

## Epidermal hydration seems to influence the tension directionality in the forearm

*A hidratação epidérmica parece influenciar a direccionalidade da tensão no antebraço*

**Luis Monteiro Rodrigues<sup>1,2</sup>, Claudia Conduto<sup>2</sup>, Pedro Contreiras Pinto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>CBIOS - Experimental Dermatology Unit, Fac. Ciências e Tecnologias da Saúde,  
Universidade Lusófona, Lisboa, Portugal

<sup>2</sup> Lab.of Experimental Physiology, Universidade de Lisboa-Fac. Farmácia, Lisboa, Portugal  
E-mail: monteirorodrigues.dcs@ulusofona.pt

### Abstrac

Langer lines shows the tensional direction of the skin, e.g., its anisotropy but, a clear relationship between dermal changes and epidermal directionality, as it happens in skin ageing, is not known. Since the quantification of the in vivo anisotropy is already possible, we've tried to study the impact of epidermal hydration on the mechanical direction of human skin.

The study involved twelve healthy women, grouped by their age. The viscoelastic ratio (Uv/Ue) obtained by the do Cutometer® SEM575 system, and the RRT (ressonance running time) obtained with the Reviscometer® RVM600 device were measured in the ventral forearm.

Measurements took place at time zero and after a 24h occlusive patch. Both groups behaved similarly before and after occlusion regarding both viscoelastic ratio and RRT, although variables were always higher in the older group. Nevertheless, occlusion increased RRT and decreased anisotropy. And these changes were again more pronounced in the older individuals group.

No matter the obviously insufficient number of volunteers, results suggest the interest in knowing further how epidermis influences the biomechanical behavior of the human skin.

**Keywords:** Langer lines; anisotropy; directionality; biomechanics; epidermis

### Resumo

As linhas de Langer são indicador da direcção tensional da pele e, portanto, da sua anisotropia mas não se conhece a relação entre a alteração da derme e a direccionalidade da epiderme como acontece no envelhecimento cutâneo. Sendo possível quantificar a anisotropia in vivo, procurámos estudar o impacto da hidratação da epiderme na direcção mecânica da pele humana.

O estudo envolveu doze mulheres, saudáveis, agrupadas por idades. Na face ventral do antebraço foram medidos o rácio viscoelástico (Uv/Ue) obtido através do Cutometer® SEM575 e o RRT (ressonance running time), obtido através do Reviscometer® RVM600. As medições foram efectuadas no tempo zero e após aplicação de um penso oclusivo por 24h. Ambos os grupos mostraram comportamento semelhantes antes e após oclusão para o índice viscoelástico e para o RRT, embora se observasse um aumento do valor das variáveis no grupo dos voluntários mais velhos. Contudo a oclusão aumentou o RRT e diminuiu a anisotropia. E estas variações foram sempre mais marcadas no grupo de indivíduos mais velhos.

Apesar do evidente número reduzido de voluntários, os resultados sugerem o interesse em melhor conhecer a influência da epiderme sobre o comportamento biomecânico da pele in vivo.

**Palavras – chave:** Linhas de Langer; anisotropia; direccionalidade; biomecânica; epiderme

## Introduction

From the biomechanic's perspective, the human skin is particularly complex since it's not a truly plastic or an elastic material, with a non linear anisotropic behavior<sup>(1,2,7)</sup>, permanently submitted to a pretension, as visually shown by the Langer's lines<sup>(1-4)</sup>. These Langer lines, distributed all over the body, represents skin's maximal tension directions, and this is particularly important in surgery since any incision should follow this orientation. Lower tension facilitates healing and improves aesthetical appearance,<sup>(4-6)</sup>.

