

Estudo in vivo sobre a influência do fototipo na resposta da pele humana ao contacto com Lauril Sulfato de Sódio

Studying the influence of the phototype over human skin's response to Sodium Lauril Sulfate contact in vivo

Pedro Contreiras Pinto¹, Hugo Martinho^{1,2}, Luis Monteiro Rodrigues^{1,2}

¹Unidade de Dermatologia Experimental Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande 376 1700 Lisboa, Portugal.

²Lab. Fisiologia Experimental & iMed Research Institute for Medicines and Pharmaceutical Sciences, Universidade de Lisboa (Fac. Farmácia) Av. Força Armadas, 1600-049 Lisboa, Portugal.

Resumo

O Lauril Sulfato de Sódio (LSS) é um tensioactivo aniónico utilizado em muitas formas farmacêuticas, que apresenta, no entanto, algum potencial de irritação. Também por esse motivo o LSS é utilizado como agente provocador em diversos micrométodos de exploração in vivo da fisiopatologia da pele. Factores como a idade, sexo, hidratação da pele, região anatómica, afectam a resposta da pele ao contacto com LSS. O objectivo deste estudo foi estudar a influência do fototipo na recuperação da integridade da pele humana ao contacto com LSS.

Após selecção dos voluntários (n=12) com base nos seus fototipos (Grupo I : Fototipo III-IV e Grupo II: Fototipo V-VI) foi aplicado um penso contendo uma solução de LSS a 2% no antebraço, durante 24h(D0). Após remoção do penso, os voluntários foram sujeitos (D1,D2,D7) a exame dermatológico e à medição das variáveis biométricas: perda de água trans-epidémica, hidratação (por 2 métodos complementares) grau de eritema e fluxo sanguíneo local.

Os resultados mostram que existem diferenças entre os dois grupos para a PTEA, LDF e grau de eritema, sugerindo uma maior susceptibilidade para os fototipos mais claros e uma maior rapidez de recuperação para os fototipos mais elevados.

Palavras Chave: LSS; oclusão; in vivo; fototipo; biometria

Abstract

Sodium Lauryl sulfate (SLS) is an anionic surfactant used in many pharmaceutical forms, although some irritation potential to the skin is recognised. For that reason LSS is often used as a “challenger” in several micromethods to explore human in vivo pathophysiology. Factors such as age, sex, skin hydration and anatomic region are known to affect the skin's response to the SLS contact. The aim of the present work was to study the influence of the phototype in the response to the SLS exposure under controlled conditions.

Healthy volunteers (n=12) were grouped according with their phototypes (Group I : Phototype III-IV e Group II : Phototype V-VI) and submitted to a patch with a 2% solution of SLS on the volunteer's forearm for 24 hours.

After patch removal, volunteers were examined (D1,D2,D7)and several variables assessed: transepidermal water loss, hydration (2 methods) erythema and local microcirculation.

Results showed significant differences between the groups for TEWL, LDF and erythema, suggesting a higher susceptibility for whiter types and a faster recovery capacity for the darker ones.

Key-words: SLS; occlusion; in vivo; phototype; biometrics

Introdução

O lauril sulfato de sódio (LSS) é um tensioactivo aniónico muito conhecido e frequentemente utilizado como emulsionante em diversas formas farmacêuticas¹. Estes tensioactivos, apesar de essenciais em termos de formulação, encerram algum potencial de irritação da pele, fruto da sua capacidade de alteração do estrato córneo, podendo promover algumas reacções adversas^[2]. Os efeitos do LSS na pele humana dependem de vários factores como a concentração, o modo e o local de aplicação, o tempo de exposição^[2], podendo ir do simples eritema, à infiltração e erosão superficial e, em maiores concentrações, originar diferentes graus de infiltração celular inflamatória e necrose^[3,4].

