

Yelena Malina Bach Duarte

**Métodos biofísicos não invasivos para avaliação da eficácia de
cosméticos**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2013

Yelena Malina Bach Duarte

**Métodos biofísicos não invasivos para avaliação da eficácia de
cosméticos**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2013

Yelena Malina Bach Duarte

**Métodos biofísicos não invasivos para avaliação da eficácia de
cosméticos**

Atesto a originalidade do trabalho:

(Yelena Malina Bach Duarte)

Orientadora:

Professora Doutora Rita Oliveira

Projeto de Pós Graduação apresentado à Universidade Fernando

Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do

grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Resumo

A área da dermatologia cosmética encontra-se em constante mudança, tornando-se essencial o desenvolvimento de técnicas e métodos que possam averiguar a funcionalidade e eficácia de inúmeros produtos cosméticos que se encontram no mercado.

A pele é um órgão muito complexo que nos protege do meio exterior. Assim, é importante manter a sua integridade. Apresenta propriedades próprias que podem ser avaliadas. Estas são a hidratação, o pH, a perda de água transepidérmica, o processo natural de descamação, a elasticidade, a microcirculação e a coloração cutânea, a temperatura, o sebo cutâneo ou ainda o suor. Existem inúmeras metodologias biofísicas disponíveis e que permitem avaliar de uma forma não invasiva estas mesmas propriedades cutâneas. Assim, através destas técnicas é possível proceder à avaliação da eficácia de produtos cosméticos bem como averiguar o normal funcionamento da pele.

Abstract

The cosmetic dermatology area is constantly changing, making it essential to develop techniques and methods which may determine the functionality and efficacy of numerous cosmetic products that are on the market.

The skin is a very complex organ that protects us from the external environment. Thus, it is important to maintain its integrity. Presents own properties can be evaluated. These are moisture, pH, transepidermal water loss, the natural process of desquamation, elasticity, coloring and skin microcirculation, temperature, sebum or sweat skin. There are numerous biophysical methodologies available that allow the noninvasive evaluation of these same properties of the skin. Thus, through these techniques it is possible to assess the effectiveness of cosmetic products as well as to ascertain the normal functioning of the skin.

Agradecimentos

Dirijo desde já um forte agradecimento à minha orientadora, Professora Doutora Rita Oliveira, em primeiro lugar por todo o ensinamento prestado ao longo do meu percurso académico, e em segundo lugar pelo apoio, atenção, disponibilidade, compreensão e simpatia proporcionados ao longo da elaboração da minha monografia. Por todos os ensinamentos, orientações e iniciativas fornecidas, um grande obrigada por ser um exemplo de um excelente profissionalismo e sabedoria!

Agradeço à Marta e ao Vitor Hugo por todo o carinho, apoio constante e principalmente pela vossa grande amizade. À Sara, Joana e Isabel, um muitíssimo obrigada por terem feito parte deste meu percurso académico e por toda a paciência, amizade, dedicação e sobretudo por todos os vossos conselhos e carinho.

Um sincero obrigada à minha mãe, Christine, pela força constante transmitida e pelo amor incondicional sem o qual esta etapa da minha vida não seria possível. Obrigada hoje amanhã e sempre!

Um forte agradecimento à Hermine, por todo o amor, cumplicidade e apoio, bem como pela sua disponibilidade em qualquer momento da minha vida.

Agradeço também ao meu pai, Álvaro, ao Luís, à Célia, ao Jean-Baptiste e à Marie por todo o amor, apoio e carinho prestados.

Ao André pela sua paciência, dedicação, apoio e amor constante. Um profundo obrigada por alegrares e fazeres parte da minha vida.

Queria ainda deixar um grande agradecimento à Tata Denise, que apesar da distância transmitiu sempre muita força, amor e carinho.

Por último, o meu forte agradecimento à Sophie que deixou muitas saudades e que sem a qual eu não seria a pessoa que sou hoje. Muito obrigada por todo o teu amor e pela força incutida!

Índice

Resumo	i
Abstract.....	ii
Agradecimentos	iii
Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas	viii
Abreviaturas.....	ix
I. Introdução.....	1
II. Epiderme: sua estrutura e função	5
2.1. Estado de hidratação superficial	5
2.1.1. Avaliação biofísica não invasiva da hidratação cutânea	9
2.2. Estado de descamação cutânea	12
2.2.1. Avaliação biofísica não invasiva da descamação cutânea.....	13
2.3. Perda de água transepidérmica	15
2.3.1. Avaliação biofísica não invasiva da perda de água transepidérmica.....	16
2.4. pH cutâneo	20
2.4.1. Avaliação biofísica não invasiva do pH cutâneo.....	21

III. Derme: sua estrutura e função	24
3.1. Propriedade mecânica da pele: elasticidade cutânea	25
3.1.1. Avaliação biofísica não invasiva da elasticidade cutânea	26
3.2. Vascularização cutânea: microcirculação cutânea e coloração cutânea	32
3.2.1. Microcirculação cutânea.....	32
3.2.2. Coloração cutânea	33
3.2.3. Avaliação biofísica não invasiva	34
3.3. Temperatura cutânea.....	40
3.3.1. Avaliação biofísica não invasiva da temperatura cutânea	41
IV. Anexos cutâneos.....	44
4.1. Glândulas sebáceas: o sebo cutâneo	44
4.1.1. Avaliação biofísica não invasiva do sebo cutâneo	45
4.2. Glândulas sudoríparas.....	51
4.2.1. Avaliação biofísica não invasiva das glândulas sudoríparas écrinas.....	52
4.2.2. Avaliação biofísica não invasiva das glândulas sudoríparas apócrinas...	54
V. Conclusão	55
VI. Referências bibliográficas	57

Índice de figuras

Figura 1. Princípio de funcionamento do aparelho de medida <i>Corneometer</i> ® (adaptado de Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	11
Figura 2. Classificação de imagens obtidas pelo <i>Corneofix</i> ® comparativamente à aparência clínica das lesões psoriáticas após aplicação de um produto tópico (adaptado de Kim <i>et al.</i> , 2012).....	14
Figura 3. Eléctrodo constituinte do aparelho de medida <i>pH-meter</i> ® (adaptado de Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	22
Figura 4. Princípio de funcionamento do aparelho de medida <i>Cutometer</i> ® (adaptado de Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	27
Figura 5. Gráfico da deformação cutânea em milímetros versus tempo em segundos recorrendo ao aparelho de medida <i>Cutometer</i> ® (adaptado de Dobrev, 2000b).....	28
Figura 6. Princípio de funcionamento do aparelho de medida <i>Reviscometer</i> ® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	31
Figura 7. Princípio de funcionamento do aparelho de medida <i>Skin-Colorimeter</i> ® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	35
Figura 8. Comportamento de uma luz que incide sobre a pele aquando de uma medição do índice de melanina e do índice de hemoglobina (Dawson <i>et al.</i> , 1980).....	39
Figura 9. Princípio de funcionamento do aparelho de medida <i>Skin-Thermometer</i> (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	43

Figura 10. Ilustração dos anexos cutâneos (adaptado de Martini, 2005a).....	44
Figura 11. Ilustração da etapa da colheita do sebo cutâneo (a) e da etapa da medida do sebo cutâneo (b) ao usar o aparelho de medida <i>Sebumeter</i> ® (adaptado de O'goshi, 2006a).....	47
Figura 12. Princípio de funcionamento do aparelho de medida do <i>Skin-Glossometer</i> ® (adaptado de Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).....	50
Figura 13. Aparelho <i>Madroduct</i> ® (adaptado de Barth, 2006b).....	53

Índice de tabelas

Tabela 1. Constituintes do fator natural de hidratação (adaptado de Martini, 2005b).....	7
Tabela 2. Fatores externos que influenciam a perda de água transepidérmica (adaptado de Martini, 2005b).....	16
Tabela 3. Identificação dos parâmetros obtidos pelo aparelho de medida <i>Cutometer</i> ®.....	29

Abreviaturas

CIE: Comissão Internacional de Iluminação

FDA: Food Drug Administration

TEWL: Transepidermal Water Loss (perda de água transepidérmica)

NMF: Natural Moisturizing Factor (fator natural de hidratação)

RRT: Resonance Running Time

UA: Unidades Arbitrárias

I. Introdução

Os cosméticos são produtos que permanecem na superfície da pele, ou seja, penetram a camada superior da pele mas não alcançam a derme, logo não são absorvidos pelos capilares sanguíneos da mesma. Os produtos que cumprem essa característica de absorção pela derme são denominados de farmacêuticos e são sujeitos às exigências da Food Drug Administration (FDA). Por isso, os produtos cosméticos não podem exercer qualquer tipo de ação farmacológica (Michalun *et al.*, 2011). Assim, o cosmético deve limpar, corrigir, proteger e embelezar a pele e os seus anexos, apresentando assim a finalidade de tratar a pele de forma a prevenir a sua deterioração e restabelecer o seu equilíbrio fisiológico quando este sofrer qualquer tipo de perturbação (Barata, 2002). Por definição e de acordo com o Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro estipulado pelo Ministério da Saúde, um produto cosmético é “*qualquer substância ou preparação destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais*” (Decreto Lei nº189, 2008).

A pele é constituída por uma camada de tecido conjuntivo denso, a derme, e por uma camada de tecido epitelial, a epiderme. A derme assenta na hipoderme, que é um tecido celular subcutâneo rico em tecido adiposo, e é responsável pela resistência estrutural e flexibilidade da pele. O colagénio é o principal tipo de fibra, mas também se encontram fibras de elastina. É rica em vasos sanguíneos que fornecem nutrientes à epiderme subjacente, permitem a remoção de produtos de excreção e ajudam a regular a temperatura corporal. Por sua vez, a epiderme é um epitélio estratificado, separado da derme por uma membrana basal. Está ausente de vasos sanguíneos, sendo alimentada por difusão de água e nutrientes a partir da derme. As principais células são os queratinócitos que são responsáveis pela produção de queratina, que é uma proteína de suporte que confere essencialmente a propriedade de resistência (Prista *et al.*, 2002).

A pele no seu todo apresenta inúmeras funções. Constitui o invólucro dos tecidos e fluidos corporais sendo responsável pela aparência do indivíduo. Funciona como protetor mecânico, apresentando propriedades plásticas. Devido à presença da epiderme, funciona como barreira de proteção do meio exterior, uma vez que confere proteção antimicrobiana (pela presença de um manto ácido à superfície cutânea e por uma contínua descamação), proteção química (impede e dificulta a entrada de substâncias estranhas), proteção contra as radiações (pela formação de melanina), e proteção térmica e elétrica (uma vez que apresenta resistência à passagem de corrente elétrica e ao transporte do calor ou do frio) (Barata, 2002).

Existem quatro tipos de pele, a pele normal, a pele gorda, a pele mista, e a pele seca. Contudo, um tipo de pele adicional poderá ser considerado, a pele sensível. A pele normal não apresenta nem aspeto gorduroso nem aspeto seco, ou seja a sua fisiologia processa-se corretamente sem excesso de produção de gordura e sem falta da mesma ou de água. É suave e firme ao tato, e os poros são apenas visíveis a olho nu. Apresenta o aspeto típico “da pele dos bebés”. Por sua vez, a pele gorda resulta de uma atividade exagerada das glândulas sebáceas que produzem quantidades anormais de sebo cutâneo. Esse excesso de sebo traduz-se por um aspeto brilhante e untuoso ao tato que cria uma mancha translúcida quando em contacto com um papel. A desregulação da produção sebácea pode ser devida a problemas genéticos, ao *stress*, a fatores externos como agressões físicas e exposição solar, e ainda a modificações hormonais. Esta última ocorre essencialmente na puberdade ou ainda em determinadas alturas do ciclo menstrual, podendo também estar associada ao uso de contraceptivos e aquando de uma gravidez. A pele oleosa pode originar uma situação de exacerbação das glândulas sebáceas associada a uma inflamação – originando a *acne vulgaris* – e acompanhada do aparecimento de comedões e quistos sebáceos. Assim é essencial distinguir, uma pele oleosa ou gordurosa devido ao excesso de sebo cutâneo, e com presença de poros dilatados, dum pele asfíxiada e com poros obstruídos que se deve a um aumento da hiperqueratinização bem como dum produção excessiva de sebo, levando ao aparecimento de comedões e por vezes quistos sebáceos. Em ambos os casos existe a tendência para evoluir para a acne. A pele mista caracteriza-se por ter uma produção excessiva de sebo cutâneo na zona frontal e no queixo (denominada de zona T), ao passo que o resto do rosto se mantém normal ou com tendência a *secura*. Tanto ao nível da higiene como ao nível de tratamento, deverão ser utilizados produtos que sejam

adequados para ambos os tipos de pele. Uma pele seca caracteriza-se por ser baça, com tendência a desenvolver rídulhas e a descamar. Apresenta uma sensação típica de repuxamento quando em contacto com a água, e por vezes podem visualizar-se algumas vénulas salientes nas rosetas da face. Nas peles secas existem as peles alípicas e as peles desidratadas. As primeiras resultam de uma insuficiente quantidade de matérias gordas na pele, o que origina secura com o aparecimento de erupção cutânea ou crosta acompanhado de prurido. É também aqui constatada uma intolerância ao sabão. As peles desidratadas propriamente ditas devem-se a uma falta de água cutânea com diminuição dos lípidos hidrófilos. Caracteriza-se por um aspeto de pergaminho, e é típico aparecer com o envelhecimento sendo muito comum nos idosos. No que diz respeito à pele sensível, esta apresenta tendência a desenvolver vermelhidão com prurido ou picada, principalmente após a aplicação de um determinado produto tópico ou em resposta a mudanças atmosféricas. Na pele sensível verificamos um estado funcional reativo, em que são característicos vários parâmetros, nomeadamente: uma espessura de pele fina; a cor da pele é clara; a secreção, tanto sebácea como sudorípara, está diminuída; e o grau de hidratação também está diminuído. Assim, a pele sensível resulta de uma hiper-reatividade do sistema microcirculatório papilar dérmico bem como de uma hiper-reatividade irritativa e alergénica devido a fatores externos (como por exemplo o calor, o frio, as radiações solares, ou ainda o vento) e a fatores internos (como por exemplo emocionais ou hormonais) (Barata, 2002; Cunha *et al.*, 2004b; Esteves *et al.*, 1992; Martini, 2005a). Uma pele que foi classificada dentro de certos parâmetros pode em qualquer momento sofrer alterações que iram modificar o seu aspeto e a sua capacidade de proteção. Assim, é importante ter em conta, não só os tipos de pele, mas também o estado da pele num determinado momento. Este pode ser determinado com o recurso a diversas metodologias e aparelhos de medida.

O avanço técnico e a melhoria dos conhecimentos acerca da fisiologia cutânea têm contribuído para aproximar cada vez mais a qualidade cosmética com a qualidade farmacêutica. Diversos métodos científicos permitem averiguar a qualidade, apurar a inocuidade e determinar a eficácia dos produtos cosméticos (Barata, 2002). A ciência da biometria cutânea, que procura reproduzir numericamente os fenómenos biológicos, tem sido amplamente abordada em diversos estudos que pretendiam avaliar a eficácia de produtos cosméticos (Azulay *et al.*, 2010). Assim, a biometria cutânea consiste numa ciência que, recorrendo a meios de medida, permite estudar características biológicas,

mecânicas e funcionais da pele, permitindo avaliar os efeitos dos cosméticos (Barata, 2002). Compreende um conjunto de métodos que, através de instrumentos não invasivos, avalia as propriedades físico-químicas da pele. Assim, estudam-se parâmetros cutâneos tais como: a oleosidade, a hidratação, o pH, a elasticidade, a perda de água transepidermica, a pigmentação e a temperatura (Elkhyat *et al.*, 2001; Nouveau-Richard *et al.*, 2007).

Este projeto de pós graduação abordará as diversas propriedades cutâneas bem como as metodologias mais empregues para a avaliação biofísica não invasiva das mesmas.

II. Epiderme: sua estrutura e função

A epiderme tem por principal função a proteção, possuindo ainda uma grande importância do ponto de vista da estética. É um epitélio pavimentoso estratificado e constitui a primeira camada da pele. É formada por quatro camadas, ordenadas da mais profunda à mais superficial temos: o estrato basal ou germinativo, o estrato espinhoso, o estrato granuloso e o estrato córneo. O estrato basal compreende uma camada de células em processo de mitose, que posteriormente originam células poliédricas justapostas e unidas por desmossomas formando a camada espinhosa. No estrato granuloso estão presentes células vivas e com núcleo, muito achatadas e de estrutura granulosa, havendo simultaneamente formação dos grânulos de querato-hialina. Aquando do processo de queratinização, as células ficam anucleadas e totalmente queratinizadas, formando os corneócitos que formam o principal constituinte do estrato córneo. Este, para além dos corneócitos, é ainda constituído por um filme hidrolipídico, e uma camada esfoliante ou descamante, camada mais exterior, que vai sendo eliminada por efeito de lavagem ou fricção. Na epiderme existem também como elementos celulares as células de Langerhans (células imunitárias), as células de Merkel (intervêm na inervação cutânea) e os melanócitos (células dendríticas e produtoras de melanina quando estimuladas por radiação ultravioleta) (Barata, 2002; Martini, 2005a; Cunha *et al.*, 2004a).

As células basais da epiderme intervêm para a formação da junção dermoepidérmica que permite a união da epiderme à derme. É formada por glicoproteínas, colagénio e fibronectina (Martini, 2005a). Esta junção possui três funções principais: suportar mecanicamente a epiderme; fazer ligação da derme à epiderme; atuar como barreira e filtro seletivo (Cunha *et al.*, 2004a).

2.1. Estado de hidratação superficial

A água é essencial à vida e representa a molécula de maior importância para a pele. A capacidade de retenção hídrica da pele é altamente dependente da camada córnea, mas também é dependente de substâncias com características higroscópicas (Rawlings, 2006).

Nos últimos anos a determinação da hidratação cutânea tem sido considerada como parâmetro de grande interesse, uma vez que o conteúdo hídrico do estrato córneo fornece informações relativamente às propriedades físicas da pele bem como da sua função de barreira. A capacidade que o estrato córneo tem em reter a água é um fator essencial para haver manutenção da flexibilidade e suporte da pele, já que quando o estrato córneo apresenta uma quantidade adequada de água, a pele adquire propriedades que lhe conferem um aspeto macio, liso e saudável, assim como a manutenção da função natural de barreira (Warner, 1994).

Qualquer alteração na propriedade de barreira da pele causa distúrbio na capacidade de retenção de água no estrato córneo, levando ao aparecimento de fissuras ou descamação assim como fragilidade da pele, até mesmo em condições normais de humidade e temperatura. A água liga-se ao estrato córneo devido à presença de metabolitos solúveis, componentes proteicos estruturais e constituintes do sebo. A evaporação de água da superfície cutânea é prevenida pela existência de ceramidas, de lípidos intercelulares presentes no estrato córneo e de sebo que recobre a superfície da pele (Tagami, 2006).

