

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Gabriela Luiza Nogueira Vitral

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA ESPESSURA DA
PELE DE RECÉM-NASCIDOS E SUA RELAÇÃO COM A
CRONOLOGIA GESTACIONAL

Belo Horizonte

2017

Gabriela Luiza Nogueira Vitral

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA ESPESSURA DA
PELE DE RECÉM-NASCIDOS E SUA RELAÇÃO COM A
CRONOLOGIA GESTACIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para
obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Perinatologia

Linha de pesquisa: Tecnologia aplicada a saúde da mulher

Orientador: Prof.^a Regina Amélia Lopes Pessoa de Aguiar

Coorientadores: Prof.^a Maria Albertina Santiago Rego

Prof. Rodney do Nascimento Guimarães

Belo Horizonte

2017

V846a Vitral, Gabriela Luiza Nogueira.
Avaliação ultrassonográfica da espessura da pele de recém-nascidos e sua relação com a cronologia gestacional [manuscrito]. / Gabriela Luiza Nogueira Vitral. - - Belo Horizonte: 2017.
67f.: il.
Orientador: Regina Amélia Lopes Pessoa de Aguiar.
Coorientador: Maria Albertina Santiago Rego, Rodney do Nascimento Guimarães.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Pele/embriologia. 2. Pele/diagnóstico por imagem. 3. Idade Gestacional. 4. Recém-Nascido. 5. Estudo Observacional. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Aguiar, Regina Amélia Lopes Pessoa de. II. Rego, Maria Albertina Santiago. III. Guimarães, Rodney do Nascimento. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.
NLM: WS 260

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA ESPESSURA DA PELE DE RECÉM-NASCIDOS E SUA RELAÇÃO COM A CRONOLOGIA GESTACIONAL

GABRIELA LUÍZA NOGUEIRA VITRAL

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PERINATOLOGIA.

Aprovada em 06 de novembro de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Regina Amélia Lopes Pessoa de Aguiar - Orientador
UFMG

Prof(a). Eduardo Carlos Tavares
PUC MINAS BETIM - FUMEC

Prof(a). Alamanda Kfoury Pereira
UFMG

Belo Horizonte, 6 de novembro de 2017.

AGRADECIMENTO

A meus pais, meu infinito agradecimento. Sempre do meu lado, me fazendo acreditar que posso mais do que imagino. Obrigada pelo amor incondicional.

A minhas amigas, pelo companheirismo, amizade, apoio e compreensão. Obrigada por estarem a meu lado.

Aos meus orientadores e coorientadores por estarem sempre disponíveis e dispostos a me ajudar. Obrigada por acreditarem em mim.

A todas as voluntárias que aceitaram participar desta pesquisa. Por causa delas este trabalho se tornou possível.

Aos profissionais da neonatologia, pela paciência e apoio profissional.

Agradeço também a CAPES pelo apoio financeiro.

Ninguém vence sozinho!

Obrigada a todos!

“Quando se sonha sozinho é apenas um sonho. Quando se sonha juntos, é o começo da realidade.”

Miguel de Cervantes

RESUMO

Introdução: A cronologia gestacional é o marcador mais importante da sobrevivência do recém-nascido. O desconhecimento dessa informação pode resultar em riscos neonatais, além de levar a problemas na classificação do neonato em curvas de crescimento e modificar a proporção de prematuros. Atualmente, com o avanço das tecnologias obstétricas e neonatais, novos marcadores que possam refletir a cronologia da gravidez humana são demandados. Acredita-se que a espessura da pele do neonato seja um dos parâmetros evolutivos com potencial de estimar a cronologia da gravidez. A espessura da pele humana pode ser obtida de forma segura e não invasiva através de exame de ultrassom.

Objetivo: Verificar se a espessura da pele do neonato medida por ultrassonografia é capaz de estimar a idade gestacional ao nascer, considerando os perfis de crescimento fetal nas medidas das camadas da pele.