A utilização de tensioactivos em formulações de uso humano e, em especial, nas que se destinam a contactar com a pele humana está bem documentada, existindo um extenso conhecimento acumulado sobre os efeitos destes compostos. Por esta razão, o LSS é também utilizado como agente “provocador” (challenger) em diversos micrométodos de exploração de alguns mecanismos in vivo, desde o desenvolvimento de novas moléculas ao estudo de alguns processos fisiopatológicos, como é o caso da ferida cutânea^[5]. Efectivamente, a exposição a diversas concentrações de LSS, normalmente aplicado sob oclusão, tem permitido uma outra visão sobre os mecanismos de irritação e sensibilidade cutânea associados a estes compostos. Tipicamente, sabe-se que, naquelas condições, e dependendo da concentração, o contacto com LSS aumentará a Perda Trans-Epidérmica de Água (PTEA), bem como o fluxo sanguíneo local, visível clinicamente pelo aparecimento de eritema^[6], de intensidade variável. Contudo, apesar da sua ampla utilização, factores como a idade, os idosos e crianças apresentam maior potencial de irritação^[7], o género, com maior susceptibilidade nas mulheres^[7], a região anatómica e, a hidratação da pele, com maior evidência de susceptibilidade na pele seca^[8] podem modificar a sua resposta, pelo que esta variabilidade intra e inter-individual à exposição ao LSS constitui ainda hoje, um dos aspectos menos esclarecidos da sua utilização. O presente estudo pretende contribuir para o esclarecimento da influência do fototipo na recuperação da integridade da pele humana in vivo quando exposta ao LSS.

Material e Métodos

Após consentimento informado, no pleno respeito de todas as normas éticas previstas pela Declaração de Helsínquia, foram seleccionados 12 voluntários saudáveis, do sexo feminino com idades compreendidas entre os 21 e 27 anos ($22.6 \pm 1,8$ anos)

Introduction

Sodium Lauril Sulfate (SLS) is a well known anionic surfactant frequently used as emulsifying agent in several pharmaceutical formulations¹. These surfactants, although essential to the formulations, present some irritative potential to the skin, due to their capacity to modify the stratum corneum, which can cause adverse reactions^[2]. The effects of SLS in human skin are dependent of several factors, such as concentration, method and application site and exposure period^[2], producing from a simple erythema, to infiltration and superficial erosion and, in higher concentrations, different degrees of inflammatory cellular infiltration and necrosis^[3,4].

The use of surfactants for topical use formulations is extensively documented, involving extensive information about the effects of these ingredients. For this reason, SLS is also used as a “provocative” (challenger) agent in several micromethods to explore several in vivo mechanisms, from new molecules, to pathophysiological processes, such as the cutaneous wound⁵. Exposure to different concentrations, usually under occlusion, brought new lights to associated cutaneous sensibility mechanisms. It is known that, depending on the concentration, contact with SLS will increase the Trans-Epidermal Water Loss (TEWL), as well as the local microcirculatory blood flow, clinically evident by different grades of erythema^[6]. However, some factors such as age (older individuals and children have an increased irritation potential^[7]), gender (larger susceptibility in women^[7]), anatomical area and skin hydration (larger susceptibility evidence in the dry skin^[8]) will modify that response. This intra and inter-individual variability to the exposure to SLS still represents today one of the less known aspects of its use. Thus, the present study intends to clarify the influence of the phototype in the response of normal skin to SLS exposure.

Material and Methods

After informed written consent, fully observing of all the ethical frame provided by the Helsinki Declaration and respective amendments, 12 healthy female volunteers were selected, with ages between 21 and 27 years ($22.6 \pm 1,8$ years) considering the clinical history and the inclusion criteria previously established. Two individual groups were created based on the phototype estimated by the Fitzpatrick scale⁹ (Group I: Phototype III and IV; Group II: Phototype V and VI).

de acordo com a história clínica e os critérios de inclusão previamente estabelecidos. Foram constituídos 2 grupos de indivíduos de acordo com o fototipo avaliado segundo a escala de Fitzpatrick⁹ (Grupo I: Fototipos III e IV; Grupo II: Fototipos V e VI).