No matter the multiple difficulties involved, in vivo skin biomechanical characterization may be achieved by several descriptors, mostly obtained by specifically designed non invasive technologies, allowing to explore many complex pathophysiological processes such as ageing<sup>(2)</sup>. However this information is always hard to understand since this behavior depends from a structural organization that is still insufficiently known, although recognizing that the collagen and elastin network, the surrounding glucosaminoglicane matrix, and epidermis are major actors<sup>(7-9)</sup>. A special remark is due to the dermal collagen "architecture" to which the most important biomechanical support of the skin is attributed<sup>(10,11)</sup>. Actually its typical apparently random distribution seems to change in some pathologies, showing a more regular collagen alignment with epidermis<sup>(4,10,11)</sup>. We actually know that these help to explain macro and micro-depressionary changes at skin's surface. But to explain with adequate detail, which mechanisms (biophysical and pathophysiological) determine skin ageing and wrinkling, specially regarding changes in dermal architecture orientation and its relation with related epidermal modification, is far from being possible<sup>(5,6)</sup>. Several studies were developed to relate human skin's biomechanics and histology but, in practical terms, it only confirmed skin's anisotropy with no mention to fiber's directionality<sup>(11)</sup>. Nevertheless, some recent studies, with image analysis, seems to be able to go further<sup>(4,12)</sup>. There are no methods to non-invasively assess Langer lines but, recently, a new system - the Reviscometer RVM600 is referred to measure elastic fibers orientation, from the epidermal surface, by electroacoustic waves<sup>(13-16)</sup>. Results suggested a good correlation between anisotropy and Langer lines changes with ageing, in the in vivo human forearm<sup>(16)</sup>. And the application to other anatomical areas<sup>(5)</sup>, studying mechanical changes with ageing, seems to reinforce the interest in the system. So, under these views, the present study intends to approach the impact of epidermal's hydration in the mechanical direction of human skin.

## Introdução

Do ponto de vista biomecânico, a pele humana é especialmente complexa, na medida em que não sendo um material verdadeiramente elástico ou plástico, comporta-se de forma anisotrópica e não linear<sup>(1,2,7)</sup>, sempre sujeita a uma pré-tensão permanente, como se revela a olho nú pelas linhas de Langer<sup>(1-4)</sup>. Estas linhas de Langer, distribuídas por toda a superfície corporal, representam as direcções máximas de tensão da pele o que é especialmente importante do ponto de vista cirúrgico já que a incisão deve seguir estas linhas de orientação, ou seja, procurar as direcções de menor tensão, de forma a facilitar o processo de cicatrização e melhorar a aparência estética,<sup>(4-6)</sup>.

Apesar das dificuldades que o tema envolve, a caracterização biomecânica da pele in vivo pode ser conseguida através de vários "descritores", obtidos sobretudo por tecnologias não-invasivas desenvolvidas com este propósito, e através das quais processos patofisiológicos complexos, como o envelhecimento, entre outros, têm podido ser explorados<sup>(2)</sup>. Contudo, a informação recolhida é sempre de difícil interpretação já que este comportamento é determinado por uma organização estrutural ainda mal compreendida, onde a rede de colagénio e elastina, a matriz de glucosaminoglicanos envolvente e, a epiderme, desempenham os papéis principais<sup>(7-9)</sup>. E aqui referimos, em especial, a "arquitectura" do colagénio dérmico, ao qual se atribui a maior responsabilidade do suporte biomecânico da pele<sup>(10,11)</sup>. De facto, a sua aparente distribuição aleatória na derme, parece alterar-se em algumas situações patológicas, revelando-se por um alinhamento mais ordenado do colagénio com a epiderme<sup>(4,10,11)</sup>. Por outro lado, apesar de sabermos que é destas alterações que surgem as modificações macro e micro-depressionárias da superfície cutânea, não é ainda possível descrever com o adequado detalhe, os mecanismos (biofísicos e fisiopatológicos) subjacentes ao envelhecimento cutâneo e à formação das rugas, designadamente no que respeita à identificação das alterações de orientação da arquitectura dérmica e sua relação com as modificações epidérmicas que daí resultam (5,6). Vários estudos têm sido desenvolvidos para relacionar o comportamento mecânico da pele humana com a sua histologia mas, na prática, apenas têm conseguido demonstrar a extensão da anisotropia do tecido sem informar sobre a direcionalidade das fibras<sup>(11)</sup> embora estudos mais recentes pareçam conseguir ir mais longe através, sobretudo, da utilização de análise de imagem<sup>(4,12)</sup>.

Também não existem métodos para medir, de forma não invasiva, as linhas de Langer mas, recentemente, um novo sistema - o Reviscometer RVM600 propôs-se medir a direcção das fibras elásticas através da superfície epidérmica, por meio de ondas

## Material and Methods

Twelve female healthy volunteers were included in the study following informed written consent. All the procedures were according the general principles of human experiments and fulfill the ethical guidelines of the Helsinki declaration and subsequent amendments<sup>(17,18)</sup>. The volunteers were divided into Group I, with younger individuals (n=6, mean age  $22.5 \pm 0.55$  years old), and Group II, with older individuals (n=6, mean age  $48.3 \pm 10,6$  years old). The selection criteria also included phototype lower than V, absence of history of cutaneous or other diseases, absence of application of topical products in the ventral area of the forearm (measurement site) in the previous 24H of the measurements. The forearm was randomly selected, and the evaluation sites were defined in the ventral area. The experimental procedure was performed under controlled temperature and relative humidity (20°C-22°C; 50-60%), ensuring that all the volunteers experienced an adaptation period to the room conditions of at least 15 minutes, as described in the literature<sup>(1,14,19)</sup>.

