

Estudo da acção de um creme hidratante através de métodos estáticos e dinâmicos

Use of static and dynamic methods to assess the efficacy of a moisturizing cream

Catarina Rosado¹, Ana Lourenço¹, Luis Monteiro Rodrigues²

¹UDE Unidade de Dermatologia Experimental, Universidade Lusófona, 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

Resumo

O presente artigo descreve uma metodologia não invasiva, compreendendo abordagens estáticas e dinâmicas realizadas in vivo com o objectivo de avaliar o efeito da aplicação na pele de um creme hidratante contendo ureia.

Participaram no estudo 15 voluntárias, que aplicaram o produto (Kératosane15©, Uriage, França) na região lateral exterior frontal da perna durante 15 dias. A metodologia dinâmica de avaliação de eficácia consistiu na aplicação de nicotinato de etilo seguida de medição através de fluxometria de laser doppler (FLD). Nas estratégias estáticas utilizaram-se as técnicas de medição da perda transepidérmica de água e da hidratação cutânea, esta última recorrendo a dois aparelhos diferentes.

Na FLD não se observou diferença nos resultados obtidos da zona tratada para a zona controlo. Também na PTEA não se verifica diferença estatisticamente significativa nos locais em estudo. Nas variáveis relacionadas com a hidratação existem diferenças estatisticamente significativas, sendo o estado de hidratação superior no local tratado face ao controlo.

Concluiu-se que o creme não melhora significativamente a função de barreira cutânea mas proporciona um bom estado de hidratação à pele quando usado regularmente. Ambos os aparelhos de medição da hidratação são adequados ao estudo da eficácia do produto, mas o MoistureMeter-SC permite observar diferenças de uma forma mais clara.

Palavras chave: Xerose; Avaliação, Hidratação; Barreira Cutânea

Abstract

The current paper describes a non-invasive methodology, which incorporates static and dynamic strategies performed in vivo with the purpose of assessing the effect on the skin of the application of a moisturizing cream containing urea.

Fifteen volunteers participated in the study, which involved the application for two weeks of the product (Kératosane15©, Uriage, France) to the lateral part of the lower leg. The dynamic methodology of efficacy assessment consisted in the application of ethyl nicotinate, followed by measurements using laser Doppler flowmetry (LDF). Measurements of transepidermal water loss (TEWL) and cutaneous hydration were the static strategies employed. The latter involved the comparison of two different devices.

There were no significant differences between the FLD or the TEWL results of the treated and control sites. The hydration related variables showed statistically significant differences and higher values in the sites treated with cream.

In conclusion, the moisturizing cream does not significantly improve the skin barrier function but provides better hydration when applied regularly. Both devices used to measure hydration are adequate to study efficacy, but the MoistureMeter-SC enables a clearer observation of differences between the control and treated sites.

Key words: Peripheral vascular disease; Pathophysiology; Diagnosis ; Management and treatment

Recebido em 04/03/2008

Aceite em 02/05/2008

Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2008; (5) 1: 53-59

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

Introdução

A xerose, ou pele seca, caracteriza-se pela apresentação de superfície irregular e áspera, por uma leve descamação, ocasionalmente com pequenas fissuras. É mais frequente nos meses de Inverno ou Verão, quando a humidade ambiental é baixa e as temperaturas extremas e torna-se mais pronunciada com o envelhecimento^[1]. Caracteriza-se por níveis mais baixos de água no estrato córneo, menor elasticidade da pele e, em casos mais graves, prurido^[2]. É consequência da conjugação de uma série de factores ambientais e patológicos que afectam essencialmente a os mecanismos de proliferação e diferenciação epidérmica. Embora a taxa de proliferação das células epidérmicas aumente, a taxa de descamação dos corneócitos diminui, o que contribui para o espessamento desta camada^[3]. A incapacidade de manutenção dos níveis adequados de hidratação do estrato córneo afecta os processos o metabólicos cutâneos, a actividade enzimática e as propriedades mecânicas da pele^[4].