Definiram-se duas fases experimentais (Tabela I):

A - Fase de exposição - Aplicação de 40 µl de solução aquosa de LSS a 2% sob oclusão durante 24H, num dos antebraços aleatoriamente escolhidos, enquanto o outro funcionava como controlo.

B - Fase de recuperação - Exame dermatológico com medição de variáveis biométricas após remoção do penso oclusivo (30 minutos, 24h, 48h e 1 semana).

Two experimental periods were defined: (Table I):

A - Exposure phase - Application of 40 µl of a 2% aqueous solution of SLS under occlusion for 24H, in one forearm randomly selected (the other forearm was used as control).

B - Recovery phase - Dermatological exam with measurement of the biometric variables after removal of the occlusion (30 minutes, 24H, 48H and 1 week)

Tabela I- Cronograma do estudo
Table I- Experimental Chronogram

	D0	D1	D2	D7
História clínica, consentimento informado Clinical history, informed consent	.			
Verificação dos critérios de inclusão/ exclusão Verification of inclusion /exclusion criteria	.			
Aclimatização, medição das variáveis Acclimatization, measurements
Aplicação de LSS 2% (p/v) Application of SLS at 2% (w/v)	.			
Remoção do penso oclusivo Removal of the occlusion		.		
Avaliação clínica / Exame dermatológico Clinically evaluation / Dermatological exam

As avaliações biométricas envolveram a medição da Perda Trans-epidérmica de Água (expresso em g/h.m², Tewameter TM300 C+K electronics, Alemanha), microcirculação local por Fluxometria de Laser Doppler - LDF (expresso em UA, Periflux PF5010, Perimed, Suécia), Eritema por colorimetria a* (expresso em UA, Minolta Chromameter CR-300, Minolta, Japão), Hidratação superficial epidérmica (UA, Corneometer CM 825, C+K electronics, Alemanha) e Hidratação profunda da epiderme (UA), Moisture meter D, Delfin Technologies, Finlândia). Todas as medições foram efectuadas em laboratório, com controlo permanente da humidade e da temperatura de acordo com as recomendações habituais para este tipo de estudos^{10,11,19,20}.

Para reduzir a influência da variabilidade inter-individual dos voluntários e, tendo em consideração que os valores das medições efectuadas em cada dia são

The biometric parameters evaluated were the Trans-Epidermal Loss of Water (expressed in g/h.m², Tewameter TM300 C+K electronics, Germany), local microcirculation by Laser Doppler Flowmetry - LDF (expressed in AU, Periflux PF5010, Perimed, Sweden), Erythema by colorimetry - a* (expressed in AU, Minolta Chromameter CR-300, Minolta, Japan), superficial hydration (AU, Corneometer CM 825, C+K electronics, Germany) and deep hydration (AU, Moisture meter D, Delfin Technologies, Finland). All measurements were performed in a laboratory with permanent control of the relative humidity and temperature in agreement with the usual recommendations for this studies^{10,11,19,20}.

To reduce the influence of the inter-individual variability and, considering that the measured values obtained in each day are influenced by several factors,

influenciados por diversos factores, o valor obtido na medição da zona de aplicação foi dividido pelo valor do controlo. Deste modo, considera-se a unidade (1) como o valor base, pelo que acima deste valor teremos um aumento da variável e abaixo deste valor uma diminuição da mesma.

O tratamento dos dados envolveu estatística descritiva (MS Excel) e a utilização de testes comparativos não paramétricos para dados independentes (Teste de Mann-Whitney) através do SPSS 13.0. A correlação entre as variáveis foi estudada também através de testes não paramétricos (correlação de Spearman). O nível de confiança adoptado foi de 95%.

Resultados e Discussão

Os diversos resultados recolhidos para os fototipos encontram-se sistematizados na tabela II.

the data obtained in the application area was divided by the value of the control area. Therefore, the basal value is “1”. Above this value there is an increase and, below , there is a decrease of the variable.

