

Estudo Sobre o Impacto de Diferentes Apósitos no Restabelecimento Funcional da Pele

Studying the Impact of Different Wound Dressings Over the Functional Recovery of the Skin

Madalena Pereira¹, Luis M Rodrigues^{2,1}

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

²Laboratório de Fisiologia Experimental, Universidade de Lisboa (Fac. Farmácia), 1640-063, Lisboa, Portugal

madalena.pereira@gmail.com

Resumo

O aumento do conhecimento fisiopatológico do processo de cicatrização das lesões e suas condicionantes levou progressivamente a uma evolução no fabrico de apósitos, proporcionando a existência no mercado de uma grande variedade de novos materiais indicados no tratamento quer das lesões agudas quer das lesões crónicas. A oclusão da lesão ao promover um ambiente húmido facilita a reparação da integridade cutânea a qual visa, essencialmente, a recuperação das propriedades de “barreira” e que podem ser quantitativamente abordadas por diferentes técnicas não invasivas.

O presente trabalho tem como objectivo avaliar o impacto da utilização de quatro apósitos diferentes sobre a reparação da função de “barreira” da pele utilizando para o efeito um micromodelo de estudo de lesão in vivo. As variáveis escolhidas, obtidas por meios não-invasivos, foram a perda trans-epidérmica de água, o eritema e a microcirculação local.

Os resultados observados sugerem uma recuperação da função de “barreira” mais rápida nos sítios tratados com os apósitos de hidroxipoliuretano e de ácido hialurónico, ilustrando objectivamente a importância da oclusão na recuperação da integridade cutânea.

Palavras chave: Oclusão; reparação, “barreira” cutânea; Lauril sulfato de Sódio, Apósito

Abstract

The growing knowledge about the lesion healing process physiopathology and respective conditioning factors progressively impacted wound dressings evolution, providing the market with a wide variety of new and better materials for the treatment of both acute and chronic wounds. The wound occlusion, while promoting a humidified environment, also facilitates the repair of the skin integrity, essentially meaning the recovery of the "barrier" properties which can be quantitatively addressed by many non-invasive techniques.

The objective of the present study is to assess the impact of four different wound dressings over the repair of the skin "barrier" function using an in vivo micromodel study. The chosen variables, obtained through non-invasive techniques were the transepidermal water loss, the erythema and the local cutaneous microcirculation.

Obtained results suggest that the skin "barrier" function recovery was faster on experimental sites covered with hydroxypolyurethane and hyaluronic acid dressings, objectively showing the importance of occlusion over skin integrity recovery.

Key words: Occlusion, skin barrier, repairing, Sodium Lauril sulfate, wound dressing

Recebido em 30/09/2009

Aceite em 16/11/2009

Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2009; (6) 2: 254-264

Versão electrónica: <http://revistas.ulusofona.pt/index.php/revistasaude>

Introdução

A integridade cutânea pode estar comprometida por perda, total ou parcial, do órgão ou por modificação da sua estrutura tecidual, e pode ser causada por diversos factores, como acontece por lesão, a qual compromete a função de “barreira” cutânea^[1, 2]. O processo de reparação da lesão cutânea tem como principal objectivo a recuperação das propriedades de “barreira” da pele, através de um conjunto de mecanismos fisiológicos sincronizados e interdependentes^[3-5].

Nas últimas décadas têm-se assistido, a um interesse crescente nesta área, em parte justificado pelo impacto sócio-económico das lesões em geral e das lesões crónicas em particular^[6-10], traduzido na procura de tratamentos cada vez mais efectivos^[6, 7]. Os apósitos tradicionalmente utilizados como por exemplo a gaze seca ou a gaze impregnada com vaselina ou parafina, apresentavam uma função passiva permitindo a formação de coágulo, com consequente atraso no processo de cicatrização^[11-14]. Actualmente os profissionais dispõem de uma grande diversidade de apósitos, fabricados de acordo com outros princípios^[15-17] permitindo limitar a desidratação, diminuir a dor e proteger as lesões com consequente aumento da taxa de cicatrização e diminuição dos custos associados ao seu tratamento^[18-25]. A diversidade existente possibilita uma selecção mais criteriosa, em função das necessidades concretas da lesão, mas dificulta a selecção do apósito sobretudo face à evolução do mercado em consequência do desenvolvimento do conhecimento científico^[26-27].

A avaliação dos processos que envolvem a lesão e a sua reparação também não se têm revelado fáceis. Até à data, têm sido publicados diversos estudos sobre a cicatrização das lesões *in vivo*, utilizando modelos animais, por permitirem uma fácil recolha de dados através de técnicas invasivas^[28]. Têm também sido publicados estudos experimentais envolvendo humanos que, embora fornecendo informação quantitativa importante, são de difícil reprodução^[29-31]. A monitorização dos resultados tem sido efectuada essencialmente através de métodos clínicos e histológicos. A avaliação clínica apresenta como desvantagem, a subjectividade dos dados, e a histológica além de provocar dano tecidual, uma vez que se trata de uma técnica invasiva, não fornece dados relativos às características funcionais da pele^[28, 29]. Alguns modelos de estudo *in vivo* têm sido desenvolvidos para avaliar o comportamento funcional da pele no processo de reparação. Um dos modelos mais utilizados recorre ao efeito “provocador” do Lauril Sulfato de Sódio (LSS) cujo impacto sobre a pele humana é bem conhecido^[31]. O LSS, quando aplicado em concentrações baixas, não provoca lesão evidente com quebra do compromisso histológico, mas produz

Introduction

Skin integrity can be compromised by total or partial loss of the organ or by tissue structural modification, being caused by many factors, such as trauma, which compromises the skin “barrier” function^[1, 2]. The ultimate goal of the skin lesion repairing process is to recover the skin “barrier” properties through synchronized and interdependent physiological mechanisms^[3-5].