The variables considered relevant for the main purposes of the study were the viscoelastic ratio (Uv/Ue) obtained through the Cutometer<sup>®</sup> SEM575 (Courage and Khazaka, Koln, Germany) equipped with a 8 mm diameter probe, and the RRT (Resonance Running Time) calculated in seconds, obtained through the Reviscometer<sup>®</sup> RVM600 (Courage and Khazaka, Koln, Germany). The RRT was measured at several angles ( 0°, 45°, 90° and 135°) with a minimum of 4 measurements in each site and in each angle 10 (Figure 1) (RRT mean). The maximum (RRTmax) and minimum (RRTmin) values were also measured in each individual. The variables were measured in two sites, one served as control while in the other there was an application of an occlusive system during 24H. The occlusive system has an area of 4 cm<sup>2</sup> with several layers of plastic film, Parafilm<sup>®</sup> (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, IL, E.U.A.) and gauze, adherent to the skin with surgical adhesive (Leukoplast, Beiersdorf SA, Hamburg, Germany)<sup>(20)</sup>. The measurements were repeated after the occlusion removal, and elimination of the water excess present in the skin surface, with absorbent paper.

The statistical analysis was performed with SPSS (version 13.0 for Windows) and Microsoft Excel<sup>®</sup> 2003, involving the Wilcoxon and Mann-Whitney non parametric tests and the Spearman correlation for paired data. A significance level of 95% was adopted.

electroacústicas (13-16). Alguns resultados parecem sugerir uma boa correlação entre a anisotropia assim medida no antebraço humano, in vivo, e as alterações das linhas de Langer dependentes da idade (16). E a sua aplicação a outras regiões anatómicas na caracterização mecânica do envelhecimento (5) parece reforçar o potencial interesse deste sistema. Neste enquadramento, o presente estudo, pretende estudar o impacto da hidratação da epiderme na direcção mecânica da pele humana.

## Material e Métodos

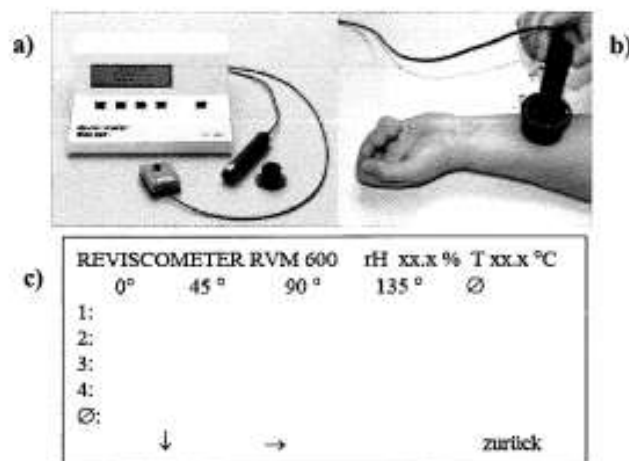
Participaram no estudo doze voluntários do sexo feminino, saudáveis, devidamente informados após consentimento informado escrito. Todos os procedimentos seguiram os princípios gerais relativos à experimentação humana, respeitando todas as normas éticas previstas pela Declaração de Helsínquia e respectivas emendas<sup>(17,18)</sup>. As voluntárias foram separadas por idades em Grupo I, constituído por indivíduos mais jovens (n=6) com idade média  $22.5 \pm 0.55$  anos, e Grupo II, constituído por indivíduos mais velhos (n=6) com idade média  $48.3 \pm 10,6$  anos. A selecção dos voluntários incluiu ainda, fototipo inferior a V, ausência de historial de doenças cutâneas ou outras, e abstenção de aplicação de produtos tópicos no antebraço ventral (local de medição) nas 24h que antecederam as medições. O antebraço de medição foi escolhido aleatoriamente, marcando-se na sua face ventral, os sítios de avaliação. O procedimento experimental decorreu em condições de temperatura e humidade controladas (20°C-22°C; 50-60%), assegurando a adaptação prévia dos voluntários durante pelo menos, 15 minutos, como se encontra descrito na literatura<sup>(1,14,19)</sup>.

