. Anche l'uso di detergenti può disidratare la pelle ed essere considerato tra i fattori che potenzialmente interferiscono con la corretta esecuzione delle misurazioni dell'idratazione cutanea.

### **Scopo dello studio**

Questo studio è stato effettuato sul prodotto in esame (Floderm Idratante XL) al fine di valutarne l'efficacia idratante a breve e lungo termine su 20 volontari sani, tramite analisi corneometrica (Corneometer® CM285) sulla superficie volare dell'avambraccio.

La valutazione prevede il confronto tra il livello medio d'idratazione dell'area analizzata misurato prima dell'inizio dello studio (T0) e quello misurato ai diversi tempi sperimentali (30, 60 e 180 minuti dopo l'applicazione e dopo 28 giorni di applicazione).

Il test è stato condotto in accordo con i principi della dichiarazione di Helsinki (Principi etici per la ricerca medica che coinvolge soggetti umani, 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013) ed in accordo con le linee guida COLIPA per la valutazione dell'efficacia di prodotti cosmetici (maggio 2008) e le Linee guida EEMCO per la valutazione della perdita d'acqua transepidermica (TEWL) e dell'idratazione cutanea.

Lo studio è stato effettuato con modalità osservazionale in aperto.

Lo studio è stato effettuato in condizioni ambientali standard, per ogni tempo di lettura, monitorando e mantenendo costanti la temperatura e l'umidità ambientali.

### **Aree cutanee valutate**

Le misurazioni corneometriche sono state rilevate in quadruplicato a livello dell'area trattata per ogni tempo sperimentale e ne è stato estrapolato il valore medio.

Le stesse misurazioni sono state effettuate anche a livello di un'area non trattata.

I punti cutanei analizzati ai diversi tempi sono stati il più possibile sovrapponibili per ciascun tempo di analisi.

### **Modalità di applicazione**

Il prodotto è stato applicato in modalità epicutanea non occlusiva in quantità pari approssimativamente a 2 mg/cm<sup>2</sup>, in accordo con le Linee Guida Colipa, massaggiando fino a completo assorbimento. La prima applicazione è stata effettuata in laboratorio, successivamente i volontari hanno applicato il prodotto a casa 2 volte al giorno.

Prima di ogni rilevazione con Corneometer® ogni volontario è stato fatto rilassare ca. 20 minuti in camera climatizzata per evitare campionamenti anomali dovuti a eccessiva sudorazione o stress.

### **Misurazione della idratazione media cutanea**

La misurazione dell'idratazione cutanea tramite Corneometer® CM285 (Courage-Khazaka GmbH, Germany) è una tecnologia largamente accettata e riconosciuta dalla ricerca scientifica biomedica "evidence based" (Couteau et al., 2006; Dal'Bel et al., 2006; Heinrich et al., 2003; Leonardi et al., 2002; Li et al., 2001). Lo strumento determina la capacità dell'epidermide, proporzionale al contenuto acquoso della stessa, ad una profondità di circa 15 µm. Questo metodo si basa sulla differenza tra la permittività elettrica relativa (spesso impropriamente definita "costante dielettrica relativa", un numero adimensionale) dell'acqua (= 81) e quella della maggior parte delle altre sostanze (<7). La sonda del Corneometer® (49 mm<sup>2</sup> di superficie) è posizionata verticalmente sulla zona di cute da sottoporre alla prova.

I valori sono espressi dallo strumento in unità arbitrarie che variano da 0 a 130. L'accuratezza delle misurazioni è ± 3%.

## Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato su 20 volontari con pelle sensibile e facilmente arrossabile di età compresa tra i 18 e 65, che sono stati valutati idonei alla partecipazione allo studio e non affetti da malattie alle aree della pelle da sottoporre al trattamento.

Prima dell'inizio dello studio ciascun volontario ha letto e firmato un documento illustrativo circa le caratteristiche dello studio (consenso informato, C.I.).