A elevada prevalência da xerose na população faz dos produtos hidratantes uma das classes de cosméticos mais usados^[5]. Estes têm por objectivo manter a pele hidratada, flexível e macia^[6].

Um dos objectivos dos produtos desenvolvidos para tratamento da xerose consiste na recuperação de alguns constituintes básicos do estrato córneo, como o colesterol, ácidos gordos e ceramidas^[7]. Os excipientes incluídos nestas formulações podem dividir-se em dois grandes grupos^[8]: os que formam um filme impermeável à passagem de água (como o óleo mineral) e os que são higroscópicos (como a glicerina, o ácido láctico, o sódio pirrolidonacarboxilato e a ureia). A ureia, uma substância que faz parte da constituição normal do estrato córneo, além de higroscópica apresenta também acção queratolítica^[7].

Existem diversas metodologias para avaliar a eficácia de produtos hidratantes. A maioria das vezes são utilizadas abordagens que recorrem a métodos estáticos, mas estas estão condicionadas ao facto de não identificarem a origem da água detectada e apenas produzirem dados instantâneos^[9]. O objectivo deste estudo foi caracterizar a acção produzida por um creme hidratante na função de barreira cutânea e na hidratação do estrato córneo. Foram utilizados não só os métodos estáticos convencionais, como a corneometria e a medição da perda transepidérmica de água (PTEA), mas também um método dinâmico. Neste é avaliada a rapidez de permeação de uma molécula vasodilatadora (nicotinato de etilo) através de Fluxometria Laser Doppler (FLD).

Introduction

Dry skin, or xerosis, is characterized by presenting a rough flaky surface, desquamation and, in severe cases, superficial fissures. It occurs mainly in the Winter and Summer months, when humidity levels are low and temperatures are extreme, and becomes more pronounced with age^[1]. Xerosis can be characterized by low hydration levels in the stratum corneum, lower skin elasticity and even pruritus^[2]. It is the result of the combination of pathological and environmental causes that affect the epidermal proliferation and differentiation mechanisms. Even though the proliferation rate of the epidermal cells increases, the desquamation rate of the corneocytes decreases, which contributes to epidermal thickening^[3]. The inability to maintain adequate hydration levels in the stratum corneum affects the cutaneous metabolism, the enzymatic activity and the mechanical properties of the skin^[4].

The high prevalence of xerosis in the general population justifies the wide use of moisturizing products^[5]. These aim to maintain the hydrated, flexible and soft^[6].

One of the goals of the products developed to treat xerosis is to provide basic materials that are normally contained in the stratum corneum, such as cholesterol, fatty acids and ceramides^[7]. Additionally, the vehicles that are incorporated in these formulations can be divided in two groups^[8]: those that create an impermeable film (such as mineral oil) and those that are hygroscopic (such as glycerine, lactic acid, sodium pirrolidonecarboxylate and urea). Urea, a substance normally occurring in the stratum corneum, is not only hygroscopic but also keratolytic^[7].

Several methodologies can be applied to the efficacy testing of moisturizing products. The more commonly used approaches employ static measurements, which are limited by not identifying the origin of the water detected by the device and by only providing instantaneous data^[9]. The purpose of this study was to characterize the effect in the barrier function and in the stratum corneum hydration of a moisturizing cream. In addition to the conventional methods, such as corneometry and measurements of transepidermal water loss (TEWL), a dynamic methodology was employed: assessment of the quickness of response of a vasodilatory molecule (ethyl nicotinate) by laser Doppler flowmetry (LDF).

Materiais e métodos

Participaram neste estudo 15 voluntárias saudáveis do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 21 e os 58 anos (idade média de $27,87 \pm 12,5$ 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. Uma vez que a pele seca é geralmente mais grave na parte lateral exterior frontal da perna, todo o estudo foi realizado neste local anatómico.

As voluntárias foram instruídas para proceder à aplicação do creme (Kératosane15©, Uriage, França) durante 15 dias, 2 vezes por dia, numa área pré-delimitada e randomizada da perna em estudo. Ao fim de 2 semanas foram feitas diferentes medições no local tratado bem como numa zona não tratada (controlo). Estas foram feitas em laboratório a uma temperatura constante ($20,3 \pm 1,5^\circ\text{C}$) e humidade controlada (37,0 66,5%). Evitaram-se fontes de calor e correntes de ar.