O estado de hidratação é influenciado por vários fatores, nomeadamente pela percentagem de água que atinge o estrato córneo a partir dos tecidos mais profundos, pela percentagem de água que evapora à superfície cutânea, e pela capacidade de retenção hídrica do estrato córneo (Rawlings, 2006). De salientar que o sebo cutâneo bem como a quantidade e qualidade do fator natural de hidratação também interferem com o grau de hidratação da pele (Paula, 2001).

Vários mecanismos estão envolvidos no fenómeno complexo que é a hidratação cutânea. A água encontra-se presente na pele em diversos estados: a água dita móvel e a água não móvel. A primeira encontra-se nas camadas profundas constituindo coloides hidrófilos unidos através de uma união eletrostática e é capaz de circular pelas diferentes camadas epidérmicas. A segunda encontra-se fortemente unida às moléculas biológicas. A derme é considerada o reservatório de água da pele uma vez que é constituída por proteoglicanos que fixam importantes quantidades de água. No lactente a quantidade de água total cutânea é de 80%, sendo que esse valor vai diminuindo progressivamente com a idade, atingindo cerca de 60% nos adultos e idosos. As rugas

estão associadas à diminuição do conteúdo hídrico cutâneo, contudo o seu aparecimento surge principalmente devido a uma modificação da estrutura proteica da derme. O estado de hidratação da pele está condicionado pelo equilíbrio entre a evaporação e a difusão que ocorrem na pele e pelo valor do fluxo de água que evapora, e que se denomina de perda de água transepidérmica. A capacidade de fixação de água pelo estrato córneo é um parâmetro muito importante e que também regula a hidratação cutânea. Os corneócitos são muito ricos em queratina, que por sua vez está unida a outras substâncias, principalmente aos fatores naturais de hidratação (NMF). Estes consistem numa mistura de substâncias higroscópicas permitindo assim a fixação de água nos corneócitos. Os principais constituintes do NMF encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1. Constituintes do fator natural de hidratação (Martini, 2005b).

Aminoácidos livres (40%)	Serina e citrulina
PCA (ácido-pirrolidona-5-carboxílico) (12%)	Provém do ácido glutâmico libertado pela decomposição da filagrina
Ureia (7%)	Possui uma ação indireta uma vez que não é higroscópica por si mesma, mas modifica a estrutura química de proteínas libertando assim espaços de união para a água
Lactatos (12%)	Muito higroscópicos ao reterem a água dentro dos corneócitos
Sais minerais (18%)	Cloro, Sódio, Potássio, Cálcio, Magnésio, entre outros
Açúcares (3,5%)	Frutose, glucose, manose, galactose. Formam espaços hidrófilos ao associarem-se a proteínas

Assim, os fatores naturais de hidratação permitem reter a água que atravessa as diversas camadas da epiderme aquando do processo de difusão. De modo a aumentar a hidratação cutânea, dever-se-á diminuir a evaporação e aumentar a fixação de água pelo estrato córneo (Martini, 2005b).

De maneira a evitar a desidratação é essencial manter a integridade da barreira da pele. Existem mecanismos de hidratação e que atuam na proteção da barreira hidrolipídica, nomeadamente a oclusão, a humectação e a hidratação ativa. A oclusão é conseguida com o recurso a substâncias oleosas que produzem uma fina camada de óleo à superfície

da pele, enriquecendo o manto hidrolipídico e retardando a evaporação de água. Estas substâncias têm assim uma ação emoliente conferindo um aspeto macio e aveludado à pele, e são exemplos a lanolina, miristato de isopropilo e o óleo mineral. Substâncias humectantes, como o propilenoglicol, o sorbitol, a glicerina, os glucosaminoglicanos, a elastina e o colagénio, favorecem a absorção hídrica, atraindo e retendo a água tanto do ambiente como a da derme. Contudo é importante salientar, que em ambientes secos, essas substâncias poderão causar o efeito inverso e absorver demasiada água dos tecidos, resultando num ressecamento da pele. Posto isto, o uso de humectantes é aconselhado em ambientes húmidos. (Shai *et al.*, 2001). A hidratação ativa é conseguida com o uso de ingredientes intracelulares com capacidade higroscópica e que mimetizam as funções do fator natural de hidratação. A ureia, os aminoácidos e os alfa-hidroxi-ácidos são exemplos desses ingredientes (Padamwar *et al.*, 2005).

A desidratação é um processo que pode ser provocado por diversas causas, nomeadamente a senescência cutânea devido principalmente à redução da película hidrolipídica e à diminuição da concentração em glucosaminoglicanos (também é um fator de elasticidade do tecido conjuntivo) e eletrólitos dérmicos, originando um aumento da desidratação córnea. Algumas doenças, nomeadamente a psoríase ou a dermatite atópica, promovem um aumento da desidratação uma vez que são doenças que provocam alterações na camada córnea incapacitando-a de reter água. Substâncias químicas, como por exemplo solventes orgânicos, também interferem visto eliminarem os lípidos cutâneos e provocarem um arrastamento dos fatores hidrossolúveis, impedindo a fixação e retenção de água pelo estrato córneo. Por último uma exposição excessiva ao sol, o ar seco, ou ainda mudanças bruscas de temperatura promovem um aumento da evaporação da água superficial e subsequente diminuição do grau de hidratação (Barata, 2002).

É assim importante manter a hidratação cutânea de modo a garantir a maciez, flexibilidade, elasticidade e jovialidade cutânea, tornando-se essencial a presença de uma quantidade adequada de água para garantir a normal estrutura e função do estrato córneo.

A eficácia de determinado produto com propriedades hidratantes, depende principalmente da sua capacidade em aumentar o estado de hidratação da pele. Deste modo torna-se fundamental desenvolver técnicas que permitam, de uma forma rápida e quantitativa, avaliar a eficácia de um hidratante.

2.1.1. Avaliação biofísica não invasiva da hidratação cutânea

A tecnologia fotoacústica foi utilizada em tempos para a medida da hidratação cutânea. O conteúdo hídrico era medido pela aplicação de várias pressões sobre a pele através de uma radiação luminosa periódica e de seguida mediam-se os sinais acústicos que iam surgindo (Simon e Emslie, 1981).

Entretanto, vários outros métodos têm sido desenvolvidos para medir o conteúdo hídrico do estrato córneo. Os aparelhos mais comumente utilizados para esse efeito, baseiam-se na medida elétrica da capacitância, da impedância e da condutância. Por definição, impedância corresponde à oposição elétrica que a pele oferece quando é submetida a uma corrente alternada. Por sua vez, a capacitância é uma grandeza elétrica que é determinada pela quantidade de energia elétrica que pode ser acumulada pela pele e pela quantidade de corrente alternada que a atravessa numa determinada frequência. Por último, a condutância é a particularidade que a pele apresenta em ocasionar a passagem da corrente elétrica (Barel e Clarys, 2006; Tagami, 2006).

A medida da capacitância para avaliação do conteúdo hídrico é dos métodos mais empregues nos dias de hoje.

A água apresenta uma constante dielétrica elevada e o estrato córneo é considerado um meio dielétrico, sendo que quando está hidratado leva a alterações das propriedades dielétricas do meio. Assim, a capacitância altera-se em função do grau de hidratação da pele e quanto maior for o teor de água no estrato córneo maior será a capacitância epidérmica (Takiwaki, 2006). Assim, a capacitância pode ser definida como a capacidade em armazenar cargas elétricas. O meio dielétrico pelo qual os eletrões fluem, pode alterar essa capacidade de armazenamento ou seja a capacitância,

permitindo assim medir a constante dielétrica do meio, mais concretamente da pele (Barel e Clarys, 2006).

Para medir a hidratação cutânea, baseando-se na medida da capacitância, existem os aparelhos *Corneometer*® da *Courage Khazaka* e o *MoistureMeter*® da *Delphin Technologies Ltd* (Barel e Clarys, 2006).

Referenciando-se o *Corneometer*®, este é um método convencional e simples que determina o conteúdo em água da epiderme (Sotoodian e Maibach, 2012). Usa um condensador tipo sensor para avaliar a capacitância elétrica da pele de modo a registar a quantidade de água presente no estrato córneo (Hashimoto-Kumasaka *et al.*, 1993). O valor de capacitância é fornecido após três medições sucessivas, sendo necessário um tempo de aclimação (Holm *et al.*, 2006). A medição da capacitância da superfície cutânea é convertida em unidades arbitrárias, que correspondem ao grau de hidratação, e que variam teoricamente de 0 a 120 UA (Holm *et al.*, 2006; Leonardi *et al.*, 2002). No entanto, *in vivo* esta técnica apresenta um intervalo de sensibilidade de 20 a 110 UA. Assim, para valores de hidratação inferiores a 40 UA, considera-se que a pele é muito seca, para valores situados entre 40 a 55 UA, a pele é seca, e valores superiores a 55 UA correspondem a uma pele com hidratação normal (Takiwaki, 2006).

O aparelho consiste numa sonda que quando aplicada sobre a pele, emite um campo elétrico que atinge o estrato córneo promovendo mudanças na capacitância do mesmo (Cosderma-Laboratoires, 2013a). Essa mudança é depois detetada por um condensador de precisão que se encontra no interior da sonda (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Os resultados obtidos pela medição da capacitância elétrica são influenciados por fatores inerentes ao próprio indivíduo, por fatores relacionados com o ambiente ou ainda com o próprio equipamento. Os fatores relativos ao indivíduo incluem a idade, o género e a zona anatómica. Existe uma variabilidade na hidratação do estrato córneo em função da área anatómica avaliada, pelo que a palma das mãos e a zona da testa apresentam elevados valores de hidratação, e a zona do abdómen e membros inferiores uma baixa hidratação. Os fatores relacionados com o ambiente compreendem

essencialmente a temperatura e a humidade relativa do espaço onde são efetuadas as medições. Existe um aumento do valor da capacitância conforme aumenta a temperatura e a humidade relativa do ambiente. Por isso, a determinação da hidratação deverá ser realizada em condições, de temperatura ambiente e de humidade, controladas. Esses valores deverão ser inferiores a 22°C e 50±5% respetivamente. O uso do equipamento pode influenciar os resultados obtidos uma vez que uma má posição ou pressão da sonda sobre a pele, bem como medições sucessivas no mesmo local anatómico poderá causar oclusão. Neste caso os valores da hidratação estarão falsamente aumentados. De modo a evitar isso, deve-se esperar cinco segundos entre cada medição sucessiva no mesmo sítio anatómico (Serup *et al.*, 2006; Takiwaki, 2006).

A figura 1 pretende ilustrar o princípio do funcionamento do *Corneometer*®, quando a sonda contacta com a pele aquando do processo de avaliação do conteúdo hídrico.

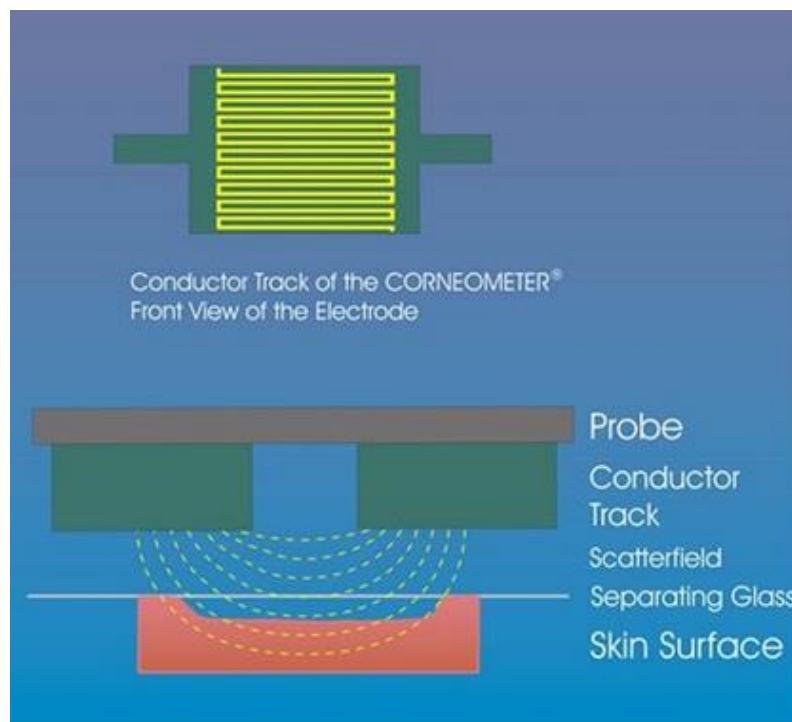


Figura 1. Princípio de funcionamento do *Corneometer*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Na literatura, vários estudos que recorrem a este aparelho são descritos. Denotamos por exemplo, Berardesca e seus colaboradores ou ainda Werner, que recorreram à metodologia da capacitância para avaliar a hidratação cutânea na psoríase e dermatite atópica. Em ambos os casos, concluiu-se que os valores de hidratação apresentavam-se sempre baixos nos indivíduos portadores destas patologias (Berardesca *et al.*, 1990; Werner, 1986).

Outro estudo realizado por Leonardi e seus colaboradores, pretendia avaliar a eficácia de um creme, contendo vitamina A, vitamina E e ceramida, no aumento da hidratação cutânea. Recorreram de igual forma à metodologia da capacitância, e concluíram que nas concentrações empregues comercialmente, os ingredientes constituintes do creme não apresentavam característica hidratante (Leonardi *et al.*, 2002).

Por último, refere-se um estudo realizado por Rosado e seus colaboradores. Teve o objetivo de avaliar o efeito da aplicação na pele de um creme hidratante contendo ureia. Para tal, participaram no estudo 15 voluntárias. Concluiu-se que o creme apresentava de facto um poder hidratante uma vez que se verificou um aumento significativo do teor de hidratação nas zonas tratadas com o creme, comparativamente a zonas não tratadas – o controlo (Rosado *et al.*, 2008).

2.2. Estado de descamação cutânea

Através do processo de queratinização forma-se o estrato córneo, ou seja uma camada celular constituída por corneócitos, células anucleadas e completamente queratinizadas. Em termos de constituição os corneócitos são formados por proteínas (queratina de 70 a 80%), por lípidos (ceramidas, triglicerídeos e ácidos gordos, 20%) e água (cerca de 15%). A camada córnea encontra-se em constante descamação, havendo no decorrer deste processo libertação de lípidos, provenientes dos corpos lamelares, para os espaços intracelulares, formando assim uma barreira contra a perda de água interna (Barata, 2002). A epiderme encontra-se assim em constante renovação, todos os 30 dias, por um processo que começa desde os queratinócitos basais e termina nos corneócitos em descamação na superfície cutânea (Ohman, 2006), existindo assim uma relação estreita

entre o conteúdo celular epidérmico produzido e o conteúdo celular perdido aquando da descamação.

2.2.1. Avaliação biofísica não invasiva do estado de descamação

Um dos métodos mais adequados para avaliar de forma quantitativa a descamação do estrato córneo consiste no uso de uma película adesiva que é aplicada sobre a pele. Após alguma pressão, as camadas superficiais do estrato córneo aderem ao filme, podendo assim quantificar-se o grau de descamação. Um aparelho que procede a esta medida é o *Corneofix*® da *Courage Khazaka*. O número, bem como o tamanho e a espessura dos corneócitos, recolhidos da fita de medição aquando da análise, fornecem assim informação sobre o estado do nível da descamação do estrato córneo bem como da sua hidratação (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

A psoríase é uma dermatose que se encontra intimamente ligada ao processo de descamação, uma vez que é caracterizada por uma anormal diferenciação dos queratinócitos o que conduz ao aparecimento de corneócitos ditos “patogénicos” com tendência a aderirem entre si formando as chamadas placas psoriáticas (Kim *et al.*, 2012). Constitui uma doença inflamatória que se caracteriza pela presença de placas finas, redondas e vermelhas, por sua vez cobertas por escamas irregulares e prateadas. Possui ainda um forte caráter pruriginoso sendo a localização mais comum os ombros, os joelhos, o couro cabeludo e ainda as áreas púbicas. Apesar de não existirem fármacos para o tratamento desta patologia, é possível atrasar o desenvolvimento da doença com a utilização de emolientes, queratolíticos ou ainda corticoides (Barata, 2002).

Como evidenciado na figura 2 o *Corneofix*®, quando associado ao *Visioscan*® da *Courage Khazaka* (aparelho que permite obter uma imagem estrutural da pele), fornece-nos uma imagem, neste estudo em concreto, da distribuição e do tamanho da placa psoriática (Kim *et al.*, 2012).

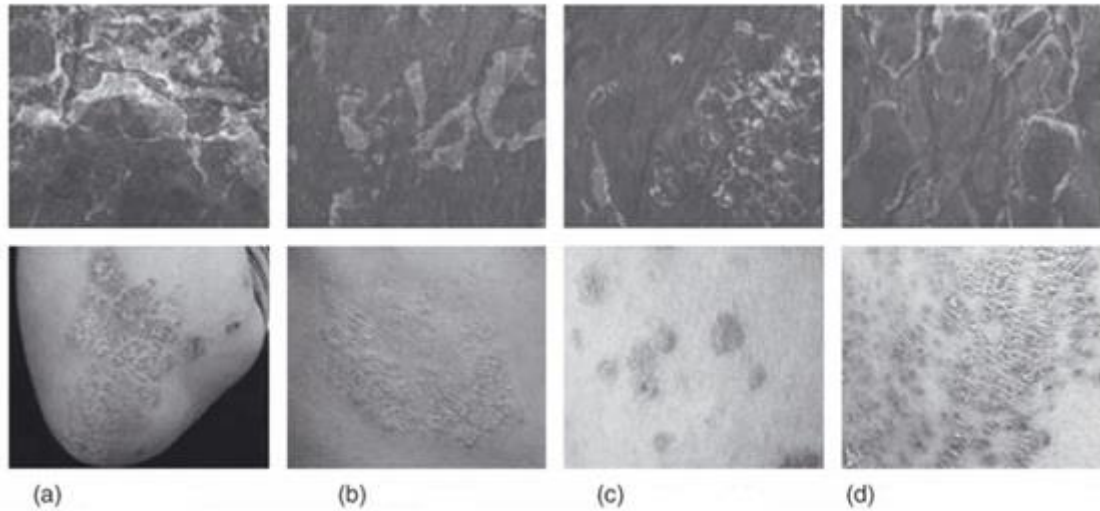


Figura 2 – Classificação das imagens obtidas pelo *Corneofix*® comparativamente à aparência clínica das lesões psoriáticas. a) lesão psoriática grave; b) lesão psoriática média; c) lesão psoriática leve; d) lesão psoriática após aplicação de um produto tópico (Kim *et al.*, 2012).