Tutti i partecipanti hanno contestualmente firmato un modulo che permette il trattamento dei dati personali, secondo la legge italiana sulla "privacy" (Testo unico sulla privacy. D.Lgs 196/2003).

## Criteri di esclusione

Sono stati applicati i seguenti criteri di esclusione:

- soggetti minorenni;
- donne in gravidanza o in fase di allattamento;
- soggetti con discromie, segni cutanei di varia natura, ivi compresi tatuaggi, cicatrici, scottature o loro esiti, in quanto possono interferire con la lettura del saggio;
- terapie farmacologiche locali o sistemiche che possano influenzare la risposta cutanea;
- segni di irritazione cutanea al sito di applicazione;
- soggetti con qualunque patologia cutanea che possa interferire con gli obiettivi del presente saggio, con particolare riferimento, ma non limitatamente, a dermatiti da contatto;
- partecipazione simultanea ad altri studi che potrebbero interferire con la valutazione del test, ovvero partecipazione precedente ad uno studio terminato senza un adeguato periodo di riposo.

Sono stati applicati i seguenti criteri per l'interruzione dello studio:

- volontari che non hanno seguito le condizioni illustrate nel documento informativo;
- volontari ai quali è subentrata una patologia di qualunque natura o che abbiano sviluppato delle condizioni che possano interferire con l'esito dello studio;
- volontari che hanno deciso di cessare la partecipazione allo studio.

## Criteri di interruzione dello studio

Dopo l'inizio dello studio, sono stati applicati i seguenti criteri di interruzione:

- volontari che hanno espresso il desiderio di uscire dallo studio;
- volontari a cui è occorsa durante lo studio una patologia o un incidente che possono interferire con l'esito dello studio;
- volontari che non hanno seguito le istruzioni presenti nel protocollo dello studio.

## Apparecchiature e materiali

Sono state utilizzate le seguenti apparecchiature e materiali:

- Multiprobe Adapter Systems MPA® (Courage-Kkazaka) equipaggiato con il Corneometer® CM285, utilizzato per la misurazione dell'idratazione della superficie cutanea;
- Termoigrometro ambientale (Courage-Khazaka GmbH - Germania).

## Risultati

Le tabelle qui sotto riportano le medie relative ai valori di idratazione espressi in unità arbitrarie sul panel di 20 volontari ai diversi tempi di analisi (Tabella 1), i valori medi di variazione percentuale dei valori di idratazione ai vari tempi sperimentali rispetto a T0 nella zona trattata e non trattata calcolati come media delle singole variazioni percentuali di ciascun volontario e il relativo valore di significatività calcolato tramite test di Student (Tabella 2).

Gli stessi dati sono rappresentati graficamente nelle figure 2, 3 e 4 tramite comparazione intra-gruppo. Le distribuzioni dei valori ottenuti nelle misurazioni ai due tempi sperimentali sono state confrontate con analisi intra-gruppo (ogni tempo sperimentale vs T0) mediante test di Student per dati appaiati.

Valori di  $p < 0.05$  sono stati considerati significativi.

**Tabella 1**

Valori medi di idratazione in UA (Unità Arbitrarie)

END POINTS	TRATTATI	NON TRATTATI
T0	44,39	46,66
T30 min	49,96	46,30
T60 min	50,95	46,17
T28 days	53,34	45,06

