

Pilot *in vivo* studija mikrobioma kože tijekom korištenja kozmetičkog proizvoda

Preliminarni rezultati pilot studije mikrobioma kože metodom 16S sekvenciranja

*Ova pilot studija procjenjivala je promjene mikrobioma kože tijekom primjene kozmetičkog proizvoda korištenjem *in vivo* 16S rRNA sekvenciranja. U završnu analizu uključeno je 17 ispitanica. Rezultati su pokazali trend povećanja zastupljenosti tipičnih kožnih bakterijskih rodova, povećanja mikrobiomske raznolikosti te smanjenja međusobnih razlika u mikrobiomskim profilima nakon tretmana. Dobiveni rezultati ukazuju na potencijal mikrobiomskih analiza kao alata za praćenje interakcije između kozmetičkih formulacija i mikrobioma kože.*

Uvod

Mikrobiom kože posljednjih godina postaje važno područje istraživanja u razvoju suvremenih kozmetičkih i dermokozmetičkih formulacija. Sve je veći interes za razumijevanje kako kozmetički proizvodi djeluju ne samo na fiziološka svojstva kože, već i na mikrobiološku zajednicu koja prirodno nastanjuje površinu kože.

Mikrobiom kože predstavlja složenu zajednicu bakterija, gljivica, virusa i drugih mikroorganizama koji sudjeluju u održavanju barijerne funkcije kože, regulaciji lokalnog imunološkog odgovora te očuvanju prirodne ravnoteže kožnog mikrookruženja. Sve veći broj istraživanja pokazuje da promjene u sastavu mikrobioma mogu biti povezane s različitim stanjima kože, uključujući povećanu osjetljivost, upalne procese i narušenu funkciju kožne barijere (Grice i Segre, 2011; Smythe i sur., 2023).

Razvoj molekularne biologije i tehnologija sekvenciranja omogućio je detaljniju analizu bakterijskih zajednica kože te praćenje promjena mikrobioma tijekom vremena i nakon korištenja kozmetičkih proizvoda. Za razliku od laboratorijskih modela i *in vitro* pristupa, *in vivo* analiza omogućuje praćenje stvarnog odgovora mikrobioma izravno na ljudskoj koži tijekom korištenja proizvoda u realnim uvjetima.

Cilj pilot studije

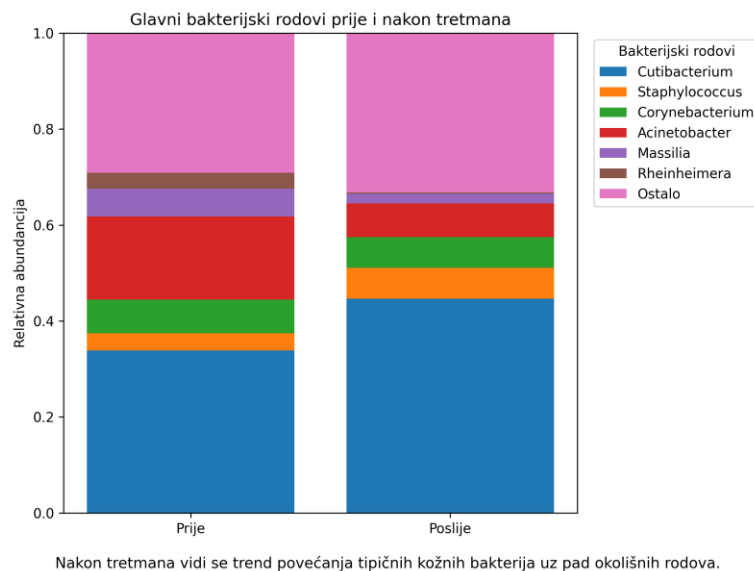
Cilj pilot studije bio je pratiti promjene bakterijskog mikrobioma kože tijekom primjene kozmetičkog proizvoda metodom 16S rRNA sekvenciranja. Metoda 16S rRNA sekvenciranja omogućuje karakterizaciju bakterijskih zajednica kože, prvenstveno na razini bakterijskih rodova, te praćenje promjena mikrobioma tijekom vremena. Studija je također imala za cilj pratiti promjene dominantnih bakterijskih rodova kože, raznolikosti mikrobioma te međusobne sličnosti mikrobiomskih profila među ispitanicama tijekom primjene kozmetičkog proizvoda.

Dizajn studije

Pilot studija provedena je na području kože lica u stvarnim uvjetima korištenja proizvoda. U početno uzorkovanje uključene su 22 ispitanice, dok je završno uzorkovanje dovršilo 19 ispitanica. Nakon kontrole kvalitete i isključenja uzoraka s niskom količinom mikrobne DNA, u završnu analizu uključeno je 17 ispitanica.