Metodologia: Estudo observacional transversal, no qual medidas da espessura da pele foram obtidas por exame de ultrassom em 198 neonatos com idade gestacional entre 25 e 42 semanas. A avaliação da pele sobre o antebraço e pé foi realizada no primeiro dia de vida. As espessuras das camadas da pele foram comparadas entre neonatos com peso adequado (AIG), pequeno (PIG) e grande (GIG) para a idade de acordo com a curva Intergrowth-21st, pelo teste ANOVA. A associação entre espessura da pele e a estimativa de idade gestacional foi verificada por modelos de regressão.

Resultados: Não houve influência dos perfis de crescimento fetal na espessura epidérmica ($p=0,903$; $p=0,431$), dérmica ($p=0,194$; $p=0,496$), pele total ($p=0,192$; $p=0,515$) e relação derme/epiderme ($p=0,239$; $p=0,540$), para antebraço e pé, respectivamente. O melhor modelo para correlacionar a espessura da pele com a idade gestacional foi obtido com a medida da epiderme no antebraço, que assumiu função quadrática, $r=0,607$, $R^2=0,369$ ($p<0,001$).

Conclusão: O estudo sinaliza uma nova oportunidade para relacionar a idade gestacional com as camadas da pele neonatal ao nascimento, uma vez que não houve influência dos perfis de crescimento fetal.

Palavras-chaves: pele, recém-nascido, ultrassom, embriologia da pele, idade gestacional, prematuridade.

ABSTRACT

Introduction: *Gestational chronology is the most important marker of newborn survival. The uncertain of the information can result in neonatal risks, besides leading to problems in the classification of the neonate in growth curves and to modify a proportion of preterm infants. Currently, with the advancement of obstetric and neonatal technologies, new markers that cover the chronology of human pregnancy are demanded. It is believed that the thickness of the neonatal skin is one of the evolutionary parameters with the potential to estimate the chronology of pregnancy. The thickness of the human skin can be obtained safely and non-invasively through ultrasound examination.*

Objective: *To verify if the thickness of the neonatal skin measured by ultrasonography is able to estimate the gestational age at birth, considering the profiles of fetal growth in the measurements of the skin layers.*

Methods: *Cross-sectional observational study in which measurements of skin thickness were obtained by ultrasound examination in 198 neonates with gestational age between 25 and 42 weeks. Evaluation of the skin on the forearm and foot was performed on the first day of life. The thicknesses of the skin layers were compared between neonates with adequate weight (AIG), small (SGA) and large (GIG) for age, according to the Intergrowth-21st curve, using the ANOVA test. The association between skin thickness and the estimated gestational age was verified by regression models.*

Results: *There was no influence of the fetal growth profiles on epidermal thickness ($p = 0,903$, $p = 0,431$), dermal ($p = 0,194$, $p = 0,496$), total skin ($p = 0.192$, $p = 0.515$) and dermis / epidermis ratio ($p = 0.239$, $p = 0.540$), for forearm and foot, respectively. The best model to correlate skin thickness with gestational age was obtained with the measurement of the epidermis in the forearm, which assumed quadratic function, $r = 0.607$, $R^2 = 0.369$ ($p < 0.001$).*

Conclusion: *The study indicates a new opportunity to relate gestational age to neonatal skin layers at birth since there was no influence of fetal growth profiles.*

Key words: *skin, newborn, ultrasound, skin embryology, gestational age, prematurity.*

LISTA DE FIGURAS

DISSERTAÇÃO

Figura 1 – Imagem histológica da pele de natimorto de 40 semanas gestacional.....	19
Figura 2 – Embriologia da pele humana.....	21
Figura 3 – Espessura da pele intrauterina.....	24
Figura 4 – Aparelho de ultrassom portátil DermaLab USB SkinLab.....	26
Figura 5 – Imagem ultrassonográfica da pele normal.....	27
Figura 6 – Exame de ultrassonografia da pele do neonato.....	31
Figura 7 – Exame de ultrassonografia da pele do neonato na região anterior distal do antebraço e região plantar do pé.....	32
Figura 8 – Interface do <i>Software</i> DermaLab USB SkinLab.....	33