Statistical treatment involved descriptive statistics (MS Excel) and the use of non parametric comparative tests for independent data (Mann-Whitney test) through SPSS 13.0. The correlation among variables was also studied through non parametric tests (Spearman correlation). The adopted confidence level was 95%.

Results and Discussion

The different results obtained for the phototypes are summarized in table II.

Tabela II- Resultados para o fototipo III/IV (grupo I) e V/VI (grupo II) durante o decorrer da avaliação

(*: p < 0,05; ns: não significativo)

Table II- Results of phototype III/IV (group I) and V/VI (group II) during the (*: p < 0,05; ns: non significant)

	PTEA TEWL (g/h.m ²)		Hidratação Hydration Corneometre r CM 825 PC® (UA)		Hidratação Profunda Deep Hydration Moisture Meter -D® (UA)		Eritema (a*) Erythema (a*) (UA)		LDF (UA)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
D0	9.76 ±0.01	8.68 ±1.65 *	37.17 ± 6.05	35.83 ±9.5 4 (ns)	24.78 ±3.79	23.68 ±4.16 (ns)	6.41 ±2.89	4.35 ±0.41 (ns)	8.67 ±0.65	10.25 ±1.44 (ns)
D1	40.74 ±11.0 1	45.05 ±12.09 (ns)	48.17 ± 7.57	43.17 ±3.8 7 (ns)	29.55 ±4.78	27.15 ±4.08 (ns)	40.34 ±29.9 7	10.87 ±4.85 *	11.45 ±1.48	11.38 ±1.01 *
D2	34.36 ±19.4 6	21.24 ±5.38 (ns)	41.83 ± 5.71	40.67 ±7.9 9 (ns)	31.73 ±5.51	26.37 ±5.56 (ns)	53.39 ±41.0 1	16.01 ±9.84 *	12.06 ±1.90	12.23 ±1.72 (ns)
D7	17.67 ±4.49	10.93 ±2.10 (ns)	27.5 ±10. 97	28.83 ±7.2 5 (ns)	24.45 ± 3.56	24.4 ±3.77 (ns)	29.06 ±32.1 4	7.44 ±1.11 *	10.73 ±1.89	11.00 ±1.14 (ns)

A evolução das diferentes variáveis após normalização encontra-se resumida nas Figuras 1 a 5.

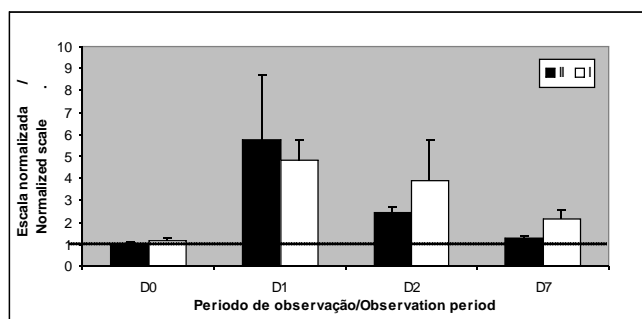


Figura 1- Representação gráfica da evolução da PTEA nos dois fototipos. Os valores foram previamente normalizados (ver texto), logo “1” corresponde à linha basal de referência. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* p<0,05).

Figure 2- Graphical representation of the evolution of the TEWL in both phototypes. The values were previously normalized (see text). The value “1” is the basal reference line The significance level is also presented (* p<0,05).