As variáveis consideradas como relevantes para os objectivos do estudo foram o rácio viscoelástico (Uv/Ue) obtido através do Cutometer<sup>®</sup> SEM575 (Courage and Khazaka, Colónia, Alemanha) equipado com uma sonda de 8mm de diâmetro, e o RRT (ressonance running time) expresso em segundos, obtido através do Reviscometer<sup>®</sup> RVM600 (Courage and Khazaka, Colónia, Alemanha). O RRT é medido em vários ângulos ( 0°, 45°, 90° e 135°)

com um mínimo de 4 medições em cada sítio e em cada ângulo 10 (Figura 1) (RRT médio) , registando-se também os valores máximo (RRTmax) e mínimo (RRTmin) para cada indivíduo. As variáveis foram medidas em 2 sítios, servindo um de controle enquanto ao outro foi aplicado um penso oclusivo durante 24horas. O sistema oclusivo ocupa cerca de 4cm<sup>2</sup> de área, e consiste em camadas sobrepostas de película aderente, Parafilm<sup>®</sup> (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, IL, E.U.A.) e gaze, fixadas à pele com adesivo cirúrgico (Leukoplast, Beiersdorf SA, Hamburgo, Alemanha)<sup>(20)</sup>. As medições foram repetidas após remoção do penso oclusivo e eliminação, com papel adsorvente, do excesso de água presente à superfície da pele.

A análise estatística foi realizada com o programa SPSS

(versão 13.0 para Windows) e Microsoft Excel ® 2003, e envolveu os testes não paramétricos Wilcoxon e Mann-Whitney e teste Spearman para dados emparelhados, adoptando-se um nível de confiança de 95%.



**Figure 1** - a) Reviscometer® RVM 600; b) probe position during RRT measurement; c) RRT registration panel in different angles (adapted from 13).

**Figura 1** - a) Reviscometer® RVM 600; b) Posição da sonda durante a medição de RRT; c) quadro de registo de RRT segundo os diferentes ângulos (adaptado de 13).

## Results and Discussion

One of the greatest difficulties associated to in vivo studies is the high inter-individual variability. In order to by-pass this difficulty, data was analysed as a ratio of the results obtained in relation to the basal values. Thus, results that are close to one indicate a low impact, whereas higher or lower values are suggestive of the opposite. Such results can be found on table 1.

## Resultados e Discussão

Para reduzir a influência da variabilidade inter-individual dos voluntários e, tendo em consideração que os valores das medições efectuadas em cada dia são influenciados por diversos factores, o valor obtido na medição da zona de aplicação foi dividido pelo respectivo valor basal. Deste modo, considera-se a unidade "1" como o valor base, pelo que acima deste valor teremos um aumento da variável e abaixo deste valor uma diminuição da mesma. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 1.

**Table 1** - Mean results for variables Uv/Ue, RRT (normalized) and Anisotropy obtained at control and occlusion sites

**Tabela 1** - Resultados médios das variáveis Uv/Ue, RRT (normalizado) e Anisotropia, obtidas nas zonas de medição controlo e de oclusão

	Uv/Ue (mm)		RRTmean (normalised) RRTmédio (normalizado)		Anisotropy Anisotropia	
	Group I Grupo I	Group II Grupo II	Group I Grupo I	Group II Grupo II	Group I Grupo I	Group II Grupo II
<b>Control</b> Controlo	0.921 ± 0.257	0.646 ± 0.105	1.040 ± 0.131	1.015 ± 0.154	2.212 ± 0.213	2.830 ± 0.657
<b>Occlusion</b> Oclusão	1.042 ± 0.330	1.931 ± 0.670	1.256 ± 0.100	1.425 ± 0.249	1.991 ± 0.716	2.254 ± 0.923

Comparison of the viscoelastic index and RRT results obtained in time zero (basal) before the application of the occlusive patch, has not revealed significant differences between the two groups of volunteers ( $p > 0.699$ ), even though an increase in the variables obtained in the older volunteers was observed (table 1). Occlusion is a well known provocation technique that has been employed to overhydrate the epidermis and, thus, study effects that are related<sup>(21,22)</sup>.

