

Análisis de la influencia del grado de hidratación de la epidermis en el comportamiento biomecánico de la piel *in vivo*

Analysis of the influence of hydration of the epidermis on the bio-mechanical behaviour of in vivo skin

RODRIGUES, LM^{1,2*}, PINTO, PC²

¹Laboratorio de Fisiología Experimental, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. Forças Armadas 1649-019 Lisboa; ²Unidad de Dermatología Experimental, Universidade Lusófona, Campo Grande 376, 1700 Lisboa PORTUGAL

RESUMEN

El comportamiento biomecánico de la piel humana *in vivo* es un indicador importante de una buena condición cutánea en lo que es su organización funcional. Los tejidos subyacentes también contribuyen a estas propiedades, lo que imposibilita una evaluación estrictamente biomecánica de este comportamiento. Ocurre además, que los sistemas tecnológicos corrientemente utilizados para este tipo de evaluación *in vivo*, no permiten obtener la medida directa de las características biofísicas del órgano, ya que no es posible cuantificar la contribución relativa de cada tejido para este comportamiento. Las variables y los parámetros obtenidos deben ser, sobre todo, considerados como “descriptores” mecánicos, lo que enfatiza el cuidado especial que hay que tener al interpretar su variación. También por este motivo una de las preguntas fundamentales en relación a la contribución relativa de la epidermis a este comportamiento, sigue aun mal esclarecida.

El presente protocolo fue elaborado en este complejo marco para responder, en especial, a esta última cuestión a través de dos diferentes tratamientos tópicos susceptibles de modificar el equilibrio hídrico de la epidermis de voluntarios sanos (agua corriente y una solución al 10% de glicerina), registrándose la respectiva respuesta biológica. Los resultados obtenidos sugieren que el comportamiento biomecánico de la piel *in vivo* puede ser modificado y eventualmente modulado a través de intervenciones tópicas, proponiendo que la epidermis influencia de hecho el comportamiento biomecánico global de toda la piel.

PALABRAS CLAVE: Epidermis. Biomecánica. Hidratación. *In vivo*

ABSTRACT

The Bio-mechanical properties of in vivo human skin are important indicators of a healthy skin condition, with regard to functional organisation. It seems that these properties do not only arise from the cutaneous structures themselves, but also from the contribution of underlying tissues. Consequently, in the study of its behaviour a purely biomechanical approach cannot be taken. Furthermore, the technological systems used the in vivo assessment of these properties, cannot provide a direct measurement of the biophysical characteristics of the organ, due to the fact that it is not possible to quantitatively identify the relative contribution of each tissue. The variables and parameters obtained as such, should therefore, be considered as mechanical “descriptors”, meaning that greater care should be taken in the interpretation of the results. For this reason, one of the most relevant questions concerning these properties concerns the relative contribution of the epidermis to the biomechanical behaviour of the entire organ.

Facing such multiple complexities, the present protocol was designed to approach this last question. Two different treatments (water only and glycerine solution at 10%), inducing epidermal water equilibrium changes, were applied to healthy volunteers and the respective biological response was recorded. The Results seem to indicate that the mechanical behaviour of human skin can be modified and eventually modulated by topical interventions, suggesting that the epidermis may influence the global bio-mechanical behaviour of the entire human skin.

KEY WORDS: Epidermis. Bio-mechanics. Hydration. *In vivo*.

INTRODUCCIÓN

Entre funciones fundamentales desempeñadas por la piel en la vida normal de relación del individuo, están las funciones "de barrera" y de "envuelta", las cuales ilustran bien la importancia del mantenimiento de un adecuado comportamiento biomecánico de la piel "*in vivo*"^[1, 3]. De hecho, además de la forma, la piel permite toda la libertad de movimientos sin fisura, exhibiendo flexibilidad pero también resistencia a la deformación, lo que permite un amplio abanico de fuerzas de compresión y distensión temporaria. Habitualmente, la piel y los tejidos subcutáneos se adaptan a su forma ante fuerzas generadas por la estructura y postura corporal, recuperando su forma original, tras haber terminado la deformación^[1-4]. Al mismo tiempo se adapta ante estímulos externos (medio ambiente, por ejemplo), sin que ese comportamiento biomecánico se vea comprometido.

Desde el punto de vista fisiológico, las características biomecánicas de la piel *in vivo* son indicadores morfofuncionales muy importantes. Son conocidos algunos de los factores que las afectan como son la edad, el sexo, la raza, el lugar anatómico, así como diversos factores que comprometen su mantenimiento, como es el caso de la radiación UV responsable del llamado envejecimiento precoz (actínico) fotoinducido^[2, 4, 6]. Algunas patologías cutáneas se caracterizan por comprometer las propiedades mecánicas de la piel, como es el caso de la esclerodermia y de la psoriasis^[2-6]. No obstante, la evaluación objetiva de estas características es de una notable complejidad. Bajo el punto de vista histo-fisiológico el comportamiento biomecánico de la piel es principalmente atribuido a las fibras de colágeno y de elastina presentes en la dermis; el colágeno dérmico es frecuentemente identificado como el determinante principal de la biomecánica global de la piel^[2, 6]. Sin embargo, los tejidos conjuntivos de soporte y las capas más superficiales de la piel deben contribuir igualmente a las propiedades reológicas que aquí reconocemos. Se debe observar que gran parte de las formulaciones tópicas de uso dermatológico utilizadas para el restablecimiento de la fisiología cutánea normal, incluyen la referencia a la mejoría del comportamiento biomecánico de la piel, a pesar de ser aplicadas en la epidermis superficial.

INTRODUCTION

Among the fundamental functions carried out by the skin, in the everyday normal life of an individual, are those of "barrier" and "enveloper". These functions provide a good illustration of the importance of maintaining an adequate bio-mechanical behaviour of "in vivo" skin.^[1, 3] In fact, in addition to form, skin permits total liberty of movement without fissure, exhibiting not only flexibility, but also resistance to deformation, thus withstanding a wide range of compression and temporary distension forces. Skin and subcutaneous tissues usually adapt to the forces exerted by corporal posture and structure and recover original form once deformation has ceased^[1-4]. At the same time, skin adapts to external stimuli (environment for example), without detriment to its bio-mechanical behaviour.