A PTEA é um dos meios mais utilizados na quantificação da barreira epidérmica, o que lhe confere um enorme potencial de aplicabilidade em biologia cutânea, incluindo como indicador da recuperação e da cicatrização, como se encontra bem documentado^[12-14]. O comprometimento da barreira epidérmica traduz-se por um aumento da PTEA, tanto mais evidente quanto maior for o grau de agressão ou perda da epiderme, diminuindo o seu valor progressivamente, com o processo de cicatrização^[14]. Nesta situação a PTEA parece aumentar devido a uma modificação da estrutura ao nível do estrato córneo, o que torna a pele mais permeável à saída de água. À medida que o processo de recuperação/reparação evolui existe uma diminuição da permeabilidade à água e consequentemente uma menor PTEA. Alguns estudos recentes sugerem mesmo que o aumento do valor de PTEA não se relaciona apenas com a alteração do estrato córneo, mas também com a hiper-hidratação provavelmente devida à desorganização das camadas lípidicas^[21]. Após a utilização do LSS os valores de PTEA aumentaram de forma semelhante em ambos os grupos (Figura 1), no entanto ao longo da fase de recuperação observa-se que os indivíduos do fototipo V/VI regressam mais rapidamente para valores próximo dos basais (D0) ao fim de sete dias, indicando uma maior capacidade de reparação e uma possível dependência da resposta do LSS do factor fototipo.

TEWL is one of the most popular used variables to quantify epidermal barrier. It presents an enormous applicability potential in cutaneous biology, and is a well documented recovery predictor^[12-14]. The epidermal barrier Injury evokes a TEWL rise that is directly proportional to the aggression severity, and tends to progressively decrease with the cicatrization process^[14]. TEWL seems to increase due to a modification in the structure of the stratum corneum that leaves the skin more permeable to water. As the healing/recovery process evolves there is a decrease in the water permeability and consequently a reduction in TEWL. Recent studies suggest that the increase in TEWL is also related with the hyperhydration state induced by SLS, probably due to disorganization of the lipidic layers^[21]. After SLS, TEWL values increased similarly in both groups (Figure 1). However, during the recovery phase it can be observed that individuals with phototypes V/VI reach basal values (D0), at the end of seven days, indicating a higher repairing capacity and a possible dependence of the response to SLS with phototype.

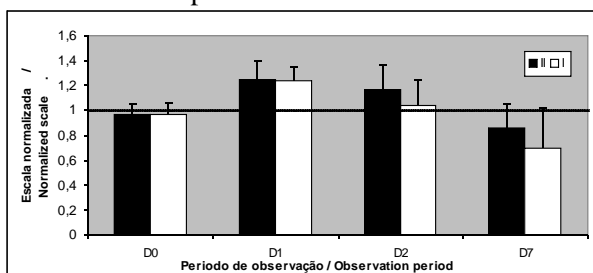


Figura 2- Representação gráfica da evolução local da hidratação determinada por corneometria nos dois fototipos. Os valores foram previamente normalizados (ver texto), logo “1” corresponde à linha basal de referência. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* $p < 0,05$).

Figure 2- Graphical representation of the evolution of the local hydration obtained by corneometry in both phototypes. The values were previously normalized (see text). The value “1” is the basal reference line The significance level is also presented (* $p < 0,05$).

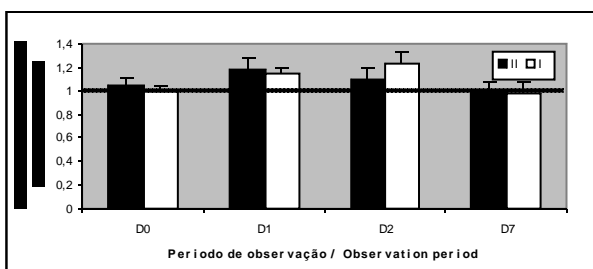


Figura 3- Representação gráfica da evolução da hidratação profunda pelo Moisture Meter D® nos dois fototipos. Os valores foram previamente normalizados (ver texto), logo “1” corresponde à linha basal de referência. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* $p < 0,05$).

Figure 3 - Graphical representation of the evolution of the deep hydration obtained by Moisture Meter D® in both phototypes. The values were previously normalized (see text). The value “1” is the basal reference line The significance level is also presented (* $p < 0,05$).