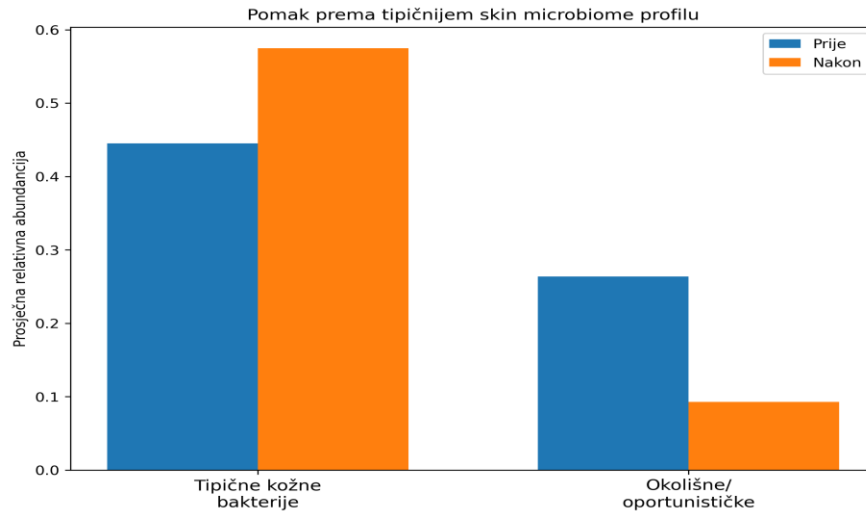
Rezultati pilot studije

Rezultati pilot studije pokazali su pomak prema većoj zastupljenosti bakterijskih rodova tipično prisutnih u fiziološki uravnoteženom mikrobiomu kože, uz istovremeno smanjenje rodova češće povezanih s okolišnim izvorima.



Slika 1. Glavni bakterijski rodovi prije i nakon tretmana

Zabilježeno je povećanje relativne zastupljenosti roda *Cutibacterium*. Rod *Cutibacterium* smatra se jednim od dominantnih članova fiziološkog mikrobioma sebaceoznih područja kože. Njegova prisutnost povezuje se s održavanjem lokalnog mikrokruženja kože kroz metabolizam lipida, proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina te kompetitivne interakcije s drugim mikroorganizmima (Rozas i sur., 2021). Povećana zastupljenost ovog roda može upućivati na pomak prema mikrobiomskom profilu češće opisanom za sebaceozna područja kože. Prije tretmana *Cutibacterium* bio je dominantan rod u 9 od 17 analiziranih uzoraka, dok je nakon tretmana postao dominantan u 14 od 17 uzoraka. Istovremeno je uočen pad relativne zastupljenosti bakterijskih rodova češće povezanih s okolišnim izvorima poput *Acinetobacter*, *Massilia* i *Rheinheimera*.



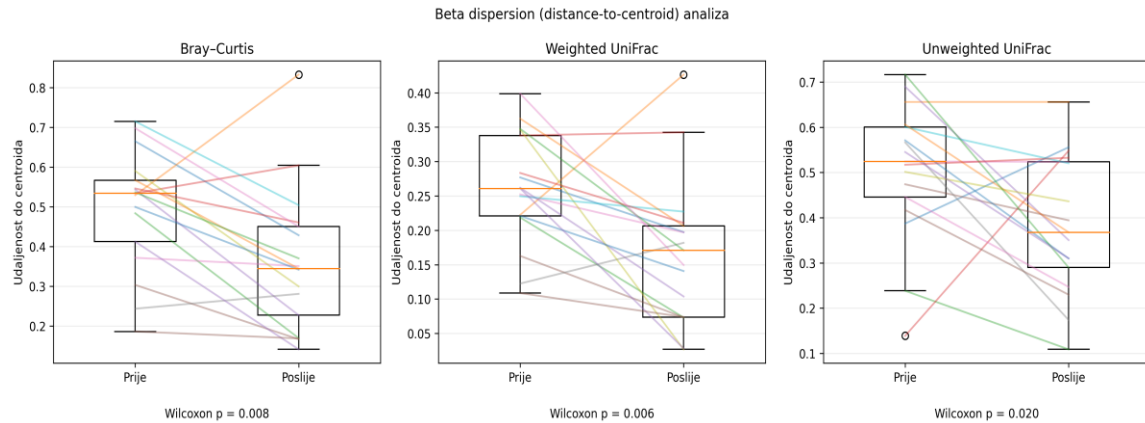
Slika 2. Rezultati su pokazali trend povećanja udjela tipičnih kožnih bakterijskih rodova uz istovremeno smanjenje relativne zastupljenosti okolišno povezanih bakterijskih rodova.