From a physiological point of view, the bio-mechanical characteristics of in vivo skin are very important morphofunctional indicators. Some of the influencing factors affecting skin are already well known, such as age, sex, race, and anatomic location, as well as other factors affecting its maintenance, such as UV radiation, which is responsible for the so called photo-induced premature ageing^[2, 4, 6]. Some cutaneous pathologies are characterised by typical effects arising from the mechanical properties of skin, such as sclerodermia and psoriasis which have also been widely studied^[2-6]. However, the objective evaluation of these characteristics is one of notable complexity. From a histo-physiological point of view, the bio-mechanical behaviour of skin is mainly attributed to the collagenic fibres and elastin present in the dermis. Dermic collagen is often considered as the main determining factor affecting the global bio-mechanics of skin^[2, 6]. However, supporting conjunctive tissues and the most superficial skin layers should equally contribute to the rheological properties under observation in this study. It should be taken into account that topical formulations of dermatological use are applied, in order to re-establish normal cutaneous physiology. Such a use includes reference to the improvement of bio-mechanical skin behaviour, in spite of the fact that these formulations are applied to the superficial epidermis.

Difficulties with regard to the technologies used in the in vivo quantification of these variables of a non-invasive nature, have become appa-

En relación a las tecnologías utilizadas para la cuantificación de estas variables *in vivo*, de naturaleza no invasiva, se notan igualmente algunas dificultades. Uno de los métodos más utilizados, el llamado "método de succión" se basa en la aplicación de una presión negativa, ejercida en un plano perpendicular a la superficie de la piel, estando por lo tanto, lejos de un movimiento normal, sin permitir identificar la contribución relativa de cada tejido sometido a aquella fuerza [6-8, 13]. Aun así y, a pesar de las reconocidas limitaciones, este método ha permitido avanzar el conocimiento sobre esta materia pese al cuidado esencial que deberá tenerse en la apreciación de estos "indicadores biomecánicos" [8, 11, 14].

El presente estudio tiene como objetivo principal el análisis de la influencia de la epidermis en el comportamiento biomecánico de la piel *in vivo*. A través de la inducción de variaciones (agudas) del estado de hidratación de la epidermis, con la utilización de sustancias de potencia hidratante distinta (agua y solución de glicerina al 10%) fue posible cuantificar el impacto de esas intervenciones en el comportamiento biomecánico de la piel humana en voluntarios sanos, por metodología no invasiva ("cutometría").

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos experimentales han sido obtenidos en voluntarios humanos (n=12) de ambos los sexos, con edades comprendidas entre los 20 y los 25 años (22.3 + 1.8), sin ninguna patología o antecedentes cutáneos relevantes. Los contenidos del protocolo experimental fueron comunicados y explicados con antelación a cada uno de los voluntarios que expresaron, ante este conocimiento, su consentimiento a la ejecución del mismo. Todas las mediciones aceptadas han sido realizadas en el lado ventral del antebrazo del voluntario y ejercidas en un ambiente de laboratorio controlado (temperatura y humedad) tras asegurarse la adaptación de los voluntarios al mismo (en reposo de 30 minutos).

En estas condiciones han sido determinados los valores de referencia (basales) de las variables seleccionadas para caracterizar los cambios hídricos inducidos en la epidermis:

rent. One of the methods most common used, known as the "suction method" is based upon the application of negative pressure, exerted on a superficial plane perpendicular to the surface of the skin. This represents a movement that is far from natural, and additionally does not allow the determination of the effect upon each individual tissue that such a force produces [6-8, 13]. Even so, in spite of its recognised limitations, this method has permitted an advancement in the knowledge available on this subject. However, extreme care should be taken in the evaluation of these "bio-mechanical indicators" [8, 11, 14].

The main objective of the present study was to carry out an analysis of the influence exerted by the epidermis on the bio-mechanical behaviour of skin *in vivo*. Through the induction of differing variations (acute) in the degree of hydration of the epidermis, using substances of different moisturizing power (water and glycerine solution (10%)), it was possible to quantify the impact of such applications on the bio-mechanical behaviour in human skin in healthy volunteers, through non-invasive methodology (cutometry).

MATERIALS AND METHODS

The experimental data was obtained from human volunteers (n=12) of both sexes, with ages ranging from between 20 and 25 (22.3 + 1.8). None of the patients suffered from, or had any history of relevant cutaneous pathologies. The content of the experimental protocol was communicated and explained beforehand, to each of the volunteers, who subsequently expressed consent to their involvement in the study. All measurements were taken on the ventral side of the volunteers' forearms and were carried out in controlled laboratory conditions (temperature and humidity), after having made sure that the volunteers had adapted to such an environment (at rest for 30 minutes).

Under these conditions, reference values (basal) of the selected variables were determined, in order to characterise the induced changes in hydration in the epidermis:

—epidermal capacitance was evaluated using a CM 825 Corneometer (CK Electronics, Germany), permitting the quantification (in UA) of superficial moisture variations,

— la capacitancia epidérmica evaluada por el sistema *Corneometer CM 825 (CK electronics, Germany)* permitiendo la cuantificación (en UA) de las variaciones del agua superficial

— la pérdida de agua transepidérmica (PTEA o TEWL) evaluada a través del sistema *Tewameter TM 210 (CK electronics, Germany)* considerada como un indicador de las funciones de "barrera" cutánea (g/h/cm^2)

— Trans-epidermal water loss (PTEA or TEWL) was evaluated using the TM 210 Tewameter system (CK electronics, Germany) considered as an indicator of cutaneous "barrier" functions (g/h/cm^2).

Después de obtener los valores basales, se colocó una gasa (5 x 5 cm) empapada en agua (tratamiento 1) o en una solución de glicerina al 10% (tratamiento 2) en cada zona anatómica, durante 10 minutos. A continuación, tras retirar la gasa y el exceso de solución, se determinaron otra vez continuamente hasta la estabilización las variables utilizadas para la descripción del equilibrio hídrico epidérmico. Además de estas variables también se registraron diversos indicadores biomecánicos obtenidos a través de un método de succión (*Cutometer SEM474 de CK electronics, Germany*), con una presión de 300 mbar/ciclo de succión. La evaluación de estos indicadores ocurrió cada 5 minutos, a partir del período de post-oclusión hasta la estabilización de todas las variables (unos 35 minutos). Los indicadores biomecánicos (ver Figura 1) escogidos han sido:

Uf- Extensibilidad máxima (total) de la piel.