Em relação à hidratação epidérmica, a exposição ao LSS foi avaliada através de dois métodos, a resposta superficial obtida através da Corneometria e a resposta profunda obtida através da medição da constante dielétrica da pele e do tecido subcutâneo, uma grandeza física adimensional e directamente proporcional à quantidade de água contida no tecido. Verifica-se que existe uma variação mais evidente na resposta superficial, sugerindo uma alteração na integridade da barreira cutânea e uma modificação na coesão inter-corneocitária que terá promovido o aumento do conteúdo em água do estrato córneo (Figura 2). A resposta das camadas mais profundas é menos evidente (Figura 3), o que indicia uma menor alteração deste espaço. Em relação às diferenças nos fototipos, a evolução das duas variáveis é estatisticamente semelhante, no entanto verifica-se uma maior variação final (D7) da hidratação superficial dos indivíduos com fototipo mais baixo, que está de acordo com a literatura^[16].

Regarding epidermal hydration, exposure to SLS was evaluated in two different perspectives: superficial response obtained through Corneometry and deeper response obtained by a different system, although based on similar biophysical principles; the dielectric constant is a dimensionless variable, which is directly proportional to the amount of water contained in the tissue.

Following SLS there is an obvious variation in the superficial water content, suggesting a modification in the integrity of the cutaneous barrier and a modification in the inter-corneocyte cohesion that promote the increase of the water on stratum corneum (Figure 2). Deeper there is no similar evidence suggesting that it is mainly a superficial phenomena. In both phototypes evolution of these variables is statistically similar, but a wider final variation is observed (D7) on the superficial hydration with whiter phototypes. This finding is in agreement with what is described in the literature^[16].

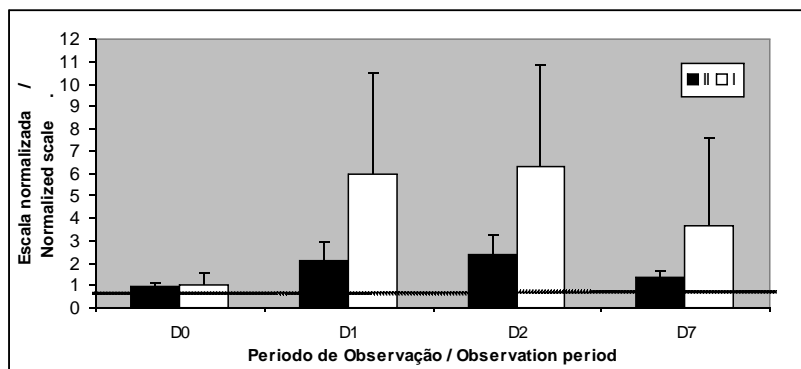


Figura 4- Representação gráfica da evolução da microcirculação local através de fluxometria Laser Doppler nos dois fototipos. Os valores foram previamente normalizados (ver texto), logo “1” corresponde à linha basal de referência. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* $p < 0,05$).

Figure 4- Graphical representation of the evolution of local microcirculation obtained through Laser Doppler Flowmetry on both phototypes. The values were previously normalized (see text). The value “1” is the basal reference line. The significance level is also presented (* $p < 0,05$).

As variações de fluxo sanguíneo local (microcirculação) são também um importante indicador na caracterização da recuperação da pele face a qualquer agressão, uma vez que o restabelecimento da microcirculação local é fundamental para a recuperação da barreira cutânea^[14,17]. A análise dos resultados do fluxo de sangue local (Figura 4) demonstra um aumento estatisticamente significativo no Grupo I quando comparado com o Grupo II. Esta alteração parece indicar uma resposta de magnitude diferente ao LSS para os indivíduos de fototipos mais claros, os quais evidenciam uma recuperação mais lenta.

Local blood flow variation (LDF) is also an important indicator of skin recovery to any aggression, since the re-establishment of the local microcirculation is fundamental for the recovery of the cutaneous barrier^[14,17]. LDF results (Figure 4) demonstrates a statistically significant increase in Group I when compared with Group II. This seems to indicate a different response to SLS and a slow recovery rate in the whiter phototype group.