Foram aplicados quadrados de papel de filtro com 1cm² saturados numa solução aquosa de nicotinato de etilo 0,2M (Aldrich, Dorset, Reino Unido) durante 60 segundos no local tratado e no local controlo. A maioria dos estudos que utilizam nicotinatos para avaliar a permeação transcutânea utilizam nicotinato de metilo. Neste trabalho foi utilizado nicotinato de etilo por ser uma molécula maior e, logo, apresentar uma permeação mais lenta através da pele, permitindo uma melhor distinção das eventuais diferenças na barreira cutânea. Imediatamente após a remoção do papel de filtro procedeu-se à medição do fluxo sanguíneo através de fluxímetro de laser doppler (PeriFlux System 5000, Perimed, Estocolmo, Suécia) de acordo com guidelines previamente publicadas^[10, 11], durante um período de 60 minutos, colocando uma sonda em cada área em estudo. Os parâmetros considerados relevantes para este estudo foram o tempo de início de resposta (tonset) e o tempo de resposta máxima (tmax).

Foram efectuadas medições de perda transepidérmica de água com o evaporímetro (Tewameter TM 300, Courage and Khazaka, Colónia, Alemanha) de acordo com as guidelines previamente publicadas^[12], em ambos os locais (tratado e controlo). Por último, fez-se uma comparação com dois aparelhos que avaliam a hidratação cutânea: o Corneometer CM 825 (Courage and Khazaka, Colónia, Alemanha) e o MoistureMeter-SC (Delfin, Kuopio, Finlândia).

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

Material and methods

Fifteen healthy female volunteers participate in the study, aged between 21 and 58 years old (mean age 27.87 ± 12.5 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. Since dry skin is generally more pronounced in the lateral part of the lower leg, the entire study was conducted in this area.

Volunteers were instructed to apply the cream (Kératosane15©, Uriage, France) for two weeks, twice a day, to a predetermined and randomized area of the leg. After this time different measurements were made in the treated and untreated (control) sites. All measurements were performed in a room with controlled temperature ($20.3 \pm 1.5^\circ\text{C}$) and humidity (37.0 66.5%). Heat sources and drafts were avoided.

Squares of filter paper with 1cm² soaked in an aqueous solution of ethyl nicotinate 0.2M (Aldrich, Dorset, UK) were applied, to both the control and treated sites for 60 seconds. Most studies where nicotinates have been used to assess percutaneous penetration used ethyl nicotinate. In the present work, ethyl nicotinate was selected for being a larger molecule and, hence, permeating more slowly through the skin, which in turn would enable a better distinction of differences in cutaneous barrier competence. Immediately after removal of the filter paper, blood flow was measured for 60 minutes using a laser Doppler flowmeter (PeriFlux System 5000, Perimed, Stockholm, Sweden), in accordance with previously published guidelines^[10, 11]. The parameters considered relevant for the study were onset time (tonset) and time for maximum response (tmax).

Measurements of transepidermal water loss were performed in the control and treated sites with an evaporimeter (Tewameter TM 300, Courage and Khazaka, Köln, Germany), according to previously published guidelines^[12]. Finally, a comparison between two devices that measure skin hydration was conducted: Corneometer CM 825 (Courage and Khazaka, Köln, Germany) and MoistureMeter-SC (Delfin, Kuopio, Finland).

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

Resultados

A análise dos resultados que tinham como objectivo a avaliação do produto sobre a função de barreira não permitem observar diferença entre o local tratado com o creme hidratante e o controlo (não tratado). Nos resultados de FLD relativos à resposta ao nicotinato de etilo (fig. 1), a média dos perfis de resposta ao vasodilatador é muito idêntica e o desvio padrão é muito elevado. O tempo de início de resposta (tonset) é ligeiramente inferior na zona tratada face à zona controlo, mas esta diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,346$), como se pode ver na fig. 2.

