

Avaliação da eficácia de um creme contendo ureia na função de barreira cutânea

Assessment of the impact of a cream containing urea in skin barrier function

Catarina Rosado¹, Ana Lourenço¹, Luis Monteiro Rodrigues²

¹Unidade de Dermatologia Experimental, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande, 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

²Laboratório de Fisiologia Experimental, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. Prof. Gama Pinto 1649-019 Lisboa - Portugal

e-mail: Catarina Rosado, p1657@professores.ulusofona.pt

Resumo

Os modelos in vivo de estudo da lesão cutânea com Lauril Sulfato de Sódio (LSS), são amplamente utilizados para avaliar a barreira cutânea e para a determinação da eficácia dos cremes que visam melhorar esta propriedade. O objectivo deste trabalho foi aplicar este modelo no estudo do impacto da aplicação de um creme contendo ureia.

14 voluntárias saudáveis aplicaram uma formulação durante 15 dias, 2x por dia num site randomizado da perna. Aplicou-se, sob oclusão, LSS a 2,5% durante 24h no site tratado e noutro não tratado. Fez-se adicionalmente oclusão num site não tratado, o controlo. Mediram-se os parâmetros Perda Transepidermica de Água (PTEA), eritema, hidratação superficial e profunda nestes sites e num site que proporciona as variáveis basais.

Os resultados obtidos indicam que a aplicação da formulação provoca alterações positivas na barreira cutânea. Estas são particularmente evidenciadas através das medições de PTEA, sendo menos evidentes nas outras variáveis medidas. O estudo evidencia influência positiva do hidratante na função de protecção da barreira cutânea, protegendo a pele do contacto com uma substância irritante

Palavras chave: Barreira cutânea; LSS; Creme hidratante.

Abstract

In vivo models using sodium lauryl sulphate (SLS) to study cutaneous lesion are widely employed in the assessment of skin barrier function and to establish the efficacy of formulations that aim to improve it. The main purpose of this work was to apply such a model to investigate the impact of treating the skin with a cream containing urea.

Fourteen healthy volunteers participated in this study and were instructed to apply a formulation for 2 weeks, twice daily, to a randomized site in the lower leg. A 2.5% aqueous solution of SLS was applied under occlusion to an untreated site and to the site treated with cream. The adhesive patch used to apply the SLS solution was applied to a third site. Fifteen minutes after removal of the adhesives transepidermal water loss, erythema, superficial and deep hydration were measured in all sites.

The results obtained in the study indicate that skin treatment for 2 weeks with the cream causes a significant improvement in the cutaneous barrier. This effect is especially evident in the TEWL data. The current work indicates that the moisturizer has the capacity to influence positively the cutaneous barrier function, and protect the skin from the contact with an irritant.

Key words: Skin barrier; SLS; Moisturizer

Recebido em 16/09/2008

Aceite em 01/10/2008

Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2008; (5) 2: 166-173

Versão electrónica: <http://revistasaude.ulusofona.pt>

Introdution

O estrato córneo (SC) é a interface entre o corpo e o meio ambiente, sendo a sua função crucial constituir uma camada impermeável à entrada de ameaças exógenas e contra a perda de material endógeno. Para a manutenção desta impermeabilidade contribuem lípidos como as ceramidas e a constituição única das células que formam esta camada da epiderme – os corneócitos ^[1].

São inúmeras as patologias cutâneas e os produtos de utilização doméstica que contribuem para a diminuição da eficácia da barreira cutânea. É corrente o recurso a produtos cosméticos para restabelecer esta capacidade ou prevenir a sua perda. Estes contêm frequentemente emolientes que formam um filme impermeável ao contacto com substâncias nocivas. No entanto, podem ser encontradas na literatura referências à capacidade de reforçar mas também enfraquecer a função de barreira cutânea exibida por formulações cosméticas, bem como de influenciar a sua recuperação ^[2-4].

