

Acerca da Medição da Hidratação “profunda” da Pele

About “Deep” Skin Hydration Measurement

Catarina Rosado¹, Helena Raimundo^{2,1}, Luis M Rodrigues^{2,1}

¹ Experimental Dermatology Unit, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa – Portugal

² Experimental Physiology Laboratory, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Av. Prof. Gama Pinto, 1649-003 Lisboa - Portugal

Resumo

A água, na epiderme, deve distribuir-se de acordo com a estrutura histológica que se conhece para este tecido, admitindo-se que as células em diferenciação, desde a camada basal (100% de água) ao estrato córneo (cerca de 10% de água) possuam distintos conteúdos hídricos.

O objectivo do presente estudo foi esclarecer, se métodos especialmente concebidos, como é o caso do sistema MoistureMeter-D®, conseguem detectar a água profunda da epiderme.

Foram seleccionados 13 voluntários, nos quais se marcaram aleatoriamente 3 sítios de aplicação na face ventral do antebraço para aplicação de (a) um penso com a solução de Lauril Sulfato de Sódio (LSS) a 3,5%, (b) um penso sem qualquer solução (controlo positivo) e (c) uma área de controlo sem penso (controlo negativo). Após 24h, os pensos foram removidos, procedendo-se à medição da hidratação através de metodologias não invasivas, com o auxílio dos sistemas MoistureMeter-D® e MoistureMeter-SC®, sistemas baseados na medição da variação da “capacitância” epidérmica, utilizando diferentes frequências de medição, respectivamente, 300 MHz e 1,25MHz. A perda trans-epidérmica de água (PTEA) e o eritema, foram também medidos nos sítios estudados (Tewameter TM300 e Chromameter CR3000, respectivamente). Os dados foram estatisticamente avaliados (descritiva e não paramétrica) adoptando-se um nível de confiança de 95%.

Os resultados obtidos revelam a alteração da função de barreira da pele e presença de edema no sítio tratado com LSS, conforme se encontra descrito na literatura. Em relação à medição da hidratação da epiderme, os resultados não evidenciaram diferenças significativas entre os sítios estudados, quando medidos pelo MoistureMeter-D®. Contudo, verificou-se uma maior hidratação superficial no local da aplicação do provocador, conforme se encontra descrito na literatura.

Os presentes resultados sugerem que, apesar das especificações do fabricante, o sistema em causa não detecta as variações mais profundas de conteúdo hídrico descritas.

Palavras chave: Hidratação Profunda, biometria, edema, LSS.

Abstract

Epidermal water is distributed in accordance with the histological structure that is known for this tissue, admitting that the cells, from the basal layer (100% water) to the stratum corneum (approximately 10% water) have distinct water contents.

The objective of this study is to evaluate if methods specially conceived to measure deep skin water contents, such as the MoistureMeter-D®, can really do it.

Thirteen volunteers participated in the study. Three sites on the ventral forearm were chosen and application, previously randomized, took place as follows: (a) test chamber with an aqueous solution of Sodium Lauryl Sulphate (SLS) (3.5%), (b) test chamber with no solution (positive control) and (c) one area with no test chamber (negative control). After 24 hours, the chambers were removed and several variables were measured by biometric techniques. Epidermal hydration was measured by “capacitance” based devices (MoistureMeter-D® and MoistureMeter-SC®), using different measure frequencies, 300 MHz and 1.25 MHz, respectively, and Transepidermal water loss (TEWL) and erythema (Tewameter TM300 and Chromameter CR3000, respectively) were also measured. Results were statistically treated (descriptive and nonparametric), and a confidence level of 95% was adopted.

Changes on skin barrier integrity and the presence of oedema in the SLS treated site were apparent, which is in agreement with what is described in the literature. Concerning the measurement of epidermal hydration, the results don't show any significant differences between the three sites, when measured by the MoistureMeter-D® system. However, higher levels of superficial hydration were detected on the site treated with SLS, as is also described in the literature.

The present results suggest that, in spite of the manufacturer specifications, the system under scope, does not detect deeper changes on epidermis water content.

Key words: Deep hydration; biometrics; oedema; Sodium Lauryl Sulphate.

Recebido em 16/04/2009

Aceite em 27/04/2009

Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2009; (6) 1: 65-75

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

Introdução

Uma das funções mais importantes da pele é a de protecção do organismo da desidratação e de agressões externas. O Estrato Córneo (EC), camada mais superficial da pele, com apenas 20 µm de espessura, tem o papel de servir de barreira protectora da pele, mantendo-a sempre suave e lisa^[1]. Da manutenção de uma adequada hidratação cutânea dependem as funções mais básicas da pele, desde a sua coesão e funcionalidade à sua aparência^{[1][3]}.

Várias metodologias não invasivas foram desenvolvidas para proporcionar a medição rápida da hidratação cutânea. É o caso do aparelho Corneometer®, um dos sistemas mais conhecidos em dermatologia experimental. Os seus princípios são baseados na avaliação da capacitância, como um parâmetro importante na avaliação da hidratação do Estrato córneo^[17]. Esta técnica é baseada numa unidade de controlo automática, que origina e transmite um campo electromagnético que penetra na pele. A porção de energia do campo electromagnético que não é absorvida pela água dos tecidos, é reflectida e é detectada pela mesma sonda que transmitiu o campo electromagnético^[15]. Através da leitura, obtém-se o valor de constante dieléctrica, que é proporcional à quantidade de água no tecido medido.