There has been a growing interest in this area, for the last decades, partly explained by the social-economic impact of trauma in general and chronic lesions in particular^[6-10], demanding more effective treatments^[6, 7]. Traditionally used dressings such as dry gauze or impregnated gauze (with vaseline or paraffin), had a passive role allowing the formation of a clot, and consequently delaying the healing process^[11-14]. Currently professionals may choose from a wide variety of wound dressings, manufactured according to other principles^[15-17] that helps to limit dehydration, decrease the pain and protect the lesion with the consequent improvement of the healing rate and the reduction of the treatment associated costs^[18-25]. Diversity allows a more careful selection, depending on the specific needs of the lesion, but transforms the dressing selection into a hard task specially because he market changes as fast as the scientific knowledge grows^[26-27].

The evaluation processes of the injury and the repairing process have not proved to be easy. So far studies on *in vivo* wound healing, using animal models and invasive techniques, have been published, allowing an easy collection of data^[28]. Experimental studies involving human subjects have also been published. Although providing very important quantitative information, are difficult to reproduce^[29-31]. Results monitoring has been ensured mainly by clinical and histological methods. The clinical evaluation is subjective, which is a recognised disadvantage, and the histological assessment is an invasive technique that provokes tissue damage, and does not provide any information regarding the skin functional characteristics^[28, 29]. Several *in vivo* models have been developed to evaluate skin performance during the recovery process. One of the most common models explores the “provocative” effect of Sodium Lauryl Sulfate (SLS) whose impact on the human skin is well known^[31]. When applied in low concentrations, does not evoke evident lesion with histological breakdown, but produces barrier alterations with consistent inflammation and edema^[32-38]. These changes are commonly present when the injury occurs and since the recovery process of the cutaneous lesion essentially aims to recover the skin's “barrier” properties^[3, 38], non-invasive biometrical methods may be used to quantify several functional

alteração da barreira, com reacção inflamatória consistente e, por vezes, com presença de edema^[32-38]. Estas alterações estão vulgarmente presentes quando ocorre lesão, e o processo de reparação, ao visar essencialmente a recuperação das propriedades de “barreira” da pele^[3, 38], pode ser avaliado através de métodos biométricos não invasivos que permitem a quantificação in vivo de vários indicadores funcionais^[39-41], como sejam a perda transepidermica (PTEA)^[42-46], o eritema e a microcirculação local^[47-55]. O presente estudo pretende contribuir para a avaliação do impacto de diferentes materiais de penso sobre a reparação da função de “barreira” cutânea humana in vivo.

Material e Métodos

Foi utilizada uma amostra de conveniência constituída por 7 indivíduos, do sexo feminino, com idades compreendidas entre 19 e os 21 anos ($\bar{x} = 20 \pm 0,8$). Os voluntários foram seleccionados após consentimento informado, de acordo com critérios de inclusão previamente estabelecidos e no pleno respeito de todas as normas éticas previstas pela Declaração de Helsínquia e respectivas emendas^[56-59]. A área anatómica escolhida foi a região central da face anterior do antebraço, evitando desta forma as zonas que apresentam uma maior variabilidade de resposta ao LSS (próximo à articulação do cotovelo e do pulso)^[60, 61].

O estudo foi iniciado pela exposição dos sítios experimentais seleccionados a uma solução aquosa de LSS a 5% durante 24 horas. Para a aplicação do “provocador” químico foram utilizadas câmaras Finn® (Finn® Chambers, Epitest Lda Oy, Hyrylä, Finlândia) com um diâmetro de 12 mm incluindo papel de filtro, impregnado com 500µl da solução de acordo com metodologia já publicada^[46].

Na fase de reparação, os sítios expostos ao LSS foram tratados, de forma aleatória, com quatro apósitos, seleccionados em função das suas características e popularidade (em ambiente hospitalar) e aplicados de acordo com as indicações dos respectivos fabricantes. Os apósitos escolhidos foram os seguintes:

- Hidroxipoliuretano (PermaFoam®, Hartmann) (Sítio A) indicado no tratamento da lesão cutânea com presença de quantidade mínima a moderada de exsudado^[22, 26];
- Ácido Hialurónico (Hyalofill®, Convatec) (Sítio B) considerado um promotor da cicatrização^[22, 26] por facilitar a proliferação e migração dos corneócitos bem como a resposta angiogénica no leito da lesão^[62];
- Película de Poliuretano com adesivo acrílico (Opsite Flexigrid®, Smith & Nephew) (Sítio C) utilizados como apósitos primários ou apósitos secundários, recomendados na protecção das lesões

indicators^[39-41] such as transepidermal water loss^[42-46], erythema and local cutaneous microcirculation^[47-55]. The present study aims to evaluate, in vivo, the impact of different wound dressings on the human skin “barrier” function repair.

Material and Methods

A convenience sample consisting of 7 individuals, female, aged between 19 and 21 years ($\bar{x} = 20 \pm 0,8$) was used. Volunteers were selected after informed consent, according to previously established inclusion criteria, in full compliance with all ethical principles stated in the Declaration of Helsinki and respective amendments^[56-59].

The ventral aspect of both forearms was used, avoiding areas with higher response variability to SLS (elbow and wrist articulation joints)^[60, 61].

The study started with the exposure of the selected experimental sites to a SLS 5% aqueous solution for 24 hours under occlusion. For the application of the provocative agent, Finn® cameras (Finn® Chambers, Epitest Lda Oy, Hyrylä, Finlândia) 12mm diameter were used including a 11 mm diameter disk (filter paper) embedded with 500µl of the solution as published before^[46].

For the recovery phase the exposed SLS sites were treated with four wound dressings, chosen for its characteristics and popularity (in hospital) and applied following the manufacturer indications.