Kim e seus colaboradores realizaram um estudo em pacientes psoriáticos que não receberam qualquer tipo de tratamento tópico durante duas semanas. Para esse estudo recorreram ao aparelho de medida *Corneofix*®. Para cada doente escolheram uma lesão típica da psoríase, e como controlo uma outra zona do corpo que não apresentava lesão. O aparelho fornece três parâmetros de medida: PA (percent area) que representa a área onde se encontram os corneócitos normais; AI (area in μm^2) que corresponde à área em μm^2 dos corneócitos normais; DI (desquamation index) que se refere ao índice de descamação que é calculado consoante a distribuição dos diferentes corneócitos. Apesar de no estudo não se ter obtido resultados concordantes, sabe-se que estes parâmetros deverão ser maiores quanto mais escamas estiverem na fita adesiva de medição, ou por outras palavras, ao longo da progressão da psoríase, as lesões tornam-se cada vez mais escamosas, fazendo com que os valores dos parâmetros sejam mais elevados na psoríase num estado grave, quando comparado com uma psoríase mais leve, com menos lesões, onde os valores dos parâmetros estão mais baixos, visto a descamação ser menor (Kim *et al.*, 2012).

2.3. Perda de água transepidérmica

É importante avaliar-se a integridade da barreira cutânea, isto é recorrer a aparelhos capazes de medir a percentagem de água que se evapora à superfície da pele, uma vez que existe um aumento da perda de água transepidérmica (TEWL – *Transepidermal Water Loss*) quando a barreira se encontra danificada (Buraczewska *et al.*, 2007).

A água encontra-se na derme na forma de um reservatório e segue uma direção do interior para o exterior da pele. Quando chega à superfície cutânea, sofre evaporação e estabelece-se um fluxo constante de água. Esse fluxo varia consoante os indivíduos sendo maior numa pele bem hidratada do que numa pele insuficientemente hidratada em que o estrato córneo aparece seco. A média de fluxo de água que evapora à superfície da pele é de 5g de água/m²/hora, e corresponde a uma perda de água de 300 a 400ml/24horas (Martini, 2005b). No entanto, apesar de ser uma evaporação permanente, a água é renovada por um processo de difusão a partir das camadas mais profundas da pele e também é compensada por um aporte nutricional, denominando-se este processo por perda de água transepidérmica (Martini, 2005b).

A pele saudável e intacta apresenta uma barreira cutânea efetiva, ao passo que quando as propriedades dessa barreira do estrato córneo se encontram comprometidas por processos patológicos ou danos provocados por agentes físicos ou químicos, a capacidade do estrato córneo em reter água diminui, resultando assim num aumento do fluxo de vapor de água e conseqüente aumento do valor de TEWL (Seidenari *et al.*, 2006b).

Existem fatores externos que influenciam a evaporação de água à superfície da pele, encontrando-se representados na tabela 2.

Tabela 2- Fatores externos que influenciam o TEWL (Martini, 2005b).

Fatores externos	Consequências
<i>O frio</i>	- Diminuição da secreção sebácea - Redução do grau de hidratação
<i>A ventilação</i>	Aumento da evaporação de água à superfície cutânea
<i>Uso de detergentes</i>	- Arrastamento do filme hidrolipídico e parte do cimento intercelular - Aumento da permeabilidade do estrato córneo - Aumento da evaporação de água à superfície da pele
<i>Patologias – Psoríase</i>	- Modificação da coesão dos corneócitos - Aumento do fluxo de perda de água transepidérmica para 20 a 30g/ m ² /h

2.3.1. Avaliação biofísica não invasiva da perda transepidérmica de água

Para medir *in vivo* a TEWL pode recorrer-se a três métodos: (1) método da câmara aberta; (2) método da câmara fechada; (3) método da câmara ventilada. O método da câmara fechada consiste na medição do vapor de água, perdido pela superfície cutânea, pela aplicação direta sobre a mesma de uma cápsula que contém no seu interior um higrosensor eletrónico que permite medir a humidade contida no seu interior. Por sua vez, o método da câmara ventilada recorre a uma câmara de gás que contém um determinado teor de água e que passa pela pele. O higrómetro, presente dentro da câmara, mede a quantidade de água captada pelo gás a partir da superfície da pele. É um método que permite uma medição contínua da TEWL, no entanto poderá fornecer resultados incorretos no caso de o gás portador se tornar seco, provocando um aumento da evaporação cutânea. (Sotoodian e Maibach, 2012). Por último o método da câmara aberta, por ser o método mais difundido para determinar a TEWL, será mais largamente abordado.

Baseia-se no processo da evaporimetria. Este está relacionado com a lei de Fick e compreende o princípio de avaliação do gradiente de pressão de vapor de água sobre a superfície cutânea (Seidenari *et al.*, 2006b). Sabe-se que a superfície da pele é permeável à água e que o processo de troca de água através do estrato córneo pode ser expresso como gradiente de pressão de vapor. Na ausência de forças de convecção e em situações de equilíbrio, esse gradiente é aproximadamente constante e é proporcional à quantidade de vapor de água que atravessa a barreira cutânea por unidade de tempo e área. Assim, a constante de proporcionalidade corresponde à medida da permeabilidade da pele relativamente à água. Por isso, o facto da diferença do vapor de água, medido em dois locais diferentes sobre a superfície cutânea e dentro da zona de difusão, ser proporcional ao gradiente de pressão de vapor, constitui o princípio da medida (Serup *et al.*, 2006), e pode ser descrito pela lei da difusão de Fick definida pela equação 1 (Tupker e Pinnagoda, 2006):

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx} \quad [1]$$

em que o fluxo de difusão, dm/dt expresso em $g/h/m^2$, representa a massa (m) de água transportada em gramas num determinado tempo (t) em hora, e é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão do vapor de água no ar atmosférico, D , $0,0877 g/m(h(mmHg))$ à área da superfície de contacto, A em m^2 , e ao dp/dx que corresponde à pressão de vapor atmosférico, p em $mmHg$, em função do comprimento entre o local de medição e o local da superfície da pele, expresso em metros (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013; Serup *et al.*, 2006; Gabard, 1994).

O *Evaporimeter*® da *ServoMed*, o *DermaLab*® da *Cortex Technology* e o *Tewameter*® da *Courage Khazaka* são exemplos de aparelhos de medida da TEWL por câmara aberta (Tupker e Pinnagoda, 2006).

Dar-se-á ênfase ao *Tewameter*® como aparelho de medida da TEWL em câmara aberta. Consiste numa sonda cilíndrica, aberta nas duas extremidades, ligada a um dispositivo de processamento de sinal. A sonda compreende dois pares de sensores, dois sensores de humidade emparelhados com dois sensores de temperatura. Os dois pares de sensores

são colocados sobre a superfície da pele a distâncias diferentes, 4,5mm e 10,5mm respetivamente para os sensores de humidade e os sensores de temperatura. Aquando da avaliação a sonda deverá ser colocada perpendicularmente sobre a zona da pele a analisar, e a pressão de vapor é calculada em cada um dos sensores de humidade (Serup, 2006; Rogiers, 2001; Seidenari *et al.*, 2006a). Os principais condicionantes da análise deste parâmetro são a turbulência e a humidade, que devem ser cuidadosamente monitorizadas de forma a garantir precisão dos resultados. Contudo, o facto de a sonda possuir uma forma cilíndrica minimiza a influência da turbulência de ar no seu interior (Serup *et al.*, 2006; Levin e Maibach, 2005).

A determinação da TEWL apresenta alguns fatores condicionantes. Nomeadamente, fatores intrínsecos, fatores relacionados com o equipamento e fatores relacionados com o ambiente (Zhai *et al.*, 1998). Como fatores inerentes ao indivíduo compreende-se a temperatura cutânea, o ritmo circadiano, o uso de agentes de limpeza cutâneos e a presença de lesão cutânea (Zhai *et al.*, 1998; Bircher *et al.*, 1994). A idade e o sexo por norma não interferem com o valor de TEWL (Rogiers, 1995), à exceção de prematuros que apresentam uma barreira imatura com elevados valores de TEWL (Rutter, 2000). Relativamente à origem étnica, investigações comprovam que os valores de TEWL se alteram consoante a mesma, sendo que o valor da TEWL decresce na seguinte ordem: origem étnica branca, origem étnica asiática, origem étnica hispânica e a origem étnica negra (Wananukul e Praisuwanna, 2001). A zona anatómica onde se efetua a medição também pode influenciar. Pinnagoda e seus colaboradores efetuaram um estudo que demonstrou que os valores de TEWL são maiores na palma das mãos e planta dos pés quando comparado com zonas como as costas, a zona do abdómen e o antebraço (Pinnagoda *et al.*, 1990). O equipamento também influencia a medição, por isso a sonda deverá ser posicionada perpendicularmente ao local de avaliação, a pressão da mesma deverá ser constante sobre a superfície cutânea, e a calibração do aparelho deverá ser efetuado a intervalos regulares e segundo especificações do fabricante (Zhai *et al.*, 1998; Bircher *et al.*, 1994; Serup *et al.*, 2006). No que respeita os fatores relacionados com o ambiente, temos a temperatura e a humidade relativa da atmosfera envolvente, bem como as fontes de iluminação e a circulação do ar. A temperatura é um parâmetro essencial a considerar uma vez que ao colocar a sonda sobre a superfície cutânea, o valor de TEWL aumenta gradualmente, até a sonda e a pele atingirem a mesma

temperatura. Apenas nessa situação é que se poderá começar a contabilizar com rigor os valores obtidos (Zhai *et al.*, 1998; Bircher *et al.*, 1994).

A medida da TEWL, e conseqüente qualidade da função barreira da pele, é um parâmetro básico a determinar, uma vez que condiciona a aplicação de produtos tanto em áreas médicas como cosméticas. Apresenta uma ampla área de aplicação: é útil quando se pretende avaliar a eficácia de produtos antitranspirantes através do estudo do suor; permite o seu uso em lábios, couro cabeludo e cabelo; constitui um parâmetro essencial a medir para a formulação e avaliação da eficácia de produtos farmacêuticos e produtos para cuidados cutâneos; é muito usado para monitorizar doenças da pele e fornece informação útil acerca da eficácia de um tratamento; e em casos de feridas ou queimaduras é um parâmetro de grande importância uma vez que fornece informação acerca do processo de cicatrização (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Um estudo realizado por Dal’Belo e seus colaboradores pretendeu averiguar a eficácia de formulações cosméticas, contendo aloé vera, sobre a hidratação cutânea. Para o efeito mediu-se o conteúdo hídrico do estrato córneo bem como a TEWL, recorrendo ao *Corneometer*® e ao *Tewameter*®, respetivamente, como aparelhos de medida. A medida foi efetuada antes e após a aplicação diária, do creme com aloé vera, por um período de cerca de duas semanas. Os resultados obtidos permitiram verificar que a presença de aloé vera na formulação não provocava alterações na integridade da barreira cutânea, uma vez que os valores da TEWL eram os mesmos quando medidos antes da aplicação do creme e após a aplicação do mesmo. Assim, o creme em nada altera o normal funcionamento do processo de perda de água transepidermica. No que respeita ao parâmetro da hidratação, concluíram que o creme causava um aumento imediato da mesma logo após a aplicação do creme. Esse facto manteve-se ao longo das duas semanas em que o creme era aplicado diariamente. Assim, o creme é considerado um bom hidratante, confirmando-se a característica hidratante do aloé vera (Dal’belo *et al.*, 2006).

A medida do parâmetro da TEWL é assim considerada de grande importância, uma vez que permite avaliar se um produto provoca distúrbio na integridade da barreira cutânea ou não. Salienta-se que a avaliação deste parâmetro encontra-se muitas vezes associada

à avaliação da hidratação, isto porque a hidratação cutânea encontra-se muito intimamente ligada à TEWL que se verifica a nível cutâneo.

2.4. pH cutâneo

O pH cutâneo varia consoante o indivíduo e a zona corporal, situando-se geralmente entre 4 e 7, representando uma média de 5,5. O pH da superfície cutânea é assim um pH ácido, no entanto passa a pH neutro na derme (cerca de 7). Esta diferença deve-se ao aumento da atividade dos iões H^+ devido a hidrolases presentes na epiderme e que originam vários ácidos hidrossolúveis, principalmente o ácido urocânico, o ácido-pirrolidinona-5-carboxílico e o ácido láctico. Estes ácidos provêm na sua maioria da desintegração da filagrina, e o valor de pH vai decrescendo à medida que ocorre o processo de queratinização. Salienta-se que os ácidos gordos não interferem no estabelecimento do pH cutâneo (Martini, 2005a).

O pH da pele é um parâmetro crucial a considerar uma vez que se observa que praticamente todas as dermatoses são acompanhadas de uma alcalinização da superfície da pele. O seu valor é influenciado por fatores como a idade (há um aumento do pH cutâneo com a idade), o género (pH é mais alcalino nas mulheres) e fatores externos (o uso de detergentes aumenta o pH) (Martini, 2005a).

A regulação do pH da pele é conseguida pela excreção do suor. As glândulas sudoríparas écrinas originam, entre outros, o ácido láctico, o ácido undecilénico e o ácido urocânico, conferindo a propriedade de acidez à pele. Esta característica é um meio de defesa contra os microrganismos. A pele possui uma capacidade tampão, contudo não é recomendável o uso de preparações alcalinas que possam modificar o pH ácido cutâneo. Essa propriedade tampão permite à pele restabelecer o pH inicial cerca de uma a duas horas após limpeza da pele (Martini, 2005a).

À superfície do estrato córneo existe um filme hidrolipídico formado pela água das secreções sudorais e pelos lípidos resultantes da secreção das glândulas sebáceas e lípidos epidérmicos libertados pelos queratinócitos durante o processo de queratinização. Consiste assim numa emulsão água/ óleo tendo um papel importante no

estabelecimento da barreira cutânea. Essa capa hidrolipídica tem como função principal a manutenção do pH ácido da pele (Martini, 2005a; Barata, 2002).

A avaliação do pH da superfície da pele constitui um importante parâmetro de medição da bioengenharia da pele, uma vez que fornece informações sobre a sua capacidade tampão. Este mecanismo de regulação é de extrema importância para a manutenção da integridade e coesão do estrato córneo, bem como da homeostasia e função antimicrobiana. Assim, é essencial proceder à medição do pH cutâneo para proceder à avaliação geral do estado fisiológico da pele (Fluhr *et al.*, 2006).

2.4.1. Avaliação biofísica não invasiva do pH cutâneo

O método mais comum para determinar o pH cutâneo baseia-se no princípio da potenciometria. Referenciamos como aparelho de medida o *pH meter®* da *Courage Khazaka*. A determinação da acidez cutânea é efetuada por potenciometria direta através de elétrodos especiais (Barata, 2002). Constitui um método rápido, fácil e económico para determinar o pH da superfície da pele ou do couro cabeludo. Como se pode visualizar na figura 3, o aparelho baseia-se numa sonda constituída por um eléctrodo de medida, sensível aos iões H^+ , e por um eléctrodo de referência. A sonda encontra-se ligada a um cabo que contém o sistema eletrónico de medição (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Segundo a mesma fonte bibliográfica, a medição da variação do pH cutâneo tem grande relevância em campos de aplicação farmacêuticos e cosméticos nomeadamente para o desenvolvimento de produtos específicos tais como produtos para cuidados da pele e do couro cabeludo, detergentes e produtos farmacêuticos. A determinação do pH é também muito útil para o diagnóstico e monitorização de doenças da pele relacionadas com variações nos valores de pH. É também importante a determinação da acidez da superfície da pele quando se pretende promover produtos como champôs, sabonetes ou ainda produtos de cuidados para a pele.

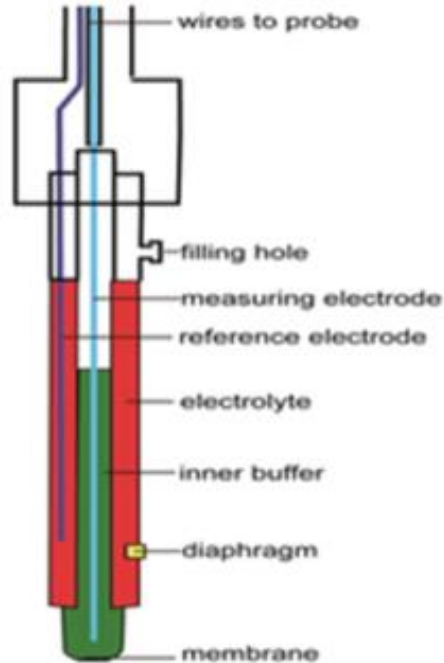


Figura 3 – Eletrodo constituinte do *pH-meter*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Contudo, este método biofísico apresenta alguns inconvenientes uma vez que é influenciado por fatores endógenos (idade, raça, sítio anatómico, género e doença concomitante), fatores exógenos (procedimento de lavagem, variações sazonais e o uso de medicamentos tópicos e de produtos cosméticos) e pela idade da sonda do *pH-meter*®. Deste modo é essencial o controlo destas variáveis para a determinação do pH da pele (Fluhr e Elias, 2002).

No entanto novos procedimentos para avaliação *in vivo* da acidez da superfície cutânea têm sido desenvolvidos. Nomeadamente uma técnica que usa corantes fluorescentes sensíveis ao pH, ou uma técnica que recorre a fitas “*tape stripping*”. Esta última consiste na aplicação da fita sobre a pele e subsequente pressão durante um certo tempo, e de seguida ao remover a fita remove-se parte do estrato córneo. Consiste numa técnica que permite estudar a importância que o pH tem na restauração da barreira cutânea quando esta se encontra danificada (Darlenski *et al.*, 2009; Ohman, 2006).

Muitas dermatoses estão relacionadas com alterações do pH cutâneo. Compreendem-se a dermatite atópica e a acne. A dermatite atópica é caracterizada por ser uma inflamação

crónica, superficial e recorrente da pele. Provoca muita vermelhidão e prurido, originando assim escoriações e cicatrizes. Na terapêutica é muito útil o uso de emolientes, adstringentes e antipruriginosos, sendo os corticoides tópicos a opção terapêutica mais eficaz (Barata, 2002). Existem vários fatores que constituem a causa desta doença. Numa pele atópica há uma redução acentuada da quantidade de aminoácidos livres e ácido urocânico que em condições normais contribuem para a criação do manto ácido cutâneo. Estes dois componentes provêm da filagrina que é conhecida por estar deficiente em pessoas de pele atópica. A secreção de suor, rico em ácido láctico e que contribui para o manto ácido, também se encontra deficiente nesta patologia (Ali e Yosipovitch, 2013). Vários estudos demonstram a relação existente entre a dermatite atópica e o pH cutâneo. Destaca-se um estudo, realizado por Seidenari e seus colaboradores, que avaliaram 100 crianças com essa patologia e onde foi avaliado o pH da superfície da pele. Concluiu-se que este é significativamente maior nas peles atópicas, quando comparado com a pele de 21 crianças de pele não atópica (Seidenari e Giusti, 1995). Eberlein e seus colaboradores documentaram os mesmos resultados em estudos realizados, onde se verificou o aumento do pH cutâneo em pessoas de pele atópica, principalmente nas zonas de maior prurido e ressecamento da pele (Eberlein *et al.*, 2000).