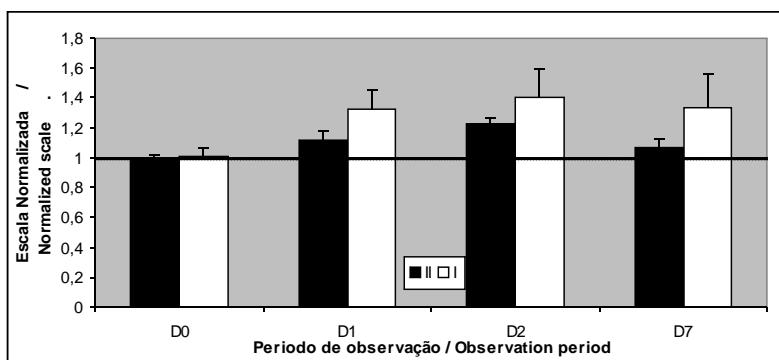


Figura 5- Representação gráfica da evolução do grau de eritema (a*) por colorimetria nos dois fototipos. Os valores foram previamente normalizados (ver texto), logo “1” corresponde à linha basal de referência. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* p<0,05).

Figure 5- Graphical representation of the Erythema (a*) by colorimetry on both phototypes. The values were previously normalized (see text). The value “1” is the basal reference line. The significance level is also presented (* p<0,05).

A variação da cor da pele, relacionada com o rubor (eritema) associado à reacção irritativa local avaliada por colorimetria, evidencia a redução desta variável em ambos os grupos a partir de D1 (Figura 5). Existem contudo, diferenças estatisticamente significativas em relação ao fototipo, sugerindo que indivíduos com fototipos mais claros parecem desenvolver uma reacção mais precoce e mais exuberante, que os indivíduos com pele mais escura.

Colorimetric analysis is justified to evaluate the erythema associated to a local irritative reaction. It is interesting to note the reduction of a* variable in both groups starting from D1 (Figure 5). There are statistically significant differences between groups, suggesting that individuals with wither phototypes develop an early and more exuberant skin reaction than individuals with darker skin.

Foram também procuradas as relações mais prováveis entre as variáveis, uma vez que desta forma se poderia confirmar os pressupostos que estariam na base das alterações observadas. As correlações detectadas foram PTEA-LDF (Figura 6), uma vez que a existência de água nas camadas superficiais da pele estará dependente de um fluxo local de sangue e a correlação LDF-a* (Figura 7), uma vez que a resposta inflamatória ao depender do fluxo de sangue local, terá uma tradução na cor da pele.

The most probable relationships among variables were also studied, in order to confirm the initial hypothesis on the basis of the observed changes. TEWL seems to be correlated to LDF (Figure 6), since the existence of water in the superficial layers of the skin is also influenced by the local blood flow. LDF seems to be correlated with a* (Figure 7), since inflammatory response is dependent on the local blood flow which have an impact in the skin color.