The chosen dressings were:

- Hydroxylpolyurethane (PermaFoam®, Hartmann) (Site A) indicated for the treatment of skin lesions with minimal to moderate exudate^[22, 26];
- Hyaluronic Acid (Hyalofill®, Convatec) (Site B) considered a healing promoter^[22, 26] by facilitating the proliferation and migration of the corneocytes and also the angiogenic response in the bed lesion^[62].
- Polyurethane film with acrylic adhesive (OPSITE Flexigrid®, Smith & Nephew) (Site C) used as primary and secondary dressing as well, recommended to protect lesions from friction^[14]. These dressings are permeable to water vapor and gases, but impermeable to liquids and have no capacity to absorb exudates which is an obvious limitation^[14, 63]. In the present study this wound dressing was used both as primary, to evaluate the impact of occlusion on the lesion recovery, and as secondary dressing just to cover and apply the other dressings to skin's surface.
- Gaze soaked in saline (Site D), a classical dressing, always used to cover skin lesions in order to prevent contamination and to facilitate wound healing^[22, 27, 34, 64].

An experimental site (site E) exposed to SLS, was left without occlusion acting as positive control (PC) while site F an experimental site of intact skin acted as the

contra a fricção^[14]. São permeáveis ao vapor de água e aos gases, mas impermeáveis aos líquidos não apresentando capacidade de absorção de exsudado tornando a sua aplicação muito limitada^[14, 63]. No presente estudo este apósito foi utilizado como primário, permitindo avaliar o impacto da oclusão na recuperação da lesão cutânea, mas também como secundário, utilizado na fixação dos restantes apósitos à superfície da pele.

□ Gaze e Soro Fisiológico (Sítio D) por ser um material de oclusão clássico, utilizado desde sempre para cobrir as lesões cutâneas de forma a impedir a sua contaminação e facilitar a sua cicatrização^[22, 27, 34, 64].

Um local experimental (Sítio E), provocado com o LSS, foi deixado sem oclusão funcionando como controlo positivo (CP) e como controlo negativo (CN) (sítio F) foi utilizada um sítio experimental de pele íntegra, não lesada. O sítio de controlo e de aplicação do LSS foram aleatoriamente distribuídos (quadrado latino).

As variáveis escolhidas foram a perda trans-epidérmica de água, obtida por evaporimetria, expressa em g/h.m² (Tewameter TM300 CK electronics, Germany), o eritema medido por colorimetria (a*), expresso em unidades arbitrarias (U.A.) (Chromameter® CR 300, Minolta, Japan) e a microcirculação local medida por fluxometria laser-doppler, expressa em unidades arbitrarias de perfusão (BPU's) (Periflux® PF5010, Perimed, Suécia).

Todas as variáveis foram determinadas em condições basais (D0) e nos dias 1 (D1), 3 (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) e 20 (D20) após remoção do penso oclusivo. Todas as avaliações decorreram em ambiente laboratorial, em condições de temperatura e humidade controladas (21 ± 1°C; 45 ± 5%), na ausência de fontes de calor e de convecção forçada, de acordo com metodologia e recomendações previamente publicadas^[46, 65-67].

Os apósitos aplicados foram mantidos até regularização dos valores de PTEA, assim utilizado como “end point” estatístico, uma vez que esta variável é considerada como um bom indicador da função de “barreira” cutânea^[43, 68-70].

O tratamento dos dados foi realizado recorrendo ao programa SPSS (versão 13.0 para Windows) e Microsoft Excel® 2003. A avaliação estatística comparativa foi efectuada através dos testes não paramétricos de Friedman e de Wilcoxon para dados emparelhados. Foi adoptado um nível de significância de 95%.

negative control (NC). The site distribution was randomly found (Latin square).

The chosen variables, obtained by non-invasive techniques were the transepidermal water loss (TEWL), expressed in g/h.m² (TewameterTM300CKelectronics, Germany), the erythema by colorimetry (a*), expressed in arbitrary units (A.U.) (Chromameter® CR 300, Minolta, Japan) and local microcirculation obtained by laser-doppler flowmetry, expressed in blood perfusion arbitrary units (BPU's) (Periflux® PF5010, Perimed, Sweden).

All variables were evaluated in basal conditions (D0) and after the LSL dressing removal in days 1 (D1), 3 (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) and 20 (D20).

All evaluations took place in laboratory controlled environment, specially regarding temperature and humidity (21 ± 1°C and 45 ± 5% respectively), and in the absence of heat and forced convection sources, as previewed in the previously published methodology and recommendations^[46, 65-67].

The dressing used in the recovery stage was kept until regularization of the TEWL values, used as the study's statistical end point since this variable is regarded as a reliable indicator of the cutaneous barrier function^[43, 68-70].

For data analysis SPSS (v.13.0 for Windows) and Microsoft Excel® 2003 software were used. The Friedman and the Wilcoxon non-parametric tests for paired data were chosen for comparative statistical evaluation, and a 95% significance level adopted.

Resultados e Discussão

As variáveis utilizadas na caracterização funcional da pele (PTEA, eritema e microcirculação local) podem ser afectadas por diversos factores [37, 48, 52, 56, 565]. No actual desenho experimental procurámos eliminar os principais factores de condicionamento (inter e intraindividuais). Ainda assim comparamos os valores obtidos em D0, D1 no sitio experimental utilizado como controlo negativo (CN) durante todo o estudo. Os resultados (Tabela I) não revelaram a existência de diferenças significativas em D0 e D1 indicando que na amostra estudada o comportamento funcional cutâneo, nos diferentes sítios experimentais, foi semelhante. Não foram também detectadas diferenças com significado estatístico nos sítios experimentais utilizados como CN sugerindo não ter havido qualquer influência externa na determinação dos mesmos.