Raznolikost mikrobioma

Analiza alpha diversity pokazala je trend povećanja raznolikosti i bogatstva mikrobioma nakon tretmana. Shannon indeks pokazivao je izraženu interindividualnu varijabilnost prije tretmana, dok je nakon tretmana uočen pomak prema višim vrijednostima i ujednačenijem profilu među ispitanicima. Također je uočen trend povećanja broja opaženih bakterijskih taksona (broj opaženih taksona i Chao1), što može upućivati na bogatiji mikrobiomski profil nakon tretmana.

Beta diversity i međusobna sličnost mikrobioma

Analiza beta diversity pokazala je smanjenje međusobne raspršenosti mikrobiomskih profila nakon tretmana. BETADISPER analiza pokazala je značajno manju disperziju među uzorcima nakon tretmana korištenjem Bray–Curtis ($p = 0.008$), Weighted UniFrac ($p = 0.006$) i Unweighted UniFrac ($p = 0.020$) metrika, što sugerira veću međusobnu sličnost mikrobiomskih profila među ispitanicima nakon tretmana. Drugim riječima, mikrobiomski profili ispitanica nakon tretmana postali su međusobno sličniji.



Slika 3. Promjena raspršenosti mikrobiomskih profila

Interpretacija rezultata

Rezultati pilot studije pokazali su mjerljive promjene mikrobioma kože tijekom primjene kozmetičkog proizvoda u stvarnim uvjetima. Posebno je zanimljiv trend povećanja tipičnih kožnih bakterijskih rodova, smanjenja okolišno povezanih bakterija te veće međusobne sličnosti mikrobiomskih profila među ispitanicama. Uočeni trendovi sugeriraju da primjena proizvoda može biti povezana s promjenama sastava bakterijske zajednice kože te pomakom prema mikrobiomskom profilu obilježenom većom zastupljenošću tipičnih kožnih bakterijskih rodova. Rezultati dodatno podupiru potencijal analize mikrobioma kao alata za znanstveno praćenje interakcije između kozmetičkih formulacija i kože. S obzirom na pilot prirodu studije i ograničen broj ispitanica, rezultati se prvenstveno interpretiraju kao opaženi trendovi i preliminarni pokazatelji promjena mikrobioma tijekom tretmana.

Ograničenja pilot studije

Važno je naglasiti da se radi o pilot studiji s ograničenim brojem ispitanica. Ograničenja studije uključivala su relativno mali broj ispitanica, uzorke s niskom količinom mikrobne DNA, potencijalne čimbenike koji mogu utjecati na rezultate, povezane s rutinom čišćenja kože prije uzorkovanja. Dodatno, 16S rRNA sekvenciranje omogućuje prvenstveno taksonomsku karakterizaciju bakterijskih zajednica te ne pruža izravne informacije o funkcionalnoj aktivnosti mikroorganizama niti obuhvaća gljivičnu i virusnu komponentu mikrobioma. Za daljnju validaciju rezultata potrebne su veće i strože standardizirane studije.

Zaključak

Pilot studija pokazala je mjerljive promjene mikrobioma kože tijekom primjene kozmetičkog proizvoda korištenjem *in vivo* 16S sekvenciranja. Rezultati sugeriraju trend prema većoj zastupljenosti tipičnih kožnih bakterijskih rodova, smanjenju bakterijskih

rodova povezanih s okolišnim izvorima te većoj međusobnoj sličnosti mikrobiomskih profila nakon tretmana. Takav pristup može predstavljati vrijedan alat u razvoju i znanstvenoj evaluaciji kozmetičkih formulacija te njihovog utjecaja na mikrobiom kože.

Ova pilot studija predstavlja primjer kako se *in vivo* mikrobiomske analize mogu koristiti za znanstvenu evaluaciju kozmetičkih formulacija i praćenje njihove interakcije s mikrobiomom kože tijekom stvarne primjene.

Reference:

1. Grice EA, Segre JA. *The Skin Microbiome*. Nature Reviews Microbiology. 2011;9(4):244–253.
2. Smythe AB et al. *The Skin Microbiome: Current Landscape and Future Opportunities*. Dermatology and Therapy. 2023.
3. Rozas M et al. *Major Contributions of Cutibacterium acnes to Skin Homeostasis*. Microorganisms. 2021;9(3):628.
4. Jo JH et al. *Bacterial 16S Ribosomal RNA Gene Sequencing in Cutaneous Research*. Journal of Dermatological Science. 2016;84(3):267–273.

Pilot studija provedena je u suradnji s tvrtkom [Lively Pharm](#), hrvatskim partnerom specijaliziranim za razvoj i formuliranje kozmetičkih proizvoda.

Genom d.o.o.

2026.