O desenvolvimento de modelos in vivo de estudo da lesão cutânea, em animais ^[5, 6] ou humanos ^[7, 8] tem sido de grande importância para a determinação da eficácia dos cremes barreira. Os modelos de lesão com Lauril Sulfato de Sódio (LSS), em concentrações entre 0,25-10%, têm sido amplamente utilizados, produzindo uma vasta informação sobre a dermatotoxicidade deste composto, bem como os mecanismos envolvidos nas alterações de integridade da pele assim induzidas ^[9-13]. O LSS é um tensioactivo aniónico muito conhecido que faz parte da composição de diversas formas farmacêuticas e cosméticas ^[14]. Este influencia a permeação transcutânea, mas é irritante para a pele ^[15, 16], causando edema e alterações na queratina. Os tensioactivos aniónicos reduzem particularmente a resistência da camada córnea por alteração das hélices da queratina ^[17] e, adicionalmente, por removerem os lípidos que o constituem ^[18]. Está descrito na literatura, que a exposição a diversas concentrações de LSS, normalmente aplicado sob oclusão, causa aumento da Perda Trans-Epidérmica de Água (PTEA), bem como do fluxo sanguíneo local, visível clinicamente pelo aparecimento de eritema, de intensidade variável ^[19].

O objectivo deste trabalho de investigação é executar um estudo sobre a eficácia apresentada por um creme hidratante contendo ureia (Kératosane15©) como protector da barreira cutânea. Esta acção foi investigada através da aplicação de uma substância modelo irritante (o LSS) seguida da avaliação de 4 variáveis cutâneas diferentes: Perda Transepidérmica de Água (PTEA), eritema, hidratação superficial e profunda.

Introduction

The stratum corneum is the interface between the body and the environment, and it performs the crucial task of maintaining an impermeable barrier to exogenous threats, as well as to the loss of endogenous materials. The main contribution to such an impermeability comes from the unique constitution of the cells that form this layer of the epidermis- the corneocytes- and from lipids such as the ceramides ^[1].

There are numerous pathologies and household products that cause impairment of the cutaneous barrier. The use of cosmetics is a frequent strategy to restore and avert the loss of this skin function. These normally contain emollients that form an impermeable film that prevents contact with harmful substances. Nevertheless, there are several references in the literature to the ability exhibited by cosmetic formulations to improve but also weaken barrier function ^[2-4]. The development of animal ^[5, 6] or human ^[7, 8] in vivo models to study cutaneous lesion, has been crucial to establish the efficacy of barrier creams. Models that employ aqueous solutions of sodium lauryl sulphate, in concentrations ranging from 0.25% to 10%, have been widely used and have produced vast information on the dermatotoxicity of such a compound, as well as on the mechanisms that explain the loss of skin integrity ^[9-13]. SLS is a well known anionic surfactant that is part of the composition of various pharmaceutical and cosmetic formulations ^[14]. It is a penetration enhancer and a skin irritant ^[15, 16], causing oedema and changes to the keratin. Anionic surfactants weaken the corneal layer by changing the keratin helix structure ^[17] and by removing lipids ^[18]. There are references in the literature stating that exposure to different concentration of SLS causes an increase in transepidermal water loss (TEWL) and of local blood flow, which becomes visually apparent as erythema of variable intensity ^[19].

The purpose of this work is to assess the efficacy of a cream containing urea (Kératosane15©) in protecting the skin barrier. Such action was investigated through the application of a model irritant (SLS), followed by measurements of 4 different cutaneous variables: TEWL, erythema, superficial and deep hydration.

Materiais e métodos

O estudo realizou-se em 14 voluntários saudáveis do sexo feminino com idades compreendidas entre os 22 e os 51 anos (idade média de $28,27 \pm 13,7$ anos), que foram informadas da natureza do estudo e dos procedimentos envolvidos. O trabalho foi desenvolvido em conformidade com a Declaração de Helsínquia e suas alterações posteriores. Por razões práticas, o estudo foi inteiramente conduzido na perna das voluntárias.

Neste trabalho experimental foi utilizada uma formulação comercialmente disponível, creme hidratante contendo ureia (Kératosane15©, Uriage, França). O agente provocador da função de barreira foi uma solução aquosa a 2,5% de Laurilsulfato de Sódio (LSS) (Texapon K12, J. M. Vaz Pereira, Lda, Lisboa, Portugal) aplicado sob oclusão durante 24h conforme metodologias previamente publicadas^[11,13].