Ua- Recuperación total de la deformación en el período de parada de la tensión.

Ua/Uf- Elasticidad total de la piel.

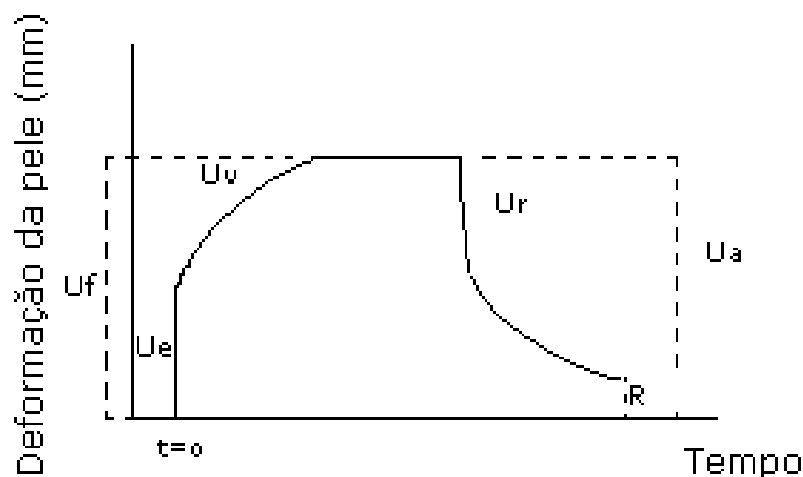
Once basal values had been obtained, a gauze (5 x 5cm) soaked in water (treatment 1) or soaked in glycerine solution at 10% (treatment 2) was applied to each anatomic area, for 10 minutes. Subsequently, after removing the gauze and excess solution, continuous assessments were made until the variables used for the description of epidermal moisture equilibrium had stabilised. In addition to these variables, diverse bio-mechanical indicators were determined, obtained through the suction method (Cutometer SEM 474, CK Electronics, Germany), at a pressure of 300mbar/suction cycle. The evaluation of these indicators was carried out every 5 minutes, from post-occlusion until stabilisation of all variables (about 35 minutes). The bio-mechanical indicators (see Figure 1) were selected as follows:

Uf - Maximum skin extensibility (total).

Ua - total recovery from deformation after finalisation of the tension process.

Ua/Uf - Total skin elasticity.

FIGURA 1. Deformación de la piel v. Tiempo Curva-tipo de la cutometría con las principales variables en estudio.
FIGURE 1. Skin deformation vs. time. Cutometry curve-type with main study variables.



Se ha realizado estadística descriptiva (media y desviación standard) y test de Wilcoxon (efecto de la post-oclusión de cada uno de los tratamientos en relación con los valores de referencia) y de *Mann-Whitney* (análisis comparativo, en cada unidad de tiempo, para los dos tratamientos), y se ha adoptado un nivel de significación de $p < 0,05$.

Además se estudió la eventual relación entre las variaciones de capacitancia epidérmica y los indicadores biomecánicos (correlación de *Spearman*) registradas para los dos tratamientos.

A statistical description (average and standard deviation) and a Wilcoxon test (post-occlusion effect of each of the treatments used compared with reference values) were carried out, together with a Mann-whitney test (comparative analysis, within each time unit for both treatments), for which a signification value of $p < 0.05$ was adopted.

Additionally, the possible relationship between the variations of epidermal capacitance and the bio-mechanical indicators (Spearman correlation) registered for both treatments were studied.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tablas I y II compendian los resultados obtenidos en el conjunto total de los voluntarios para los tratamientos oclusivos utilizando agua (tratamiento 1) y la solución de glicerina al 10% (tratamiento 2). Todos los tiempos referidos, exceptuando el basal, han sido medidos tras la eliminación de la gasa empapada en la solución de estudio, después de haber estado en contacto oclusivo con la piel durante 10 minutos.

RESULTS AND DISCUSSION

Tables 1 & 11 summarise the results obtained from all of the patients treated as a whole for occlusive treatments with water (treatment 1) and glycerine solution at 10% (treatment 2). All the times referred to, except the basal values, were measured on removal of the gauze soaked in study solution, subsequent to having been in occlusive contact with the skin for 10 minutes.

TABLA I. Resultados de la evolución de las diferentes variables registradas en consecuencia del tratamiento 1 (oclusión con agua). Los resultados obtenidos en cada tiempo (I hasta V) han sido comparados con el valor basal (ns : no significativo ; * $p < 0.05$)

| | Basal | 10 min tras hidratación oclusiva (tiempo I) | 5 min (tiempo II) | 15 min (tiempo III) | 25 min (tiempo IV) | 35 min (tiempo V) |
|--------------------------------------|-------|---|-------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| Capacitancia (UA) | | | | | | |
| Media | 40,25 | 67,88* | 48,38* | 44* | 42,88 (ns) | 42,88 (ns) |
| Desviación standard | 7,401 | 16,098 | 8,962 | 6,884 | 7,200 | 6,647 |
| TEWL (g/h/cm²) | | | | | | |
| Media | 13,96 | 46,96* | 31,46* | 19,38* | 15,89 (ns) | 13,99 (ns) |
| Desviación standard | 2,792 | 8,159 | 7,133 | 4,118 | 2,869 | 1,865 |
| Indicadores biomecánicos (mm) | | | | | | |
| Uf (Media) | 0,05 | 0,05 (ns) | 0,047 (ns) | 0,037 (ns) | 0,046 (ns) | 0,041 (ns) |
| Desviación standard | 0,018 | 0,015 | 0,014 | 0,007 | 0,011 | 0,012 |
| Ua (Media) | 0,046 | 0,044 (ns) | 0,04 (ns) | 0,033 (ns) | 0,041 (ns) | 0,036 (ns) |
| Desviación standard | 0,021 | 0,015 | 0,013 | 0,011 | 0,009 | 0,01 |
| Ua/Uf (Media) | 0,906 | 0,896 (ns) | 0,876 (ns) | 0,899 (ns) | 0,919 (ns) | 0,885 (ns) |
| Desviación standard | 0,123 | 0,103 | 0,161 | 0,134 | 0,097 | 0,104 |