**Tabella 2**

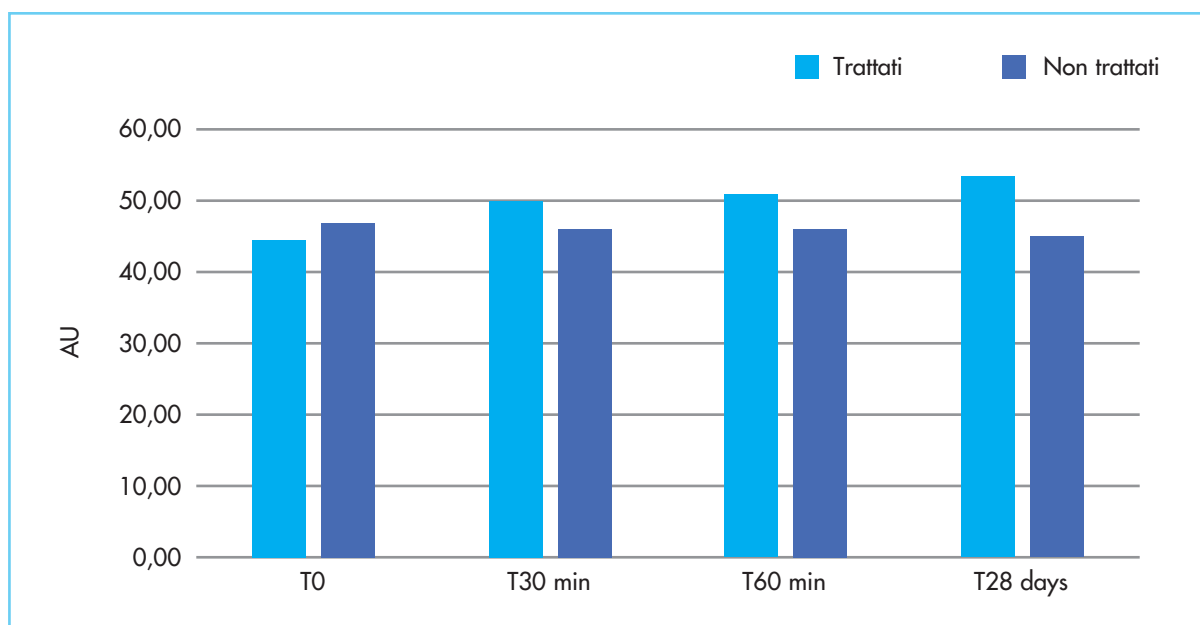
Variazione percentuale media dei valori di idratazione e il relativo valore P del Test di Student.

END POINTS	TRATTATO	NON TRATTATO	TRATTATO	NON TRATTATO
T30 vs T0	16,63%	0,86%	0,003066*	0,840386
T60 vs T0	18,89%	0,85%	0,001146*	0,785699
T180 vs T0	23,67%	1,92%	0,000052*	0,294026
T28 days vs T0	37,00%	0,58%	0,000001*	0,385300