Na perna de cada voluntária foram seleccionados 4 sites de forma randomizada: 1) site tratado com creme e exposto ao LSS; 2) site não tratado mas exposto ao tensioactivo; 3) site que apenas foi submetido à oclusão durante 24h; 4) site controlo. Numa primeira fase, fase de protecção, as voluntárias foram instruídas a aplicar o creme durante 15 dias, 2 vezes por dia, no site designado por 1). Na fase de provocação, aplicou-se papel de filtro de 11mm de diâmetro saturado em LSS utilizando os adesivos oclusivos Finn Chamber® (Epitest Ltd Oy, Tuusula, Finlândia) durante 24h aos sites 1) e 2). Ao site 3) apenas foi aplicada a câmara adesiva oclusiva. No fim deste período, foram retirados os adesivos e, após uma pausa de 15 minutos, mediram-se os parâmetros de avaliação do impacto na função de barreira nos sites 1) a 4). A hidratação superficial e profunda foram medidas respectivamente com MoistureMeter SC e MoistureMeter D (sonda L50) (Delfin, Kuopio, Finlândia). As alterações na coloração da pele foram avaliadas com um colorímetro tri-estimular Chromameter CR-300 (Minolta Camera Co, Ltd, Osaka, Japão). Todas as medições foram feitas utilizando o sistema CIE Lab. Uma vez que o parâmetro a^* reflecte a cromaticidade vermelha, este foi utilizado para quantificar o eritema. A perda transepidérmica de água (PTEA) foi medida com o evedorímetro Tewameter TM 300 (Courage and Khazaka, Colónia, Alemanha) de acordo com guidelines previamente publicadas^[20].

Com excepção da PTEA, todos os parâmetros foram medidos em triplicado para cada site. As medições efectuaram-se em condições controladas de temperatura ($24,36 \pm 1,34$ °C) e humidade relativa ($51,74 \pm 4,48\%$).

Para a análise dos resultados foi utilizada estatística não paramétrica (teste de Wilcoxon) e um nível de significância de 0,05.

Materials and Methods

The study was conducted in 14 healthy volunteers aged between 22 and 51 years old (mean age 28.27 ± 13.7 years), that were fully informed of the purpose of the study and of the procedures involved. The work was developed in accordance to the Helsinki Declaration and its latest alterations. For practical reasons, the entire study was conducted in the lower leg of the volunteers.

A commercially available formulation was used in this investigation, the moisturizer containing urea Kératosane15© (Uriage, France). The challenger of the cutaneous barrier function was an aqueous solution 2.5% of SLS (Texapon K12, J. M. Vaz Pereira, Lda, Lisbon, Portugal), applied under occlusion for 24 hours according to previously published methodologies^[11,13].

Four sites were randomly selected in the lower leg of each volunteer: 1) site treated with cream and exposed to SLS; 2) untreated site exposed to SLS; 3) site that was only subjected to occlusion for 24h; 4) control site. During the first phase of the protocol, protection phase, the volunteers were instructed to apply the cream to site 1), twice daily for two weeks. During the provocation stage, filter paper disks soaked with the SLS solution were applied to sites 1) and 2), using occlusive patches (Finn Chamber®, Epitest Ltd Oy, Tuusula, Finland). An empty patch was applied to site 3). All patches were removed after 24 hours and, after a 15 minutes break, measurements were made in all sites. Superficial and deep hydration were measured with a MoistureMeter SC and MoistureMeter D (probe L50) (Delfin, Kuopio, Finland). The changes in skin colour were assessed with a Chromameter CR-300 (Minolta Camera Co, Ltd, Osaka, Japan). All measurements were conducted using the CIE Lab system. Erythema can be quantified by the a^* parameter, since this coordinate reflects the red colour region. TEWL was measured with a Tewameter TM 300 (Courage and Khazaka, Koln, Germany) according to previously published guidelines^[20].