Por sua vez a *acne vulgaris* resulta de um aumento da produção de hormonas androgénicas (a testosterona) que provoca um aumento da atividade das glândulas sebáceas. Constitui uma inflamação crónica, muitas vezes acompanhada pela formação de comedões, pápulas e pústulas (Barata, 2002), e muitas vezes acompanhada da bactéria *Propionibacterium acnes*. Esta apresenta um bom crescimento quando colocada num meio *in vitro* a pH entre 6 a 6,5, no entanto quando esses valores de pH decrescem, o seu crescimento é marcadamente diminuído. Assim, através de um estudo realizado por Korting e seus colaboradores, comprovou-se que o pH cutâneo tem grande influência na patologia que é a acne. Os pacientes apresentavam lesões inflamatórias faciais. Comparou-se um grupo que lavava a pele com uma solução alcalina e outro com solução mais ácida. Concluiu-se assim, que as lesões inflamatórias aumentaram significativamente nos indivíduos que usaram a solução de limpeza alcalina, e as mesmas diminuíram significativamente nos indivíduos que usavam a solução de limpeza ácida (Korting e Braun, 1996).

III. Derme: sua estrutura e função

A derme é um tecido conjuntivo subdividido em camada papilar ou derme superficial e em camada reticular ou derme profunda. Constitui o tecido da pele responsável pelas propriedades de resistência, extensibilidade e elasticidade. Relativamente aos elementos extracelulares, é constituída por substância intersticial ou fundamental e por proteínas – colagénio e elastina. Fazem ainda parte da derme células vivas que são as células residentes e as células migratórias. Das primeiras constam os fibroblastos, os histiócitos, os macrófagos e os mastócitos; das segundas fazem parte os linfócitos, os granulócitos, os eosinófilos e os plasmócitos. Ainda são constituintes da derme as glândulas sebáceas e sudoríparas, os vasos sanguíneos, os nervos e os recetores sensitivos (Cunha *et al.*, 2004a). A substância fundamental preenche os espaços entre os constituintes dérmicos e é formada por água, proteoglicanos e glicosaminoglicanos. O ácido hialurónico, o sulfato de condroitina e o sulfato de dermatano constituem os glicosaminoglicanos mais abundantes da derme (Martini, 2005a).

A inervação cutânea compreende terminações nervosas livres e terminações nervosas em corpúsculos. As primeiras, localizadas na epiderme, são os recetores do calor e do frio, os recetores da dor e as células de Merckel. As segundas são formadas por células especializadas, localizadas na derme, e constituem os seguintes corpúsculos: corpúsculos de Meissner (situadas nas papilas dérmicas na polpa dos dedos, com sensibilidade ao toque); corpúsculos de Krause (localizados na derme superficial, nos lábios, língua e costa das mãos, com sensibilidade a vibrações); corpúsculos de Ruffini (presentes na derme da pele espessa e da pele com pêlos, apresentando sensibilidade à pressão e ao alongamento); corpúsculos de Vater-Pacini (localizados na derme profunda, com sensibilidade a vibrações) (Cunha *et al.*, 2004a).

A pele é vascularizada graças a uma complexa e importante rede de arteríolas, vénulas e capilares, presentes a nível da derme e da hipoderme, uma vez que a epiderme está isenta de vasos sanguíneos. Também há a presença de vasos linfáticos a acompanharem a rede sanguínea e que permitem a drenagem da linfa (Cunha *et al.*, 2004a). Como já foi dito anteriormente, uma vez que a epiderme está isenta de vascularização, cabe à derme

proceder ao fenómeno de nutrição e oxigenação da mesma, por um processo de difusão através da união dermoepidérmica.

Nesta rede complexa que é a derme, localizam-se ainda os elementos nervosos, os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e os canais excretores das glândulas sudoríparas.

3.1. Propriedade mecânica da pele: elasticidade cutânea

A pele possui propriedades de resistência e flexibilidade devido à sua organização estrutural, em que dois tecidos com origem embrionária e organização estrutural diferentes, se adaptam e se articulam intimamente. Esses tecidos são a derme e a epiderme. As propriedades de elasticidade e plasticidade são assim resultantes da existência dos queratinócitos na epiderme e de fibras elásticas e fibras colagénicas na derme (Esteves *et al.*, 1992).

Como referido anteriormente a derme possui duas proteínas essenciais à mecânica da pele – o colagénio e a elastina.

O colagénio constitui um conjunto de glicoproteínas produzidas pelos fibroblastos, que por ação de uma peptidase originam fibrilhas que se agregam no meio extracelular em conjuntos paralelos e compactos, originando as fibras de colagénio que por sua vez se agregam em feixes. Existem quatro tipos de colagénio, classificados consoante a forma de agregação das fibrilhas – colagénio tipo I correspondente a 70% do total de colagénio; colagénio tipo II e colagénio tipo III presentes na derme papilar e correspondentes a um total de 15 %; e o colagénio tipo IV que está presente principalmente nas lâminas basais e nervos, nos vasos e anexos epidérmicos (Barata, 2002). A derme reticular é principalmente constituída por fibras de colagénio, sendo que a derme papilar possui fibras de colagénio muito finas, as fibras de reticulina (Martini, 2005a). Enquanto que o colagénio é responsável pelas propriedades de resistência da pele, a elastina por sua vez é responsável pela sua elasticidade. A elastina é uma macromolécula também sintetizada pelos fibroblastos, e que se localiza na sua maioria na derme papilar. Organiza-se em fibras, as fibras elásticas, que formam uma rede à

volta das fibras de colagénio, o que permite o reposicionamento das mesmas após uma força de tração. As fibras elásticas possuem na sua composição a elastina – uma massa amorfa e irregular, existindo também as fibras pré-elásticas, que para além de elastina possuem um componente fibrilhar – as fibras oxitalânicas. Estas fibras oxitalânicas estão localizadas na derme papilar e situam-se de uma forma transversal às fibras elásticas propriamente ditas. São as primeiras a desaparecer aquando do processo natural de envelhecimento cutâneo (Barata, 2002; Martini, 2005a).

Assim, das inúmeras funções atribuídas à pele, destaca-se a sua propriedade de plasticidade que confere à pele capacidade para suportar a pressão dos tecidos e líquidos do organismo. Tem assim um carácter elástico atribuído à disposição das fibras de elastina e às fibras de colagénio, que quando sobre tensão, orientam-se paralelamente ao eixo da força aplicada. Ao falar de elasticidade cutânea é necessário considerar a camada córnea da pele, cuja flexibilidade é muito variável e depende de fatores genéticos, do meio ambiente, do uso de detergentes, entre outros. A elasticidade da pele é assim dependente de um correto equilíbrio entre os lípidos superficiais, da quantidade de compostos hidrossolúveis, da água e de proteínas fibrosas constituídas por cadeias polipeptídicas, nomeadamente as queratinas. Considera-se hoje em dia que a água é um fator essencial para uma elasticidade cutânea apropriada, devendo o teor de água manter-se entre 10 a 20%, uma vez que para valores inferiores a 10% a pele apresenta-se seca e rugosa (Cunha *et al.*, 2004a).

3.1.1. Avaliação biofísica não invasiva da elasticidade cutânea

Para medida da elasticidade cutânea existem os aparelhos *Dermaflex*® da *Cortex Technology* e o *Cutometer*® da *Courage Khazaka* (Dobrev, 2000a). Das metodologias mais empregues para a avaliação da viscoelasticidade cutânea e investigação do efeito de produtos cosméticos na biomecânica cutânea, destaca-se o aparelho *Cutometer*®. Este baseia-se no método de sucção para determinar a propriedade elástica e viscoelástica da pele (Paye *et al.*, 2007).

Conforme evidenciado na figura 4, o aparelho é constituído por uma sonda que cria uma pressão negativa sobre a pele provocando a sua entrada para dentro da sonda e depois de

um determinado tempo a pele é “libertada” de novo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

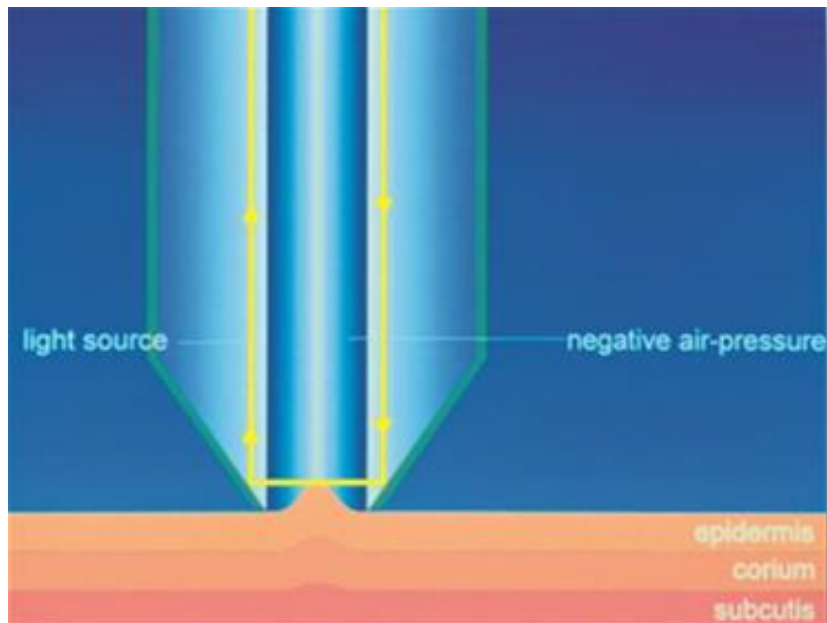


Figura 4. Princípio de funcionamento do *Cutometer*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013)

A sonda no seu interior contém um sistema de medição ótica que compreende uma fonte de luz e um recetor de luz, bem como dois prismas virados um para o outro e cuja função é transferir a luz do transmissor para o recetor. A resistência da pele à pressão negativa, ou seja a firmeza, e a sua capacidade em voltar à posição inicial, ou seja a elasticidade, são apresentadas como curvas em tempo real à medida que se efetua a medição. É de salientar que a intensidade da luz varia consoante a profundidade de penetração da pele sendo esta expressa em milímetros em função do tempo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013). A sonda possui diversos tamanhos de abertura: 2mm – usado para medir a elasticidade epidérmica; 4mm e/ou 6mm – usado para medir as camadas mais profundas da pele; e 8mm – usado para medir a viscoelasticidade cutânea total (O'goshi, 2006b).

O aparelho fornece uma curva da medição da deformação da pele em função do tempo. Inicialmente verifica-se uma deformação rápida da pele, o que representa a elasticidade. De seguida observa-se uma zona de viscoelasticidade acabando numa zona de viscosidade. Ou seja, a resistência da pele a ser aspirada por uma pressão negativa (ou

firmeza) e a sua capacidade para voltar à sua posição original (elasticidade) são apresentadas na forma de curvas, no final de cada medição. A figura 5 representa o gráfico típico da deformação da pele em função do tempo, empregando o *Cutometer*® como aparelho de medida.

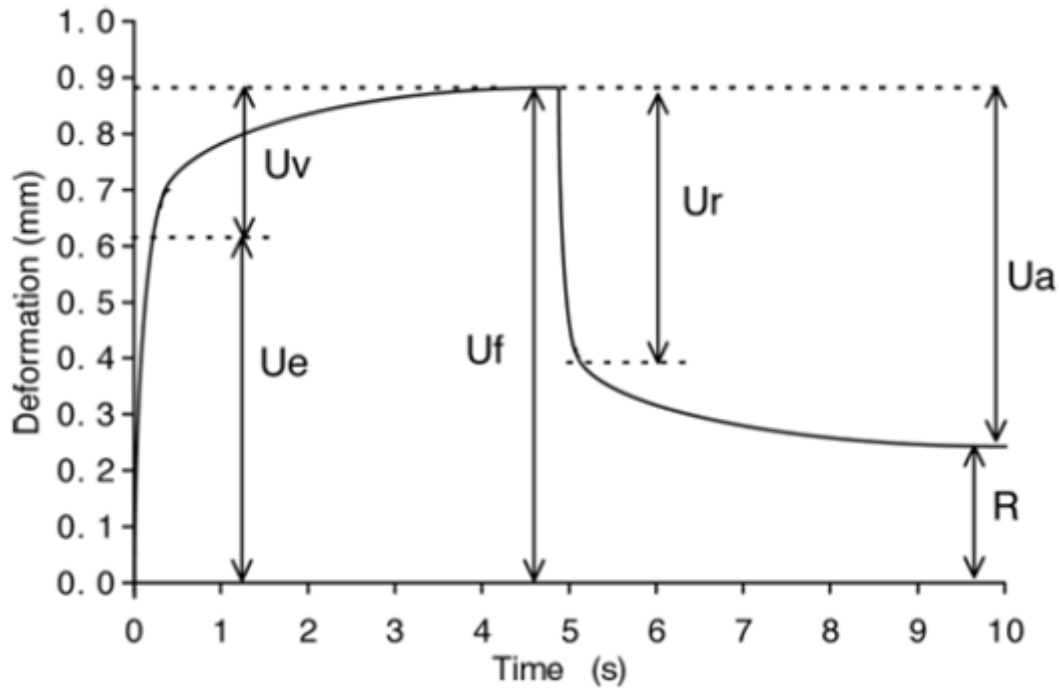


Figura 5. Deformação cutânea em milímetros versus tempo em segundos recorrendo ao *Cutometer*® (Dobrev, 2000b).

Para obtenção do gráfico, exposto na figura 5, a pele foi submetida a um vácuo ou sucção durante cinco segundos, seguido de um tempo de relaxamento de três segundos (O'goshi, 2006b).

Esta metodologia permite obter informações acerca da elasticidade e das propriedades mecânicas da pele, permitindo determinar objetivamente o envelhecimento da pele. É assim um parâmetro essencial a avaliar para testar a eficácia de formulações cosméticas, nomeadamente os produtos anti envelhecimento, os produtos de firmeza e ainda os anti-celulíticos. Também é uma ferramenta importante para o diagnóstico clínico e monitorização de diferentes doenças de pele como é o exemplo da esclerodermia. É também útil em casos de queimaduras, uma vez que permite avaliar o processo de cicatrização (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

A tabela 3 representa de uma forma resumida os parâmetros obtidos após uma medição com o *Cutometer*® (Agache *et al.*, 1980; Dobrev, 2000b).

Tabela 3. Parâmetros obtidos pelo *Cutometer*®.

Eu	Deformação imediata ou extensibilidade cutânea
Uv	Distensão retardada – reflete a viscoelasticidade cutânea
Uf	Deformação cutânea final ou distensibilidade cutânea
Ur	Retração imediata da pele
Ua	Retração final da pele após a remoção do vácuo
R	Deformação residual no fim do ciclo da medição
Ua/Uf	Proporção entre a retração total e a deformação total – elasticidade bruta da pele que inclui a deformação viscosa
Ur/Ue	Proporção similar à Ua/Uf, e também usada como medida da recuperação elástica
Ur/Uf	Proporção entre a retração imediata e a deformação total – elasticidade biológica
Uv/Ue	Proporção entre a deformação tardia e a deformação imediata da pele que indica a contribuição da viscoelasticidade e da distensão elástica na deformação total da pele

Com o avançar da idade, a pele vai perdendo a sua elasticidade. Vários estudos comprovam tal facto, referenciando-se o exemplo de uma investigação efetuada por Dobrev. Para tal, recorreu a 40 voluntários saudáveis repartidos em 4 grupos: 10 homens jovens, 10 mulheres jovens, 10 homens idosos e 10 mulheres idosas. Para o estudo, usou o *Cutometer*® como aparelho de medida, e concluiu que não existia relação entre o sexo e a propriedade mecânica de elasticidade. Por sua vez como era de esperar, evidenciou grandes diferenças na elasticidade cutânea consoante a idade do indivíduo. Concluiu que uma pele idosa, comparativamente a uma pele jovem, após ser submetida a várias deformações, vai perdendo progressivamente a capacidade em restaurar a sua posição inicial, perdendo assim elasticidade e retração elástica (Dobrev, 2005).

Referencia-se ainda outro estudo, realizado pelo mesmo autor, e que pretendia estudar a propriedade mecânica das placas psoriáticas. Para tal recorreu da mesma forma ao *Cutometer*®, e avaliou as lesões psoriáticas de 19 indivíduos. As placas psoriáticas analisadas apresentavam valores baixos de U_e e U_f quando comparado com uma pele saudável. Estes parâmetros estão relacionados com o alongamento das fibras de colagénio e elásticas e refletem a espessura e rigidez da pele. No caso de psoríase a rigidez encontra-se aumentada devido à hiperproliferação da epiderme e presença de edema e vasodilatação na derme. Quando em repouso, as fibras de colagénio e elásticas encontram-se esticadas havendo uma redução da distensão cutânea. O aumento da espessura da pele, bem como as alterações degenerativas na rede das fibras relatados na psoríase, provocaram uma diminuição nos parâmetros de elasticidade U_r , U_a / U_f e U_r / U_f , ou seja, uma diminuição na capacidade da pele para retomar a sua posição inicial após a deformação. Os parâmetros de medida U_v , U_v/U_e e H representam a viscoelasticidade da deformação e estão atribuídos à deslocação do fluido intersticial que contém água e glicosaminoglicanos. Recorrendo às sondas de 2mm e 8mm de diâmetro, Dobrev verificou um aumento do U_v/U_e nas placas psoriáticas o que indica um carácter viscoelástico aquando do fenómeno de deformação. Conclui ainda a importância do diâmetro da sonda, uma vez que se deparou com resultados diferentes consoante o uso da sonda de 2mm ou de 8mm. Assim, quando recorreu à sonda de diâmetro de 2mm, o parâmetro U_v estava diminuído, enquanto que com a sonda de 8mm este se encontrava aumentado. Isto é explicado pelo facto de a sonda de 2mm permitir avaliar as propriedades mecânicas da epiderme e derme papilar, e a sonda de 8mm permite avaliar propriedades mecânicas da pele no seu todo. Assim, uma vez que as placas psoriáticas apresentam uma espessura de pele maior, a medida com a sonda de diâmetro pequeno está dependente da espessura da epiderme. Após um tratamento com ácido salicílico a 10% (com o intuito de remover as placas psoriáticas), Dobrev voltou a investigar os parâmetros mecânicos. Obteve como resultado um aumento dos parâmetros de distensibilidade (U_e e U_f) e de elasticidade (U_r e U_r/U_f), concluindo assim a eficácia do ácido salicílico na remoção das lesões uma vez que a elasticidade é inversamente proporcional à espessura das lesões psoriáticas (Dobrev, 2000a).