A medição com o Corneometer® permite obter resultados de hidratação a uma profundidade constante de 30µm^[20]. A introdução de um novo aparelho – o MoistureMeter-SC® da Delphin Technologies, que permite a medição da hidratação da pele no Estrato Córneo, e que tem em consideração a espessura deste, surge como alternativa ao Corneometer®. Estudos efectuados, sugerem uma maior sensibilidade deste sistema^[20] o que justifica recorrer-se a este aparelho quando o propósito é avaliar a quantidade de água nas camadas mais profundas da pele (EC, derme e tecidos subcutâneos). Ambos os aparelhos (MoistureMeter-SC® e MoistureMeter-D®) se baseiam nas alterações das propriedades eléctricas da pele que a hidratação produz e também na medição da “capacitância” ou condutividade eléctricas^[5], diferindo na frequência de medição (300 MHz para o MoistureMeter-D® e de 1,25 MHz para o MoistureMeter-SC®). Para o MoistureMeter-D®, a extensão do campo eléctrico é dependente do tamanho da sonda circular, ou seja, quanto maior for a sonda, mais profunda será a medição (0,5mm com a sonda mais pequena até 5mm de profundidade, com a sonda maior). O intervalo de medição para pele normal e tecido subcutâneo ronda os 15-40 (unidades arbitrárias)^[6].

São várias as técnicas e instrumentos baseados em princípios eléctricos desenvolvidos para o estudo específico da água profunda da pele^[26]. Contudo, as técnicas mais sofisticadas como a Imagem NIR

Introduction

One of the most important skin functions is to protect the organism from dehydration and external aggressions. The Stratum Corneum (SC), the outermost skin layer with only 20 µm of thickness, serves as skin barrier protection that is always kept soft and smooth^[1]. The maintenance of adequate cutaneous hydration depends on the skin's most basic functions, from its cohesion and functionality to its appearance^{[1][3]}.

Several noninvasive methods were developed in order to provide a quick measurement of cutaneous hydration. This is the case of the Corneometer® device which is one of the most widely known systems for experimental dermatology. Its principles are based on the evaluation of “capacitance” with an important parameter in the evaluation of the Stratum Corneum's hydration^[17]. This technique is based on an automatic control unit that originates and transmits an electromagnetic field that penetrates the skin. The energy portion from the electromagnetic field that is not absorbed by the tissue water is reflected and detected in the same probe that emitted the electromagnetic field^[15]. The dielectric constant value, which is proportional to the quantity of water in the measured tissue, is obtained in the reading.

With Corneometer® measurements we can obtain hydration results at a constant depth of 30µm^[20]. The introduction of a new device – the MoistureMeter-SC® from Delphin Technologies, allows for skin hydration measurements in the Stratum Corneum, which considers its thickness and surges as an alternative to the Corneometer®. Studies carried out on this new system^[20] suggest that it has a higher sensibility which justifies its use when the purpose is to evaluate and quantify water in the deepest skin layers (SC, dermis and subcutaneous tissues). Both devices (MoistureMeter-SC® and MoistureMeter-D®) are based on changes in the skin's electrical properties produced by hydration and also in the “capacitance” measurement or electrical conductivity^[5], which postpones the frequency measurement (300 MHz for the MoistureMeter-D® and 1.25 MHz for the MoistureMeter-SC®). The extension of the electrical field for the MoistureMeter-D® is dependent on the size of the circular probe, that is, the bigger the probe, the deeper the measurement (0.5mm with the smallest probe and up to 5mm of depth with the biggest probe). Measurement intermission for normal skin and subcutaneous tissue is around 15-40 (arbitrary units)^[6]. There are several techniques and instruments based on electrical principals developed for the specific study of deep skin hydration^[26]. However, the most sophisticated techniques such as NIR images^[28], Opto-thermography^[29] or Ultrasonography^{[24] [25]}, have a known high sensibility for quantifying the skin's Water

^[28], a Opto-termografia ^[29] ou a Ultrasonografia ^[24] ^[25], têm reconhecidamente uma elevada sensibilidade para a quantificação do conteúdo hídrico da pele mas o seu custo é ainda inacessível para a maioria dos laboratórios.

O objectivo do presente estudo foi o de confirmar, nas actuais condições experimentais que envolvem a modificação controlada da água intersticial (profunda) da pele, se o sistema MoistureMeter-D concebido especificamente, segundo o fabricante, para medir a hidratação na epiderme profunda, consegue detectar as variações de água que previsivelmente resultam de uma reacção irritativa simples, local, não imunológica e adequadamente controlada.

Materiais e Métodos

População e amostra em estudo

O presente estudo envolveu uma amostra de 13 voluntários saudáveis, de ambos os géneros e com idades compreendidas entre os 18 e os 45 anos ($22,6 \pm 7,4$ anos) seleccionadas após consentimento informado de acordo com os critérios de inclusão e não inclusão estabelecidos. Como critérios de inclusão foram referidos voluntários sem distinção de género, saudáveis, com idades compreendidas entre 18 e 45 anos. Como critérios de não inclusão, incluímos o fototipo de pele igual ou superior a V (classificação Fitzpatrick) e a presença de manifestações dermatológicas simples ou pele seca escoriada na zona da avaliação. O protocolo experimental foi desenvolvido na Unidade de Dermatologia Experimental da Universidade Lusófona, definido de acordo com as normas éticas para a investigação médica em seres humanos, regidas pela Declaração de Helsínquia e emendas subsequentes ^[17] e, previamente submetido à Comissão de Ética institucional (Universidade Lusófona) que superintende este tipo de pesquisa.

Biometria

As variáveis experimentais analisadas neste estudo foram:

- a Perda Trans-epidérmica de água (PTEA, expressa em g/h.m²) utilizando o aparelho Tewameter TM 300® (CK electronics, Germany) ^[8]^[9]
- a Hidratação profunda da epiderme, expressa em unidades arbitárias (UA's) utilizando o aparelho MoistureMeter-D® (Delfin Technologies, Finland) ^[10].
- a Hidratação superficial da epiderme, expressa em

content but their costs are still inaccessible to the majority of laboratories.