All the parameters were measured in triplicate for each site, with the exception of TEWL. Measurements were made under controlled temperature ($24,36 \pm 1,34$ °C) and humidity ($51,74 \pm 4,48\%$).

Non parametric statistical analysis (Wilcoxon test) and a significance level of 0.05 was used to interpret the results obtained in the study.

Resultados

Uma das maiores dificuldades associada à realização de teste in vivo é a grande variabilidade inter-individual. A estratégia adoptada para minimizar este obstáculo foi analisar os resultados como rácios do valor obtido sobre o valor do controlo.

Os resultados relativos à coloração da pele não permitem observar diferenças entre os sites expostos ao LSS (site tratado com creme versus site não tratado). No entanto há diferenças estatisticamente significativas entre estes e o site sob oclusão, como se pode observar na tabela 1 e figura 1.

Pode ver-se na tabela 2 que há diferenças estatisticamente significativas na PTEA medida em todos os sites. É de salientar o maior impacto causado na PTEA da aplicação de LSS ao site não tratado com creme (figura 2).

As variáveis que estão relacionadas com a hidratação, superficial e profunda, não mostram diferenças cutâneas após a aplicação do creme e exposição ao LSS, como se pode ver nas tabelas e figuras 3 e 4.

Tabela 1 - Resultados da colorimetria
Table 1 - Results obtained by colorimetry

Chromameter			
	a* (site 1/site 4)	a* (site 2/site 4)	a* (site 3/site 4)
Média <i>Mean</i>	1,16	1,29	0,98
DP <i>SD</i>	0,23	0,25	0,19
p	0,109		
		0,003	
	0,008		

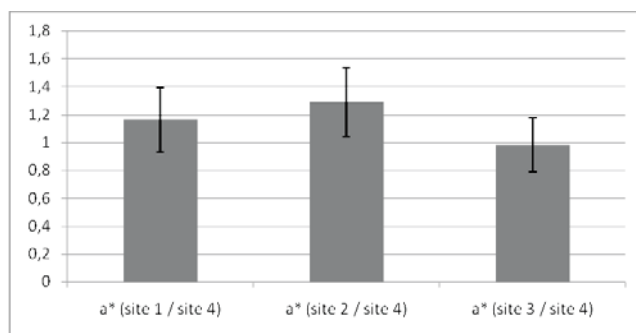


Figura 1 - Rácios de a* (n=14, média ± DP)
Figure 1 - a* ratios (n=14, mean ± SD)

Results

One of the greatest difficulties associated with in vivo testing is the high inter-subject variability associated with the method. In order to overcome this difficulty, results were recorded as the ratio between treated and control sites for each subject, so that each subject acted as his own control.

There are no significant differences between the skin colour results obtained in the two sites exposed to SLS (treated site versus untreated). Nevertheless, as can be seen in table and figure 1, there are statistically significant differences between the latter and the site where only occlusion was performed.

The results summarized in table 2 show that there are statistically significant differences in the TEWL measured in the different sites. It should be noted that the greatest impact on TEWL was observed when SLS was applied in the untreated site (figure 2).

When the variables that measure deep and superficial skin hydration are analysed, no differences are detected after skin treatment with the cream and exposure to SLS, as can be seen on tables and figures 3 and 4.

Tabela 2 - Resultados da PTEA
Table 2 - Results obtained by TEWL measurements

PTEA TEWL			
	site 1/site 4	site 2/site 4	site 3/site 4
Média <i>Mean</i>	2,82	3,76	1,33
DP <i>SD</i>	1,34	1,70	0,39
p	0,004		
		0,001	
	0,002		

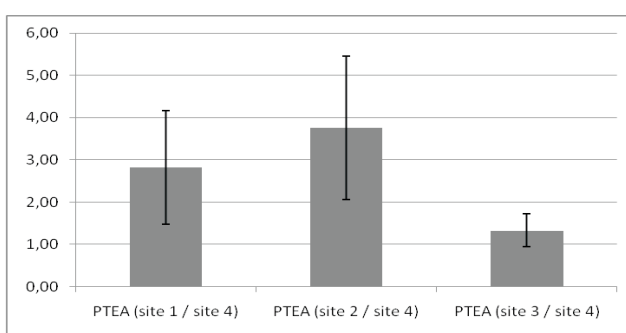


Figura 2 - Rácios de a* (n=14, média ± DP)
Figure2 - TEWL ratios (n=14, mean ± SD)