É ainda possível o estudo do comportamento mecânico da pele usando a propagação de ondas acústicas (Agache e Varchon, 2004). Através desta metodologia é possível avaliar a direção das fibras colagénicas e elásticas na pele, fornecendo informações

essenciais acerca das propriedades mecânicas da pele e do estado de envelhecimento da mesma (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

O *Reviscometer*® da *Courage Khazaka* é referenciado como exemplo de um aparelho que recorre à propagação de ondas acústicas para avaliação mecânica da pele.

A figura 6 ilustra o seu princípio de funcionamento.

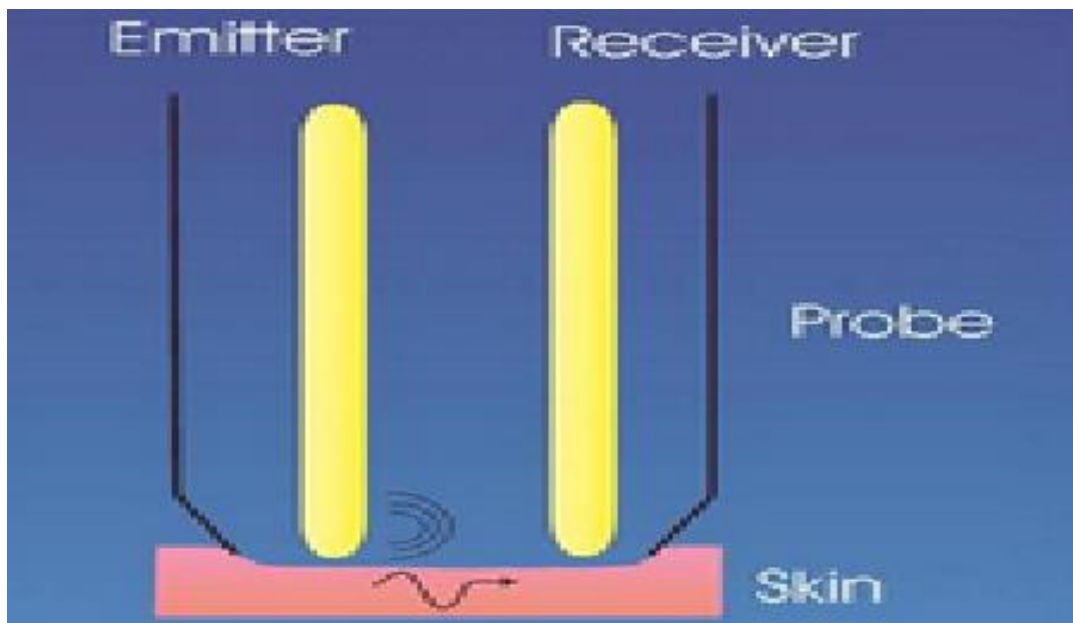


Figura 6. Princípio de funcionamento do *Reviscometer*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

O *Reviscometer*® é assim constituído por uma sonda que contém dois sensores que contactam com a superfície da pele. Um dos sensores funciona como emissor de uma onda de choque acústico, e o segundo sensor como recetor dessa onda. O tempo que a onda demora a atingir o sensor recetor, corresponde ao parâmetro de medição – *Ressonance Running Time* (RRT). A onda de choque emitida propaga-se através da pele de uma forma diferente de acordo com o estado das fibras elásticas e do estado de hidratação do estrato córneo. Quando este parâmetro é medido numa pele jovem, verifica-se uma uniformidade nos valores obtidos, ao passo que quanto mais velha for a pele maior é o tempo de propagação da onda, uma vez que com o envelhecimento verifica-se uma alteração da direção das fibras da pele (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013). Existe também uma relação entre o RRT e o estado de hidratação da

pele, verificando-se uma diminuição da propagação de ondas quando a pele se encontra desidratada. Tal facto foi demonstrado num estudo realizado por Paye e seus colaboradores que avaliaram indivíduos com pele seca (Paye *et al.*, 2007).

3.2. Vascularização cutânea: microcirculação cutânea e coloração cutânea

3.2.1. Microcirculação cutânea

A epiderme está isenta de vasos sanguíneos e é nutrida pela derme a partir de um processo de difusão. A circulação cutânea, esquematicamente, corresponde a uma rede arteriolar mais ramificada na superfície da derme do que na derme profunda. Na junção dermo-epidérmica encontram-se capilares em forma de ansas que acompanham as papilas dérmicas. Também existe o sistema venoso em que os vasos apresentam diâmetro maior na derme profunda, diminuindo o seu diâmetro progressivamente em direção à superfície dérmica. Salienta-se também a existência de comunicações arteriovenosas e circuitos sub-capilares preferenciais (Esteves *et al.*, 1992).

O valor médio do débito sanguíneo cutâneo está compreendido entre 12 e 15 ml/min/100 g de tecido, e depende de fatores tais como a área topográfica, a idade do indivíduo e principalmente a temperatura (Esteves *et al.*, 1992).

Por sua vez, acrescenta-se que 80% do volume sanguíneo cutâneo se deve à capacidade venosa. Segundo Esteves e seus colaboradores “ *As determinações conhecidas de volume sanguíneo cutâneo são suscetíveis de crítica pela insuficiência dos métodos atualmente disponíveis e pelas variações consideráveis que normalmente se observam*”. Contudo estima-se que o volume de sangue para a capacidade total da rede vascular da pele é de 250 a 600 ml e apenas indica um valor aproximado do conteúdo venoso (Esteves *et al.*, 1992).

O papel da circulação cutânea no controlo hemodinâmico do organismo ainda não se encontra bem esclarecido. No entanto pensa-se que intervém de forma ativa em situações de adaptação circulatória como aquando de um exercício físico, do processo de termorregulação, de uma modificação postural, de uma alteração respiratória e de

uma adaptação ambiental (Esteves *et al.*, 1992). Segundo Cunha e seus colaboradores (Cunha *et al.*, 2004a), a vascularização cutânea apresenta ainda uma importante função de nutrição da pele e anexos cutâneos devido à permeabilidade da camada basal da junção dermo-epidérmica.

A circulação sanguínea da pele assegura a oxigenação e nutrição das diversas camadas cutâneas, apresenta um papel fundamental na termorregulação e permite manter o equilíbrio da pressão arterial (Martini, 2005a).

Salienta-se ainda que o sistema linfático, muitas vezes ignorado, também apresenta um papel essencial na eliminação dos resíduos macromoleculares que não podem ser eliminados pela circulação sanguínea (Martini, 2005a).

3.2.2. Coloração cutânea

A observação da coloração da pele é um processo altamente dependente do observador uma vez que é sensorial e muito subjetivo, dependendo de muitas variáveis como a pigmentação, a perfusão sanguínea e a descamação. No entanto a intensidade da coloração cutânea observada pode ser um indicador importante para a gravidade de um processo patológico, assim como o retorno a uma coloração de tom normal pode também ser indicador da eficácia de um tratamento aplicado (Van, 2006). Nos últimos tempos têm surgido novas técnicas e equipamentos para quantificar *in vivo* e de uma forma objetiva e reprodutível, a coloração cutânea mesmo que haja completa ausência de sinais e sintomas. A espectrofotometria e a colorimetria são dois exemplos das referidas técnicas (Jongh *et al.*, 2006). Existem estudos que demonstram a utilidade de técnicas que quantificam o eritema cutâneo relacionado com uma resposta inflamatória da pele em resposta a estímulos como a radiação ultravioleta, um alérgeno ou uma substância irritativa (Wilhelm *et al.*, 1994). Assim uma reação da pele a uma substância sensibilizadora traduz-se num aumento da microcirculação local, visível macroscopicamente através do aparecimento de um eritema.

A pigmentação natural da pele deve-se essencialmente à presença de pigmentos como a melanina, sintetizada pelos melanócitos, células dendríticas situadas na camada basal da

epiderme (Martini, 2005c). A pigmentação melânica é considerada importante para a caracterização antropológica e até mesmo sociológica. Sabe-se ainda que as proteínas em geral e a melanina, principal pigmento da pele, possuem capacidade máxima de absorção das radiações solares, constituindo uma defesa para a pele contra os efeitos nocivos das radiações. Deve ter-se em conta que essa defesa da pele depende da variação da produção das melaninas, que está relacionada por sua vez com características genéticas e com o próprio estímulo da luz solar para a produção de melanina (Esteves *et al.*, 1992).

Ainda se acrescenta que, para além de condicionantes genéticos e da função protetora da pele contra a exposição solar, a coloração cutânea depende de fatores como a espessura da pele e a proximidade da vascularização periférica. Estes podem assim determinar variações na coloração superficial da pele, existindo por isso peles rosadas, peles amareladas (devido a pigmentação biliar) ou pálidas em consequência de falta de irrigação ou anemia (Barata, 2002).

3.2.3. Avaliação biofísica não invasiva

Existem essencialmente duas metodologias para a avaliação da cor da pele – a colorimetria que usa o sistema de cor $L^*a^*b^*$ (abaixo descrito) e a metodologia que recorre à medição do índice de melanina e do índice de eritema.

O sistema CIE (Comissão Internacional de Iluminação) é utilizado para descrever a cor. Em 1976 a CIE definiu o espaço CIELAB que representa as cores básicas em três unidades e que são descritas por luminosidade (L^*), coordenada a^* (eixo do vermelho a verde) e coordenada b^* (conteúdo de amarelo a azul) (Ramo *et al.*, 2002). Assim, a avaliação da cor cutânea por colorimetria consiste na iluminação da pele a avaliar com uma luz específica que vai ser refletida. Essa luz refletida é de seguida processada por um analisador de cor recorrendo ao sistema de cor $L^*a^*b^*$. Para este efeito, refere-se o *Skin-Colorimeter*® da *Courage Khazaka* como exemplo de aparelho de medição da coloração cutânea. Existe ainda o aparelho *Chromameter*® da *Minolta* que atua de igual forma para avaliar a cor cutânea (Korichi *et al.*, 2000).

O seu princípio de funcionamento baseia-se numa sonda que envia uma luz branca LED sobre a pele. A luz emitida é dispersa uniformemente, havendo uma parte a atravessar as camadas da pele e outra que é dispersa para fora da pele. Essa luz refletida pela pele é medida na sonda. Dentro da sonda existe uma matriz de cores especiais de modo a adaptar os valores obtidos da medição com valores padrões (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013). Assim, o parâmetro L^* expressa o brilho da cor ou luminância, e está compreendido entre o valor de 100 para o branco total e de 0 para o preto total; o parâmetro a^* representa alterações ao longo de um eixo, que muda de +60 para o vermelho e -60 para o verde; e o parâmetro b^* representa as mudanças de um valor positivo para o amarelo (+60) para um valor negativo para o azul (-60) (Clarys et al., 2000).

A figura 7 ilustra de uma forma esquemática o princípio de funcionamento do *Skin-Colorimeter*® que recorre à colorimetria com o sistema de cor $L^*a^*b^*$.

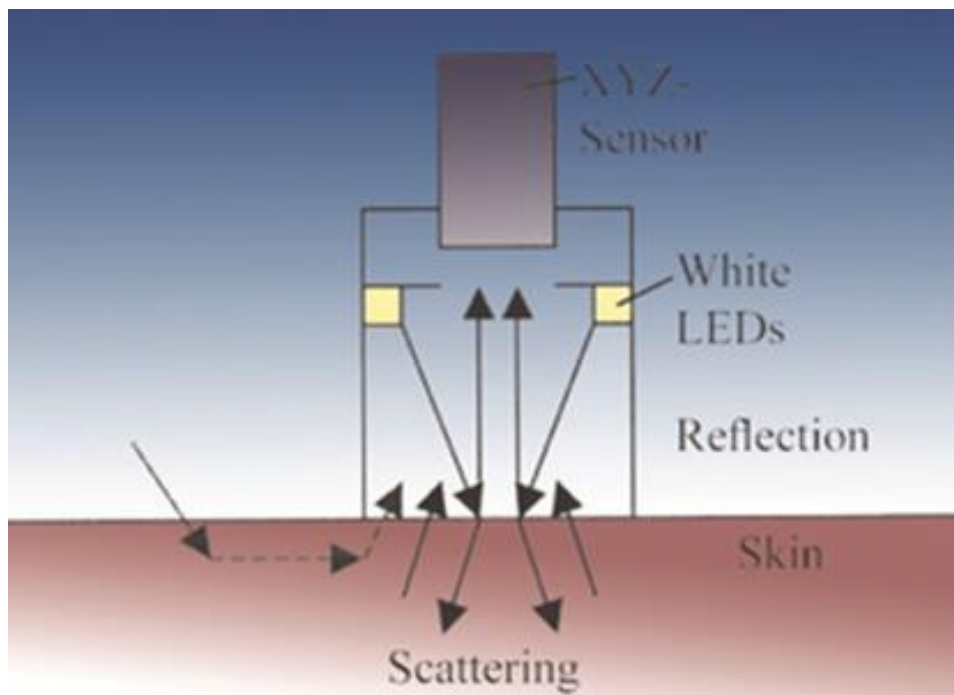


Figura 7. Princípio de funcionamento do *Skin-Colorimeter*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

É um método que mede especificamente a cor da pele, sendo bastante usado em casos de produtos de maquiagem, produtos para o cabelo e produtos para a coloração do cabelo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

A sonda do *Skin-Colorimeter*® foi desenvolvida exatamente com o intuito de medir as mudanças na coloração da pele. Constitui um método bastante útil para a análise da eficácia de uma larga gama de produtos farmacêuticos e cosméticos, nomeadamente os protetores solares, os produtos de clareamento, os auto-bronzeadores, os produtos de cosmética decorativa e suplementos alimentares à base de caroteno. Em situações dermatológicas, como as manchas da idade, os danos provocados pelo sol, ou ainda o tratamento de doenças da pele, a medição da cor da pele também é importante (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Vários estudos já foram realizados com o intuito de quantificar a coloração cutânea. Refere-se o exemplo de Pattamadilok e seus colaboradores, que realizaram um estudo que pretendia quantificar a pele de pacientes que tinham acantose nigricans. Esta é uma dermatose que se caracteriza por hiperpigmentação, placas aveludadas e hiperplasia da epiderme e derme papilar. Para isso recorreram a uma metodologia não invasiva, a colorimetria para avaliar a hiperpigmentação dos doentes. O estudo foi realizado em 12 mulheres portadoras da patologia, e recorreu-se ao *Chromameter*® para medida da cor cutânea através do sistema $L^*a^*b^*$ e a um aparelho de medida do índice de melanina e índice de hemoglobina, que serão abordados de seguida. Como resultados, concluíram que os valores dos parâmetros L^* e b^* e o índice de melanina eram diferentes nas lesões da acantose nigricans comparativamente aos valores obtidos uma pele normal. Assim, o valor dos parâmetros L^* e b^* são menores, e o valor do índice de melanina maior quando avaliados numa lesão de acantose nigricans comparando com os controlos. Por sua vez, não observaram valores diferentes do parâmetro a^* nem do índice de hemoglobina entre os controlos e os indivíduos portadores da dermatose. Deste modo, concluíram que a colorimetria é um método muito útil para avaliar de forma objetiva a mudança de coloração cutânea que se verifica nesta dermatose, ao passo que a medida do índice de melanina constitui uma ferramenta valiosa para caracterizar as mudanças cutâneas no conteúdo de melanina e que está associada a esta patologia (Pattamadilok *et al.*, 2012).

Por sua vez, existe ainda para medição da coloração cutânea, a medida do índice de melanina e do índice de eritema. Para esse efeito é possível recorrer a instrumentos que

avaliam dois componentes responsáveis pela coloração da pele: a melanina e a hemoglobina. A medição é baseada na absorção/ reflexão destes dois cromóforos.

O uso de técnicas para determinar individualmente a quantidade de melanina e de hemoglobina permite uma avaliação objetiva referente à eficácia de cosméticos usados com fins a melhorar a coloração da pele (Cosderma-Laboratoires, 2013c).

É uma técnica que se baseia na espectrofotometria que utiliza um comprimento de onda de amplo espectro ou um comprimento de onda selecionado do espectro do visível de modo a determinar-se a reflexão e a absorção por parte dos tecidos (Takiwaki e Serup, 2006). Salienta-se que a cor consiste numa percepção do olho às radiações eletromagnéticas correspondentes a um comprimento de onda entre os 40-700nm, sendo essa cor uma combinação dos registos de azul, vermelho e verde (Piérard, 1998). Assim a melanina absorve a luz em todo o espectro visível, ao passo que a hemoglobina exibe uma absorção específica da luz no espectro do verde e uma absorção mínima no espectro vermelho. Contudo em caso de eritema, aumenta a absorção de luz verde e diminui a luz refletida (Lahti *et al.*, 1993). Os dados obtidos são expressos em índice de eritema e índice de melanina e são:

Índice de Eritema: $E = 100 \times \log I_{\text{vermelho}} / I_{\text{verde}}$

Índice de Melanina: $M = 100 \times \log I / I_{\text{vermelho}}$

O I vermelho representa a intensidade da luz vermelha refletida; o I verde a intensidade da luz verde refletida; e o I a luz total refletida (Fullerton *et al.*, 1996; Piérard, 1998).

Para a medida do índice de eritema e do índice de melanina existem aparelhos como o Mexameter® da *Courage Khazaka* e o *DermaSpectrometer*® da *Cortex Technology* e que se baseiam no princípio da espectrofotometria (Clarys *et al.*, 2000). O Mexameter® é um dos equipamentos mais usados hoje em dia para determinar estes índices. Este dispositivo compreende uma sonda, que emite três comprimentos de onda específicos, e um recetor localizado no interior da sonda e que mede a luz refletida pela pele. Assim a quantidade de luz que é absorvida pela pele é calculada à medida que a quantidade de

luz é emitida pelo aparelho. A medida da melanina é feita usando comprimentos de onda específicos que correspondem a diferentes taxas de absorção pelos pigmentos. No que respeita à hemoglobina, nomeadamente o eritema, também são usados comprimentos de onda específicos que correspondem ao pico de absorção espectral da hemoglobina, evitando assim a influência de outras colorações, como por exemplo da bilirrubina (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Ainda segundo a mesma fonte, a determinação da coloração cutânea tem vindo a ganhar grande interesse, uma vez que é comprovada a sua importância nas áreas da cosmetologia e da dermatologia. É um método muito utilizado em casos de diagnósticos clínicos objetivos, de alergias, de testes de sensibilidade e em casos de lesões e cicatrizes, uma vez que ambos se relacionam com mudanças na coloração cutânea.