Results and Discussion

The variables used for the functional characterization of the skin (TEWL, erythema and local microcirculation) are affected by several factors [37, 48, 52, 56, 565]. In the current experimental design we've tried to eliminate the main conditioning factors (inter and intra-individual). Even so we've compared the D0 and D1 values obtained in the experimental site used as negative control (NC). Results (Table I) revealed non significant differences between D0 and D1 indicating a similar skin performance in different experimental sites studied. There were also no statistically significant differences in the experimental sites used as CN suggesting that there was no other external influence to consider.

Tabela 1 - Comparação dos valores obtidos em D0, D1 para cada variável com o sitio experimental F (controlo negativo) (p-value obtido através do teste de Wilcoxon) (n= 7).

Table 1 - Comparison of the obtained results in D0, D1 for each variable with site F (negative control) (p-value obtained through Wilcoxon test) (n= 7).

Variáveis Variables	p_value (D ₀)	p_value (D ₁)	p_value (NC)
PTEA TEWL	0,576	0,869	0,112
Eritema (a*) Erythema (a*)	0,780	0,550	1,00
Fluxo local Local Flow	0,862	0,895	0,363

O valor máximo, para todas as variáveis consideradas foi atingido 30 minutos após a remoção do penso oclusivo de LSS (D1) (Tabela II).

For all the analyzed variables maximum values were obtained 30 minutes after the SLS occlusive dressing (D1) removal (Table II).

Tabela 2 - Média e desvio padrão da PTEA, cromaticidade vermelha (a*) e fluxo local obtidos em condições basais (D0), e nos dias 1 (D1), 3 (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) e 20 (D20) após provocação com SLS (HPU:apósito de hidroxipoliuretano; HA: apósito de ácido hialurónico; GSF: apósito de gaze humedecida com soro fisiológico; FP: filme de poliuretano; CP: controlo positivo e CN: controlo negativo).

Table 2 – Mean and standart deviation of TEWL, red chromaticity (a*) and local flow obtained in basal conditions (D0) and in days 1 (D1), 3 (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) and 20 (D20) after SLS provocation (HPU: hydroxypolyurethane; HA: hyaluronic acid; GFS: Gaze soaked in saline; PF: polyurethane film; PC: positive control and NC: negative control).

Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Perda Transepidérmica de água (PTEA) (g/h.m ²) <i>Trans-epidermal water loss (TEWL)</i>											
	D0	D1	D3	D4	D7	D8	D9	D10	D11	D13	D15	D20
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	9,2 ± 0,9	51,6 ± 26,4	39,5 ± 18,1	28,5 ± 7,6	14,8 ± 5,1	14,7 ± 3,1	13,2 ± 1,8	12,1 ± 1,9	10,8 ± 1,4	10,1 ± 1,3	9,9 ± 1,3	9,5 ± 1,1
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	9,1 ± 1,1	54,1 ± 30,9	43,4 ± 16,6	35,2 ± 11,5	19,9 ± 5,1	12,7 ± 2,8	14,1 ± 2,6	13,3 ± 2,2	12,1 ± 1,6	11,3 ± 1,6	10,7 ± 1,4	9,4 ± 0,7
Sítio C (FP) Site C (PF)	8,4 ± 1,8	63,8 ± 31,4	55,5 ± 34,5	43,2 ± 27,4	22,4 ± 7,8	18,8 ± 6,8	19,4 ± 8,2	18,9 ± 7,8	16,8 ± 7,3	14,1 ± 4,9	12,3 ± 3,2	10,6 ± 2,1
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	8,7 ± 2,1	60,7 ± 26,3	51,3 ± 19,6	38,8 ± 13,2	22,1 ± 6,2	17,3 ± 3,7	16,1 ± 2,7	14,5 ± 2,9	14,2 ± 3,1	12,5 ± 1,9	11,1 ± 1,7	10,4 ± 1,6
Sítio E (CP) Site E (PC)	9,3 ± 1,1	58,4 ± 24,2	53,3 ± 22,9	37,3 ± 19,6	25,8 ± 8,5	20,9 ± 6,6	20,3 ± 7,6	18,7 ± 5,7	16,3 ± 3,7	10,4 ± 1,1	10,7 ± 1,1	9,7 ± 1,1
Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Cromaticidade Vermelha (a*) (U.A.) <i>Red Chromaticity</i>											
	D0	D1	D3	D4	D7	D8	D9	D10	D11	D13	D15	D20
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	8,3 ± 1,4	10,3 ± 1,1	11,2 ± 1,4	10,4 ± 1,6	10,1 ± 0,7	9,1 ± 1,1	8,9 ± 1,1	8,2 ± 0,6	7,8 ± 1,1	8,3 ± 0,5	8,1 ± 0,6	8,2 ± 0,8
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	8,4 ± 1,4	11,4 ± 1,1	12,1 ± 1,5	11,1 ± 1,7	10,2 ± 1,9	9,4 ± 1,4	8,7 ± 1,4	8,9 ± 0,6	9,1 ± 1,1	9,1 ± 0,6	9,2 ± 0,7	8,7 ± 0,6
Sítio C (FP) Site C (PF)	8,1 ± 1,3	9,9 ± 1,6	13,4 ± 4,5	11,6 ± 4,4	10,1 ± 1,7	10,9 ± 2,8	10,5 ± 3,1	11,2 ± 2,6	10,2 ± 3,4	9,4 ± 2,6	8,9 ± 1,8	8,8 ± 1,7
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	8,3 ± 1,1	9,7 ± 1,5	12,7 ± 1,7	10,8 ± 1,9	10,6 ± 1,8	10,3 ± 1,1	9,7 ± 1,1	9,5 ± 1,3	9,1 ± 1,9	9,1 ± 1,4	8,8 ± 0,9	8,7 ± 0,9
Sítio E (CP) Site E (PC)	8,1 ± 1,1	12,2 ± 2,4	13,1 ± 2,6	12,4 ± 2,9	11,2 ± 1,8	11,1 ± 2,1	10,6 ± 1,5	10,2 ± 1,5	10,3 ± 1,5	10,3 ± 1,3	9,7 ± 0,9	9,3 ± 0,8
Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Fluxo Local (B.P.U.) <i>Local Flow</i>											
	D0	D1	D3	D4	D7	D8	D9	D10	D11	D13	D15	D20
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	7,2 ± 2,1	70,6 ± 40,3	43,1 ± 40,6	20,2 ± 5,8	11,4 ± 3,6	10,3 ± 2,6	10,4 ± 2,7	10,4 ± 3,9	9,1 ± 3,1	9,2 ± 2,9	8,6 ± 1,9	8,7 ± 1,2
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	6,3 ± 1,2	62,9 ± 29,4	37,6 ± 27,6	21,5 ± 10,3	11,6 ± 4,8	10,3 ± 2,4	8,8 ± 1,8	10,1 ± 4,1	9,1 ± 3,7	9,1 ± 3,6	8,4 ± 2,3	8,1 ± 1,5
Sítio C (FP) Site C (PF)	6,1 ± 0,9	57,1 ± 42,2	61,9 ± 57,1	31,3 ± 20,6	14,4 ± 8,8	14,3 ± 6,9	14,2 ± 10,1	14,8 ± 10,2	15,1 ± 14,4	14,2 ± 10,9	12,1 ± 8,1	11,7 ± 6,9
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	6,1 ± 1,5	52,7 ± 35,8	40,2 ± 26,9	25,7 ± 13,2	17,6 ± 6,2	14,3 ± 3,5	12,2 ± 4,3	10,4 ± 4,4	9,8 ± 1,4	8,7 ± 1,5	8,1 ± 1,1	7,6 ± 0,8
Sítio E (CP) Site E (PC)	6,3 ± 1,8	73,8 ± 10,2	59,2 ± 32,1	42,8 ± 39,2	31,4 ± 25,4	26,6 ± 21,3	16,1 ± 7,9	17,7 ± 8,1	12,7 ± 4,8	10,8 ± 2,3	10,5 ± 2,1	9,3 ± 1,4