Tabela 3 - Resultados da Hidratação Superficial
Table 3 - Results obtained by superficial hydration

Hidratação Superficial			
	site 1/site 4	site 2/site 4	site 3/site 4
Média <i>Mean</i>	2,04	2,33	2,60
DP <i>SD</i>	1,21	1,10	2,15
p	0,917		
		0,925	
	0,397		

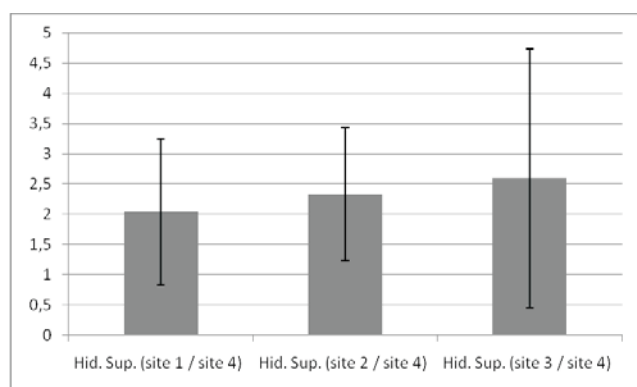


Figura 3 - Rácios de a* (n=14, média ± DP)
Figure3 - TEWL ratios (n=14, mean ± SD)

Tabela 4 - Resultados da Hidratação Profunda
Table 4 - Results obtained by superficial hydration measurements

Hidratação Profunda			
	site 1/site 4	site 2/site 4	site 3/site 4
Média <i>Mean</i>	1,11	1,20	1,12
DP <i>SD</i>	0,16	0,22	0,14
p	0,064		
		0,198	
	0,925		

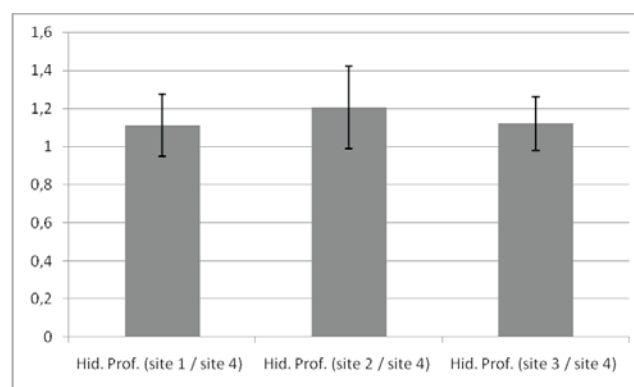


Figura 4 - Rácios de Hidratação Profunda (n=14, média ± DP).

Figure 4 - Deep hydration ratios (n=14, mean ± SD)

Discussão

O estrato córneo é constituído por várias camadas de células justapostas, os corneócitos, imersos numa matriz lipídica, sendo um dos principais contribuidores para o estabelecimento de uma barreira impermeável e eficaz de protecção, a barreira cutânea. A função de barreira cutânea é fundamental para a sobrevivência sob as condições ambientais da Terra^[21].

O principal objectivo do estudo foi avaliar a capacidade protectora apresentada por um creme contendo ureia. Para tal, foi aplicada uma substância vulgarmente utilizada como modelo da lesão cutânea: o LSS. É um tensoactivo aniónico muito conhecido, fazendo parte da constituição de inúmeras formulações^[14]. Apresenta um potencial de irritação da pele fruto da sua capacidade de alteração do estrato córneo, promovendo algumas reacções adversas^[18].

A eficácia protectora do creme contra o aparecimento de eritema após aplicação de LSS foi avaliada através de colorimetria. Os resultados indicam apenas diferença estatística entre os resultados do site não

Discussion

The stratum corneum is formed by several layers of juxtaposed corneocytes immersed in a lipid layer, that form an impermeable layer that is pivotal to ensure survival under the environmental conditions of our planet^[21].