De salientar que a avaliação da pigmentação, ou seja da melanina, é de grande interesse quando se pretende avaliar a eficácia de produtos cosméticos e farmacêuticos, principalmente os produtos que pretendam aclarar a pele e os protetores solares. Por outro lado a avaliação do eritema é útil em casos onde se pretende avaliar a sensibilidade da pele ou até mesmo em situações onde se deve ajustar tratamentos especiais, como por exemplo com o uso de lasers (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Contudo, a avaliação do índice de melanina e do índice de eritema é condicionada por fatores intrínsecos, fatores relacionados com o ambiente e fatores relacionados com o equipamento. Como fatores intrínsecos temos a idade, o género, a zona anatómica, a temperatura cutânea, o ritmo circadiano e ainda a posição ortostática (Rosado *et al.*, 2004; Wilhelm *et al.*, 1994). Salienta-se ainda que a pigmentação da pele difere consoante o fototipo. A perceção de um eritema numa pele pigmentada pode estar alterada comparativamente a uma pele pouco pigmentada. Pode-se assim verificar que o índice de eritema aumenta à medida que aumenta o índice de melanina, logo o índice de eritema não depende só da quantidade de hemoglobina. Por isso não se pode comparar índices de eritema que foram medidos em áreas com diferentes pigmentações cutâneas (Rosado *et al.*, 2004). Relativamente aos fatores relacionados com o ambiente, referem-se a temperatura e as variações sazonais (Rosado *et al.*, 2004; Wilhelm *et al.*, 1994), e

dos fatores relacionados com o equipamento temos o caso de uma pressão excessiva da sonda sobre a pele que poderia desencadear uma pequena congestão venosa no local de medição e influenciar os resultados (Branco *et al.*, 2005). A emissão da luz também deve ser tida em conta, uma vez que determina a luz que é refletida pela pele. Assim aquando da medição dever-se-á ter o cuidado de colocar sempre o instrumento de uma forma perpendicular sobre a pele (Rosado *et al.*, 2004; Wilhelm *et al.*, 1994).

A figura 8, adaptada de Dawson e seus colaboradores, representa de uma forma esquemática a medição do índice de melanina e do índice de hemoglobina quando a pele é irradiada por uma fonte luminosa (I_0) (Dawson *et al.*, 1980).

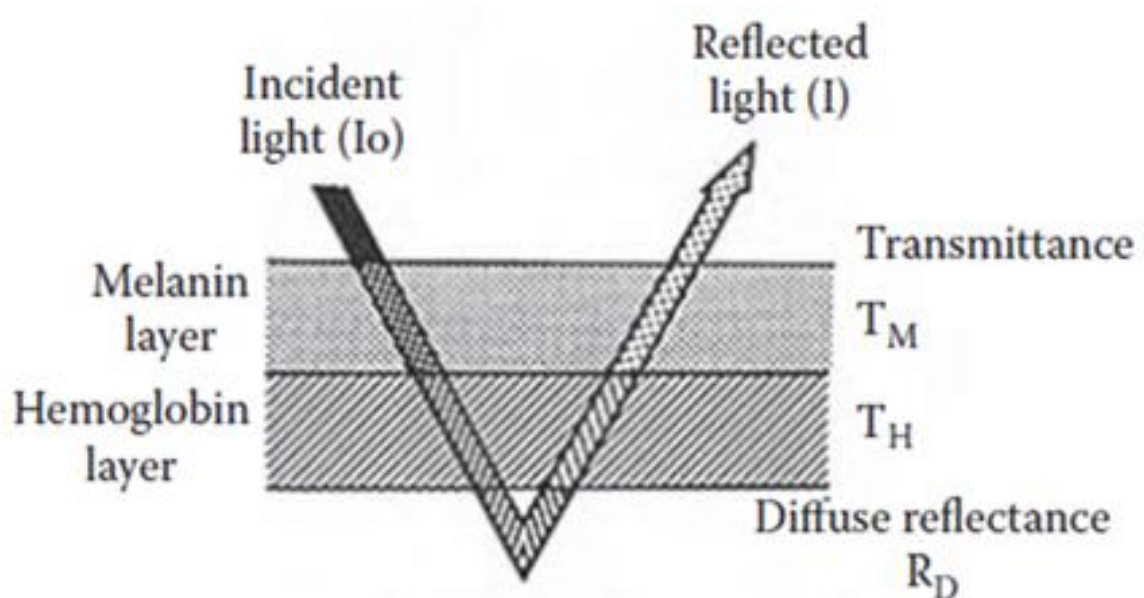


Figura 8. Comportamento de uma luz que incide sobre a pele aquando de uma medição do índice de melanina e do índice de hemoglobina (Dawson *et al.*, 1980).

De acordo com a figura 8, o I_0 representa a intensidade da luz incidente e o I a intensidade da luz refletida. O T_M representa a transmitância da camada superior – onde se localiza a melanina -, o T_H indica a transmitância da camada inferior – onde se localiza a hemoglobina-, e o R_D corresponde à reflectância difusa das camadas mais profundas. Entenda-se por transmitância, a quantidade de energia, nomeadamente de luz, que atravessa um corpo sem sofrer nenhum processo de reflexão ou absorção. Por sua vez a refletância difusa corresponde à fração do fluxo incidente sobre um corpo que

é desviada por ele para o hemisfério de origem, seja por reflexão à superfície ou por retroespalhamento (em caso de partículas em suspensão ou gases), ou por ambos os fenómenos (Takiwaki e Serup, 2006).

Park e seus colaboradores recorreram ao *Mexameter*® como aparelho biofísico não invasivo para o diagnóstico do vitiligo e do “nevus depigmentosus”. Ambos são dermatoses relacionadas com a pigmentação. O primeiro caracteriza-se por um distúrbio adquirido na pigmentação onde há uma perda de melanócitos e consequentes manchas brancas na pele. O segundo é uma hipopigmentação congénita não progressiva, em que as lesões são estáveis em termos de tamanho e distribuição ao longo da vida. Para a realização do estudo recorreram a indivíduos portadores destas patologias e procederam à avaliação do índice de melanina e do índice de melanina relativo (obtido por cálculo através da proporção do índice de melanina nos indivíduos). Este estudo permitiu demonstrar que o *Mexameter*® constitui um dispositivo de medida ótimo para avaliar a pigmentação, podendo ser utilizado para o diagnóstico mais preciso de distúrbios hipopigmentares. Concluiu-se ainda que o índice relativo de melanina é um parâmetro mais eficaz do que o índice de melanina próprio, para comparar as diferenças de pigmentação (Park *et al.*, 2006).

3.3. Temperatura cutânea

A temperatura média da pele num indivíduo vestido, em repouso e à temperatura ambiente de 24°C, é de 34°C. A manutenção do equilíbrio térmico corporal deve-se à existência de um balanço entre a produção endógena de calor e a respetiva dissipação na superfície da pele. A temperatura varia em função da área topográfica, do vestuário, da temperatura ambiente e do estado de repouso ou exercício físico. A dissipação calórica que se verifica à superfície da pele deve-se à condução do calor através dos tecidos, mas também ao transporte do calor efetuado pelo sangue até à pele. Assim, a regulação térmica depende diretamente das variações do débito sanguíneo cutâneo (Esteves *et al.*, 1992).

A pele funciona como uma interface entre o corpo e o meio ambiente. É possível medir a temperatura ao longo da superfície da pele, destacando-se o facto de a mesma ser mais

elevada na zona da cabeça, apresentando valores mais baixos na zona das extremidades inferiores. Esta diferença de temperatura torna-se mais marcada com uma diminuição da temperatura ambiente, e é o resultado de um mecanismo complexo baseado no equilíbrio exigido pelo corpo para a termorregulação. A circulação sanguínea é assim o principal agente de aquecimento da pele, e se houver alterações no fluxo sanguíneo, isto irá induzir mudanças na temperatura cutânea. Algum do calor fornecido à pele provém da condução do mesmo a partir dos órgãos e tecidos subjacentes. A temperatura da pele em determinado local é, portanto, dependente do fornecimento vascular para essa área e da condutividade térmica das estruturas subcutâneas. Assim, em patologias onde existe um aumento do metabolismo, como por exemplo um tumor, verifica-se um aumento de calor na área localizada do mesmo. A distribuição térmica do corpo é dependente da posição do corpo, sendo essencial padronizar a posição postural quando se efetua a medição da temperatura da pele. Uma vez que o exercício físico também gera calor, as medições deverão ser realizadas após um breve período de repouso de modo a minimizar os efeitos da atividade física (Ring, 2006).

3.3.1. Avaliação biofísica não invasiva da temperatura cutânea

A medida da temperatura cutânea é um parâmetro importante a considerar em áreas como a venda de produtos que promovam a circulação sanguínea, por exemplo produtos usados para o tratamento da celulite, de modo a poder comprovar a eficácia dos mesmos. Apresenta campos de aplicação como a dermatologia ou a medicina ocupacional onde a determinação da temperatura cutânea fornece informação para diagnósticos, e é uma medida ideal para acompanhar medições de outros parâmetros mecânicos da pele, por exemplo a medida de hidratação, uma vez que se sabe que diferenças na hidratação cutânea, levam a diferenças na temperatura cutânea (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Existem essencialmente três métodos para avaliar a temperatura corporal. Assim, é possível medir a temperatura da pele através de um processo de condução de calor, de convecção do calor ou de radiação do calor. Os primeiros instrumentos a serem usados consistiam em termómetros fluidos que se aplicavam sobre a pele e permitiam medir mudanças na densidade do fluido por condução do calor. Esse fluido compreendia

pequenas folhas de cristais líquidos que alteravam a sua cor em função da temperatura. As mudanças da temperatura também podem ser medidas recorrendo a elevadas correntes de convecção. Contudo o método mais empregue consiste na medida da temperatura cutânea tendo por base a radiação que a própria pele emite. A pele é um eficiente emissor de radiações infravermelhas e micro-ondas. Para isso existem termómetros próprios que permitem medir essas radiações e consequentemente medir a temperatura cutânea. Este último método apresenta a grande vantagem de não contactar diretamente com a pele, não interferindo com a medida (Ring, 2006).

A título de exemplo, referenciamos o *Skin-Thermometer*® da *Courage Khazaka* como aparelho de medida da temperatura cutânea e que se baseia no princípio da radiação, citado anteriormente.

Este aparelho permite fornecer informação acerca da temperatura da pele que é um importante indicador da microcirculação cutânea uma vez que quanto maior a circulação maior a temperatura. Como é possível visualizar na figura 9, o aparelho consiste numa sonda que contém um sensor que capta os raios infravermelhos emitidos pela pele (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

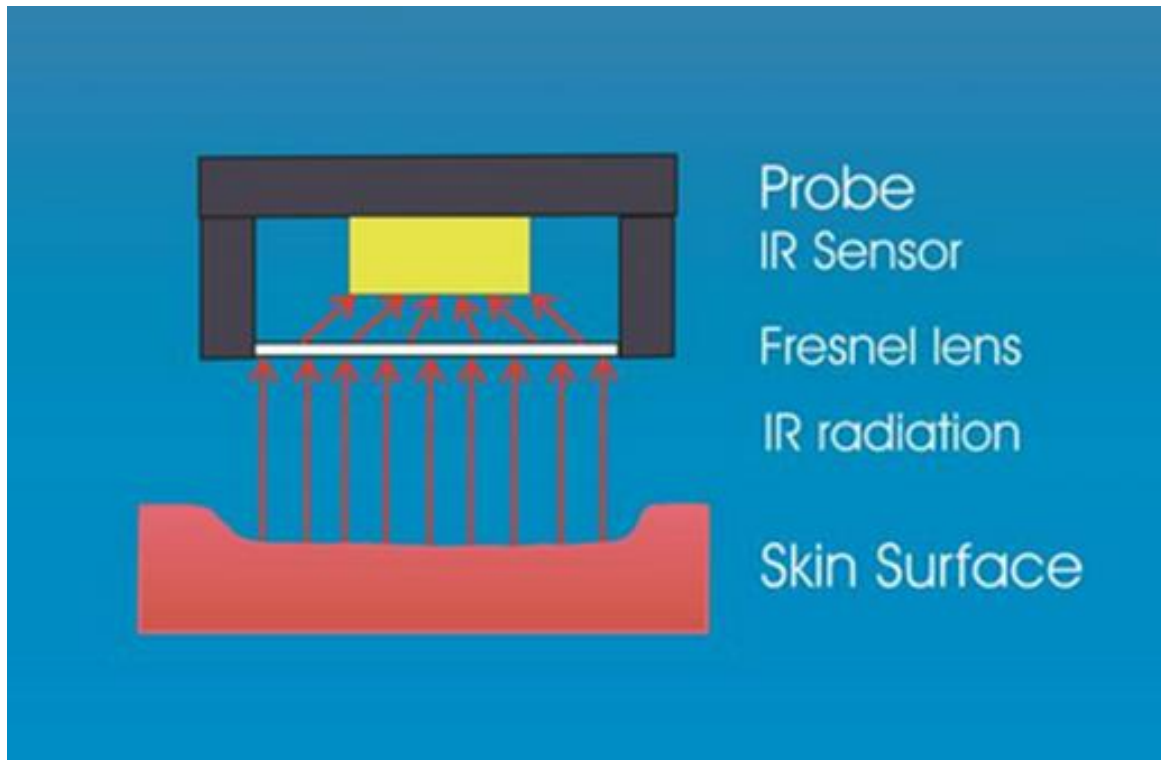


Figura 9. Princípio de funcionamento do *Skin-Thermometer*® (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

O valor da temperatura obtido é comparado com um valor de temperatura padrão, ou seja de uma zona corporal com boa circulação sanguínea, por exemplo na zona da pele que se encontra junto à artéria da carótida (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

IV. Anexos cutâneos

Os anexos da pele estão ilustrados na figura 10 e compreendem: as glândulas sebáceas, as glândulas sudoríparas écrinas e as glândulas sudoríparas apócrinas, e o folículo piloso.

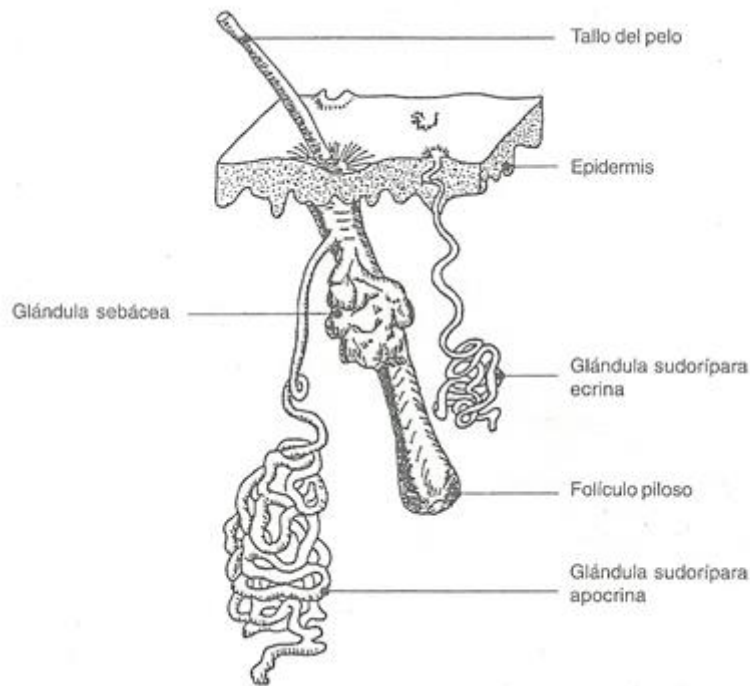


Figura 10. Anexos cutâneos (Martini, 2005a).

4.1. Glândulas sebáceas: sebo cutâneo

As glândulas sebáceas encontram-se distribuídas por todo o corpo com exceção do lábio inferior, palmas das mãos e plantas dos pés, estando localizadas em maior número no couro cabeludo, nariz, testa, face e regiões axilares (Prista *et al.*, 1992)

Estão associadas ao folículo piloso (formando a unidade pilo-sebácea) e abrem à superfície da pele. Têm a função de produzir o sebo, que é uma mistura lipídica complexa (Esteves *et al.*, 1992) constituída por: mono, di e triglicerídeos (50%), ácidos gordos livres resultantes da decomposição bacteriana dos triglicerídeos (10 a 25%), ceras e ésteres (20%), esqualeno (5 a 10 %), colesterol esterificado e livre (respetivamente 3% e 1,5%). A secreção sebácea varia em função de diversos fatores,

nomeadamente, com a temperatura ambiente – existe um aumento de 10% da secreção sebácea com o aumento de 1°C -; com o sexo - a secreção é inferior nas mulheres; com a idade – existe um aumento significativo na adolescência; e a região do corpo – as zonas mais ricas em glândulas sebáceas são o tronco, o tórax e a cara (Martini, 2005a).

O sebo, para além de lubrificar o pêlo, forma o filme hidrolipídico juntamente com os produtos de excreção das glândulas sudoríparas. O filme hidrolipídico é uma camada oleosa fina que confere a característica de maciez à pele. O sebo cutâneo é também de grande relevância uma vez que impede a dessecação da superfície da pele e interfere no processo de permeação transepidérmica. Também lhe é atribuído um papel na defesa contra infeções, uma vez que dificulta o desenvolvimento de microrganismos patogénicos. Em contrapartida é um suporte nutritivo favorável para manter certos microrganismos cutâneos, por exemplo o *Propionibacterium acnes* (Esteves *et al.*, 1992).

Uma hipersecreção das glândulas sebáceas leva ao aumento de sebo cutâneo na película hidrolipídica originando as peles gordas ou seborreicas. Se a pele desenvolver pápulas, pústulas, comedões e nódulos devido ao entupimento do canal do folículo piloso, e desenvolvimento microbiano por *Propionibacterium acnes*, a pele gorda toma a designação de pele acneica. Pelo contrário, uma hipossecreção sebácea traduz-se na diminuição de fase lipídica na película hidrolipídica, resultando numa pele seca (Cunha *et al.*, 2004b).

4.1.1. Avaliação biofísica não invasiva do sebo cutâneo

A medida da oleosidade cutânea constitui uma ferramenta importante para a recomendação de produtos para aplicação facial, no couro cabeludo ou no corpo. É especialmente adequada para promover o uso de produtos anti acne ou ainda produtos de limpeza que reduzam a quantidade de óleo na pele (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Nestes últimos anos vários métodos têm sido desenvolvidos para medir o teor de sebo cutâneo. Em 1886, Krukenberg introduziu a técnica do papel absorvente, seguido de

Leubuscher em 1899. Mais tarde mediu-se a excreção sebácea, através de um método que compreendia um copo contendo um solvente orgânico. Este era colocado em contacto com uma área da pele durante um determinado período. De seguida o solvente é pipetado do copo e evaporado, e a quantidade de sebo é determinada por pesagem. É uma técnica ainda em uso hoje em dia, contudo há alguma reserva acerca da sua eficácia uma vez que é altamente dependente da solubilidade dos lípidos com o solvente e extrai fisicamente os lípidos tanto da superfície como do ducto, não medindo assim a excreção sebácea propriamente dita (O'goshi, 2006a).

De seguida, Strauss e Pochi recorreram ao papel de cigarro como método para quantificar a excreção sebácea. Este é colocado em contacto com a pele durante um determinado tempo, e depois procede-se à sua pesagem para quantificar o sebo cutâneo (Strauss e Pochi, 1961).