A PTEA é uma das variáveis que maior relevância assume no contexto da avaliação da eficiência da função de barreira da pele, sendo considerado um excelente indicador do estado funcional do estrato córneo (SC) [68] pelo que assumiu lugar de destaque sendo utilizada como “end point” estatístico do estudo. O aumento significativo dos valores em D1 é revelador de um compromisso da função de barreira cutânea, traduzido principalmente pelos valores de PTEA obtidos, e são compatíveis com o modo de acção descrito para este composto [35, 46, 70]. A alteração dos valores encontrados na colorimetria e na microcirculação local indiciam a presença de resposta inflamatória com presença de eritema.

Após a fase de provocação com o LSS seguiu-se a fase de recuperação cutânea com recurso aos apósitos anteriormente descritos. A determinação das variáveis em estudo foi efectuada nos dias 3, (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) e 20 (D20). A comparação estatística, para cada indicador biométrico, foi efectuada entre cada um dos sítios experimentais previamente exposto ao LSS (Sítio A, B, C, D e E) e o controlo negativo (Sítio C). Os resultados podem ser observados na tabela III.

TEWL is a widely recognized and useful variable considering the quantitative description of the skin barrier function, being regarded as an excellent indicator of the functional state of the stratum corneum (SC) [68]. This recognition justifies why it's used as the study's statistical end point. The significant increase of the experimental values observed in D1, reveals a compromise of the cutaneous barrier function, mainly noticed by the TEWL values, which is compatible with the action mechanism described for the substance [35, 46, 70].

The inflammatory response is also present and revealed by the colorimetry and the local microcirculatory blood flow changes with erythema.

After the SLS provocation cutaneous recovery followed. Measurements took place in days 3, (D3), 4 (D4), 7 (D7), 8 (D8), 9 (D9), 10 (D10), 11 (D11), 13 (D13), 15 (D15) e 20 (D20). The statistical analysis for each biometrical indicator, compared each of the experimental sites exposed to SLS (Sites A, B, C, D and E) against the negative control (Site C). Results may be observed in Table III.

Tabela 3 - Comparação dos valores obtidos de PTEA, cromaticidade vermelha e fluxo local nos dias 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 e 20 nos diferentes sítios experimentais (HPU:apósito de hidroxipoliuretano; HA: apósito de ácido hialurónico; GSF: apósito de gaze humedecida com soro fisiológico; FP: filme de poliuretano; CP: controlo positivo e CN: controlo negativo) (p-value obtido através do teste de Wilcoxon) (n= 7) (*:p<0,05; **:p>0,05).

Table 3 - Comparison of the TEWL obtained results, red chromaticity and local flow in days 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 e 20 in the different experimental sites SLS (HPU: hydroxypolyurethane; HA: hyaluronic acid; GFS: Gaze soaked in saline; PF: polyurethane film; PC: positive control and NC: negative control), (p-value obtained through Wilcoxon test) (n= 7) (*:p<0,05; **:p>0,05).

Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Perda Transepidérmica de água (PTEA) (g/h.m ²) <i>Trans-epidermal water loss (TEWL)</i>									
	D ₃	D ₄	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₃	D ₁₅	D ₂₀
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,021 *	0,499 **	0,395 **	0,891 **	0,078 **
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,028 *	0,043 *	0,043 *	0,310 **	0,917 **	0,176 **
Sítio C (FP) Site C (PF)	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,036 *	0,043 *	0,237 **
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,046 *	0,036 *	0,037 *
Sítio E (CP) Site E (PC)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,018 *