The objective of this study was to confirm, within the current experimental conditions that involve the controlled modification of the skin's interstitial (deep) water, whether the MoistureMeter-D system, which according to the manufacturer was specifically conceived to measure deep epidermal hydration, could detect water variations that predictably result from a simple, local, non-immunological and adequately controlled irritative reaction.

Material and Methods

Population

The current study involved a sample of 13 healthy individuals from both sexes between the ages of 18 and 45 (22.6 ± 7.4 years). The selection was made after an informed consent in accord with the established inclusion and non-inclusion criteria. The inclusion criteria consisted of healthy volunteers without gender distinction between the ages of 18 and 45. As non-inclusion criteria, we included a skin phototype equal or superior to V (Fitzpatrick classification) and the simple presence of dermatological manifestations or dry excoriated skin in the evaluated site. The experimental protocol was developed at Universidade Lusófona's Experimental Dermatology Unity and was defined in accordance with the ethical norms for medical research in humans governed by the Declaration of Helsinki and subsequent amendments ^[17]. It had also been previously submitted to the Institutional Ethics Commission (Universidade Lusófona) who supervises this type of research.

Biometrics

The experimental variables analyzed in this study were:

- Transepidermal water loss (TEWL, expressed in g/h.m²) by using the Tewameter TM 300® device (CK electronics, Germany) ^[8]^[9]
- Deep epidermal hydration expressed in arbitrary units (AUs) by using the MoistureMeter-D® device (Delfin Technologies, Finland) ^[10].
- Superficial epidermal hydration in arbitrary units (AUs) by using the MoistureMeter-SC® device (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finland) ^[10]
- Erythema through the a* variable obtained by colorimetry with use of the Minolta Chromameter CR-300 Series® (Minolta Inc., Japan) device, expressed in arbitrary units (Aus) ^[11].

unidades arbitrárias (UA's) utilizando o aparelho MoistureMeter-SC[®] (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finland)^[10]

- o Eritema através da variável a* obtida por colorimetria utilizando o aparelho Minolta Chromameter CR-300 Series[®] (Minolta Inc., Japan), expressa em unidades arbitrárias (UA's)^[11].

Metodologia experimental

Foram definidas duas fases experimentais (Tabela I):

A - Indução, envolvendo a exposição a uma solução de Lauril-Sulfato de Sódio (LSS, sol. aquosa a 3,5% p/v.) por aplicação de um penso sob oclusão durante vinte e quatro horas, sendo a área de aplicação a região média da face ventral do antebraço. Foram ainda considerados, como controle, uma área análoga coberta com penso sem qualquer solução e como uma outra área não ocluída.

B - Recuperação, após exposição ao LSS em que se procedeu ao exame dermatológico, 2 horas após remoção do penso.

Experimental Methodology

Two experimental phases were defined (Table I):

A – Induction involved exposition to a Sodium Lauryl Sulphate solution (SLS, aqueous solution at 3.5% p/v.) by applying an occluded test chamber during 24 hours. The application site was the ventral side of the forearm. We also considered, as control measures, an analogous site covered with a test chamber that had no solution as well as another site that was not occluded.

B – Recovery after exposition to the SLS was followed by a dermatological exam 2 hours after removing the test chamber.

Tabela I – Planeamento do Estudo
Table I - Study Plan

	Fase A <i>Phase A</i>	Fase B <i>Phase B</i>
Avaliação da história clínica do voluntário, obtenção de consentimento informado. <i>Evaluation of the volunteer's clinical history, obtaining informed consent.</i>	•	
Verificação dos critérios de inclusão/ exclusão. <i>Verification of the inclusion/exclusion criteria.</i>	•	
Aclimatização, medição das variáveis (Temperatura, Humidade). <i>Acclimatization, measurement of variables (Temperature, Humidity).</i>	•	
Aplicação de LSS 3,5% (p/v). <i>Application of SLS at 3.5% (p/v).</i>	•	
Aplicação de um penso sem qualquer solução <i>Application of a test chamber without any solution</i>	•	
Remoção dos pensos, após 24h. <i>Removal of the test chambers after 24 hours</i>		•
Avaliação clínica / Exame dermatológico, após 20 minutos. <i>Clinical evaluation / dermatological exam after 20 minutes.</i>		•
Análise estatística dos resultados obtidos. <i>Statistical analysis of the obtained results.</i>		•

- Todas as medições foram executadas em laboratório, com temperatura e humidade controladas (Humidade: $52,9 \pm 3,9\%$, Temperatura: $22,1 \pm 0,6^\circ\text{C}$), de acordo com as indicações habituais para este tipo de estudos ^{[8],[9],[10]}.

- Os sítios de aplicação dos pensos foram aleatorizados entre indivíduos e no próprio indivíduo, para aumentar o grau de fiabilidade do ensaio.

O procedimento utilizado para todos os voluntários consistiu sequencialmente em:

1. Acclimatização (adaptação dos voluntários às condições de temperatura e de humidade do laboratório) durante 20 minutos.
2. Determinação da PTEA..
3. Determinação da hidratação através do MoistureMeter-SC®.
4. Determinação da hidratação através do MoistureMeter-D®.
5. Determinação do eritema (a^*), através do Chromameter CR300®.

Tratamento estatístico

Os dados foram submetidos a uma análise descritiva simples (MS Excel), que consistiu no cálculo da média e do desvio padrão para cada um dos sítios tratados. Utilizou-se também uma estatística comparativa não paramétrica (teste de Wilcoxon) com dados emparelhados, através do sistema informático SPSS 13, adoptando-se o nível de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

A hidratação cutânea é uma variável importante na avaliação do estado da pele. Esta pode ser determinada quantitativamente através de diferentes metodologias e tecnologias, sendo que aqueles usados mais correntemente se baseiam em princípios eléctricos.