The main purpose of this study was to assess the protective capacity of a moisturizing cream containing urea. A commonly employed anionic surfactant^[14], SLS, was employed to model cutaneous lesion. Its irritant potential results from the ability to alter the stratum corneum and cause adverse cutaneous reactions^[18].

Colorimetry was one of the strategies used to study the cream's ability to protect the skin against erythema after application of SLS. Results indicate only statistically significant differences between the occluded site and the sites treated with the surfactant. The most probable cause to the inexistence of measurable differences is the high inter-subject variability associated to the intensity of erythematogenic response to SLS^[22].

exposto ao tensioactivo e os sites expostos. Provavelmente, a inexistência de diferenças mensuráveis deve-se à grande variabilidade interindividual associada à resposta eritematígena ao LSS^[22].

A PTEA é um parâmetro classicamente associado ao estado da função da barreira cutânea^[23]. Tal como esperado, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os resultados de todos os sites. Assim, pode observar-se um efeito protector do creme, uma vez que no site exposto não tratado houve maior aumento de PTEA do que naquele onde foi feita a aplicação de creme durante 15 dias. Apesar disto, a capacidade de formar uma barreira totalmente impermeável é limitada, uma vez que não permitiu que estes últimos fossem identicos ao do site onde apenas foi aplicado o adesivo oclusivo.

O LSS afecta normalmente a hidratação superficial cutânea de forma negativa, uma vez que, tem a capacidade de remover os lípidos que existem no estrato córneo e contribuem para a fixação de moléculas de água^[24]. Se a formulação estudada tivesse um efeito protector, observar-se-iam diferenças entre todos os sites, mas tal não se verificou. Todos os resultados respeitantes à hidratação superficial foram semelhantes.

Outra consequência do LSS é o aparecimento de edema devido ao seu efeito irritativo. Nas concentrações de LSS utilizadas neste estudo, não se observou este fenómeno, ou seja, não houve diferenças entre os resultados da hidratação profunda entre o controlo e os sites que foram expostos ao tensioactivos.

A capacidade protectora de diferentes formulações contendo ceramidas foi estudada por di Nardo, et al [25]. Este estudo realizou-se no antebraço de 14 voluntários, aplicando-se concentrações de LSS a 1% e 3% sob oclusão. Os resultados indicaram um efeito positivo da aplicação de ceramidas na diminuição da susceptibilidade ao LSS, uma vez que, houve uma diminuição da PTEA e índices mais baixos de eritema nos sites tratados.

Noutro estudo^[26] avaliaram-se diferentes cremes ou constituintes de cremes na função de barreira cutânea usando o antebraço como local anatómico de estudo e um período de aplicação de 7 semanas. Notaram diferenças, nalguns casos positivas e noutros negativas, na PTEA e na susceptibilidade ao LSS de acordo com a composição da formulação aplicada.

Esta formulação foi avaliada nas mesmas voluntárias num estudo anterior com protocolo de aplicação similar^[27]. Neste concluiu-se que o creme contendo ureia evidenciava acção superficial, que se manifestou no aumento dos níveis de água do estrato córneo e que estaria certamente ligado aos diferentes componentes higroscópicos e oclusivos que o constituem. Por outro lado, o facto de não se terem observado diferenças

TEWL é um parâmetro que é classicamente ligado à função de barreira^[22]. As diferenças estatisticamente significativas foram observadas entre os resultados obtidos em todos os sites. O creme exibiu uma eficácia protectora moderada, uma vez que no site exposto ao SLS o TEWL foi maior do que no site onde o creme foi aplicado durante 2 semanas. No entanto, a capacidade de formar uma película impermeável é limitada, uma vez que esta não foi semelhante à obtida no site ocluído.

O SLS afecta normalmente a hidratação superficial, uma vez que é capaz de remover os lípidos que existem no estrato córneo^[23]. Diferenças nos resultados obtidos nos 3 sites devem ser observadas se a formulação exibiu um efeito protector. No entanto, a análise de dados indica o oposto e todos os resultados de hidratação superficial foram semelhantes. Outra consequência comum do contacto com o SLS é o edema. Na concentração utilizada neste estudo e através das medições realizadas pelo MoistureMeter-D este fenómeno não foi observado, i.e. os resultados de hidratação obtidos nos sites expostos ao SLS foram os mesmos que os obtidos no site ocluído.