In what concerns the viscoelastic index ( $Uv/Ue$ ), it can be observed that the mean values obtained with the 8 mm probe after occlusion are bigger than one. The viscoelastic ratio is one of the most commonly used descriptors to characterize the biomechanics of human skin in vivo, and corresponds to the ratio between the biomechanical behavior that results from delayed stretching ( $Uv$ ) and the immediate deformation that occurs after suction ( $Ue$ ). Nevertheless, in the current experimental conditions, occlusion has not significantly increased the viscoelastic index ( $p=0,10$ ), even though, according to the literature, hydrated skin is associated to an increase in the viscoelastic reason<sup>(23,24)</sup>.

RRT, expressed as mean value ( $RRT_{mean}$ ) of the measurements performed in any of the previously mentioned angles corresponds to the propagation time of the acoustic wave through a media, which seems to vary according to the elasticity and the skin water content<sup>(18,19)</sup>. The  $RRT_{max} / RRT_{min}$  ratio that is calculated for each site is widely accepted as an indicator or anisotropy<sup>(5,16)</sup>. The hydration increase that is caused by the 24h occlusion seems to be responsible by the increase in  $RRT_{mean}$ , that is, propagation becomes slower when there is an excess of water molecules. A recently published study suggests that an induced skin dehydration in the volar forearm by application of an alkaline soap decreases RRT<sup>(16)</sup>, and it can be inferred that hydration should, therefore, increase it. Results have also shown that after occlusion the acoustic wave propagates slower in group II than in group I, even though a statistical significance could not be established (figure 2).

It can be admitted that a higher  $RRT_{mean}$  can denote less elasticity, which is compatible with the structural changes that occur in the ageing process and, specially, in the degradation of the collagen-elastin network<sup>(1)</sup>. Also related to ageing are reports of an anisotropy increase in the internal surface of the ventral arm and forearm of older individuals<sup>(16,25)</sup>. However, the current differences established in anisotropy did not have a statistical significance, even after occlusion (figure 3).

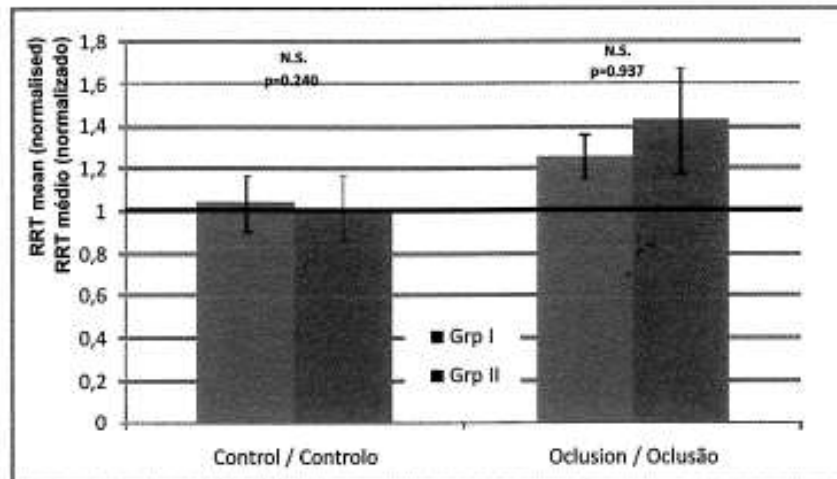
A comparação dos resultados obtidos no tempo zero (basal) antes da aplicação do penso oclusivo, para o índice viscoelástico e para o RRT, não revelou diferenças significativas entre os 2 grupos de voluntários ( $p > 0.699$ ) apesar de se observar um aumento do valor das variáveis no grupo dos voluntários mais velhos (tabela 1).

A oclusão é uma técnica de provocação amplamente testada para sobrehidratar a epiderme e assim estudar os efeitos relacionados<sup>(21,22)</sup>.

No que respeita ao índice viscoelástico ( $Uv/Ue$ ), os valores médios obtidos com a sonda de 8 mm de diâmetro após oclusão são superiores à unidade. O rácio viscoelástico é um dos descritores mais frequentemente utilizados na caracterização biomecânica da pele humana in vivo correspondendo ao quociente entre o comportamento biomecânico proveniente da distensão atrasada ( $Uv$ ) e a deformação imediata após sucção ( $Ue$ ). Contudo, nas presentes condições experimentais, a oclusão não aumenta significativamente o índice viscoelástico ( $p=0,10$ ) embora, de acordo com anteriores trabalhos, a pele hidratada seja associada ao aumento da razão viscoelástica<sup>(23,24)</sup>.