O Lauril Sulfato de Sódio (LSS) é um tensoactivo usado muito frequentemente em formulações para aplicação tópica e cosmética. Apesar de ser bem tolerado pela pele nas concentrações necessárias para que actue como emulgente, tem a capacidade de modificar, no estrato córneo, a capacidade de retenção hídrica, e mesmo diminuir a barreira cutânea e, assim, aumentar o grau de penetração de algumas substâncias na pele ^[3]. Estudos realizados mostram que o LSS actua não por interposição com os lípidos da membrana causando a destruição destes, mas sim pelo dano causado aos corneócitos, células constituintes do EC ^[2]. Quando a pele entra em contacto prolongado com este tensoactivo, são esperadas duas respostas: a)

- All of the measurements were carried out in a laboratory with a controlled temperature and humidity (Humidity: $52.9 \pm 3.9\%$, Temperature: $22.1 \pm 0.6^\circ\text{C}$), in accord with the normal conditions for this type of study ^{[8],[9],[10]}.

- The sites for the application of the test chambers were random among individuals and on the individual himself to increase the degree of the tests' reliability.

The procedure used for all of the volunteers consisted in the following sequence:

1. Acclimatization (adaptation of the volunteers to the laboratory's temperature and humidity) during 20 minutes.
2. Determination of the TEWL.
3. Determination of hydration through the MoistureMeter-SC®.
4. Determination of hydration through the MoistureMeter-D®.
5. Determination of erythema (a^*), through the Chromameter CR300®.

Statistical treatment

The data was submitted to a simple descriptive analysis (MS Excel), which consisted in calculating the average of the standard deviation for one of the treated sites. We also used a non-parametric comparative statistics (Wilcoxon test) with paired data, through the SPSS 13 computer system, and adopted a confidence level of 95%.

Results and Discussion

Cutaneous hydration is an important variable in the evaluation of the skin's state. This may be determined quantitatively through different methodologies and technologies where those which are most commonly used are based on electrical principles.

Sodium Lauryl Sulphate (SLS) is a very frequently used tensoactive in formulations for topical and cosmetic application. Even though it is well tolerated by the skin in the needed concentrations in order to act as an emulgent, it has the capacity to modify in the stratum corneum, the capacity of water retention, and can even decrease the cutaneous barrier and thus increase the degree of penetration of certain substances into the skin ^[3]. Studies have shown that SLS acts not by interposition with the membrane lipids which causes its destruction, but rather by the damage caused to the corneocytes, the constituent cells of the SC ^[2]. When the skin has a prolonged contact with this tensoactive, there are two expected responses: a) hyporeactivity, in

hiporeactividade, caso a resposta ao irritante seja de origem epidérmica, evidenciando sinais de secura; b) hiperreatividade, se a resposta for de origem dérmica, originando o aparecimento de eritema e edema^[3]. Esta grande variabilidade de resposta é conhecida e parece depender de muitos factores, como a concentração, o modo e local de aplicação e o tempo de exposição^[4]. Há também indícios de uma grande variabilidade em relação aos resultados obtidos com o LSS entre indivíduos relacionados com o fototipo e no próprio indivíduo, com a região anatómica^[3],^[4]. Apesar destes condicionantes, a aplicação de LSS por períodos de cerca de 24h continua a ser um dos modelos mais correntes para a indução controlada da alteração de “barreira” cutânea. Uma vez que foi aplicada uma solução aquosa de LSS a 3,5% no sítio tratado de cada um dos voluntários, eram esperadas alterações tanto na barreira cutânea (que seriam observáveis na PTEA), como na hidratação superficial e profunda.

A alteração da PTEA está bem descrita na literatura e fornece indicações sobre a integridade da barreira cutânea e da difusão da água epidérmica^[12]^[13]. Valores elevados de PTEA estão relacionados com o comprometimento da barreira epidérmica, sendo estes mais elevados quanto maior for a modificação da membrana do EC.

A nível da hidratação superficial (no Estrato Córneo), esperava-se um aumento da quantidade de água, dado que a aplicação da solução de LSS induz a desorganização dos lipídios intercelulares, facilitando a passagem de água, das camadas mais internas para a periferia. Adicionalmente, os adesivos usados neste protocolo para aplicar a solução de LSS são oclusivos (por terem câmaras de alumínio). Desta forma, poderia haver também um aumento de água na camada mais superficial da pele, devido ao impedimento físico provocado pela câmara de oclusão, no estabelecimento do equilíbrio entre a pele e o ambiente^[3].

Uma vez que a aplicação de LSS também causa edema e eritema, eram esperadas variações nos resultados da hidratação profunda e da coloração cutânea. O eritema surge como resposta inflamatória e resulta da acumulação de eritrócitos na estrutura da pele. Na inflamação cutânea os vasos estão dilatados e o fluxo sanguíneo está aumentado^[14]. Como resultado, observa-se um aumento de pigmentação vermelha na pele, que pode ser visualizada a olho nu e quantificada por colorimetria, através do aparelho Minolta Chromameter CR-300 Series® (Minolta Inc., Japan). Valores elevados de a^* ^[14] seriam indicadores da presença de eritema, nesse local.