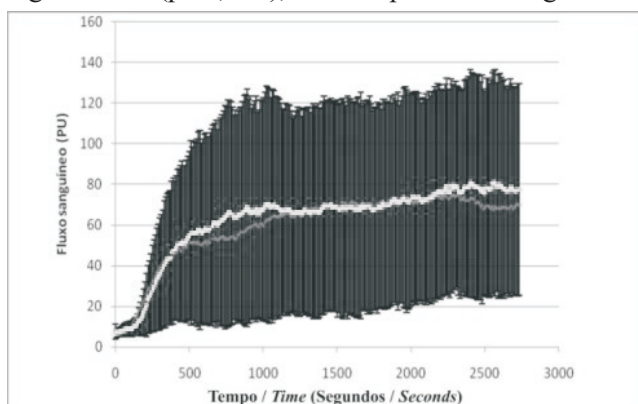


Figura 1 - Valores médios do fluxo sanguíneo com respectivos desvios padrão, da zona tratada (linha vermelha) e da zona controlo (linha azul) após a aplicação do nicotinato de etilo.

Figure 1 - Mean values of blood flow, accompanied by standard deviation, obtained in the treated area (red line) and control (blue line) after application of ethyl nicotinate.

No tempo em que se atinge a resposta máxima (t_{max}) não há diferença entre os dois locais estudados ($p=0,802$), como é visível na fig. 3. Pode ver-se na fig. 4 que não há diferença estatisticamente significativa ($p=0,865$) entre a PTEA dos locais tratado e controlo.

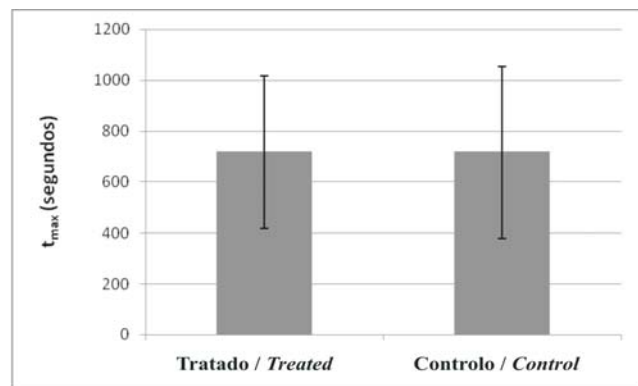


Figura 3 - Valores médios do tempo de resposta máxima t_{max} , da zona tratada e da zona controlo após a aplicação do nicotinato de etilo ($n=14\pm DP$).

Figure 3 - Mean values of time for maximum response t_{max} , obtained in the treated and control areas after application of ethyl nicotinate ($n=14\pm SD$).

Results

The analysis of the results that are related to barrier function does not reveal any difference between the site treated with the moisturizing cream and the untreated control. The LDF profiles obtained after application of ethyl nicotinate (fig. 1) are very similar and the standard deviation is high. The onset time (tonset) is slightly lower in the treated area (fig. 2), but this difference is not statistically significant ($p=0.346$).

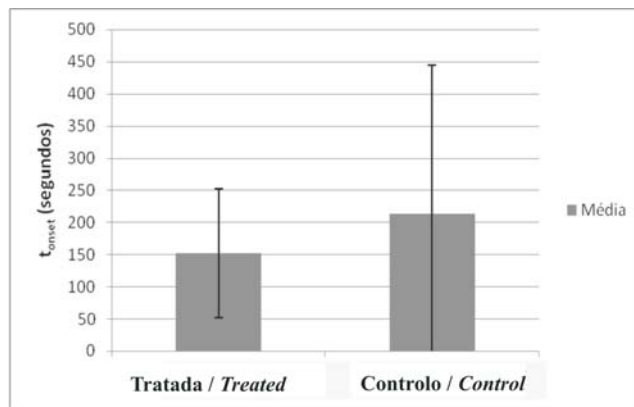


Figura 2 - Valores médios do tempo de início de resposta (t_{onset}), da zona tratada e da zona controlo após a aplicação do nicotinato de etilo ($n=14\pm DP$).