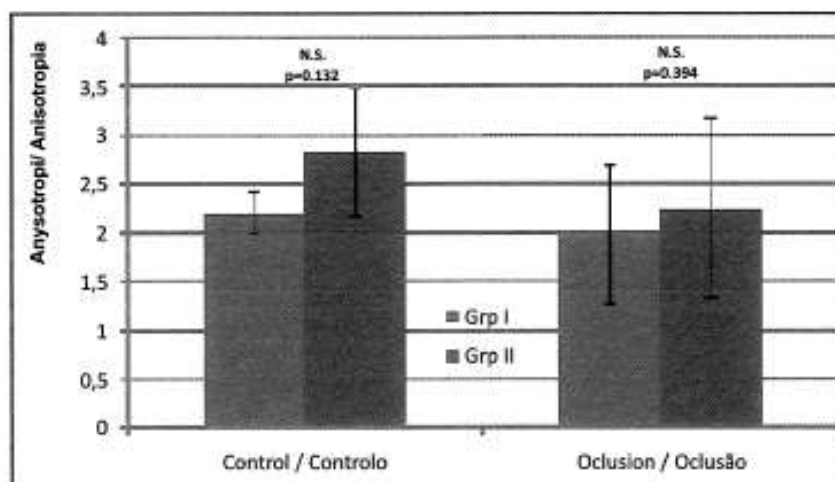
O RRT, expresso como valor médio ( $RRT_{médio}$ ) das medições efectuadas em cada um dos ângulos indicados, corresponde ao tempo de propagação da onda acústica, através do meio, do emissor ao recetor, o qual parece variar de acordo com a elasticidade e o teor em água da pele<sup>(18,19)</sup>. A razão  $RRT_{max} / RRT_{min}$  calculada em cada sítio é aceite como indicador quantitativo da anisotropia<sup>(5,16)</sup>. A hidratação evocada pela oclusão 24h parece ser a responsável pelo aumento do  $RRT_{médio}$ , ou seja, a condução torna-se mais lenta com o excesso de moléculas de água. Um estudo recentemente publicado sustenta que a desidratação da pele do antebraço ventral induzida, por contacto com sabão alcalino, diminui o RRT<sup>(16)</sup> donde se infere que a hidratação, deverá aumentá-lo. Os resultados demonstram ainda que, após oclusão, a onda acústica se propaga mais lentamente no grupo II, relativamente ao grupo I apesar de não termos conseguido encontrar significado estatístico nestas diferenças. (figura 2)

Admite-se que um  $RRT_{médio}$  mais elevado seja sinónimo de menor elasticidade o que é compatível com as alterações estruturais que se conhecem no processo de envelhecimento e, em especial, na degradação da rede de colagénio-elastina<sup>(1)</sup>. Também no que respeita ao envelhecimento, foi relatado o aumento da anisotropia na face interna do braço e no antebraço ventral de indivíduos mais velhos<sup>(16,25)</sup>. Contudo, as diferenças de anisotropia encontradas não têm significado estatístico, mesmo após oclusão (Figura 3).



**Figure 2** - Graphic illustration of RRTmean values in groups I and II at control and occlusion sites (normalised data so that the line corresponds to "1" as the reference value) (N.S. – non significant; \* p<0.05).

**Figura 2** – Resumo gráfico dos valores de RRTmédio nos grupos I e II nas zonas de controlo e de oclusão (dados normalizados pelo que a linha a cheio corresponde ao valor "1" de referência). (N.S. – Não significativo; \* p<0.05).



**Figure 3** - Graphic illustration of anisotropy values in groups I and II at control and occlusion sites (N.S. – non significant; \* p<0.05).

**Figura 3** – Ilustração gráfica dos valores de anisotropia nos grupos I e II, nas zonas de controlo e de oclusão. (N.S. – Não significativo; \* p<0.05).

In spite of the reduced number of volunteers, it should be expected that the anisotropy in the forearm, that is highly dependent of the influence of the muscles on the skin, would be different from others where the complexity of movements is larger, such as the face<sup>(5)</sup>. In other words, the higher the mobility of the region, the higher should the variation in the mechanical