\*Valori P relativi a variazioni statisticamente significative

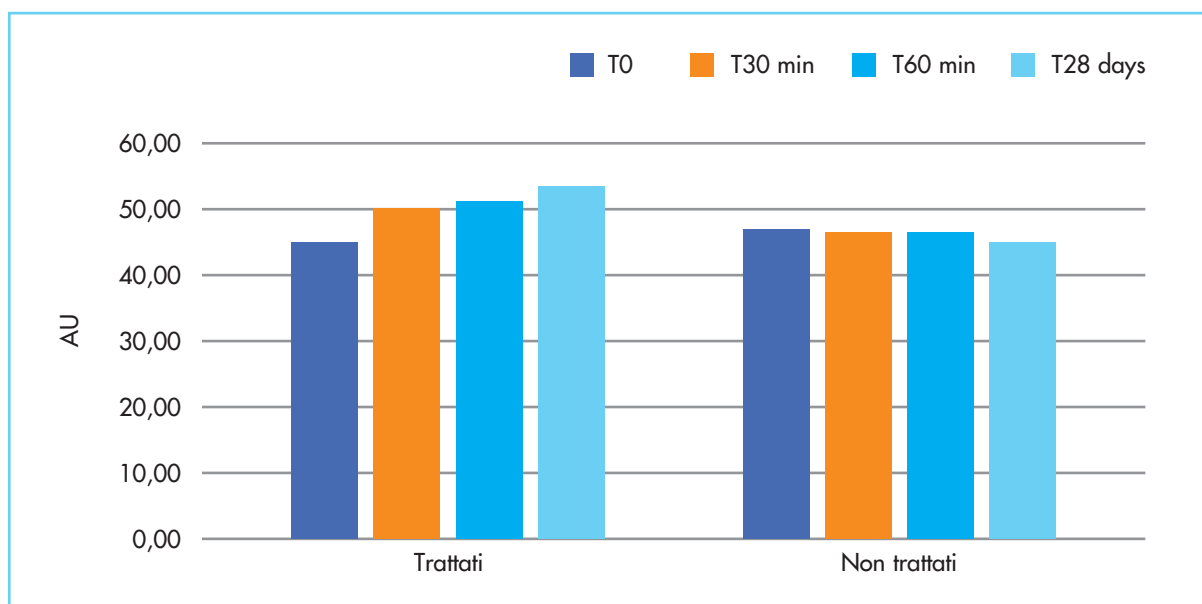
**Figura 2**

Valori medi di idratazione, espressi in UA



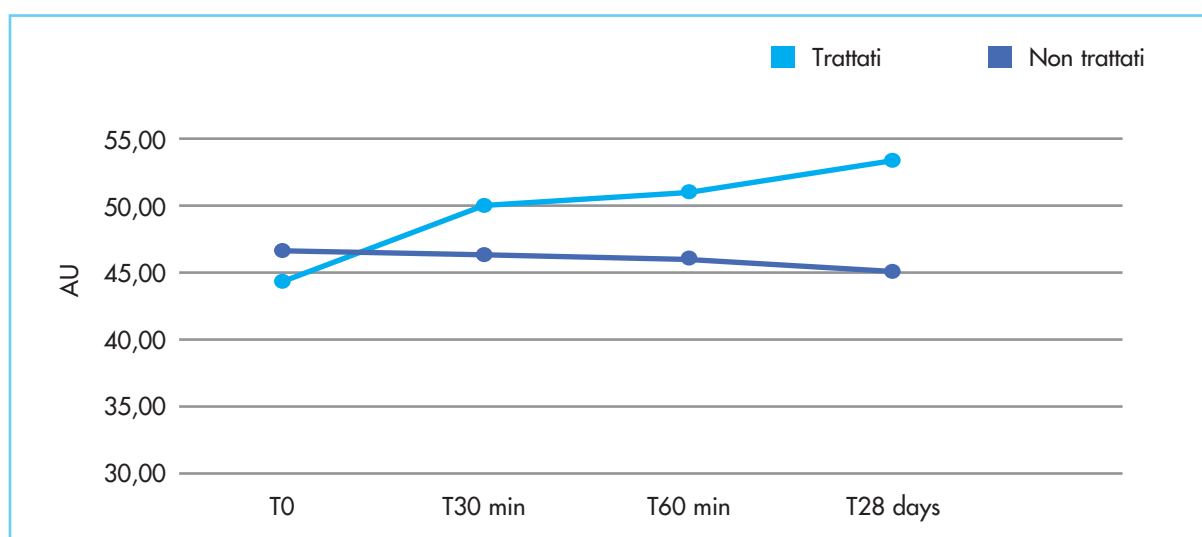
**Figura 3**

Valori medi di idratazione, espressi in UA



**Figura 4**

Variazione dell'idratazione media ai diversi tempi di osservazione



## Conclusioni

Nelle condizioni sperimentali adottate,

### FLODERM IDRATANTE XL

si è dimostrato efficace nell'aumentare l'idratazione media della cute a livello della zona trattata; in particolare il livello di idratazione cutanea è risultato mediamente aumentato di un valore pari al 16,63% dopo 30 minuti, 18,89% dopo 60 minuti e 23,67% dopo 180 minuti dall'applicazione del prodotto e del 37,00% dopo 28 giorni di applicazione rispetto al livello di idratazione basale misurato a T0. Tutte le variazioni sono risultate statisticamente significative ( $p < 0,05$ ).

A livello dell'area non trattata non sono state riscontrate variazioni statisticamente significative del livello di idratazione. La valutazione clinica ha confermato i risultati strumentali.