Os resultados obtidos através da análise aos três sítios estudados, após a oclusão de 24h, encontram-se resumidos nas Tabela II e III.

case the response to the irritant has an epidermal origin, showing signs of dryness; b) hyperreactivity, if the response has a dermal origin, giving rise to the appearance of erythema and oedema^[3]. This great response variability is known and seems to depend on many factors such as concentration application, mode and site and exposure time^[4]. There are also signs of a great variability in relation to the results obtained with the SLS among the individuals and in the individuals themselves related to the phototype with the anatomic region^[3],^[4]. In spite of these constraints, the application of SLS during 24 hour periods continues to be one of the most common models for controlled induction of cutaneous “barrier” alterations. Given the application of an aqueous solution of SLS at 3.5% in the treated site of each of the volunteers, we expected alterations in both the cutaneous barrier (which would be observable with the TEWL) and the superficial and deep hydration. The TEWL alteration is well described in the literature and provides indications on cutaneous barrier integrity and the diffusion of epidermal water^[12]^[13]. High levels of TEWL are related with the compromise of the epidermal barrier and these become higher the bigger the modification of the SC membrane.

Regarding superficial hydration (in the Stratum Corneum), we expected an increase of the quantity of water, since the application of the SLS solution induces the disorganization of intercellular lipids, facilitating the passage of water from the innermost internal layers to the periphery. In addition, the test chambers used in this protocol for the application of the SLS solution are occlusive (because they have aluminium chambers). Thus, there could have also been an increase of water in the skin's most superficial layer due to the physical restraint provoked by the occlusion chamber in the establishment of balance between the skin and the environment^[3].

Given that the SLS application also caused oedema and erythema, certain variations in the deep hydration and cutaneous coloration were expected. The erythema arises as an inflammatory response and results from the accumulation of erythrocytes in the skin structure. With cutaneous inflammation the vessels are dilated and the blood flow increases^[14]. As a result, there is an increase of red pigmentation of the skin which is visible to the naked eye and quantifiable by colorimetry through the Minolta Chromameter CR-300 Series® device (Minolta Inc., Japan). High levels of a^* ^[14] would be indicators of the presence of erythema on that site.

The results obtained through the analysis of the three studied sites, after 24 hour occlusion, are summarized in Tables II and III.

Tabela 2 – Valores médios das variáveis (PTEA e colorimetria) nos sítios avaliados nas presentes condições experimentais ($p < 0,05$). (ns: não significativo; *: $p < 0,05$).

Table 2 – Average values of the variables (TEWL and colorimetry) in the evaluated sites in the current experimental conditions ($p < 0.05$). (ns: non-significant; *: $p < 0.05$).

	PTEA TEWL			Eritema (a*) Erythema (a*)		
	Provocação Provocation	Controlo Positivo Positive Control	Controlo Negativo Negative Control	Provocação Provocation	Controlo Positivo Positive Control	Controlo Negativo Negative Control
Média Average	36,79	10,52	9,29	11,54	8,45	7,37
Desvio Padrão Standard Deviation	22,59	4,81	2,94	2,44	2,3	1,89
p	0,001			0,002		
	0,001			0,001		
		0,249			0,011	

Tabela 3 – Valores médios das variáveis (Hidratação superficial e profunda) nos sítios avaliados nas presentes condições experimentais ($p < 0,05$). (ns: não significativo; *: $p < 0,05$).

Table 3 – Average values of the variables (superficial and deep hydration) in the evaluated sites in the current experimental conditions ($p < 0.05$). (ns: non-significant; *: $p < 0.05$).

	Hidratação Superficial Superficial Hydration			Hidratação Profunda Deep Hydration		
	Provocação Provocation	Controlo Positivo Positive Control	Controlo Negativo Negative Control	Provocação Provocation	Controlo Positivo Positive Control	Controlo Negativo Negative Control
Média Average	35,03	33,59	22,21	35,34	32,75	31,96
Desvio Padrão Standard Deviation	22,16	15,6	8,51	8,08	9,9	8,54
p	0,972			0,382		
	0,117			0,101		
		0,004			0,701	

Os resultados obtidos, permitiram verificar valores elevados de PTEA que sugerem uma alteração da estrutura da barreira da pele, como consequência do contacto desta com a solução de LSS a 3,5% (p/v). O sítio da aplicação do provocador é estatisticamente diferente do sítio do controlo positivo ($p=0,001$). Verificou-se também não existirem diferenças significativas entre os sítios de controlo positivo e negativo ($p=0,249$) (Figura 1), o que é indicador da adequabilidade da metodologia, uma vez que não era

The obtained results allowed us to verify high values of TEWL which suggest an alteration of the skin barrier structure, as a consequence of its contact with the SLS solution at 3.5% (p/v). The application site of the provocation is statistically different from the site of the positive control ($p=0.001$). We also verified that there are no significant differences between the positive and negative control sites ($p=0.249$) (Figure 1), which indicates the adequateness of the methodology since it was not expected that the simple application of the

esperado que a simples aplicação de adesivo fosse alteradora da barreira cutânea.

adhesive would alter the cutaneous barrier.

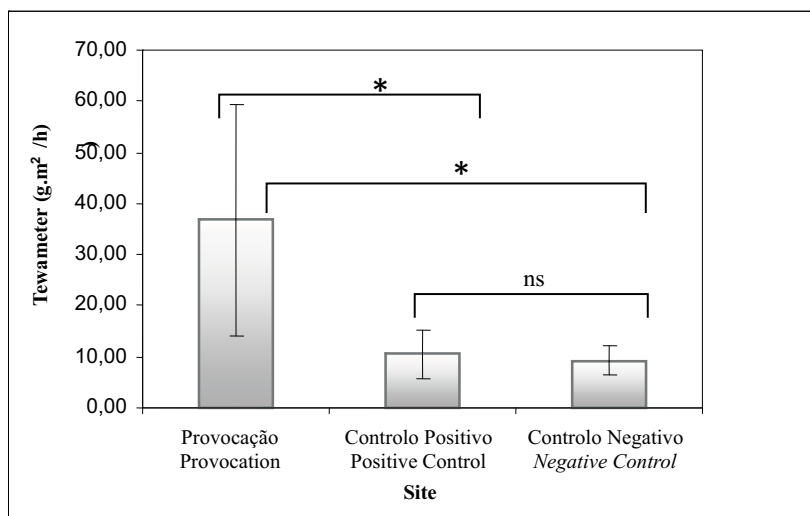


Figura 1 - Valores médios de PTEA (g/h.m2) nos três sítios estudados. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* p<0,05),