Figure 2 - Mean values of onset time (t_{onset}), obtained in the treated and control areas after application of ethyl nicotinate ($n=14\pm SD$).

The time for maximum response is also similar in the two sites ($p=0.802$), as can be seen in fig. 3, and the same can be observed in the TEWL registered (fig. 4, $p=0.865$).

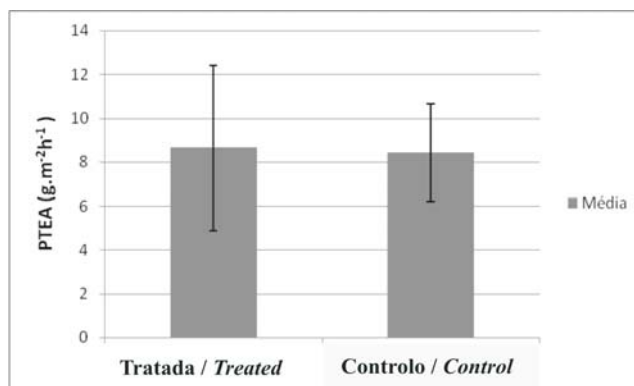


Figura 4 - Valores médios de perda transepidérmica de água na região tratada e controlo ($n=15\pm DP$).

Figure 4 - Mean values of transepidermal water loss obtained in the treated and control areas ($n=15\pm SD$).

As variáveis que estão relacionadas com a hidratação mostram diferenças cutâneas após a aplicação do creme durante 15 dias. Como se pode ver nas figuras 5 e 6, o nível de hidratação do local tratado é superior ao do controlo. Pretendeu-se efectuar uma comparação entre as respostas obtidas pelos dois equipamentos utilizados para avaliar a hidratação (fig. 7). Para tal, foi efectuada uma regressão linear que mostra a consistência dos dados obtidos pelo MoistureMeter-SC e o Corneometer-CM 825 ($R^2=0,80$).

The variables related with hydration indicate differences in the skin treated with cream for 2 weeks. As can be seen in figures 5 and 6, the moisture level of the treated site is higher than that of the control. A comparison between the results obtained by two devices that measure skin moisture was conducted (fig.7). Linear regression analysis was performed, indicating a good consistency between the data generated by the MoistureMeter-SC and the Corneometer-CM 825 ($R^2=0.80$).

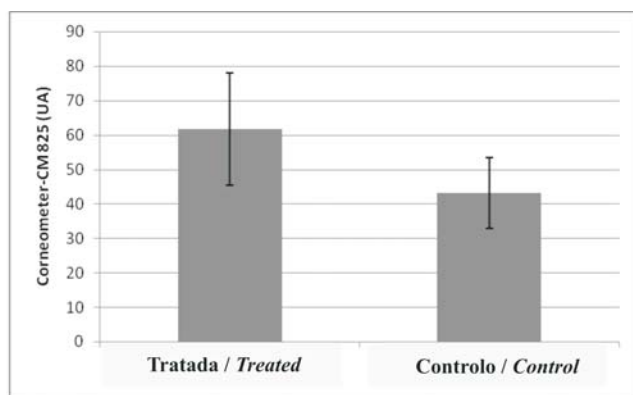


Figura 5 - Valores médios de capacitância cutânea numa região tratada e controlo ($n=14\pm DP$). * denota diferença estatisticamente significativa, $p=0,001$.

Figure 5 - Mean values of capacitance obtained in the treated and control areas ($n=14\pm SD$). * indicates statistically significant differences, $p=0.001$.