## Bibliografia

- "Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 2001 Mar-Apr;14(2):117-28.  
EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. Rogiers V; EEMCO Group.
- Berardesca, E.:EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Res. Technol.* 3, 126-132 (1997).
- Boury-Jamot, M., Daraspe, J., Bonte, F., Perrier, E., Schnebert, S., Dumas, M., and Verbavatz, J.M. (2009). Skin aquaporins: function in hydration, wound healing, and skin epidermis homeostasis. *Handb Exp Pharmacol*, 205-217.
- Brandner, J.M., Kief, S., Wladykowski, E., Houdek, P., and Moll, I. (2006). Tight junction proteins in the skin. *Skin Pharmacol Physiol* 19, 71-77.
- Couteau, C., Coiffard, L.J., and Sebille-Rivain, V. (2006). Influence of excipients on moisturizing effect of urea. *Drug Dev Ind Pharm* 32, 239-242.
- Dal'Belo, S.E., Gaspar, L.R., and Maia Campos, P.M. (2006). Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res Technol* 12, 241-246.
- Heinrich, U., Koop, U., Leneveu-Duchemin, M.C., Osterrieder, K., Bielfeldt, S., Chkarnat, C., Degwert, J., Hantschel, D., Jaspers, S., Nissen, H.P., et al. (2003). Multicentre comparison of skin hydration in terms of physical-, physiological- and product-dependent parameters by the capacitive method (Corneometer CM 825). *Int J Cosmet Sci* 25, 45-53.
- Leonardi, G.R., Gaspar, L.R., and Maia Campos, P.M. (2002). Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. *J Cosmet Sci* 53, 263-268.
- Li, F., Conroy, E., Visscher, M., and Wickett, R.R. (2001). The ability of electrical measurements to predict skin moisturization. I. Effects of NaCl and glycerin on short-term measurements. *J Cosmet Sci* 52, 13-22.
- Proksch, E., Brandner, J.M., and Jensen, J.M. (2008). The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol* 17, 1063-1072.
- Rawlings, A.V., and Harding, C.R. (2004). Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 17 Suppl 1, 43-48.
- Saunders, J., and Wainwright, P. (2003). Risk, Helsinki 2000 and the use of placebo in medical research. *Clin Med* 3, 435-439.
- Verdier-Sevrain, S., and Bonte, F. (2007). Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *J Cosmet Dermatol* 6, 75-82.
- Autori vari, "Manuale del cosmetologo" Tecniche Nuove, Milano 2007, pp.433-434.

## Riferimenti

[http://www.iss.it/binary/coet/cont/D\\_Elsinki\\_ita.1128333765.pdf](http://www.iss.it/binary/coet/cont/D_Elsinki_ita.1128333765.pdf): testo della Dichiarazione di Helsinki, 2013.

Consensus documents Number 4.

OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING

"Quality assurance and GLP" 26 Oct. 1999.

Consensus documents Number 5.

OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING

"Compliance of laboratory suppliers with GLP principles" 28 Sept. 2000.

Consensus documents Number 7.

OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING

"The application of to GLP principles to short term studies" 15 Sept. 1999. Consensus documents Number 8.

OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING

"The role and responsibility of the Study Director in the GLP studies" 15 Sept. 1999.