TABLE 1. Results of the evolution of different variables recorded after treatment #1 (water occlusion). Those results obtained in each time (from I to V) were compared with basal level (ns= non significant; *p<0.05)

| | Basal | 10 min after occlusive moisture (time I) | 5 min (time II) | 15 min (time III) | 25 min (time IV) | 35 min (time V) |
|--------------------------------------|-------|--|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Capacitance (UA) | | | | | | |
| Mean | 40,25 | 67,88* | 48,38* | 44* | 42,88 (ns) | 42,88 (ns) |
| Standard deviation | 7,401 | 16,098 | 8,962 | 6,884 | 7,200 | 6,647 |
| TEWL (g/h/cm²) | | | | | | |
| Mean | 13,96 | 46,96* | 31,46* | 19,38* | 15,89 (ns) | 13,99 (ns) |
| Standard deviation | 2,792 | 8,159 | 7,133 | 4,118 | 2,869 | 1,865 |
| biomechanical Indicators (mm) | | | | | | |
| Uf (Mean) | 0,05 | 0,05 (ns) | 0,047 (ns) | 0,037 (ns) | 0,046 (ns) | 0,041 (ns) |
| Standard deviation | 0,018 | 0,015 | 0,014 | 0,007 | 0,011 | 0,012 |
| Ua (Mean) | 0,046 | 0,044 (ns) | 0,04 (ns) | 0,033 (ns) | 0,041 (ns) | 0,036 (ns) |
| Standard deviation | 0,021 | 0,015 | 0,013 | 0,011 | 0,009 | 0,01 |
| Ua/Uf (Mean) | 0,906 | 0,896 (ns) | 0,876 (ns) | 0,899 (ns) | 0,919 (ns) | 0,885 (ns) |
| Standard deviation | 0,123 | 0,103 | 0,161 | 0,134 | 0,097 | 0,104 |

TABLA II . Resultados de la evolución de las diferentes variables registradas en consecuencia del tratamiento 2 (oclusión con solución al 10% de glicerina). Os resultados obtenidos en cada tiempo (I a V) han sido comparados con el valor basal (ns: no significativo; * p < 0.05)

| | Basal | 10 min tras hidratación oclusiva (tiempo I) | 5 min (tiempo II) | 15 min (tiempo III) | 25 min (tiempo IV) | 35 min (tiempo V) |
|--------------------------------------|-------|---|-------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| Capacitancia (UA) | | | | | | |
| Media | 39,58 | 75,5* | 59,83* | 53,92* | 52,42* | 50,25* |
| Desviación standard | 6,571 | 12,12 | 10,44 | 8,334 | 7,242 | 6,959 |
| TEWL (g/h/cm²) | | | | | | |
| Media | 13,16 | 38,81* | 24,36* | 15,91* | 14,11 (ns) | 13,77 (ns) |
| Desviación standard | 3,458 | 7,203 | 6,783 | 3,981 | 3,748 | 3,506 |
| Indicadores biomecánicos (mm) | | | | | | |
| Uf (Media) | 0,047 | 0,062* | 0,059* | 0,053 (ns) | 0,06* | 0,058* |
| Desviación standard | 0,014 | 0,016 | 0,014 | 0,012 | 0,016 | 0,01 |
| Ua (Media) | 0,041 | 0,057* | 0,052 (ns) | 0,49 (ns) | 0,055* | 0,052* |
| Desviación standard | 0,016 | 0,016 | 0,014 | 0,012 | 0,019 | 0,009 |
| Ua/Uf (Media) | 0,863 | 0,917 (ns) | 0,871 (ns) | 0,922 ((ns) | 0,903 (ns) | 0,903 (ns) |
| Desviación standard | 0,129 | 0,091 | 0,083 | 0,1 | 0,1'04 | 0,107 |

TABLE II. Results of the evolution of different variables recorded after treatment #2 (glycerine 10% solution occlusion). Those results obtained in each time (from I to V) were compared with basal level (ns= non significant; *p<0.05)

| | Basal | 10 min after occlusive moisture (time I) | 5 min (time II) | 15 min (time III) | 25 min (time IV) | 35 min (time V) |
|--------------------------------------|-------|--|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Capacitance (UA) | | | | | | |
| Mean | 39,58 | 75,5* | 59,83* | 53,92* | 52,42* | 50,25* |
| Standard deviation | 6,571 | 12,12 | 10,44 | 8,334 | 7,242 | 6,959 |
| TEWL (g/h/cm²) | | | | | | |
| Mean | 13,16 | 38,81* | 24,36* | 15,91* | 14,11 (ns) | 13,77 (ns) |
| Standard deviation | 3,458 | 7,203 | 6,783 | 3,981 | 3,748 | 3,506 |
| biomechanical Indicators (mm) | | | | | | |
| Uf (Mean) | 0,047 | 0,062* | 0,059* | 0,053 (ns) | 0,06* | 0,058* |
| Standard deviation | 0,014 | 0,016 | 0,014 | 0,012 | 0,016 | 0,01 |
| Ua (Mean) | 0,041 | 0,057* | 0,052 (ns) | 0,49 (ns) | 0,055* | 0,052* |
| Standard deviation | 0,016 | 0,016 | 0,014 | 0,012 | 0,019 | 0,009 |
| Ua/Uf (Mean) | 0,863 | 0,917 (ns) | 0,871 (ns) | 0,922 ((ns) | 0,903 (ns) | 0,903 (ns) |
| Standard deviation | 0,129 | 0,091 | 0,083 | 0,1 | 0,1'04 | 0,107 |

El análisis de los valores de la capacitancia demuestra que, tanto para el tratamiento con el agua, como para el tratamiento con la solución de glicerina al 10%, hubo un aumento estadísticamente significativo de la hidratación de la capa córnea de la epidermis en relación con los valores basales. Sin embargo, el que también ha sido demostrado por el análisis de los resultados, es que en el caso del tratamiento con el agua al final de veinticinco minutos a partir de la post-oclusión, dejan de existir las diferencias estadísticamente significativas con relación a la piel no tratada (valor basal). En el caso de la solución de glicerina al 10 esto no se verifica, y al final de treinta y cinco minutos aun existe una diferencia estadísticamente significativa con relación a la piel no tratada, lo cual demuestra que la glicerina tiene un efecto hidratante sobre la epidermis de más durabilidad que el agua sola. Esto concuerda con la capacidad hidratante conocida de la glicerina [5, 9, 10, 12].