A capacidade protectora de formulações contendo ceramidas foi estudada por di Nardo, et al^[24]. Este trabalho foi realizado no antebraço de 14 voluntários, com concentrações de SLS entre 1% e 3%. Os resultados mostraram um efeito positivo da aplicação de ceramidas, causando uma redução da susceptibilidade ao SLS, uma vez que o TEWL e os índices de eritema foram menores nos sites tratados.

Outro estudo realizado na literatura avaliou o impacto de diferentes cremes ou ingredientes na função de barreira^[25]. O trabalho foi realizado no antebraço e todas as formulações foram aplicadas durante 7 semanas. Diferenças positivas e negativas foram encontradas na susceptibilidade ao SLS, de acordo com a composição da formulação utilizada.

A formulação utilizada foi testada nos mesmos voluntários num estudo anterior que utilizou um protocolo de aplicação semelhante^[26]. A principal conclusão deste trabalho foi que a formulação com ureia influenciou a hidratação superficial, aumentando os níveis de hidratação do estrato córneo graças aos seus efeitos oclusivos e higroscópicos. Como não foram observadas diferenças nas metodologias utilizadas para avaliar a função de barreira, assumiu-se que o creme não foi capaz de modificar os defeitos ocorrendo nas células da epiderme que levam à pele seca, e que estes são muito mais difíceis de corrigir.

O presente trabalho completa o trabalho de eficácia avaliado a formulação e indica, de uma maneira inequívoca, que o hidratante tem a capacidade de influenciar positivamente a função de barreira cutânea, e proteger a pele do contacto com um irritante.

através das metodologias que avaliam função de barreira foi considerado indicador da sua limitada capacidade de modificar os desequilíbrios nos processos celulares da epiderme, que levam ao aparecimento da pele seca.

O estudo actual completa o trabalho de avaliação da eficácia desta formulação e evidencia assim, de forma inequívoca, que o hidratante influencia positivamente na função de protecção da barreira cutânea, protegendo a pele do contacto com uma substância irritante.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Saninter/SFD a cedência das amostras utilizadas neste estudo

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge /SFD for supplying the samples used in this study.