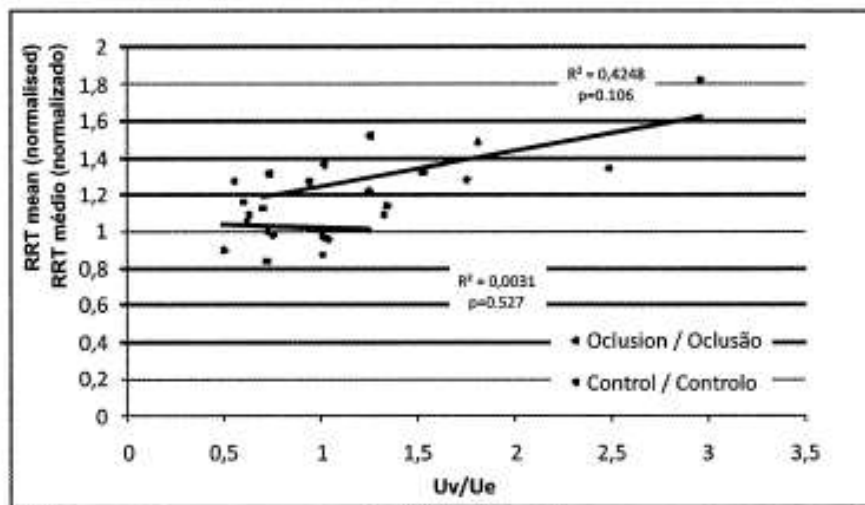
Apesar do reduzido número de voluntários, seria de esperar que a anisotropia no antebraço que, como em qualquer outra região, depende da influência dos músculos sobre a pele, seja nessa região, muito diferente de outras onde a complexidade de movimentos é muito maior, como é o caso da face<sup>(5)</sup>. Por outras palavras, quanto maior for a mobilidade da

directionality of the skin of that region be, which might imply that the forearm might not be the best choice for such type of studies.

The Spearman correlation for the viscoelastic index – RRTmean- has shown a total absence of correlation between the two variables in the two studied sites, with low correlation coefficients both in the joint assessment of the two groups and in the isolated assessment of each group (figure 4).

região, maior deverá ser a variação da direccionalidade mecânica da pele nessa região, o que não parece fazer do antebraço o melhor sítio anatómico para este tipo de estudos.

A correlação de Spearman para o índice viscoelástico-RRTmédio mostrou ausência total de associação entre as duas variáveis nos dois sites estudados, com coeficientes de correlação muito reduzidos, tanto na avaliação conjunta dos dois grupos como na avaliação isolada de cada grupo (Figura 4).



**Figure 4** - Graphic presentation of RRTmean (normalized) - Uv/Ue at control and occlusion sites (N.S. – non significant; \*  $p<0.05$ ).

**Figura 4** – Representação gráfica das correlações RRTmédio (normalizado) – Uv/Ue nos sítios de controlo e oclusão. (N.S. – Não significativo; \*  $p<0.05$ ).

## Conclusions

The present experimental conditions didn't allowed to find statistically significant differences regarding the influence of hydration in the studied variables. The number of volunteers seems to be quite insufficient since both groups behaved similarly, no matter the differences between mean ages. Even so, the epidermal overhydration seemed to influence biomechanical behavior and directionality in the upper arm's skin, by increasing RRT and reducing anisotropy. Consistently, these changes were always more pronounced in the older group.

Results suggest the interest in looking further to the many questions raised, specially regarding the influence of the epidermis on the biomechanical behavior of in vivo skin.

## Conclusão

As presentes condições experimentais não permitiram estabelecer diferenças com significado estatístico, acerca da influência da hidratação epidérmica nas variáveis estudadas. O número de voluntários utilizado parece ser manifestamente insuficiente, já que os dois grupos de voluntários, apesar de diferentes do ponto de vista das suas idades médias, tiveram comportamentos semelhantes. Ainda assim, a sobrehidratação da epiderme parece influenciar o comportamento e a direccionalidade biomecânica da pele do antebraço com aumento do RRT e diminuição da anisotropia. E as variações detectadas foram sempre mais pronunciadas no grupo de indivíduos mais velhos.

Os resultados sugerem o interesse no aprofundamento das questões aqui levantadas, em especial acerca da influência da epiderme no comportamento biomecânico da pele in vivo.

## Acknowledgements

The authors would like to thank to all volunteers for their kind cooperation.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a disponibilidade e colaboração de todas as voluntárias.