La pérdida de agua transepidérmica (TEWL), en ambos tratamientos en estudio, ha sufrido una evolución idéntica, hasta los veinticinco minutos. Tras este tiempo, las diferencias dejaron de ser estadísticamente significativas con relación a los valores.

En cualquier caso conviene aclarar que, no se esperaban grandes alteraciones a nivel de la barrera cutánea con estas intervenciones experimentales, incluso porque para las sustancias utilizadas no se conocen efectos a ese nivel. Aun así,

The analysis of capacitance values demonstrate that, both after treatments with water, and treatments with glycerine solution at 10%, there was a statistically significant increase in the hydration of the epidermal stratum corneum in comparison with basal values. However, the analysis of the results also demonstrated that in the case of treatments with water, after a period of twenty five minutes from commencement of post occlusion, significant statistical differences in comparison with untreated skin (basal value) were not found to exist. However, different results were obtained regard to glycerine solution at 10%, where after a period of thirty five minutes, statistically significant differences continued to be evident, in comparison with untreated skin. This demonstrates that glycerine has a longer lasting hydration effect than water only treatments, and is in agreement with the known hydration capacity of glycerine [5, 9, 10, 12].

Through out the first period of twenty five minutes, trans-epidermal water loss (TEWL) in both treatments was found to be identical. After this period of time, the differences were not found to be statistically significant with regard to the basal values for both treatments.

In any case, it should be pointed out that large alterations at the cutaneous barrier were not expected, due to the fact that the effects of the substances used at this level are not known. Even so, the measurement of TEWL was associated with the measurement of capacitance, an impor-

la medida de la TEWL es la asociada a la medida de la capacitancia, un indicador importante de la dinámica hídrica de la superficie cutánea que, en el caso, no permite distinguir la evolución de la piel en lo que es la función de "barreira" entre los dos tratamientos.

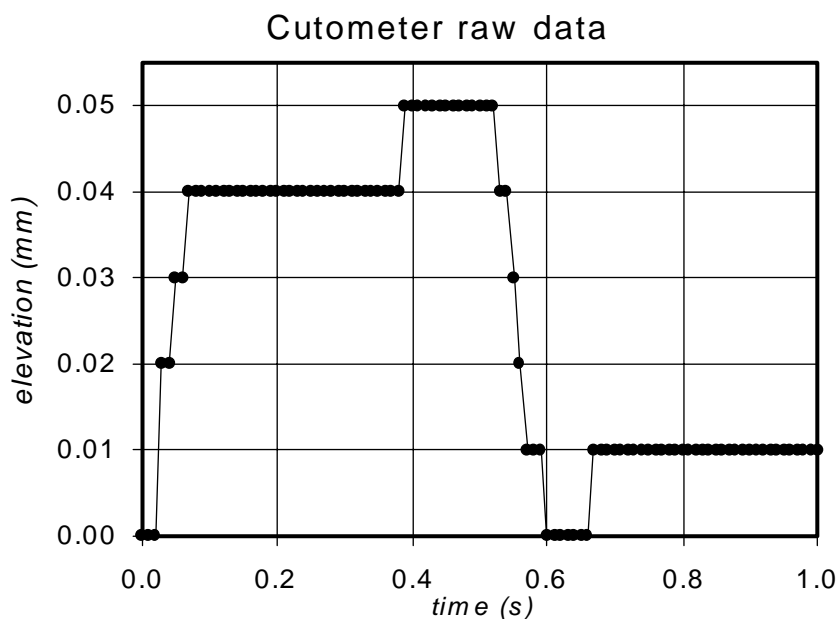
En lo que respecta a los indicadores biomecánicos del análisis de los resultados obtenidos hay que tener algún cuidado, ya que aquellos, por un lado, no representan el comportamiento de un material estrictamente elástico, no teniendo por lo tanto un equivalente fisiológico directo y, por otro, envuelven no sólo la epidermis y la dermis (sin distinción referente a la participación relativa de cada tejido) sino también los tejidos subyacentes de soporte^[4, 8, 11]. Además, de los diversos parámetros (directos e indirectos) proporcionados por el sistema, hemos optado por solo considerar la U_f (extensibilidad total de la piel), la U_a (recuperación total de la deformación en el período de parada de tensión) y la relación U_a/U_f (medida aproximada de la llamada elasticidad máxima de la piel). La decisión de no considerar las restantes variables de la cutometría se debe al hecho de que la curva-tipo de la cutometría (Figura 1), no puede obtenerse sino a través de una aproximación grosera, lo que no impide una determinación correcta de los restantes parámetros proporcionados por el sistema (Figura 2).

tant indicator of the hydro dynamics of the cutaneous surface. In this case, this does not allow the development of the barrier function of the skin to be distinguished after application of either treatment.

With regard to bio-mechanical indicators from the analysis of the results obtained, care should be taken, given that such indicators, on the one hand do not represent the behaviour of a strictly elastic material and consequently, do not have a direct physiological equivalent, and on the other hand, envelope not only the dermis and epidermis (with no distinction between the relative participation of each tissue) but also underlying supporting tissues^[4, 8, 11]. Conversely, from the various parameters (direct and indirect) provided by the system, we have chosen to almost disregard U_f (total skin extensibility), U_a (total recovery after deformation on cessation of tension) and U_a/U_f (approximate average of the so called maximum elasticity of the skin). The decision not to take the remaining cutometry variables into account was taken, due to the fact that the cutometry type-curve (Figure 1), could not be obtained other than through a rough approximation, which did not prevent a correct determination of the remaining parameters provided by the system (Figure 2).

FIGURA 2. Esquema representativo de un perfil real (señal de adquisición) obtenido con el Cutometer SEM474.