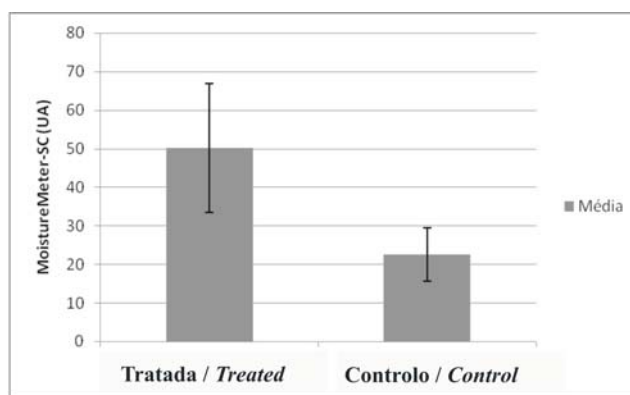


Figura 6 - Valores médios de hidratação do estado córneo obtidos com o MoistureMeter-SC, ($n=15\pm DP$). * denota diferença estatisticamente significativa, $p=0,001$.

Figure 6 - Mean values of stratum corneum hydration obtained with MoistureMeter-SC, ($n=15\pm SD$). * indicates statistically significant differences, $p=0.001$.

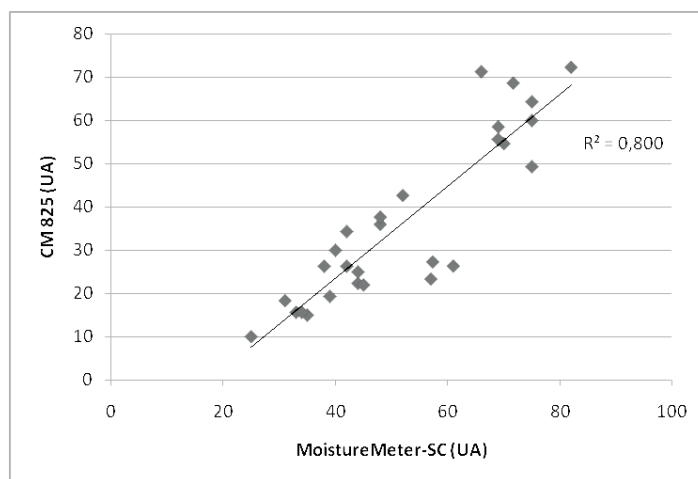


Figura 7 - Relação entre os resultados obtidos por ambos os aparelhos em análise ($n=29$).
Figure 7 - Correlation between the results obtained by the two devices that measure skin hydration ($n=29$).

Discussão

A pele seca caracteriza-se por um conjunto de alterações que afectam a constituição da epiderme, causando diminuição da função de barreira cutânea e baixos níveis de hidratação do estrato córneo. O principal objectivo do estudo foi avaliar o impacto do creme contendo ureia no restabelecimento destas duas propriedades.

Discussion

Dry skin is characterized by alterations that affect the normal constituents of the epidermis and cause impairment of barrier function and low levels of stratum corneum moisturization. The main objective of this study was to assess the impact of a formulation containing urea in the recovery of these two properties.

No que diz respeito à função de barreira cutânea, foram utilizadas abordagens estáticas e dinâmicas de demonstração da eficácia. A primeira recorreu à medição da PTEA, enquanto que a rapidez e a intensidade do efeito vasodilatador do nicotinato de etilo foram as variáveis dinâmicas estudadas. Os resultados obtidos por ambas as metodologias mostram que a aplicação do creme durante o período de 15 dias não provoca alterações positivas na barreira. Caso o produto apresentasse eficácia sobre esta propriedade, o tonset e $t_{\max}$ seriam mais elevados e a PTEA mais baixa no local tratado, no entanto não se observaram quaisquer diferenças estatisticamente significativas.

Na avaliação da hidratação, ambos os aparelhos indicam que a utilização do creme teve resultados positivos. Tal como era esperado, obtiveram-se valores significativamente mais elevados no local tratado face ao controlo. O aparelho MoistureMeter-SC é mais recente, no entanto a boa correlação obtida entre os resultados por este fornecidos e os do Corneometer CM 825 é reveladora da sua adequabilidade. Adicionalmente, nos dados proporcionados pelo primeiro aparelho, as diferenças entre local tratado e controlo são mais evidentes, o que é indicador da sua mais elevada sensibilidade. Esta está provavelmente associada à capacidade apresentada pela sonda do MoistureMeter-SC de, através de um indicador luminoso, assegurar um contacto mais uniforme entre a sonda e a pele.