**Allegato 2**  
**Valori di idratazione in UA**

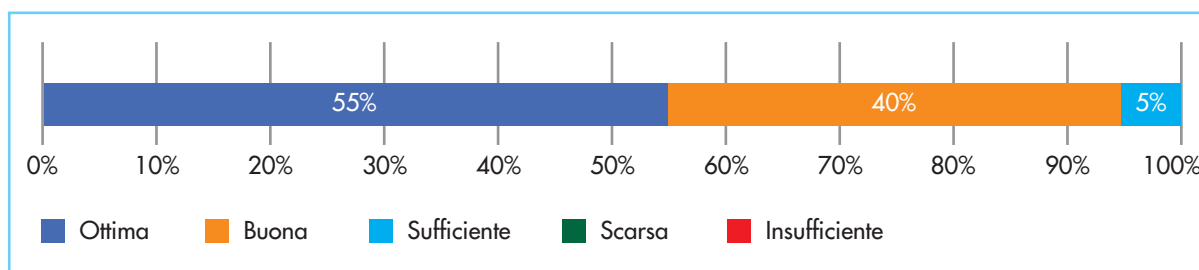
VOL CODE		T0		T30 min		T60 min		T180 min		T28 days	
		T	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T	NT
1	CRQUAT14	26,02	27,20	41,30	26,10	40,52	25,35	39,83	27,48	44,35	34,50
2	DABE206	40,73	40,33	39,23	37,33	44,82	47,35	44,10	44,05	61,93	45,92
3	RICL480	45,38	30,15	52,33	31,33	54,75	29,53	56,20	29,77	69,55	31,55
4	ANPE409	67,07	74,00	58,27	77,37	58,80	72,07	60,00	76,13	63,55	56,75
5	FIPR794	46,77	50,17	45,50	57,90	43,23	62,00	54,43	51,80	54,73	40,50
6	PABA746	55,60	53,47	52,87	58,33	48,90	50,77	54,83	37,77	55,79	39,54
7	GRTE724	49,80	68,23	53,23	42,25	53,83	44,10	53,08	52,58	65,80	54,88
8	LUDI725	55,23	61,54	57,02	57,85	55,95	54,92	58,35	50,92	68,25	62,38
9	NIAR651	31,52	31,50	49,98	41,40	47,15	31,68	35,40	29,10	51,65	29,45
10	ELDE753	29,30	33,77	41,20	32,83	43,30	38,42	41,80	33,25	54,45	39,38
11	MACA64	54,77	54,48	50,55	52,07	52,70	47,38	54,55	46,98	57,55	50,45
12	ROVA262	40,40	47,60	49,35	51,52	52,15	53,52	54,98	50,70	64,65	42,48
13	SACA38	54,20	51,85	53,10	54,73	61,10	50,57	71,55	53,88	67,50	46,65
14	ALCA376	42,35	56,82	55,23	43,83	57,35	43,52	58,65	46,55	63,98	62,20
15	DONA430	39,02	43,15	53,92	47,50	53,08	46,80	52,77	44,58	51,73	52,00
16	LUFIU18	39,65	41,02	45,75	41,15	57,28	45,40	56,97	47,70	64,20	49,90
17	ANNA749	36,80	39,02	42,85	45,33	43,55	41,23	47,90	40,45	57,15	36,55
18	ANRI569	59,38	54,18	64,17	52,95	62,20	58,20	62,13	55,38	61,94	47,98
19	VILI809	36,38	42,02	44,88	39,73	43,50	40,70	60,63	44,00	40,92	39,02
20	GEAC545	37,45	32,68	48,50	34,55	44,93	39,80	48,67	38,05	52,25	39,60



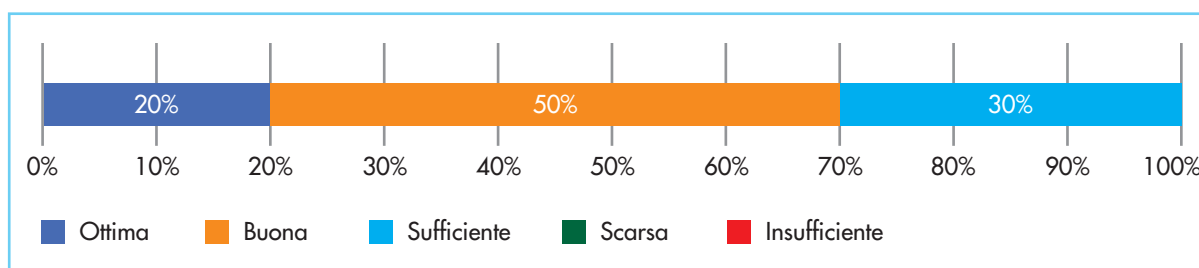
### Allegato 3 Valutazione sensoriale-psicoreologica

I 20 volontari che hanno partecipato allo studio hanno risposto a un questionario finale relativo a una valutazione soggettiva del prodotto testato. Per la rappresentazione grafica delle risposte è stata calcolata la percentuale di volontari che hanno espresso lo stesso giudizio; le domande e le relative risposte sono rappresentate di seguito sottoforma di grafici.