Figure 1- Average TEWL (g/h.m2) values in the three studied sites. The statistical significance levels are also indicated (* p <0.05),

Os valores elevados de a* obtidos através da leitura da colorimetria no local tratado com provocador, através do aparelho Chromameter®, confirmam a presença de eritema na pele, que já tinha sido detectada visualmente (Figura 2). Estatisticamente, verificaram-se diferenças entre este sítio e o sítio do controlo positivo (p=0,002). Entre os sítios do controlo positivo e negativo, verificaram-se diferenças estatísticas nos valores de eritema (p=0,011).

Vthe high a* values obtained through the colorimetry reading in the treated site with provocation through the Chromameter® device confirm the presence of erythema on the skin, which had already been visually detected (Figure 2). Statistically speaking, we verified differences between this site and the positive control site (p=0.002). Between the positive and negative control sites, we verified statistical differences in the erythema values (p=0.011).

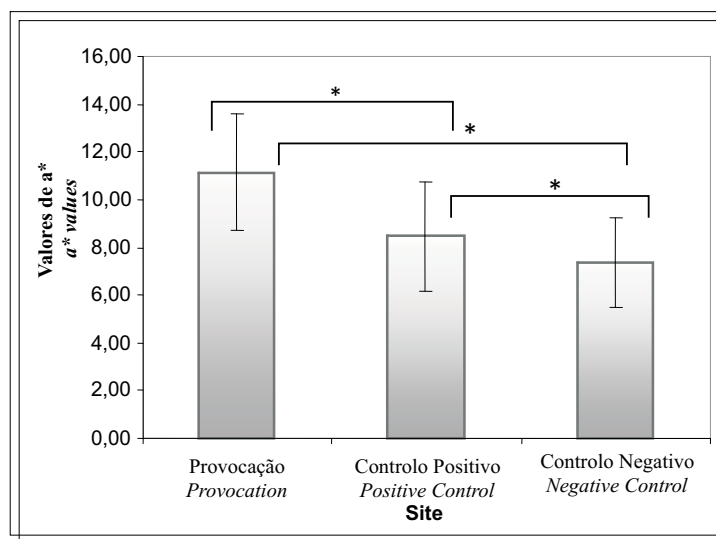


Figura 2 -Valores médios de a* nos sítios estudados. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* p<0,05),

Figure 2 - Average a* values in the studied sites. The statistical significance levels are also indicated (* p<0.05)

Através da medição hídrica da pele, com o aparelho MoistureMeter-SC®, verificou-se uma maior hidratação da pele no estrato córneo, nos sítios da provocação e controlo positivo. Apenas com a oclusão, verificou-se também uma maior hidratação do Estrato Córneo, tal como era esperado (Figura 3). O nível de significância estatística entre o local de aplicação de LSS a 3,5% e o local do controlo positivo foi de 0,972, o que significa que estatisticamente não são diferentes. Em relação ao controlo positivo e negativo, obteve-se um valor de significância de 0,004, relevando diferenças estatísticas entre estes dois parâmetros.

Through the measurement of skin hydration with the MoistureMeter-SC® device, we verified higher skin hydration in the stratum corneum, as well as provocation and positive control sites. Only with occlusion did we also verify a higher hydration of the Stratum Corneum, as expected (Figure 3). The statistical significance level between the application site of the SLS at 3.5% and the positive control site was 0.972, which means that statistically they are not different. In relation to the positive and negative controls, we obtained a significance value of 0.004 which reveals statistical differences between these two parameters.

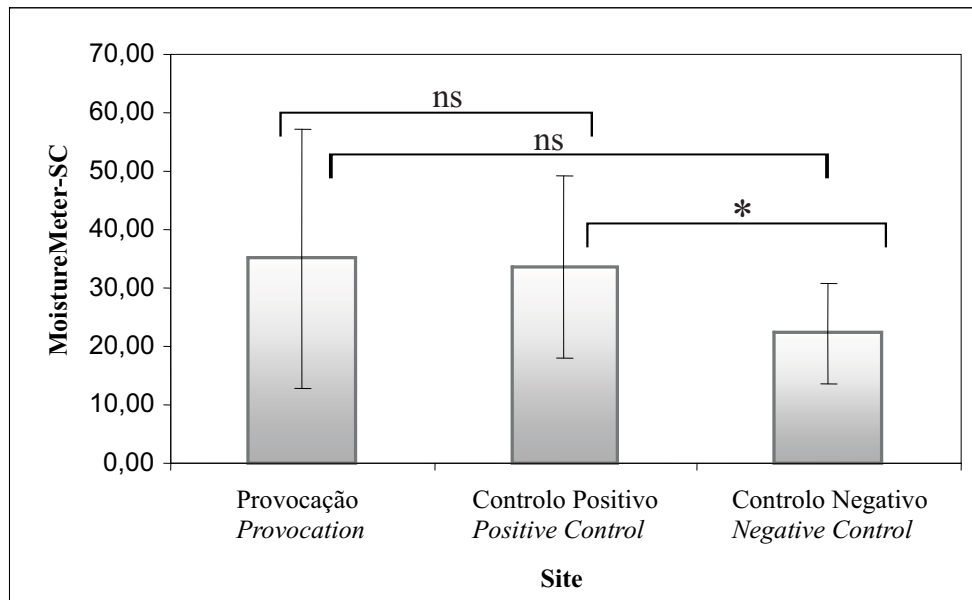


Figura 3 -Valores médios da hidratação superficial da epiderme. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* $p < 0,05$),