Na literatura podem ser encontrados trabalhos com objectivos semelhantes aos deste estudo. Num estudo utilizando nicotinato de hexilo^[13], observam-se valores de tonset e $t_{\max}$ mais elevados após aplicação cutânea de um creme contendo 5% de ureia. Pode salientar-se logo à partida que este utilizou uma molécula de maior peso molecular e coeficiente de partilha octanol/água ($\log P=3,5$ para o nicotinato de hexilo e $\log P=1,3$ para o nicotinato de etilo (calculados a partir do software ACD/LogP, ACD/Labs, Toronto, Canadá)). No entanto, estes resultados não permitem concluir acerca da eficácia da formulação contendo ureia uma vez que não foram estudados os parâmetros tonset e $t_{\max}$ da pele não tratada. Apenas são feitas comparações entre a permeação do nicotinato de hexilo através da pele tratada com dois cremes diferentes (um contendo ureia e outro rico em lípidos).

Outro trabalho realizado por Vuleta et al^[14] refere acções contraditórias de formulações contendo ureia consoante a composição do produto em que esta se insere. Algumas formulações causaram diminuição da PTEA e menor reactividade ao laurilsulfato de sódio, enquanto que noutros se observou o oposto.

Na literatura pode ainda encontrar-se um estudo que mostra diminuição da PTEA após aplicação durante 20 dias de três formulações contendo ureia em diferentes composições e percentagens^[15]. Nesse trabalho também

Static and dynamic approaches to study barrier function were employed to assess efficacy. The first approach involved measurements of TEWL, whereas the quickness and intensity of the vasodilatory response to ethyl nicotinate were the dynamic variables selected. The results provided by the two methodologies show that applying the cream for two weeks has not positively influenced the barrier. If the product was effective, tonset e $t_{\max}$ would be higher and TEWL lower in the treated site, however, no statistically significant differences were found.

When skin moisture content was assessed, both devices indicated that the cream provided positive results. As expected, significantly higher values were observed in the treated site than in the control. The MoistureMeter-SC device is more recent, but the good correlation between its results and those provided by the Corneometer CM 825 is indicative of its suitability. Additionally, when the data of the first device are analysed, the differences between the two studied sites are more evident, which is indicative of its sensitivity. This property is very likely linked to the fact that the probe of the MoistureMeter-SC exhibits a light gauge that ensures a uniform contact between the probe and the skin.

Studies with similar objectives to those of this study can be found in the literature. In a work using hexyl nicotinate^[13] higher values of tonset and $t_{\max}$ were observed in the skin treated with a cream containing 5% urea. It can be highlighted that such study applied a molecule with a higher molecular weight and octanol/water partition coefficient ($\log P=3.5$ for hexyl nicotinate and $\log P=1.3$ for ethyl nicotinate (calculated using ACD/LogP, ACD/Labs, Toronto, Canada)). Nevertheless, such results are insufficient to draw conclusions regarding the efficacy of urea formulations since the tonset and $t_{\max}$ of untreated skin were not determined, and this study only performs comparisons between the permeation of hexyl nicotinate through skin treated with two different formulations (a cream with urea and a rich-lipid cream).

In a study conducted by Vuleta et al^[14] contradictory effects were observed after application of formulations containing urea, according to the composition of the product. Some formulations caused a decrease in TEWL and lower reactivity to sodium laurel sulphate, whereas in others the opposite was observed.

Another investigation found in the literature indicates decrease in TEWL after application for 20 days of formulations containing urea in different compositions and percentages^[15]. That work also examined the impact on epidermal capacitance, and it was noted that there were no differences between the control and treated sites after the application period.