Continuação
Continuation

Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Cromaticidade Vermelha (a*) (U.A.) <i>Red Chromaticity</i>									
	D ₃	D ₄	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₃	D ₁₅	D ₂₀
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,051 **	0,075 **	0,237 **	0,176 **	0,108 **	0,499 **	0,176 **
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,063 **	0,237 **	0,138 **	0,063 **	0,091 **	0,063 **	0,063 **
Sítio C (FP) Site C (PF)	0,018 *	0,023 *	0,018 *	0,018 *	0,043 *	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,028 *	0,063 **
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,043 *	0,043 *	0,043 *
Sítio E (CP) Site E (PC)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,028 *
Sítios experimentais <i>Experimental sites</i>	Fluxo Local (B.P.U.) <i>Local Flow</i>									
	D ₃	D ₄	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₃	D ₁₅	D ₂₀
Sítio A (HPU) Site A (HPU)	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,028 *	0,028 *	0,018 *	0,091 **	0,068 **	0,053 **
Sítio B (AH) Site B (HÁ)	0,018 *	0,028 *	0,028 *	0,028 *	0,028 *	0,018 *	0,043 *	0,063 **	0,028	0,128 **
Sítio C (FP) Site C (PF)	0,018 *	0,018 *	0,023 *	0,018 *	0,018 *	0,023 *	0,043 *	0,091 **	0,063 **	0,128 **
Sítio D (GSF) Site D (GFS)	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,043 *	0,018 *	0,043 *	0,028 *	0,043 *
Sítio E (CP) Site E (PC)	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,018 *	0,018 *	0,018 *	0,028 *	0,043 *	0,018 *	0,043 *

Os resultados obtidos sugerem que, nas actuais condições experimentais, o tempo de reparação da função de barreira cutânea foi mais rápido na área tratada com os apósitos de hidroxipoliuretano (sítio A) e de ácido hialurónico (sítio B).

Os resultados de PTEA mostram que até ao dia 11 (D11) todos os sítios experimentais apresentavam diferenças estatisticamente significativas comparativamente ao sítio experimental F (CN).

O sítio A (HPU) e o sítio B (AH) apresentaram valores semelhantes aos valores basais a partir do dia 11 (D11) e 13 (D13) respectivamente, resultados indicativos da recuperação da função barreira.

Os resultados encontrados para os sítios D (GSF) e E (CP) apresentaram sempre, em todas as medições efectuadas, diferenças significativas quando comparados com os valores do sítio F (CN) sugerindo a não recuperação da função de “barreira” até ao final do estudo para estes sítios experimentais e, são coerentes com os conhecimentos à data sobre cicatrização sem oclusão ou utilização de gaze humedecida com soro fisiológico^[12, 14, 15, 25]. O sítio C (FP) apenas recuperou os

The obtained results shows that in the current experimental circumstances, the cutaneous barrier function recovery time was significantly faster in the area treated with the hydroxypolyurethane (site B) and with the hyaluronic acid dressings (site B).

The TEWL results shows that up to day 11 (D11) all experimental sites had statistically significant differences compared to the site F (CN).

The site A (HPU) and site B (AH) recovered to values similar to basal from days 11 (D11) and 13 (D13) on, respectively, indicating the barrier recovery.

Regarding sites D (GSF) and E (CP) significant differences were always present when compared with the site F (NC) suggesting that the barrier function was still impaired until the end of the study. These findings were expected and are coherent with the current knowledge of regarding the healing process in the absence of occlusion or with simple saline soaked gauze^[12, 14, 15, 25].

The site C (FP) only recovered baseline values at day 20 (D20). The probable explanation for this finding may be found in the adherence characteristics of this dressing.

valores basais no dia 20 (D20). Provavelmente o prolongamento desta variável deveu-se às características de adesão do apósito em causa cuja remoção apesar cuidadosamente efectuada, pode ter danificado o tecido recém-formado atrasando a sua recuperação^[20].

Relativamente à cromaticidade vermelha (a*) os valores basais foram atingidos em D8 para os sítios experimentais A (HPU) e B (AH) sugerindo ausência de eritema. No que diz respeito à microcirculação local cutânea, com aplicabilidade na avaliação da resposta inflamatória após a ocorrência de uma lesão, podemos constatar que os sítios A (HPU), B (AH) e C (FP) atingiram os valores basais no dia 13 (D13) sugerindo ausência de processo inflamatório, resultados concordantes com os obtidos para a PTEA para os sítios experimentais A (HPU) e B (AH).

Conclusões

Os resultados ilustram objectivamente a importância da oclusão na recuperação da função de “barreira” cutânea, sugerindo que esta se torna mais rápida nos sítios tratados com os apósitos de hidroxipoliuretano (HPU) e ácido hialurónico (AH).

A PTEA parece constituir um bom indicador quantitativo permitindo um seguimento muito detalhado do processo, mesmo em condições sub-clínicas. O valor informativo da PTEA pode ser francamente melhorado, se suportado por informação complementar, como registámos com o eritema e a microcirculação local.

Apesar da consistência dos resultados, porque se trata de um estudo piloto, torna-se imprescindível confirmar estas observações através de estudos de maior dimensão casuística.

No matter its careful removal, some damaged may have occurred thus delaying the recovery of the newly formed tissue^[20].

Red chromaticity (a*) baseline values were detected in the experimental sites with HPU and AH at D8, suggesting the absence of erythema. Regarding the local skin microcirculation related with the inflammatory response associated to the lesion, sites A (HPU), B (AH) and C (FP) reached baseline values on day 13 (D13) suggesting the absence of inflammation, and in accordance with the TEWL evolution at sites A (HPU) and B (AH).

Conclusions

Results objectively illustrate the importance of the occlusion on the skin "barrier" function recovery, demonstrating that it becomes faster in the sites treated with the hydroxypolyurethane (HPU) and the hyaluronic acid (HA) dressings.

TEWL seems to be a good quantitative indicator allowing a very detailed monitoring of the process, even in sub-clinical conditions. Nevertheless, the informative value of TEWL can be greatly improved if supported by additional information, as noted with erythema and local microcirculation.

Despite the consistency of the results, because it is still a pilot study, it is essential to confirm these observations in further studies including a wider number of individuals.