FIGURE 2. Scheme representing an actual profile (acquisition signal) obtained with cutometer SEM474



De los indicadores biomecánicos en estudio (Uf, Ua, Ua/Uf), ninguno tuvo un resultado estadísticamente significativo con el tratamiento efectuado con agua (Tabla I), lo que contradice los resultados anteriormente publicados,^[3, 4] en los que se sugiere la mejoría de las propiedades mecánicas de la piel cuando se trata con el agua sola. Sin embargo, el análisis de los resultados obtenidos con el tratamiento 2 demuestra diversas alteraciones biomecánicas significativas. Con relación a la extensibilidad máxima de la piel (Uf), el efecto es significativo en todos los tiempos de medición, excepto a los quince minutos medidos desde la post-oclusión, lo que sugiere que la glicerina, a una concentración del 10% en solución, provoca un incremento de la extensibilidad total de la piel, tanto a corto como a largo plazo (ver Tabla II). El mismo efecto se aprecia en la Ua (recuperación total de la deformación en el período de parada de tensión), que también tiene un efecto significativo a lo largo del intervalo de tiempo estudiado (Figura 3). Las diminutas excepciones verificadas en el análisis de significación deberán resultar del reducido grupo de voluntarios (n=12) utilizado.

Las variables en estudio también fueron comparadas, para ambos tratamientos (Figura 4 y 5).

Of the bio-mechanical indicators in the study (Uf, Ua, Ua/Uf), none presented statistically significant results in treatments with water (table 1), in spite of previously published results^[3, 4], suggesting that the improvement of the mechanical properties of skin, when water only treatments are applied. However, the analysis of the results obtained with treatment 2 showed several significant bio-mechanical alterations. Concerning maximum skin extensibility (Uf), the effect was found to be different at all of the different times of measurement, except at fifteen minutes after post-occlusion. This suggests that glycerine, at a concentration of 10% in solution, produces an increase in total skin extensibility, both in the short, as well as in the long term (see Table 11). The same effect can be observed in the case of Ua (total recovery after deformation on cessation of tension), which also has a significant effect throughout the time interval studied (Figure 3). The very slight exceptions observed in the analysis of signification are most probably the result of the fact that the group of volunteers used (N=12) was small.

The variable factors in the study were also compared for both treatments (Figure 4 & 5).

FIGURA 3. Comparación de los resultados del tratamiento realizado con el agua en relación con la solución al 10% de glicerina para Ua (ns : no significativo ; * $p < 0.05$).

FIGURE 3. Result comparison of treatments done with water and 10% glycerin solution for Ua (ns: non significant; * $p < 0.05$)

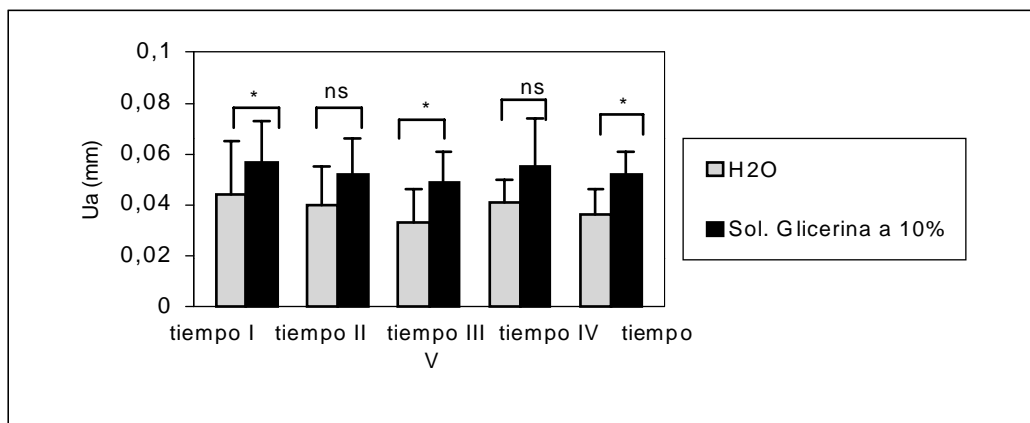


FIGURA 4. Comparación dos resultados, del tratamiento efectuado con el agua con relación al de la solución al 10% de glicerina para Ua/Uf (*ns* : *no significativo* ; * *p* < 0.05).

FIGURE 4. Result comparison of treatments done with water and 10% glycerin solution for Ua/Uf (ns: non significant; *p<0.05)

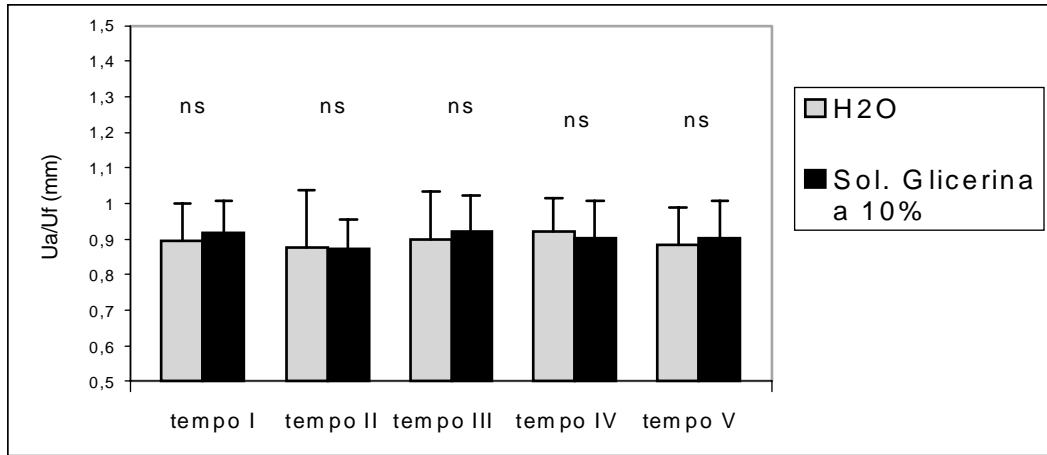


FIGURA 5. Comparación de los resultados del tratamiento efectuado con el agua con relación al de la solución al 10% de glicerina para Uf (*ns* : *no significativo* ; * *p* < 0.05).