## References / Referências

- [1]. Piérard, G.E, Berardesca, E., Gummer, C.L., Lévêque, J.L., Loden, M., Masson, Ph., Parra, J.L., Rodrigues, L., Rogiers, V., and Threveshan, M., EEMCO Guidance to the in vivo assessment of tensile functions of the skin. Part 1: relevance of the structures and ageing of the skin and subcutaneous tissues., *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, 1999; 12: 352-362
- [2]. Rodrigues L. and the EEMCO Group. EEMCO guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 2: instrumentation and test modes. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001; 14: 52-67.
- [3]. Langer K., Zur anatomie und physiologie der haut I. Ueber der spaltbarkeit der cutis. *Sitzungsber Heidelb Akad Wiss Math Naturwiss KI*, 1861; 44: 19-46
- [4]. Jor J, Nielsen PM, Nash MP, Hunter PJ, Modelling collagen fiber orientation in porcine skin based upon confocal laser scanning microscopy, *Skin Res and Technol.*, 2011; 17: 149-159
- [5]. Oshima H, Tada A, Kanamaru A, Akamatsu H, Sakai Y, Itoh M, Kanto H, Relevance of the directionality of skin elasticity to aging and sagging of the face, *Skin Res and Technol.*, 2011; 17: 101-107
- [6]. Bush J, Ferguson MW, Mason T, McGrouther G. The dynamic rotation of Langer's lines on facial expression. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007; 60: 393-399
- [7]. Finlay B. Scanning electron microscopy of the human dermis under uni-axial strain. *Biomed Eng* 1969; 4: 322-327
- [8]. Meyer W, Neurand K, Radke B. Collagen fibre arrangement in the skin of the pig. *J Anat* 1982; 134: 139-148
- [9]. Brown IA. Scanning electron microscopy of human dermal fibrous tissue. *J Anat* 1972; 113: 159-168
- [10]. Pope FM, Martin GR, Lichtenstein JR, Penttinen R, Gerson B, Rowe DW, McKusick VA. Patients with Ehlers-Danlos syndrome type IV lack type III collagen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 1314-1316
- [11]. van Zuijlen P, Ruarda J, van Veen H, van Marle J, van Trier A, Groeneveldt F, Kreis R, Middelkoop E. Collagen morphology in human skin and scar tissue: no adaptations in response to mechanical loading at joints. *Burns* 2003; 29: 423-431
- [12]. Young AA, Legrice IJ, Young MA, Smail BH. Extended confocal microscopy of myocardial laminae and collagen network. *J Microsc* 1998; 192: 139-150
- [13]. Courage + Khazaka electronic GmbH. Information and Operating Instructions for the Reviscometer® RVM600.
- [14]. Paye M, Mac-Mary S, Elkhyat A, Tarric C, Mermat P e Humbert PH. Use of the Reviscometer® for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Res Technol* 2007; 13: 343-349.
- [15]. Bush J, Ferguson MW, Mason T, McGrouther G. The dynamic rotation of Langer's lines on facial expression. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007; 60: 393-399
- [16]. Ruvojo EC Jr, Stamatas GN, Kollias N. Skin viscoelasticity displays site- and age-dependent angular anisotropy. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 313-321
- [17]. WMA Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, and successive amendments until 2008 (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>.)
- [18]. Note for Guidance on Good Clinical Practice, ICH E6GCP96, EMEA, 2002: 1-55.
- [19]. Barel AO, Courage W, Clarys P. Suction method for measurement of skin mechanical properties; the Cutometer. In: Serup J, Jemec GBE, eds. *Handbook of non-invasive methods and the skin*. Boca Raton: CRC Press 335-340
- [20]. Rosado C, Rodrigues LM. Assessment of dry skin using dynamic methods. *J Appl Cosmetol* 2006; 24: 139-157.
- [21]. Pinto PC, and Rodrigues LM. Influence of the time of occlusion on the quantitative parameter obtained by modelling trans-epidermal water loss curves to describe the human cutaneous barrier function in vivo. *Med Biol Eng Comput* 2005; 43: 771-775.
- [22]. Pinto P, Rosado, C, Parreirão, C., Rodrigues, L. Is there any barrier impairment in sensitive skin?: a quantitative analysis of sensitive skin by mathematical modeling of transepidermal water loss desorption curves, *Skin Res Technol*, 2011, (17) 181-185
- [23]. Dobrev H. Use of cutometer to assess epidermal hydration. *Skin Res Technol.* 2000;6(4):239-44
- [24]. Ryu HS, Joo YH, Kim SO, Park KC, Youn SW. Influence of age and regional differences on skin elasticity as measured by the Cutometer®. *Skin Res Technol* 2008; 14: 354-358
- [25]. Hermanns LT, Jonlet F, Scheen A, Piérard GE. Age- and body mass index-related changes in cutaneous shear wave velocity. *Exp Gerontol* 2001; 36: 363-372