Referências / References

- [1] Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999; 341(10): 738-46.
- [2] Coelho C. História do tratamento e classificação de feridas. In: Rocha MJ et al, eds. *Feridas uma arte secular*. 2nd. Coimbra: MinevaCoimbra 2006; 2: 25-29.
- [3] Atiyeh BS, Ioannovich J, Al-Amm CA, El-Musa KA. Management of acute and chronic open wounds: the importance of moist environment in optimal wound healing. *Current pharmaceutical biotechnology* 2002; 3: 179-195.
- [4] Gurtner GC et al. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008; 15; 453(7193): 314-321.
- [5] Magro JM, Rodrigues LM. Fisiopatologia da lesão cutânea - Mecanismos humorais e celulares. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde* 2004; 2: 67-76.
- [6] Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg*. 1998; 176 (2A Suppl): 26S-38S.
- [7] Pereira, MM. Estudo in vivo do impacto biológico de diferentes materiais de penso sobre a integridade cutânea. Diss Mest, FFUL, Lisboa 2008, 10-23.
- [8] Pereira, MM, Rodrigues, LM, . Efeito da oclusão com um apósito de ácido hialurónico sobre a recuperação da barreira cutânea seguido por evaporimetria e sonografia de alta frequência. *Rev. Lusófona C&T Saúde*, 6(1), 2009, 77-85.

- [9]Meier K, Nanney L.B. Emerging new drugs for wound repair. *Cleve Clin J Med* 2002; 69 (1): 176-184.
- [10]McIsaac C. Managing wound care outcomes. *Ostomy Wound Manage* 2005; 51(4): 54-56, 58, 59.
- [11]Driscoll P. Wound Management: Wound Prevalance, Treatment Trends Wound Management, 2007-20016: Established and Emerging Products, Technologies and Markets in the U.S., Europe, Japan and the rest of World Med Market Diligence 2007. <http://mediligence.com/blog/2008/10/30/wound-trends> (consultado a 10.06.2008).
- [12]Kannon GA, Garrett AB. Moist Wound Healing with Occlusive Dressings. A clinical review. *Dermatol Surg* 1995; 21 (7): 583-590.
- [13]Queen D et al. A dressing history. *Int Wound J* 2004; 1 (1): 59-77.
- [14]Carville K. Which dressing should I use? It all depends on the 'TIMEING'. *Aust Fam Physician* 2006; 35 (7): 486-489.
- [15]Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelisation of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 1962; 20: 193:293-4.
- [16]Hinman CD, Maibach H. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. *Nature* 1963; 200: 377-378.
- [17]Jones J. Winter's concept of moist wound healing: a review of the evidence and impact on clinical practice. *J Wound Care* 2005;14 (6): 273-276.
- [18]Harding KG, Moris HL, Patel GK. Healing chronic wounds. *BMJ* 2002; 324: 160-163
- [19]Barbara P et al. Wound prevalence, types, and treatments in Home care. *Adv Wound Care* 1999; 12: 117-26.
- [20]Trueman P, Posnett J. What price wound care?. *The International Journal of Lower Extremity Wounds* 2006; 5: 230-232.
- [21]Zhai H, Maibach HI. Occlusion vs Skin barrier function. *Skin Research and technology* 2002; 8: 1-6.
- [22]Bradley M et al. Systematic reviews of wound care management: (2). Dressings and topical agents used in the healing of chronic wounds. *Health Technol Assess* 1999; 3 (17 Pt 2):1-35.
- [23]Zhai X, Yokota M, Maibach HI. In vitro human skin model to evaluate water permeability and determine wound dressings occlusivity. *Cutan Ocul Toxicol* 2007; 26 (2): 107-111.
- [24]João M, Proença e Cunha E. Material para o tratamento de feridas. In: Rocha MJ et al, eds. *Feridas uma arte secular*. 2nd. Coimbra: MinevaCoimbra 2006; 6: 161-209.
- [25]Sholar AD et al. The specialized wound care center. A 7-year experience at a tertiary care hospital. *Annals of plastic surgery* 2007; 58(3): 279-284.
- [26]López JR et al. Valoración y atención integral al paciente com heridas. In: Agreda JJ, Bou JE eds. *Atención integral de las heridas crónicas*. Madrid: SPA, S.L. 2004; 1 (4): 47-61
- [27]Ovington LG. Advances in wound dressings. *Clin Dermatol* 2007; 25: 33-38
- [28]Graham JS et al. Bioengineering methods employed in the study of wound healing of sulphur mustard burns. *Skin Res Technol*. 2002; 8 (1):57-69
- [29]Silverman RA, Lender J, Elmets CA. Effects of occlusive and semioclusive dressings on the return of barrier function to transepidermal water loss in standardized human wounds. *J Am Acad Dermatol*. 1989; 20 (5): 755-760.
- [30]Lévy JJ et al. Validation of an in vivo wound healing model for the quantification of pharmacological effects on epidermal regeneration. *Dermatology* 1995; 190: 136-141.
- [31]Pinto PC, Rodrigues LM. Desenvolvimento de um Modelo Experimental In Vivo para Avaliação da Capacidade Protectora e/ou Reparadora de Formulações Tópicas Utilizadas na Prevenção e Tratamento da Ferida Crónica. *Revista Lusófona de Ciência e Tecnologias da Saúde* 2006; 1: 53-62.
- [32]Friebe K. Effendy I. Loffler H. Effects of skin occlusion in patch testing with sodium lauryl sulphate. *Br J Dermatol*. 2003; 148 (1): 65-69.
- [33]Pinto PC, Martinho H, Rodrigues LM. Estudo in vivo sobre a influência do fototipo na resposta da pele humana ao contacto com lauril sulfato de sódio. *Revista Lusófona de Ciência e Tecnologias da Saúde* 2007; 1 (4): 47-55.
- [34]Berardesca E, Distanto F. The modulation of skin irritation. *Contact Dermatitis* 1994; 31 (5): 281-287.
- [35]Tupker RA. Sodium Lauryl Sulfate (SLS) testing: ESCD application and reading standarts. In Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 943-955.
- [36]Welzel J, Wilhelm KP, Wolff HH. Skin permeability barrier and occlusion: no delay of repair in irritated human skin. *Contact Dermatitis* 1996; 35: 163-168.
- [37]Wilhelm KP, Freitag G, Wolff HH. Surfactant-induced skin irritation and skin repairs: evaluation of a cumulative human irritation model by noninvasive techniques *Journal of the American of dermatology* 1994; 31 (6): 981-987.
- [38]Fluhr JW, Akengin A, Bornkessel A, Fuchs S, Praessler J, Norgauer J, Grieshaber R, Kleesz P, Elsner P. Additive impairment of the barrier function by mechanical irritation, occlusion and sodium lauryl sulphate in vivo. *British Journal of Dermatology* 2005; 153: 125-131.
- [39]Rodrigues LM, Roberto MA. Characterization strategies for the functional assessment of the cutaneous lesion. *Burns*. 2006; 32 (7): 797-801
- [40]Pereira MM, Rodrigues, LM, Comparison of two semi-occlusive wound dressings over the epidermal barrier recovery. *Skin and Formulation III Symposium Progr&Abstracts*, P144, p111, 2009.
- [41]Pereira MM, Rodrigues, LM, Assessing the effects of different semi-occlusive wound dressings over the epidermal barrier recovery. *Abstract book, ISBS*, 2009
- [42]Kligman AM. Perspectives on Bioengineering of the skin. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 3-7.