FIGURE 5. Result comparison of treatments done with water and 10% glycerin solution for Uf (ns: non significant; *p<0.05)

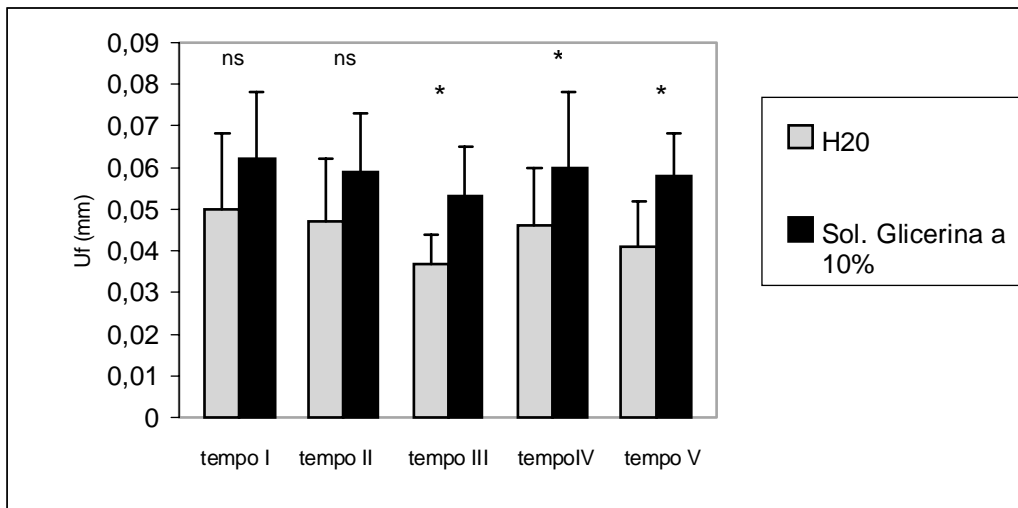


FIGURA 6. Comparación de los resultados del tratamiento efectuado con el agua en relación con el de la solución al 10% de glicerina para la capacitancia (*ns* : *no significativo* ; * *p* < 0.05).

FIGURE 6. Result comparison of treatments done with water and 10% glycerin solution for capacitance (*ns*: non significant; **p*<0.05)

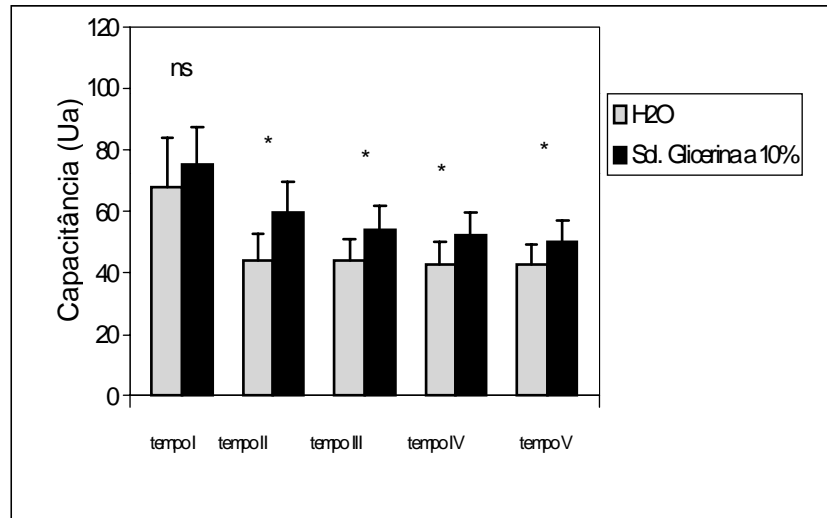
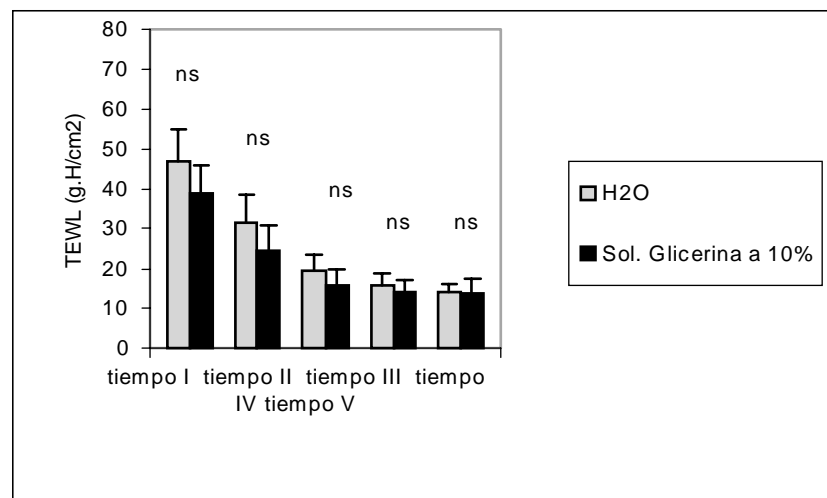


FIGURA 7. Comparación de los resultados del tratamiento efectuado con el agua en relación con el de la solución al 10% de glicerina para la TEWL (*ns* : *no significativo* ; * *p* < 0.05).

FIGURE 7. Result comparison of treatments done with water and 10% glycerin solution for TEWL (*ns*: non significant; **p*<0.05)



Como se puede observar en la Figura 6, las diferencias más evidentes se establecen para la capacitancia epidérmica fundamentalmente después del tiempo I, siendo evidente el mayor poder de hidratación de la glicerina ante el agua sola. La equivalencia de los tratamientos en relación a la función PTEA (Figura 7) es similar, conforme lo comentado. En lo que respecta a los indicadores biomecánicos, las variaciones obtenidas son bastante más evidentes para el tratamiento con 10% de glicerina, tanto para la Uf (Figura 5)

Figure 6, shows that the most evident differences in epidermal capacitance become fundamentally apparent after time 1, from which the greater power of hydration of glycerine in comparison with water only is evident. The equivalence of the treatments with regard to TEWL function (Figure 7) is similar, in accordance with that already stated. With regard to bio-mechanical indicators, the variations obtained are much more evident in the treatment with glycerine at 10%, both in the case of Uf (figure 5) as in the

como para la Ua (Figura 3). Sólo la elasticidad máxima (Figura 4) Ua/Uf no es substancialmente distinta para ambos los tratamientos, probablemente debido al propio esquema experimental consistente en una oclusión de pequeña duración y un reducido número de casos analizados.

En cualquier caso, estos resultados indican que el tratamiento efectuado con a solución al 10% de glicerina parece tener un efecto positivo en la biomecánica de la piel con relación al agua, lo que corrobora estudios anteriormente publicados [9, 14].

Por último, intentando establecer una relación directa entre el contenido hídrico epidérmico, representado por la capacitancia epidérmica y las propiedades biomecánicas de la piel, tratamos de relacionar esos parámetros con todos los tiempos de evaluación a través del test de correlación de *Spearman*. Los resultados obtenidos sólo fueron significativos para el tratamiento con una solución al 10% de glicerina para la extensibilidad total de la piel (Uf) en el tiempo II (0,467) y en el tiempo IV (0,547).