Figure 3 - Average values of the superficial epidermal hydration. The statistical significance levels are also indicated (* $p < 0.05$),

A nível da hidratação dita profunda (epiderme, derme e tecido subcutâneo), verifica-se que não houve uma diferença significativa entre o sítio de provocação e os dois sítios utilizados como controlo (Figura 4). Estes resultados podem provavelmente ser explicados, por um lado, pela grande variabilidade interindividual na resposta ao LSS, mas também por, neste protocolo ter sido utilizada a sonda do MoistureMeter-D de maiores dimensões. Este aspecto pode ter feito com que a hidratação medida fosse a de camadas da pele que normalmente não chegam a ser modificadas pelo edema causado pelo tensoactivo aplicado.

Regarding deep hydration (epidermal, dermal and subcutaneous tissue), we verified that there was no significant difference between the provocation site and the two control sites used (Figure 4). These results can probably be explained, on one hand, by the great interindividual variability in response to SLS, but also by the fact that, in this protocol, we used the MoistureMeter-D probe which has higher dimensions. This aspect could have involved other skin layers that normally are not affected by the oedema caused by the contact surfactant.

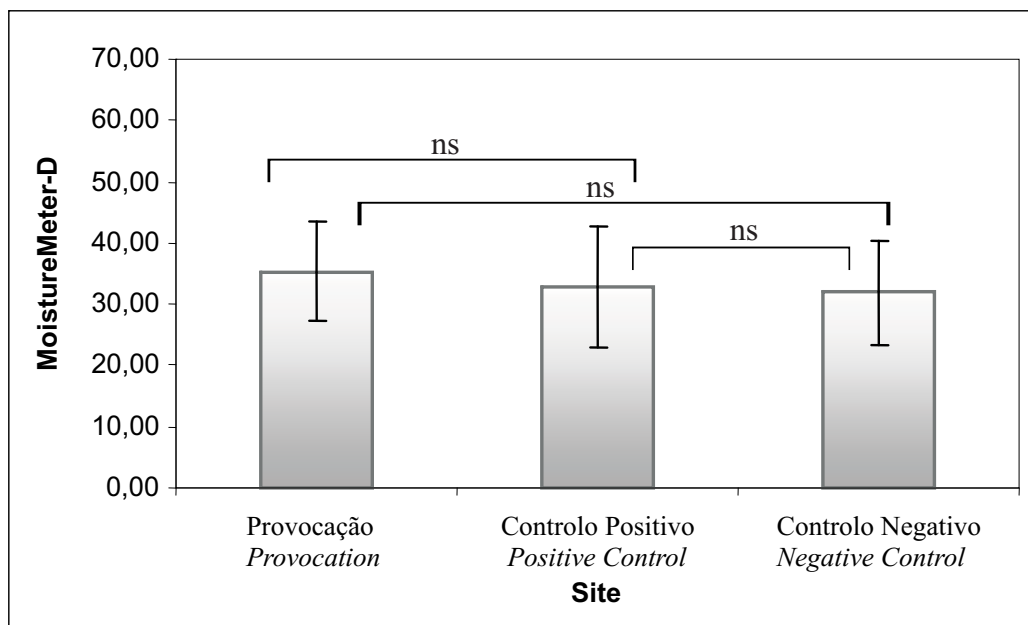


Figura 4 -Valores médios da hidratação das camadas mais profundas da epiderme nos três sítios estudados. Os níveis de significância estatística estão também indicados (* $p < 0,05$),

Figure 4 - Average hydration levels of the deepest layers in the epidermis in the three studied sites. The statistical significance levels are also indicated (* $p < 0.05$),

Conclusão

Os resultados obtidos evidenciam uma alteração da função de barreira da pele e também a presença de eritema consistentemente relacionados com o contacto o LSS. Adicionalmente, observou-se um aumento da hidratação superficial atribuível ao contacto com o tensioactivo e à oclusão causada pelo sistema adesivo utilizado. No entanto, e apesar de visualmente ter sido observado edema em quase todos os voluntários, ao contrário das especificações do fabricante do MoistureMeter-D®, o sistema em causa não foi capaz de detectar as variações de conteúdo hídrico profundo previstas.

Sugerem-se estudos futuros, utilizando outras tecnologia de referência na detecção do edema da derme (como a ultrasonografia), bem como a medição sistemática da hidratação com as 4 sondas fornecidas com o aparelho. Desta forma, espera-se que seja possível avaliar, nas mesmas condições experimentais, a aplicabilidade do sistema em causa.

Conclusion

The obtained results show an alteration of the skin barrier function and also the presence of erythema consistently related to SLS contact. Additionally, we observed an increase of superficial hydration which is attributable to surfactant contact and the occlusion caused by the adhesive system used. However, and in spite of the visible observation of oedema in almost all of the volunteers, contrary to the specifications of the MoistureMeter-D® manufacturer, the system was not able to detect the expected deep hydration content changes.

Future studies that use other reference technology to detect dermal oedema (ultrasonography), are suggested as well as a systematic measurement of the hydration with the 4 probes supplied by the device. This way, we hope to be able to evaluate, in the same experimental conditions, the applicability of that system.