Referências / References

- [1] Elias PM, Menon GK. Structural and biochemical correlates of the epidermal permeability barrier. In: Elias PM, ed. *Advances in Lipid Research*. Vol. 24. Skin Lipids. New York: Academic Press, 1991: 1-26.
- [2]. Buraczewska I, Berne B, Lindberg M, Törmä H, Lodén M. Changes in skin barrier function following long-term treatment with moisturizers, a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2007; 156(3):492-8.
- [3]. Thornfeldt C. Critical and optimal molar ratios of key lipids. In: Lodén M, Maibach HI, eds. *Dry Skin and Moisturizers*. Boca Raton: CRC, 2000.
- [4]. Fluhr J, Holleran WM, Berardesca E, Clinical Effects of emollients on Skin, In: *Skin Moisturization*, Leyden JJ, Rawlings AV, Nova York, Marcel Dekker, 2002, pp 227-238.
- [5]. Yang L, Mao-Quiang M, Taljebeni M, Elias PM, Feingold KR, Topical stratum corneum lipids accelerate Barrier repair after tape stripping, solvent treatment and some but not all types of detergent treatment, *Br. J. Dermatol*, 1995; 133,5:679-685.
- [6]. Man MQ, Feingold KR, Elias PM, Exogenous Lipids influence permeability barrier recovery in acetone-treated murine skin, *Arch. Dermatol*, 1993; 129, 6: 728-738.
- [7]. Reed JT, Ghadially R, Elias PM, skin type, but neither race nor gender, influence epidermal permeability barrier function, *Arch. Dermatol*, 1995; 131, 10: 1134-1138.
- [8]. Loden M, Barany E, Skin – identical lipids versus petrolatum in the treatment of tape – stripped and detergent-perturbed human skin, *Acta. Dermatol. Venereol.*, 2000; 80, 6: 412-415.
- [9]. Zhai H, Maibach H. Micro Wound healing models. In: Rovee D, Maibach H, editors. *The epidermis in wound healing*, Boca Raton: CRC Press; 2004. pp 141-151.
- [10]. Jackwerth B, Krachter HV, Matthies W, Dermatological test methods for optimising mild tenside preparations. *Parfumarie and Kosmetik*. 1993; 74:134-141.
- [11]. Wilhelm, KP, Freitag G, Wolf HH, Surfactant induced skin irritation and skin repair. Evaluation of the acute irritation model by non-invasive techniques, *J. Am Acad Dermatol*. 1994; 30: 944.
- [12]. Lee, CH, Maibach H. Sodium Lauryl Sulfate in Dermatotoxicology. In: Zhai H, Maibach H, editors. *Dermatotoxicology*, Boca Raton: CRC Press; 2004. pp 479-506.
- [13]. Zhai H, Poblete, N., Maibach H. Sodium Lauryl Sulfate damaged skin in vivo in man: a water barrier repair model, *Skin Res Technol*, 1998; 4:24.
- [14]. Nikitatis JM, McEwen GN, Wenninger JA. *CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary*, 4th ed. Washington DC: The cosmetic, Toiletry and Fragrance Association Inc.; 1991.
- [15]. Santos, D, Bahia MFG, Promotores de penetração e absorção, *Cosmetics & Toiletris* (edição portuguesa), 1995, Vol 7, n. 5, p 42-51.
- [16]. Allen Jr., L. V., The art, science and technology of pharmaceutical compounding, 2^a ed, Washington: American pharmaceutical association, 2002.
- [17]. Effendy I, Maibach HI, Detergent and skin irritation, *Clinics and Dermatology*, 1996, Vol 14, pp 15-21.
- [18]. Maibach HI, Zhai H. Sodium Lauryl Sulfate in Dermatotoxicology. In Lee, CH, Maibach HI, editors. *Dermatotoxicology*, 6th ed, USA: CRC Press; 2004. pp 481-506.
- [19]. Agner T, Serup J. Sodium Lauryl Sulphate for irritant patch testing a dose response study using bioengineering methods for determination of skin irritation. *J. Invest Dermatol*, 1990, 95: 543-547.
- [20]. Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement: A report from the standardization group of the European Society of contact Dermatitis. *Contact Derm.*, 1990, 22:164-172.

- [21]. Menon GK, Norlén L, Stratum Corneum Ceramides and Their Role in Skin Barrier Function, In: Skin Moisturization, Leyden JJ, Rawlings AV, Nova York, Marcel Dekker, 2002, pp 31-47.
- [22]. Cua AB, Wilhelm KP, Maibach HI. Cutaneous sodium lauryl sulphate irritation potential: age and regional variability. *Br J Dermatol.* 1990; 123(5):607-13.
- [23]. Rosado C, Pinto P, Rodrigues LM. Comparative assessment of the performance of two generations of Tewameter((R)): TM210 and TM300. *Int J Cosmet Sci.* 2005;27(4):237-41.
- [24]. Denda M, Solvent-, Surfactant-, and Tape Stripping – Induced Xerosis, In: Skin Moisturization, Leyden JJ, Rawlings AV, Nova York, Marcel Dekker, 2002, pp 204-210.
- [25]. di Nardo A, Sugino K, Wertz P, Ademola J, Maibach HI, Sodium lauryl sulfate (SLS) induced irritant contact dermatitis: a correlation study between ceramides and in vivo parameters of irritation, *Contact Dermatitis:* 1996; 35(2): 86-91.
- [26]. Buraczewska I, Berne B, Lindberg M, Törmä H, Lodén M, Changes in skin barrier function following long-term treatment with moisturizers, a randomized controlled trial, *Br J Dermatol.* 2007;156(3):492-8.
- [27]. Rosado C, Lourenço A, Rodrigues LM, Estudo da acção de um creme hidratante através de métodos estáticos e dinâmicos, *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*, 2008, In Press.