CONCLUSIONES

El presente estudio permitió demostrar que es posible condicionar el comportamiento biomecánico de la piel a través de la superficie epidérmica. El tratamiento, con una solución al 10% de glicerina demostró tener un efecto de hidratación, obviamente relativo al estrato córneo, más prolongado a lo largo del tiempo que el registrado con el agua sola. En cualquier caso, la medida de la capacitancia demostró constituir un medio práctico y eficaz de analizar estas variaciones. En lo que respecta a los indicadores biomecánicos, los resultados obtenidos han sido, una vez más, particularmente relevantes para la solución al 10% de glicerina, evidenciando aumentos significativos de la Uf y Ua a lo largo del intervalo de tiempo estudiado.

De esta forma se sugiere una relación directa de la actividad hidratante (particularmente evidenciada con la glicerina) con la mejora biomecánica de la piel, confirmando la contribución de la epidermis y de los factores que afectan a su funcionalidad (en particular con su equilibrio hídrico) para el comportamiento biomecánico de la piel humana *in vivo*.

case of Ua (Figure 3). It was only in values for maximum elasticity (Figure 4) in which substantially different values for Ua/Uf were not found between the two treatments. This can probably be attributed to the nature of the experiment in which occlusion lasted for a short period of time and the low number of cases subjected to analysis.

In any case, these results indicate that the treatment carried out with glycerine solution at 10% seems to have a positive effect upon the bio-mechanics of skin with respect to hydration. This hypothesis is corroborated with previously published studies [9, 14].

Finally, in an attempt to establish the level of epidermal water content, evaluated in terms of epidermal capacitance, and the bio-mechanical properties of skin, we have tried to link these parameters and all evaluation times, using the Spearman correlation test. The results obtained were only significant in treatments with glycerine solution at 10% in total skin extensibility (Uf) at time II (0.467) and time IV (0.547).

CONCLUSIONS

The present study has allowed us to demonstrate that it is possible to condition the bio-mechanical behaviour of the skin through the surface of the epidermis. Treatment with glycerine solution at 10% proved to have a longer lasting hydration effect, obviously related to the stratum corneous, than that obtained from water only treatments. The measurement of capacitance proved to be a practical and effective way of measuring the extent of these variations. Once again the results obtained with regard to the Bio-mechanical indicators were particularly relevant, in which treatments with glycerine solution at 10% produced significant increases in Uf and Ua, throughout the time interval studied.

The findings obtained in this study suggest a direct relationship between hydration activity (particularly in the case of glycerine) and an improvement in the bio-mechanics of skin. The epidermis and factors affecting functionality (in particular hydration equilibrium) have a contributory role to play in the bio-mechanical behaviour of *in vivo* human skin.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Rodrigues L. , A avaliação biofísica da superfície cutânea: Indicadores fisiológicos da funcionalidade epidérmica, Rev. Port. Farm. ,Vol. XLV, nº 1, 16-23, 1995
2. Piérard, G and the EEMCO Group, EEMCO guidance to the in vivo Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 1, Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 12:352-362, 1999
3. Rodrigues L. , A avaliação biofísica da superfície cutânea: princípios e metodologias, Rev. Port. Farm. ,Vol. XLV, nº 2, p 48, 1995
4. Rodrigues L and the EEMCO Group. EEMCO guidance to the in vivo Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 2, Skin Pharmacol Appl Skin Physiol;14: 52-67, 2001
5. Jemec G.B.E. , Serup, J., Epidermal hydration and skin mechanics. The relationship between electrical capacitance and the mechanical properties of human skin in vivo, Acta Derm. Venereol (Stochk), 70: 245;1990.
6. Piérard GE, Mechanical properties of aged skin: Indentation and Elevation experiments, in JL Lévêque & P.Agache Eds. "Aging Skin", Marcel Dekker Inc., Ch.5; 1993
7. Barel A. O. , Courage W. ,Clarys P. , Suction Method for Measurement of skin Mechanical Proprieties : The Cutometer. Handbook of Non-Invasive Methods of the Skin, J.Serup & G.B.E.Jemec Eds, CRC Press, Ch. 3 : pp. 335-340, 1995
8. Rodrigues L., "The in vivo Biomechanical Testing of the skin and the cosmetological efficacy claim support - A critical overview", *in* "Cosmetics – Controlled Efficacy Studies and Regulation" P. Elsner,H.F.Merk & H.Maibach Eds., Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Ch.16: 197-208, 1999
9. Overgaard Olsen L. , Jemec G. B. E. , The Influence of Water, Glycerin, Paraffin Oil and Ethanol on Skin Mechanics, Acta Derm. Venereol (Stochk), 73: 404-406; 1993
10. Wickett R.R. , Murray B.C., Sensitivity of cutometer data to stratum corneum hydration level, Skin Research and Technology , 2: 167-172; 1996.
11. Rogiers, V. Balls, M., Basketter, D., Berardesca, E., Edwards, C., Elsner, P., Ennen, J., Lévêque, J.L., Loden, M., Masson, Ph., Parra, J.L., Paye, M., Piérard, G.E, Rodrigues, L., Schaeffer, H., Salter, D., Zuang, V., The Potencial use of Non-invasive methods in the safety assessment of cosmetic products: The Report and Recommendations of a ECVAM/EEMCO Workshop, ATLA 27, 515-537, 1999
12. Auriol, F., Vaillant, L. , Machet, L. , Diridollou, S. , Lorette, G., Effects of Short-time Hydration on Skin Extensibility, Acta Derm. Venereol (Stochk), 73: 344-347; 1993.
13. Wickett R.R. , Murray B.C., Correlations between Dermal Torque Meter, Cutometer, and Dermal Phase Meter measurements of human skin, Skin Research and Technology 1997, 3: 101-106; 1997.
14. Rodrigues, L.M., Minhós, R., Pinto, P.C., Lamarão, P., Significado Fisiológico da Avaliação Biomecânica do Tecido Cutâneo *in vivo* por Método de Sucção ("Cutometria"), Trab. Soc. Port. Dermatol. Venereol., 60 (4): 21-32, 2002.