Referências / References

- [1]. Serup J; Jemec GBE, Grove GL., Handbook of Non-invasive Methods and the Skin, Capítulo CRC Press, Nova York, 1995. págs. 160-184.
- [2]. Gloor M, Senger B, Langenauer M, Fluhr JW. On the course of the irritant reaction after irritation with Sodium Lauryl Sulphate, *Skin Res Technol*, 2004, 10: 144-148.
- [3]. Zhai H, Maibach HI, *Dermatotoxicology*, 6Th ed, CRC Press, Nova York. Págs.15-28; 192-228; 481-505.
- [4]. Pinto PC, Martinho H., Rodrigues LM. Estudo in vivo sobre a influência do fototipo na resposta da pele humana ao contacto com Lauril Sulfato de Sódio, *Rev Lus de C e Tecno da Saúde*, 2007, 4:47-55.
- [5]. Dykes PJ, What are meters measuring?, *In J of Cosm Sci*, 2002, 24: 241-245
- [6]. www.delphintech.com.
- [7]. Goodyear MD, Krleza-Jeric K, Lemmens T. The Declaration of Helsinki, *BMJ*, 2007 Sep 29; 335(7621):624-5.
- [8]. Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for Trans-epidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the standardization group of the European Society of Contact Dermatitis, *Cont Derm* 1990; 22: 164-178.
- [9]. Rogiers V, The EEMCO Group. EEMCO guidance for the assessment of the trans-epidermal water loss (TEWL) in cosmetic sciences, *Skin Pharmacol. Appl Skin Physiol* 2001; 14: 117-128.
- [10]. Berardesca E. The EEMCO Group. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Res Technol*, 1997; 3: 126-132.
- [11]. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardizations Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Cont Derm*, 1996, Julho; 35 (1): 1-10.
- [12]. Fluhr JW; Lazzerini S, Distant F; Gloor M; Berardesca E, Effects of Prolonged Occlusion on Stratum Corneum Barrier Function and Water Holding Capacity, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 1999, 12: 193-198.
- [13]. Rodrigues LM; Pinto PC, Magro JM, Furtado N, Roberto MaA. Quantitative Follow-Up of the Cutaneous Barrier Function in Wound Healing, *Exog Dermatol*, 2004, 3: 303-306.
- [14]. Berardesca E, Elsner P, Wilhelm KP, Maibach HI. *Bioengineering of the Skin: Methods and Instrumentation*, CRC Press, Nova York, 1995. Págs. 29-39.
- [15]. Miettinen M, Lahtinen M, Noutinen J, Lahtinen T, Niinimäki M. Measurement of oedema in irritant-exposed skin by a dielectric technique, *Skin Res Technol*, 2006, 12: 235-240.
- [16]. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin Hydration: a review of its molecular mechanisms, *J Cosm Dermatol*, 2007, 6: 75-82.
- [17]. Zhai H, Maibach HI. Occlusion vs Skin Barrier function, *Skin Res Technol*, 2002, 8: 1-6.
- [18]. Fluhr, JW, Akengin A, Bornkessel A, Fuchs S, Praesler J, Norgauer J, Grieshaber R, Kleesz P, Zhai H, Maibach HI, Elsner P. Additive impairment of the Barrier Function by mechanical irritation, occlusion and sodium lauryl sulphate in vivo. *Br J Dermatol*, 2005, 153: 125-131.
- [19]. Berardesca E, Maibach, HI. Monitoring the water-holding capacity in visually non-irritated skin by plastic occlusion stress test (POST). *Clin Exper Dermatol*, 1990; 15:107-110.
- [20]. Alanen E, Nuutinen J; Nicklén K; Lahtinen T; Monkkonen J. Measurement of hydration in the stratum corneum with the MoistureMeter and comparison with the Corneometer. *Skin Res Technol*, 2004; 10: 32-37.
- [21]. Rodrigues LM, Pinto PC, Pereira LM. Quantitative description of human skin water dynamics by a disposition-decomposition analysis (DIDA) of trans-epidermal water loss and epidermal capacitance. *Skin Res Technol*, 2003; 9: 24-30.
- [22]. Berardesca E, Fideli D, Borroni G, Rabbiosi G, Maibach H. In Vivo Hydration and Water-retention capacity of Stratum Corneum in Clinically Uninvolved Skin in Atopic and Psoriatic Patients. *Acta Derm Venereol*, 1990; 70: 400-404.
- [23]. Berardesca E, Herbst R, Maibach H. Plastic Occlusion Stress Test as a Model to Investigate the Effects of Skin Delipidization on the Stratum Corneum Water Holding Capacity in vivo. *Dermatol*, 1993; 187: 91-94.
- [24]. Gniadecka M, Quistorff B. Assessment of dermal water by high frequency ultrasound: comparative studies with nuclear magnetic resonance. *Br J Dermatol*, 1996, 135(2): 218-224.
- [25]. Zmudzinska M, Czarnecka-Operacs M, Silny W. Principles of dermatologic ultrasound diagnostics. *Acta Dermatovenerol Croat*, 2008, 16 (3): 126-9.
- [26]. Berardesca E, Borroni G. Instrumental Evaluation of Cutaneous Hydration. *Clin in Dermatol*, 1995, 13: 323-327.
- [27]. Rosado C, Lourenço A, Rosado C, Lourenço A, Rodrigues, LM. Estudo da acção de um creme hidratante através de métodos estáticos e dinâmicos. *Rev Lus de C e Tecno da Saúde*, 2008, 5: 53-59.
- [28]. Zhang SL, Meyers CL, Subramanyan K, Hancewicz TM. Near infrared imaging for measuring and visualizing skin hydration. A comparison with visual assessment and electrical methods. *J Biomed Opt*. 2005, 10 (3): 031107
- [29]. Bindra RM, Imhof RE, Xiao P, Andrews JJ. Opto-thermal skin hydration measurement in the presence of topically applied substances. *Lasers in Surgery: Advanced Characterization Therapeutics, and Systems V*, R. Rox Anderson, Ed 2009. Vol 2395, p. 556-575.