The results obtained in the current study enable a full evaluation of the efficacy of the moisturizing cream.

foi estudada a acção sobre a capacitância epidérmica, observando-se que no final do período de aplicação não há diferença entre os valores do local tratado e controlo. Os resultados obtidos pelo presente estudo permitem uma avaliação completa da eficácia do creme hidratante. Este evidencia apenas acção superficial, que se manifesta no aumento dos níveis de água do estrato córneo e que estará certamente ligado aos diferentes componentes higroscópicos e oclusivos que o constituem. O facto de não se terem observado diferenças através das metodologias que avaliam a função de barreira é indicador da sua incapacidade em modificar os desequilíbrios nos processos celulares da epiderme que levam ao aparecimento da pele seca., que são muito mais difíceis de corrigir.

Agradecimentos

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

The urea formulation only influenced the skin superficially, increasing the hydration levels of the stratum corneum thanks to its occlusive and hygroscopic vehicles. Since no differences were observed by the methodologies that assess barrier function, it can be assumed that the cream was unable to modify the defects occurring in the epidermal cells that lead to dry skin, and that are much more difficult to correct.

Acknowledgements

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

Referências / References

- [1]. Rawlings AV, Harding CR, Watkinson A, Scott IR Dry and Xerotic Skin Conditions In; Skin Moisturization Leyden J. J., Rawlings A. V.; Nova York, Marcel Dekker, 2002 p.119-140.
- [2]. Rudikoff D, The effect of dryness on skin. Clin. Dermatol., 1998, 16:99-107.
- [3]. Rawlings AV, Watkinson A, Rogers J, Mayo AM, Hope J, Scott IR. Abnormalities in stratum corneum structure, lipid composition and desmosome degradation in soap induced winter xerosis. J. Cosmet. Chem., 1994, 45:203-220.
- [4]. Richter T, Peuckert C, Sattler M, Koenig K, Riemann I, Hintze U, Wittern K-P, Wiesendanger R, Wepf R. Dead but highly dynamic the Stratum corneum is divided into three hydration zones, Skin Pharmacol Physiol 2004; 17:246-257.
- [5]. Lavrijsen APM, Oestmann E, Hermans J, Boddé HE, Vermeer BJ, Ponc M. Barrier function parameters in various keratinisation disorders: transepidermal water loss and vascular response to hexyl nicotinate. Br J Dermatol 1993; 124: 547-554.
- [6]. Ribeiro H. M., Morais J., Rodrigues L. M., Study on the Moisturising Effect of O/W Emulsions on Human Skin Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde. 2005; 2 (1):49-54.
- [7]. Barton S. Formulation of Skin Moisturizers in Skin Moisturization Leyden J. J., Rawlings A. V.; Marcel Dekker, Nova York, 2002 p. 547-584.
- [8]. Marty JPNMF and cosmetology of cutaneous hydration Ann Dermatol Venereol. 2002 Jan;129(1 Pt 2):131-6.
- [9]. Criqui MH, Fronek A, Klauber MR, Barrett-Connor E, Gabriel S. The sensitivity and predictive value of traditional clinical evaluation peripheral arterial disease: results from non-invasive testing in a defined population. Circulation 1985; 71: 516-522.
- [10]. Berardesca E, and the EEMCO Group. EEMCO guidance for the measurement of skin microcirculation. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 2002; 15: 442-456.
- [11]. Bircher AJ, de Boer EM, Agner T, Walhberg JE, Serup J. (1990) Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry: A report from the Standardization Group of the European Society of contact Dermatitis. Contact Derm., 30:65-72.
- [12]. Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. (1990) Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement: A report from the standardization group of the European Society of contact Dermatitis. Contact Derm., 22:164-172.
- [13]. Duval C, Lindberg M, Boman A, Johnsson S, Edlund F, Lodén M. Differences among moisturizers in affecting skin susceptibility to hexyl nicotinate, measured as time to increase skin blood flow. Skin Res Technol. 2003 Feb;9(1):59-63.
- [14]. Savica S, Tamburic S, Savic M, Cekic N, Milic J, Vuleta G. Vehicle-controlled effect of urea on normal and SLS-irritated skin. Int J Pharm. 2004 Mar 1;271(1-2):269-80.
- [15]. Loden M. Urea-containing moisturizers influence barrier properties of normal skin. Arch Dermatol Res. 1996 Feb;288(2):103-7.