- [43] Seidenari S, Giusti F, Pellacani G. Instrumental Evaluation of Occluded Patch Test Reactions. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 973-979.
- [44] Van Neste D, Brouwer B. Monitoring of skin response to sodium lauryl sulphate: clinical scores versus bioengineering methods. *Contact Dermatitis* 1992; 27: 151-156.
- [45] Fluhr JW, Feingold KR, Elias PM. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. *Exp Dermatol* 2006;15 (7):483-92.
- [46] Tupker RA, Willis C, Berardesca E, Lee CH, Fartasch M, Agner T, Serup J. Guidelines on sodium lauryl sulphate (SLS) exposure tests. *Contact Dermatitis* 1997; 37 (2): 53-69.
- [47] Westerhof W. Colorimetry. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 635-647.
- [48] Takiwaki H. Quasi-L*a*b* color measurement from digital images. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 649-651
- [49] Fullerton A et al. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. 1996; 35(1): 1-10.
- [50] Takiwaki H, Serup J. Measurement of erythema and melanin indices. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S.; 2006: 377-383.
- [51] Berardesca E, Lévêque JL, Masson P. EEMCO Guidance for the Measurement of Skin Microcirculation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2002;15 (6): 442-456.
- [52] Bircher A et al. Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry. *Contact Dermatitis* 1994; 30: 65-72.
- [53] Bernardi L, Berardesca E. Measurement of Skin Blood Flow by Laser-Doppler Flowmetry. In: Berardesca E et al, eds. *Bioengineering of the skin: Methods and instrumentation*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 13-27.
- [54] Belcaro G, Nicolaides A. Laser Doppler Flowmetry: Principles of Technology and Clinical Applications. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 709-715.
- [55] Choi C, Bennett R. Laser Dopplers to Determine Cutaneous Blood Flow. *Dermatol Surg* 2003;29 (3): 272-80.
- [56] Diário da República, Lei 46/2004 de 19 de Agosto.
- [57] EUROPEAN DIRECTIVE 2001/20/EC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member State relating to the implementation of good clinical practice in the conduct. Of clinical trials on medicinal products for human use, Off J Europ Communities, L121/34-44, 2001.
- [58] Note for Guidance on Good Clinical Practice, ICH E6GCP96, EMEA, 2002: 1-55.
- [59] World Medical Association declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human subjects, amended until 2004
- [60] Zhai H, Poblete N, Maibach H. Sodium Lauryl sulphate damaged skin in vivo in man: a water barrier repair model. *Skin Res Technol* 1998; 4: 24-27.
- [61] Rogiers V; EEMCO Group. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14 (2):117-28.
- [62] Price RD, Myers S, Leigh IM, Navsaria HA. The role of hyaluronic acid in wound healing. *Am j Clin Dermatol* 2005; 6(6): 393-402.
- [63] Thomas S. *Wound Management and dressings*. London: Pharmaceutical Press 1990.
- [64] Bou JE et al. Apósitos. In Agreda JJ, Bou JE eds. *Atención integral de las heridas crónicas*. 2004: 91-115.
- [65] López JR et al. Valoración y atención integral al paciente com heridas. In: Agreda JJ, Bou JE eds. *Atención integral de las heridas crónicas*. Madrid: SPA, S.L. 2004; 1 (4): 47-61.
- [66] Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1990; 22 (3): 164-178.
- [67] Serup J et al. High-Frequency Ultrasound Examination of Skin: Introduction and Guide. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 2nd ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 473-491.
- [68] Rodrigues LM, Magro JM, Roberto M^aA. Quantitative follow-up of the cutaneous barrier function in wound healing. *Exog Dermatol* 2004; 3: 303-306.
- [69] Wilhelm KP, Surber C, Maibach HI. Quantification of sodium lauryl sulphate irritant dermatitis in man: comparison of four techniques: skin color reflectance, transepidermal water loss, laser Doppler flow measurement and visual scores. *Arch Dermatol Res* 1989; 281(4): 293-5.
- [70] Frosch PJ, Pilz B. Irritant Patch Test Techniques. In: Serup J, Jemec G, Grove G, eds. *Handbook Non-Invasive Methods and the Skin*. 1st ed. Texas: C.H.I.P.S; 2006: 943-955.