Um método mais simples e baseado no princípio da fotometria foi descrito por Schäfer e Kuhn-Bussius. A técnica usa um aparelho em que existe um vidro opalescente que se torna mais transparente à luz após a adesão dos lípidos, sendo assim possível quantificá-los (Schäfer e Kuhn-Bussius, 1970). Entretanto, já foi desenvolvido um equipamento mais conveniente, que possui uma película de plástico opalescente, em vez do vidro, e que se denomina *Sebumeter*® da *Courage Khazaka*. É dos métodos mais empregues hoje em dia para a medida do sebo cutâneo (O'goshi, 2006a).

Este aparelho, como já indicado, mede a quantidade de sebo presente na pele. Compreende um “cartucho” que contém no seu interior uma fita especial sensível às secreções sebáceas, e uma unidade central, um espectrómetro, constituído por um fotodiodo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013; Cosderma-Laboratoires, 2013b).

A figura 11 ilustra a etapa da colheita do sebo cutâneo (a) e a etapa da medida do sebo cutâneo (b) ao usar o *Sebumeter*® (O'goshi, 2006a).

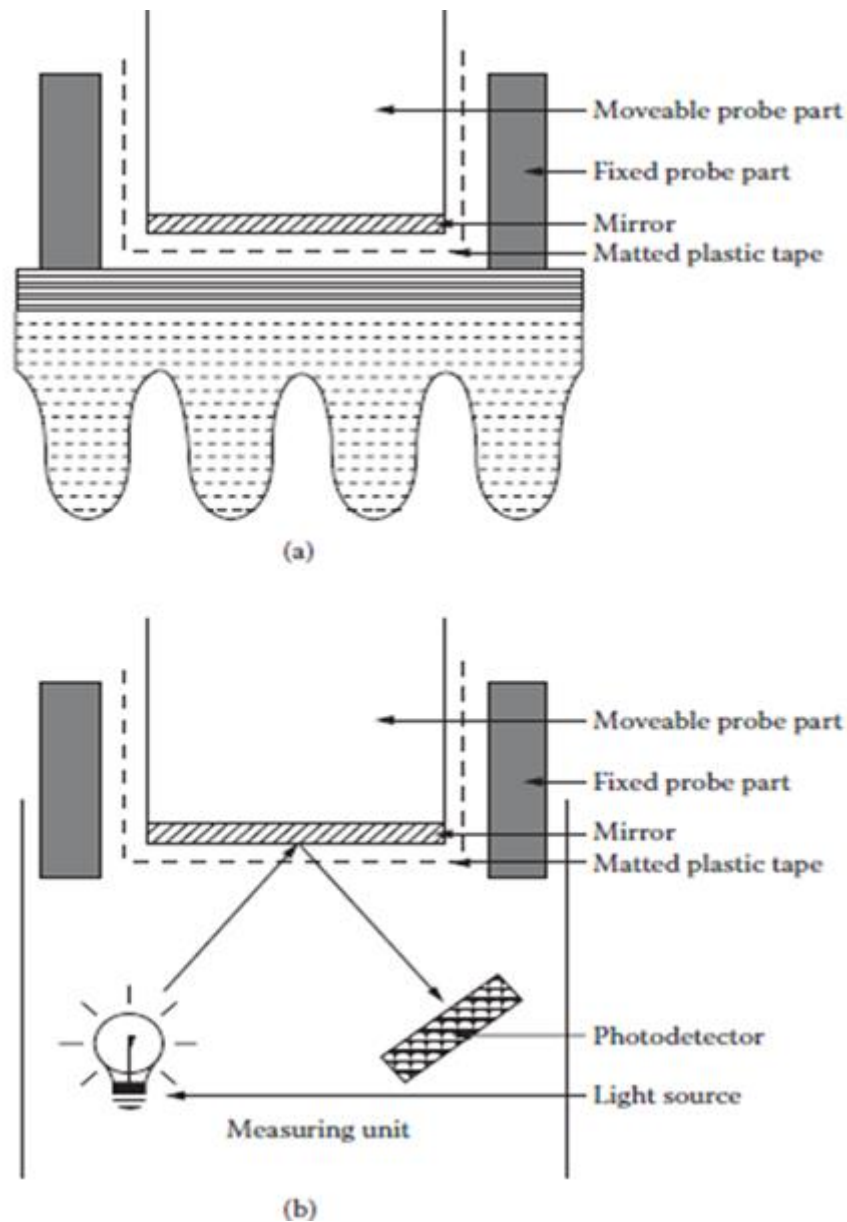


Figura 11. Etapa da colheita do sebo cutâneo (a); etapa da medida do sebo cutâneo (b) ao usar o *Sebumeter*® (O'goshi, 2006a).

Quando a fita, presente no interior do cartucho, entra em contacto com o óleo da pele, esta torna-se transparente. Ao colocar o cartucho dentro do dispositivo base, a transparência é medida através de uma célula fotoelétrica, sendo que a transmissão da luz representa o teor de sebo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013). A medida é

obtida 10 segundos após aplicação do cartucho sobre a pele (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013) e vem expressa de 0 a 300 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. O resultado provém da diferença do valor de transparência da fita antes e depois do contacto com a pele (Piérard *et al.*, 2000) e aparece no ecrã digital do aparelho base, correspondendo à quantidade de sebo presente na fita de medição (Cosderma-Laboratoires, 2013b). Aquando da medição uma nova secção de fita é movida para a frente graças à presença de um gatilho no lado do cartucho, e a fita utilizada é rebobinada para dentro do aparelho. Cada cartucho tem uma duração equivalente a 400 medições, e por questões de higiene o cartucho é substituído assim que as fitas de medida esgotarem. Esta determinação fotométrica de sebo cutâneo é idealmente complementada pela determinação da hidratação da superfície da pele de modo a avaliar o tipo de pele do indivíduo (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Fatores como a idade, o género, a raça, o sítio anatómico e principalmente o uso de produtos tópicos, influenciam os resultados obtidos de sebo cutâneo (Piérard *et al.*, 2000).

O conhecimento sobre o conteúdo de sebo presente a nível da pele é de grande relevância para um diagnóstico clínico objetivo bem como para a monitorização de uma doença cutânea. A sua determinação é também de elevada importância para avaliar a eficácia de produtos farmacêuticos e principalmente de produtos cosméticos, como é o caso dos produtos de limpeza, produtos anti-acne, champôs e produtos para o couro cabeludo, e ainda produtos usados para peles oleosas (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

A excreção sebácea é influenciada pela idade e pelo sexo, uma vez que as glândulas sebáceas se encontram sobre controlo endócrino. Cunliffe e Shuster investigaram para o efeito 139 indivíduos, com idade compreendida entre os 10 e 70 anos. Após pesquisa, concluíram que a excreção sebácea no sexo masculino era muito maior comparativamente ao sexo feminino, excetuando nas idades entre os 10 e os 15 anos. Tal acontece devido ao desenvolvimento precoce da puberdade que se verifica no género feminino. Ainda nesse estudo, a quantidade sebácea continuava a aumentar após a puberdade, atingindo-se um pico, tanto no género feminino como no género

masculino, em idades entre os 30 e 40 anos, verificando-se de seguida um declínio gradual na produção sebácea (Cunliffe e Shuster, 1969).

Considerando agora estudos realizados com o intuito de averiguar a eficácia de produtos cosméticos, referenciamos Huschka e Schulewsky que utilizaram o *Sebumeter*® para avaliar a eficácia de champôs sobre o seu efeito na seborreia. Estudaram o couro cabeludo e a testa de 20 indivíduos, e demonstraram que um champô que continha piritionato de zinco na sua composição, apresentava um efeito seboestático, ao contrário de um tratamento com champô, contendo piroctona-olamina, que aumentava a seborreia. Os autores salientaram ainda, a vantagem do uso do *Sebumeter*® em permitir efetuar medidas sobre o couro cabeludo, sem ser necessário cortar os cabelos para efetuar a análise dos lípidos (Huschka e Schulewsky, 1984). Mais recentemente, Serup recorreu ao método do *Sebumeter*® para investigar a eficácia de hidratantes lipídicos na superfície cutânea. Mostrou que a superfície lipídica cutânea era muito semelhante ao conteúdo lipídico dos hidratantes, comprovando assim a sua eficácia (Serup, 1992).

O *Sebumeter*® é um instrumento também muito utilizado para o estudo de dermatoses. Assim O'goshi e seus colaboradores procederam a um estudo que comparava a superfície lipídica da pele de indivíduos saudáveis e de indivíduos com pele seca atópica. Primariamente concluíram que o teor em lípidos era maior nas regiões seborreicas, nomeadamente nas bochechas, no pescoço e na nuca. Secundariamente concluíram que o teor lipídico cutâneo tende a ser menor nas peles atópicas comparativamente às peles saudáveis (O'goshi *et al.*, 2002).

O brilho cutâneo é um parâmetro intimamente ligado ao sebo cutâneo. A medida do brilho é muito importante para avaliar a eficácia de produtos para cuidados da pele (uns com propriedades de aumentar o brilho, e outros de reduzir o brilho cutâneo), do cabelo e para cosméticos decorativos como batons e maquilhagem. Também é uma medida útil em área odontológica para avaliar o brilho dentário e após prática de aclaramento dentário (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

A pele e os cabelos normalmente devem apresentar um brilho natural sem que este seja de aspeto oleoso. Como exemplo de aparelho para quantificar o brilho cutâneo, referimos o *Skin-Glossmeter*[®] da *Courage Khazaka*. O seu princípio de funcionamento está ilustrado na figura 12.

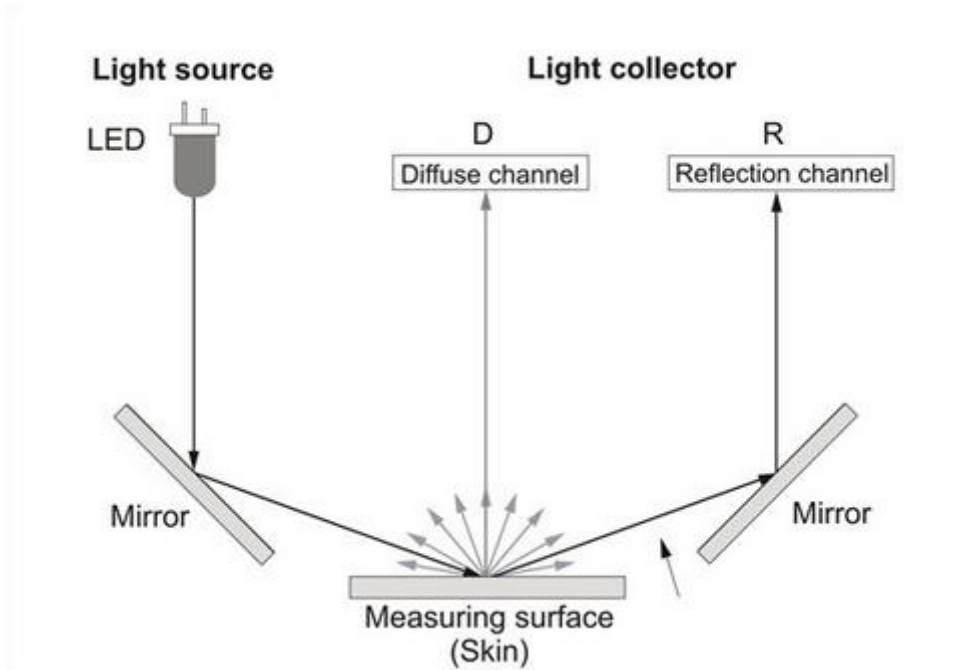


Figura 12. Princípio de funcionamento do *Skin-Glossmeter*[®] (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

Baseia-se no fenómeno da reflexão, e compreende uma sonda que contém uma fonte de emissão de luz branca (LED) e um recetor da luz que é refletida e difusa. A luz emitida a 0° é refletida por um espelho a 60° atingindo a superfície da pele. Parte dessa luz é difusa a 0° , ou seja completamente na vertical da superfície cutânea avaliada, e outra parte da luz é refletida pela superfície cutânea, refletindo de novo num espelho com um ângulo de 60° , sendo medida num recetor próprio. Assim o *Skin-Glossmeter*[®] avalia dois parâmetros: a porção da luz difusa a partir da superfície da pele e a porção de luz que é refletida pela superfície cutânea e que corresponde à medida de brilho da pele. Contudo a cor da pele influencia a medição, isto porque a luz que é emitida penetra nas camadas mais externas da pele e é dispersa de forma diferente consoante a cor cutânea (uma pele escura dispersa menos luz do que uma pele clara). Por isso para obter um valor de brilho sem influência da cor da pele, a luz que é medida na sonda vai ser

deduzida por uma fórmula especial, obtendo-se um valor isento do efeito da coloração cutânea (Courage-Khazaka-Scientific-Devices, 2013).

4.2. Glândulas sudoríparas

As glândulas sudoríparas apresentam a função de excretar o suor à superfície da pele, e são de dois tipos: as écrinas e as apócrinas. As primeiras abrem-se à superfície da pele através de um poro, e encontram-se em toda a superfície corporal onde excretam um suor incolor e inodoro. Apresentam uma enervação colinérgica sendo estimuladas pelo exercício físico, o calor e o *stress*. A secreção produzida por essas glândulas é essencialmente constituída por 99% de água, mas também contém ureia, sais minerais, ácido láctico e aminoácidos (Prista *et al.*, 1992; Martini, 2005a).

As glândulas sudoríparas écrinas têm um papel fundamental no que diz respeito à manutenção do pH e da hidratação cutâneo referidos anteriormente. Assim, como o suor écrino constitui um dos componentes da capa hidrolipídica, permite contribuir para a manutenção do pH cutâneo, bem como para a hidratação cutânea - devido essencialmente à presença de ureia e de ácido láctico (Martini, 2005a).

Por sua vez, as glândulas sudoríparas apócrinas localizam-se nas axilas e na região perianal, desenvolvendo-se apenas na puberdade. A porção secretora localiza-se na hipoderme e responde a estímulos adrenérgicos, e a porção excretora associa-se a um folículo piloso que desemboca à superfície cutânea. O suor apócrino é constituído por lípidos sebáceos, detritos celulares, colesterol, amoníaco, ureia, entre outros, sendo que a sua composição varia consoante o sexo, o regime alimentar ou ainda a pigmentação cutânea. Existem bactérias na superfície cutânea que descompõem o suor apócrino produzido em ácidos gordos de cadeia curta, característicos pelo seu odor desagradável (Martini, 2005a; Prista *et al.*, 1992).

4.2.1. Avaliação biofísica não invasiva das glândulas sudoríparas écrinas

O estudo fisiológico das glândulas sudoríparas écrinas e a sua adaptação a mudanças climáticas depende essencialmente da capacidade em medir o volume total de fluido perdido. A perda do suor já foi estudada por meio de processos complexos que envolviam lavagens antes e depois da estimulação da produção de suor em saunas (Brune *et al.*, 1986). No entanto, quando se pretende estudar o metabolismo das glândulas sudoríparas écrinas, onde a medição da composição do suor é mais apropriada do que a medição do volume deste, a estimulação por agonistas colinérgicos (para a produção do suor) através de iontoforese, é o método mais conveniente a adotar (Barth, 2006b).

O princípio da iontoforese baseia-se na migração de pequenos iões sob influência de uma corrente elétrica. Para isso recorre-se a um agonista colinérgico que é aplicado na superfície cutânea e de seguida transferido para a derme, onde se localizam as glândulas sudoríparas écrinas de modo a estimular a secreção de suor (Barth, 2006b).

Assim a estimulação do suor é conseguida por um processo que compreende o uso de agonistas colinérgicos, como é o exemplo da pilocarpina, e que são responsáveis pela estimulação das glândulas écrinas. Durante a medição são colocadas duas gazes embebidas em pilocarpina sobre a zona flexora do antebraço, previamente lavado e seco. Na superfície extensora do braço são colocadas outras duas gazes embebidas de uma solução salina. A iontoforese necessita de energia. Esta é fornecida pelo elétrodo positivo de corrente contínua, que é colocado em cima das gazes com pilocarpina. Por sua vez, um elétrodo negativo é colocado sobre as gazes embebidas com solução salina. A recolha do suor pode ser feita através da técnica do papel de filtro ou pelo sistema *Macroduct*®. A primeira consiste na aplicação de um papel de filtro, previamente medido em balança analítica, sobre a zona da pele que contactou com a pilocarpina. Em cima do papel é colocada uma folha de plástico com fita cirúrgica de modo a garantir uma vedação hermética. Deixar por um período de 20 a 30 minutos de modo a permitir que o suor se acumule no papel de filtro. Por norma, o aparecimento de gotículas, que também deverão ser contabilizadas na recolha, indicam que já acumulou suor suficiente para a medida. De seguida, com uma pinça recolhe-se o papel de filtro que é

posteriormente pesado. Por diferença é calculada a quantidade de suor. Assume-se que um miligrama de suor equivale a um mililitro do mesmo (Barth, 2006b).

O *Madroduct*®, ilustrado pela figura 13, consiste num tubo capilar em espiral (visível na figura) usado para a recolha do suor produzido pela estimulação com pilocarpina. Na parte de trás do aparelho (não visível na figura) existe uma superfície côncava, que contacta com a pele previamente estimulada. Nessa superfície existe um tubo por onde é drenado o suor, por ação capilar. Assim, o volume de suor obtido é recolhido para a análise do mesmo (Barth, 2006b).



Figura 13. Aparelho *Madroduct*® (Barth, 2006b).

O estudo da fisiologia das glândulas sudoríparas écrinas tem sido usado como teste de diagnóstico da fibrose cística. Esta patologia caracteriza-se por provocar elevação na concentração do cloreto no suor écrino (Barth, 2006b). Denota-se assim, mais uma vez, a grande importância do uso de metodologia biofísica não invasiva como ferramenta de medição em determinadas patologias.

4.2.2. Avaliação biofísica não invasiva das glândulas sudoríparas apócrinas

A secreção das glândulas apócrinas é excretada através do folículo piloso para a superfície da pele. Existem vários métodos que foram desenvolvidos para a recolha dessas secreções. Pode recorrer-se a material absorvente para a recolha das secreções ou ainda dos produtos voláteis libertados, ou proceder a uma punção direta do canal apócrino para conseguir a colheita da secreção apócrina. No entanto, uma vez que, os produtos da secreção apócrina e os produtos da secreção sebácea entram em contacto no ducto piloso, é muito difícil obter um suor apócrino puro recorrendo a técnicas *in vivo*. As secreções écrinas também interferem na obtenção de um suor apócrino. De facto, as secreções écrinas acabam por diluir as secreções apócrinas que recobrem assim uma maior área de superfície da pele, provocando um aumento da sua evaporação (Barth, 2006a). O método dos discos do “gesso de Paris”, que são mantidos na pele das axilas por adesivos de polietileno, foi sugerido como método que permitisse ultrapassar esse problema. Uma vez que o suor écrino é essencialmente aquoso, vai ser absorvido pelos discos, ao passo que os lípidos viscosos da secreção apócrina são adsorvidos na superfície dos mesmos. As gotículas apócrinas recolhidas podem assim ser visualizadas por fluorescência com recurso à luz ultra violeta (Barth, 2006a; Fox *et al.*, 1974).