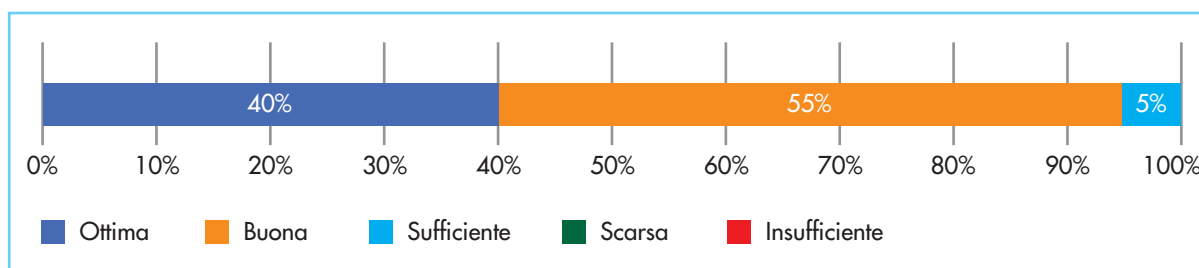
1. A suo giudizio, il prodotto testato, dopo il suo utilizzo, **migliora l'idratazione cutanea, in maniera:**



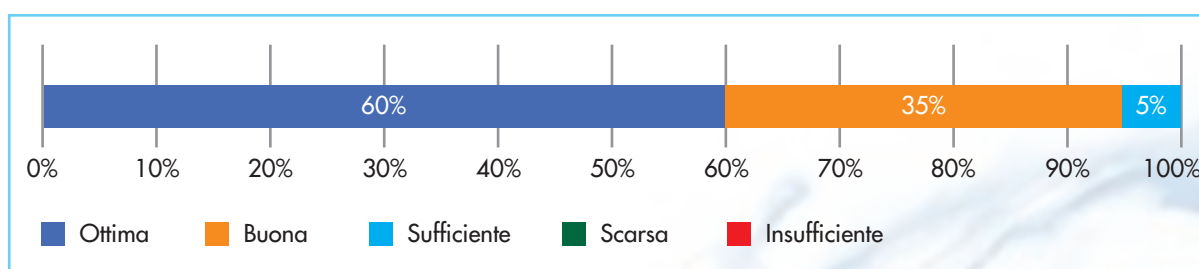
2. Dia un giudizio alla consistenza del prodotto testato:



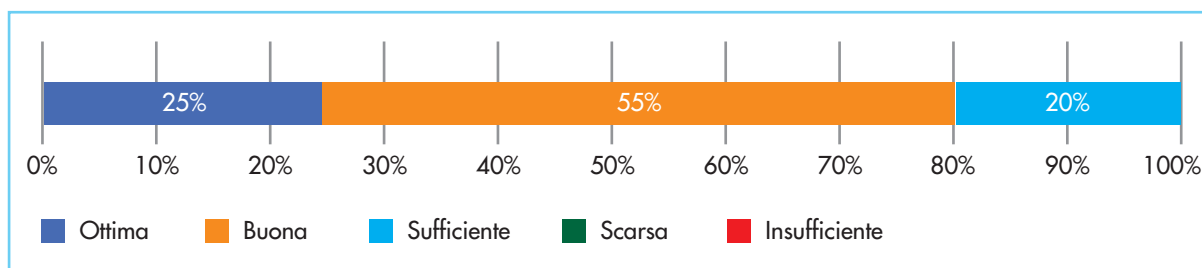
3. Dia un giudizio alla spalmabilità del prodotto testato:



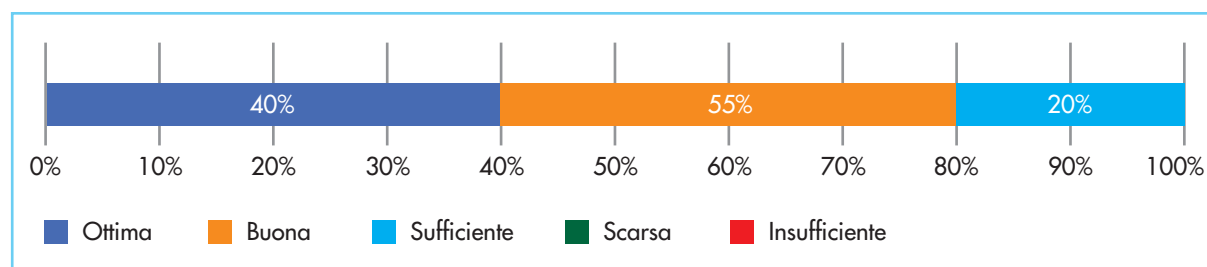
4. Dia un giudizio alla facilità di assorbimento del prodotto testato:



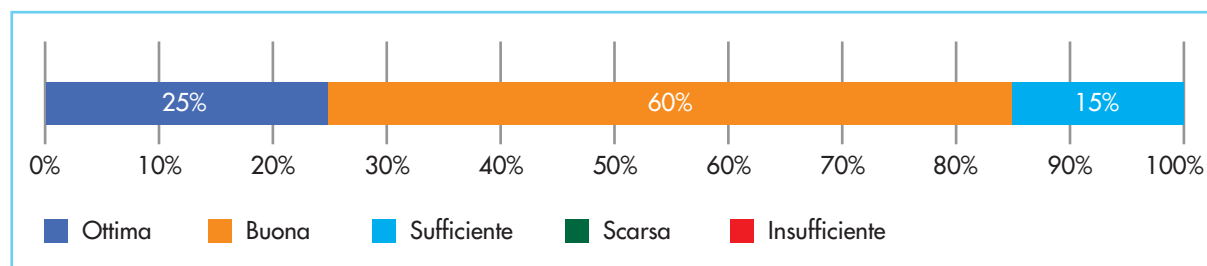
5. Dia un giudizio alla profumazione del prodotto testato:



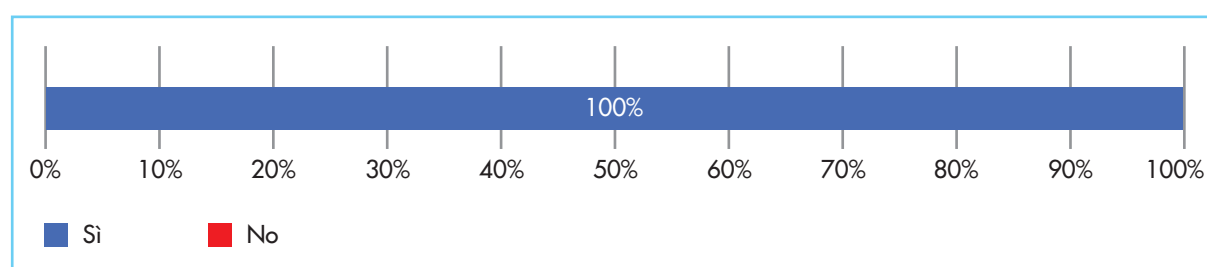
6. Dia un giudizio alla praticità di utilizzo del prodotto testato:



7. Dia un giudizio generale al prodotto testato:



8. Consiglierebbe a qualcuno di acquistare il prodotto testato?



9. A seguito dell'applicazione del prodotto ha riscontrato effetti avversi provocati dal prodotto stesso (irritazione,bruciore,rossore,disidratazione/secchezza, untuosità cutanea ecc...)?