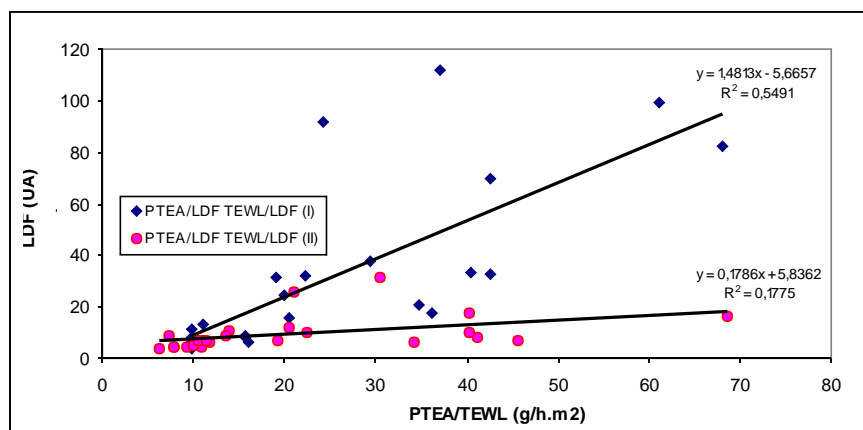


Figura 6- Representação gráfica da correlação entre os valores de PTEA (g/h.m2) e de fluxo sanguíneo local ou LDF (UA's) para os dois fototipos em estudo, utilizando a correlação de Spearman com um nível de confiança de 95% (* p < 0,05).

Figure 6- Graphical representation of the correlation between TEWL (g/h.m2) and local blood flow LDF (AU) on both

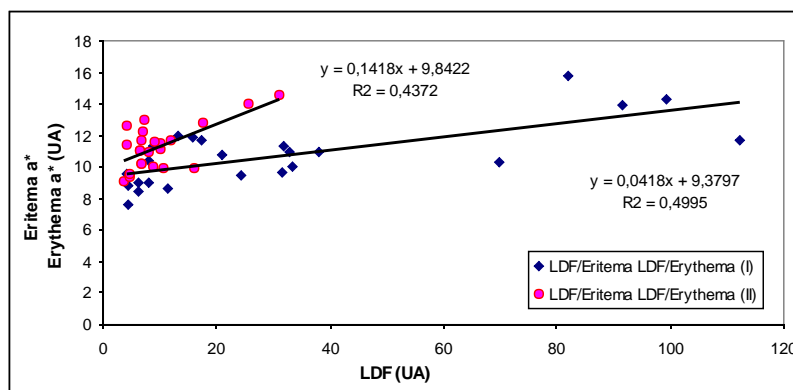


Figura 7- Representação gráfica da correlação entre os valores de fluxo sanguíneo local ou LDF (BPU's) e do grau de eritema (a*) para os dois fototipos em estudo, utilizando a correlação de Spearman com um nível de confiança de 95% (* p < 0,05).

Figure 7- Graphical representation of the correlation between local blood flow LDF (AU) and Erythema (a*) on both

Estas relações mostraram-se estatisticamente significativas, embora os coeficientes de correlação sejam baixos, o que pode ser justificado pelo reduzido número de voluntários envolvidos e pela dispersão da amostra. Nota-se, contudo que os voluntários com fototipos mais claros apresentam uma correlação bastante elevada entre a PTEA e o LDF, o que concorda com a maior alteração na função de barreira e a maior resposta local observadas. De igual modo, as correlações obtidas com estes indivíduos são também aquelas que apresentam valores de R2 mais elevados, evidenciando uma maior susceptibilidade da pele mais clara à exposição ao LSS e, corroborando resultados de estudos anteriores^[16,23,24].

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem que o fototipo influencia determinantemente a variabilidade da resposta da pele humana ao contacto com o LSS, com evidência de maior susceptibilidade dos fototipos mais baixos. Contudo, estes devem ser confirmados não apenas pelo aumento do número de voluntários estudados como pela comparação com outros fototipos mais extremos.

Although these correlations are statistically significant, the correlation coefficients are low, which may be justified by the reduced number of volunteers and by data dispersion. However, it is clear that volunteers with whiter phototypes present a higher correlation TEWL-LDF, compatible with a more severe compromise of the barrier function and a clear local response. Similarly, obtained correlations for these individuals also present higher R2 values, suggesting a larger susceptibility of whiter phototypes to SLS exposure corroborating similar conclusions from previous studies^[16,23,24].

Conclusion

Results obtained under these circumstances show that the phototype influences the of the human skin response variability to SLS contact, with evidence of an increased susceptibility for the whiter phototypes. Nevertheless these studies, and results, must be complemented by approaching a larger number of volunteers and comparison with more extreme phototypes.