Já em 1953 se pretendia avaliar o suor apócrino. A título de exemplo, Shelley e Hurley procederam à colheita do suor apócrino, através de uma punção direta no ducto pilossebáceo-apócrino com um tubo capilar. Salienta-se que, ao recorrer a esta metodologia, é essencial estimular a secreção apócrina com um agente adrenérgico, como por exemplo a adrenalina (Shelley e Hurley, 1953).

V. Conclusão

Nas últimas décadas, tem-se avaliado *in vivo*, e de uma forma não invasiva, a anatomia assim como a fisiologia cutânea graças ao desenvolvimento de vários equipamentos. Desta forma é possível obter novas perspectivas para a investigação e para a prática clínica. A avaliação clínica é assim complementada com a utilização das novas técnicas, permitindo obter, de uma forma confortável para o paciente, informações sobre o estado funcional cutâneo.

Antes do emprego das metodologias não invasivas, a dermatologia baseava-se principalmente na observação clínica, o que era considerado pouco preciso. Nas últimas décadas desenvolveram-se informações e avanços científicos relacionados com a pesquisa cutânea, o que se revela ser uma ferramenta muito valiosa tanto para os dermatologistas como para os profissionais que trabalham no desenvolvimento de produtos cosméticos. Com o surgimento das metodologias não invasivas foi possível um avanço tecnológico no que diz respeito à avaliação de cosméticos, uma vez que essas novas tecnologias apresentam a vantagem de não causarem qualquer agressão ou desconforto aos pacientes ou voluntários que participam dos estudos.

Em resultado do avanço tecnológico na área da cosmética e de forma a obterem-se resultados precisos e reprodutíveis, surge a ciência da biometria cutânea que tem por objetivo estudar as características biológicas, mecânicas e funcionais da pele recorrendo a procedimentos científicos não invasivos causando assim o mínimo desconforto para o indivíduo. Recorrendo aos métodos biofísicos existentes, é assim possível mensurar as propriedades mecânicas da pele. As mais comumente avaliadas são a hidratação, a perda de água transepidermica, o sebo cutâneo, o pH ou ainda a elasticidade cutânea.

Os métodos abordados ao longo deste trabalho para a avaliação não invasiva são de natureza quantitativa. Contudo são limitados uma vez que os sensores utilizados para a medição baseiam-se numa única modalidade física como o som, a luz, ou ainda a eletricidade. Deste modo, a complexidade dos tecidos vivos é subestimada uma vez que existem muitos e diversos parâmetros que interagem de forma simultânea nesses mesmos tecidos. Assim, a determinação das variáveis em estudo deve ser feita

recorrendo a equipamento escolhido de uma forma criteriosa, atendendo sempre ao objetivo pretendido e considerando as limitações das técnicas utilizadas.

A área da dermatologia é muito exposta a novidades. Inúmeros estudos científicos baseiam-se no estudo da eficácia das substâncias ativas usadas nos produtos cosméticos bem como os efeitos da aplicação de formulações na pele humana, promovendo assim o desenvolvimento técnico e científico da área da cosmética. Assim qualquer produto cosmético que venha publicitado, relativamente a uma determinada propriedade, deverá ter obrigatoriamente provas de eficácia que o comprovem.

VI. Referências bibliográficas

Agache, P. e Varchon, D. (2004). Mechanical behavior assesment. *In: Agache e Humbert (Eds.). Measuring the skin.* Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag Publ, pp. 446-467.

Agache, P. G., *et al.* (1980). Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. *Arch Dermatol Res*, 269, pp. 221.

Ali, S. M. e Yosipovitch, G. (2013). Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm Venereol*, 93, pp. 261.

Azulay, M. M., *et al.* (2010). Métodos objetivos para análise de estudos em dermatologia cosmética. *An Bras Dermatol*, 85(1), pp. 65-71.

Barata, E. F. (2002). *Cosméticos - Arte e Ciência.* Lisboa, Lidel.

Barel, A. e Clarys, P. (2006). Measurement of Epidermal Capacitance. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* New York, Taylor&Francis, pp. 337-344.

Barth, J. H. (2006a). Methods for the Collection of Apocrine Sweat. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 821-822.

Barth, J. H. (2006b). Methods for the Collection of Eccrine Sweat. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New-York, Taylor&Francis, pp. 817-820.

Berardesca, E., *et al.* (1990). In vivo hydration and water-retention capacity of stratum corneum in clinically uninvolved skin in atopic and psoriatic patients. *Acta Derm Venereol*, 70, pp. 400-404.

Bircher, A., *et al.* (1994). 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 Dermatitis*, 30(2), pp. 65-72.

Branco, N., *et al.* (2005). Long-term repetitive sodium lauryl sulfate-induced irritation of the skin: an in vivo study. *Contact Dermatitis*, 53(5), pp. 278-284.

Brune, M., *et al.* (1986). Iron losses in sweat. *Am J Clin Nutr*, 43, pp. 438.

Buraczewska, I., Brostrom, U. B. e Lodén, M. (2007). Artificial reduction in transepidermal water loss improves skin barrier function. *British J. Dermatol*, 157(1), pp. 82-86.

Clarys, P., *et al.* (2000). Skin color measurements: comparison between three instruments: the Chromameter, the DermaSpectrometer and the Mexameter. *Skin Research and Technology*, 6, pp. 230-238.

Cosderma-Laboratoires. (2013a). [Em linha]. Disponível em <<http://cosderma.com/fr/prestations/techniques/30-corneometre-cm825>>. [Consultado em 07/02/2013].

Cosderma-Laboratoires. (2013b). [Em linha]. Disponível em <<http://cosderma.com/fr/prestations/techniques/36-sebumetre-sm815>>. [Consultado em 03/02/2013].

Cosderma-Laboratoires. (2013c). [Em linha]. Disponível em <<http://cosderma.com/fr/prestations/techniques/32-mexametre-mx18>>. [Consultado em 04/02/2013].

Courage-Khazaka-Scientific-Devices. (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific>>. [Consultado em 20/08/2013].

Cunha, A. P., *et al.* (2004a). Aspectos anatomofisiológicos da pele e dos órgãos anexos. *In: Cunha, et al. (Eds.). Plantas e produtos vegetais em cosmética e dermatologia.* Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 30-32.

Cunha, A. P., *et al.* (2004b). Tipos de pele e cuidados gerais a ter em conta na sua manutenção. *In: Cunha, et al. (Eds.). Plantas e produtos vegetais em cosmética e dermatologia.* Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 33-42.

Cunliffe, W. J. e Shuster, S. (1969). The rate of sebum excretion in man. *Br J Dermatol*, 81, pp. 697.

Dal'belo, S. E., Gaspar, L. R. e Maia Campos, P. M. (2006). Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res Technol*, 12, pp. 241-246.

Darlenski, R., *et al.* (2009). Non-invasive *in vivo* methods for investigation of the skin barrier physical properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, pp. 295-303.

Dawson, J. B., *et al.* (1980). A theoretical and experimental study of light absorption and scattering by *in vivo* skin. *Phys Med Biol*, 25, pp. 695.

Decreto Lei nº189 (2008). Diário da República.

Dobrev, H. (2000a). *In vivo* study of skin mechanical properties in psoriasis vulgaris. *Acta Derm Venereol*, 80, pp. 263-266.

Dobrev, H. (2000b). Use of Cutometer to assess epidermal hydration. *Skin Res Technol*, 6, pp. 239-244.

Dobrev, H. (2005). Application of Cutometer area parameters for the study of human skin fatigue. *Skin Res Technol*, 11, pp. 120-122.

Eberlein, B., *et al.* (2000). Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol*, 80, pp. 188-191.

Elkhyat, A., *et al.* (2001). A new method to measure in vivo human skin hydrophobia. *Int J Cosmet Sci*, 23, pp. 347-352.

Esteves, J. A., *et al.* (1992). *Dermatologia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Fluhr, J. W., Bankova, L. e Dikstein, S. (2006). Skin Surface pH: Mechanism, Measurement, Importance. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 411-417.

Fluhr, J. W. e Elias, P. M. (2002). Stratum corneum pH: formation and function of the 'Acid Mantle'. *Exogenous Dermatol*, pp. 163-175.

Fox, R. H., Mullan, B. J. e Thornton, C. (1974). A technique for studying apocrine gland function in man. *J Physiol*, 239, pp. 75.

Fullerton, A., *et al.* (1996). Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 35, pp. 1-10.

Gabard, B. (1994). Testing the efficacy of moisturizers. *In: Elsner, Berardesca e Maibach (Eds.). Bioengineering of the skin: water and stratum corneum*. London, New-York, Washington DC, CRC Press, pp. 147-167.

Hashimoto-Kumasaka, K., Takahashi, K. e Tagami, H. (1993). Electrical measurement of the water content of the stratum corneum in vivo and in vitro under various conditions: comparison between skin surface hygrometer and corneometer in evaluation of the skin surface hydration state. *Acta Derm Venereol*, 73, pp. 335-339.

Holm, E. A., *et al.* (2006). Instrumental assessment of atopic eczema: validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema. *J Am Acad Dermatol*, 55, pp. 772-780.

Huschka, U. e Schulewsky, A. (1984). Hauttalgsekretion und Haarshampoos. *Arztl Kosmetol*, 14, pp. 115.

Jongh, C. M., *et al.* (2006). Variation in barrier impairment and inflammation of human skin as determined by sodium lauryl sulphate penetration rate. *British J. Dermatol*, 154, pp. 651-657.

Kim, J. H., *et al.* (2012). The objective evaluation of the severity of psoriatic scales with desquamation collecting tapes and image analysis. *Skin Res Technol*, 18, pp. 143-150.

Korichi, R., *et al.* (2000). Quantitative assessment of properties of make-up products by video imaging: application to lipsticks. *Skin Res Technol*, 6, pp. 222-229.

Korting, H. C. e Braun, F. O. (1996). The effect of detergents on skin pH and its consequences. *Clin Dermatol*, 14, pp. 23-27.

Lahti, A., *et al.* (1993). Assesment of skin erythema by eye, laser doppler. *Arch Dermatol Res*, 285(5), pp. 278-282.

Leonardi, G. R., Gaspar, L. R. e Maia Campos, P. M. (2002). Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. *J Cosmet Sci*, 53, pp. 263-268.

Levin, J. e Maibach, H. (2005). The correlation between transepidermal water loss and percutaneous absorption: an overview. *J Control Release*, 103(2), pp. 291-299.

Martini, M. C. (2005a). Anatomía y fisiología de la piel. *In: Martini (Ed.). Introducción a la dermatofarmácia y a la cosmetología*. Zaragoza, Acribia, S.A., pp. 9-28.

Martini, M. C. (2005b). Hidratación cutánea y productos hidratantes. *In: Martini (Ed.). Introducción a la dermofarmácia y a la cosmetologia.* Zaragoza, Acribia, S.A., pp. 39-45.

Martini, M. C. (2005c). Pigmentación y productos solares. *In: Martini (Ed.). Introducción a la dermofarmácia y a la cosmetologia.* Zaragoza, Acribia, S.A., pp. 115-120.

Michalun, N., Michalun, V. e Silva, M. (2011). *Dicionário de Ingredientes Para Cosmética e cuidados da pele.* Brasil, Cengage Learning.

Nouveau-Richard, S., *et al.* (2007). Oily skin: specific features in Chinese women. *Skin Res Technol*, 13, pp. 43-48.

O'goshi, K. (2006a). Optical Measurement of Sebum Excretion Using Opalescent Film Imprint: The Sebumeter. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New York, Taylor & Francis, pp. 841-845.

O'goshi, K. (2006b). Suction Chamber Method for Measurement of Skin Mechanics: The Cutometer. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New-York, Taylor&Francis, pp. 579-582.

O'goshi, K., *et al.* (2002). The predilection sites for chronic atopic dermatitis do not show any special functional uniqueness of the stratum corneum. *Exogenous Dermatol*, 1, pp. 195.

Ohman, H. (2006). The pH Gradient in the Epidermis - Evaluated by Serial Tape Stripping. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 421-425.

Padamwar, M. N., *et al.* (2005). Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *J. Cosmet. Dermatol*, 4(4), pp. 250-257.

Park, E. S., *et al.* (2006). Application of a pigment measuring device –Mexameter– for the differential diagnosis of vitiligo and nevus depigmentosus. *Skin Res Technol*, 12, pp. 298-402.

Pattamadilok, B., *et al.* (2012). Quantitative skin color measurements in acanthosis nigricans patients: colorimetry and diffuse reflectance spectroscopy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 28, pp. 213-215.

Paula, M. E. N. (2001). Simulação e potencialização da função barreira. *Cosmetics Toiletries*, 13, pp. 60-63.

Paye, M., *et al.* (2007). Use of the Reviscometer for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Res Technol*, 13, pp. 343-349.

Piérard, G. E. (1998). EEMCO guidance for the assesment of skin colour. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 10, pp. 1-11.

Piérard, G. E., *et al.* (2000). EEMCO guidance for the in vivo assesment of skin greasiness. The EEMCO group. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 13(6), pp. 372-389.

Pinnagoda, J., *et al.* (1990). Guidelines for transepidermal waterloss measurement. A report from the Standardization Group of th European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 22, pp. 164-178.

Prista, L. N., *et al.* (1992). *Dermofarmácia e Cosmética*. Lisboa, Edição da Associação Nacional das Farmácias.

Prista, L. V. N., *et al.* (2002). *Tecnologia Farmacêutica Volume I*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Ramo, P. J., Artigas, J. M. e Perea, P. C. (2002). *Fundamentos de colorimetria*. Valencia, Perfect.

Rawlings, A. V. (2006). Sources and role of stratum corneum hydration. *In: Elias e Feingold (Eds.). Skin Barrier*. New York, Taylor&Francis, pp. 399-421.

Ring, E. F. J. (2006). Thermal Imaging of Skin Temperature. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. New York, Taylor&Francis, pp. 769-782.

Rogiers, V. (1995). Transepidermal water loss measurements in patch test assesment: the need for standardisation. *Curr Probl Dermatol*, 23, pp. 152-158.

Rogiers, V. (2001). EEMCO guidance for the assesment os transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 14(2), pp. 117-128.

Rosado, C., Lourenço, A. e Rodrigues, L. M. (2004). In vivo study on vehicle effects on cutaneous barrier function. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*, 1, pp. 93-98.

Rosado, C., Lourenço, A. e Rodrigues, L. M. (2008). Use of static and dynamic methods to assess the efficacy of a moisturizing cream. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*, 5, pp. 53-59.

Rutter, N. (2000). Clinical consequences of an immature barrier. *Semin Neonatol*, 5, pp. 281-287.

Schäfer, H. e Kuhn-Bussius, H. (1970). Methodik zur quantitativen Bestimminug menshlihen Talgsek. *Archiv Klinische Experimantelle Dermstologie*, 238, pp. 429.

Seidenari, S. e Giusti, F. (1995). Objective assesment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL on eczematous and clinically uninvolved skin. *Acta Derm Venereol*, 75, pp. 429-433.

Seidenari, S., Giusti, F. e Pellacani, G. (2006a). Instrumental evaluation of occluded patch test reactions. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* New York, Taylor&Francis, pp. 973-979.

Seidenari, S., Giusti, F. e Pellacani, G. (2006b). Non-invasive methods and assesment of skin diseases. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2 ed. New York, Taylor&Francis, pp. 37-46.

Serup, J. (1992). A three-hour test for rapid comparison of effects of moisturizers and active constituents. *Arch Derm Venereol*, 177, pp. 29.

Serup, J. (2006). How to choose and use non-invasive methods. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 9-13.

Serup, J., *et al.* (2006). High-frequency ultrasound examination of skin: Introduction and guide. *In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin.* 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 473-491.

Shai, A., Maibach, H. I. e Baran, R. (2001). *Handbook of Cosmetic Skin Care.* London, Martin Dunitz.

Shelley, W. B. e Hurley, H. J. (1953). The physiology of the human axillary apocrine sweat gland. *J Invest Dermatol*, 20, pp. 285.

Simon, I. e Emslie, A. (1981). Determination in vivo of water concentration profile in human stratum corneum by a photoacoustic method. *In: Marks e Payne (Eds.). Bioengineering and the skin.* Lancaster, MTP Press, pp. 95-187.

Sotoodian, B. e Maibach, H. (2012). Noninvasive test methods for epidermal barrier function. *Clin Dermatol*, 30, pp. 301-310.

Strauss, J. e Pochi, P. E. (1961). The quantitative gravimetric determination of sebum production. *J Invest Dermatol*, 36, pp. 293.

Tagami, H. (2006). Epidermal hydration: measurement of high frequency electrical conductance. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). *Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. 2ª ed. New-York, Taylor&Francis, pp. 329-336.

Takiwaki, H. (2006). Color measurement from digital images. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). *Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 649-651.

Takiwaki, H. e Serup, J. (2006). Measurement of erythema and melanin indices. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). *Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 377-383.

Tupker, R. A. e Pinnagoda, J. (2006). Measurement of Transepidermal Water Loss by Semiopen Systems. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). *Handbook of Non Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. New York, Taylor&Francis, pp. 384-392.

Van, N. D. (2006). Instrumental evaluation of weal and flare reactions. In: Berardesca, Elsner e Maibach (Eds.). *Bioengineering of the skin: methods and instrumentation*. 2 ed. Texas, C.H.I.P.S., pp. 967-972.

Wananukul, S. e Praisuwanna, P. (2001). Transepidermal water loss during conventional phototherapy in nonhemolytic hyperbilirubinemia term infants. *J Med Assoc Thai*, 84(1), pp. 46-50.

Warner, R. R., Lilly, N.A. (1994). Correlation of water content with ultrastructure in the stratum corneum. In: Flhur, et al. (Eds.). *Bioengineering of the skin: water and the stratum corneum*. 1 ed. Boca Raton, CRC Press, pp. 3-11.

Werner, Y. (1986). The water content of the stratum corneum in patients with atopic dermatitis. Measurement with the Corneometer CM 420. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 66, pp. 281.

Wilhelm, K. P., Freitag, G. e Wolff, H. H. (1994). Surfactant-induced skin irritation and skin repair: evaluation of the acute human irritation model by noninvasive techniques. *J Am Acad Dermatol*, 31(6), pp. 981-987.

Zhai, H., Poblete, N. e Maibach, H. (1998). Sodium lauryl sulphate damaged skin in vivo in man: a water barrier repair model. *Skin Res Technol*, 4, pp. 24-27.