ARTIGO CIENTÍFICO

Figure 1 – <i>Image of the skin over the forearm by high-frequency ultrasound with automated epidermal thickness estimation.....</i>	40
Figure 2 – <i>Magnitude of skin layers thickness of 198 newborns, during the first day of life.....</i>	43
Figure 3 – <i>Epidermal skin thickness of the skin of forearm versus gestational age at birth.....</i>	46
Figure 4 – <i>Neonatal skin with dermal layer measurements of stillbirths from biopsies over the plantar face of foot.....</i>	47

LISTA DE TABELAS

DISSERTAÇÃO

Tabela 1 – Cronologia gestacional a partir da ultrassonografia obstétrica.....17

Tabela 2 – Espessura da pele de recém-nascidos, medida por OCT e ultrassonografia...25

ARTIGO CIENTÍFICO

Table 1 – *Clinical characteristics of the studied gestation and newborns, considering birth weight patterns*.....42

Table 2 – *Environmental conditions during the newborn assessment*.....44

Table 3 – *Variation of skin thickness at birth based on the birthweight patterns and site of examination in the newborns*.....45

LISTA DE QUADROS

DISSERTAÇÃO

Quadro 1 - Embriologia da pele humana em semanas gestacionais, a partir da fecundação.....21

Quadro 2 - Características ultrassonográficas da pele normal (humana e porcina).....28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DISSERTAÇÃO

AIG	Adequado para idade gestacional
CA	Circunferência Abdominal
CCN	Comprimento Cabeça Nádega
CF	Comprimento do Fêmur
DBP	Diâmetro Biparietal
DUM	Data da Última Menstruação
GIG	Grande para idade gestacional
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Perímetro Cefálico
PIG	Pequeno para idade gestacional
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

ARTIGO CIENTÍFICO

AGA	<i>Adequate for Gestational Age</i> - Adequado para idade gestacional
BMI	<i>Body Mass Index</i> - Índice de Massa Corpórea
CI	<i>Confidence Interval</i> - Intervalo de confiança
FWHM	<i>Full With a Half-Maximum</i> – Completo com a metade máximo
GA	<i>Gestational Age</i> - Idade gestacional
IQRs	<i>Interquartile Ranges</i> - Intervalo interquartil
LGA	<i>Large for Gestational Age</i> - Grande para idade gestacional
NICU	<i>Neonatal Intensive Care Unit</i> - Unidade de tratamento intensivo neonatal
SD	<i>Standard Deviations</i> - Desvio padrão
SGA	<i>Small for Gestational Age</i> - Pequeno para idade gestacional

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. A cronologia da gestação.....	15
2.1.1. Importância da idade gestacional.....	15
2.1.2. A cronologia gestacional pela informação clínica.....	15
2.1.3. A cronologia gestacional pela ultrassonografia obstétrica.....	15
2.1.4. A avaliação da cronologia gestacional no período neonatal.....	16
2.2. Perfis de crescimento fetal.....	17
2.3. A pele humana e suas camadas.....	17
2.3.1. Epiderme.....	18
2.3.2. Derme.....	19
2.3.3. Embriologia da pele humana.....	19
2.4. Pele do neonato.....	22
2.4.1. Espessura da pele do neonato.....	23
2.4.2. Ultrassonografia da pele do neonato.....	25
3. OBJETIVOS	28
3.1. Objetivo geral.....	28
3.2. Objetivos secundários.....	28
4. METOLOGIA	29
4.1. Delineamento do estudo e aspectos éticos.....	29
4.2. Critérios de elegibilidade para seleção de neonatos.....	29
4.3. Coleta de dados clínicos.....	29
4.4. Exame ultrasonográfico da pele do neonato.....	30
4.5. Cálculo da espessura da pele do neonato.....	32
4.6. Classificação de crescimento fetal.....	33
4.7. Precisão da medida da espessura da epiderme em imagens de ultrassom.....	33
4.8. Análise estatística.....	33
5. RESULTADOS	35
5.1. Artigo científico.....	35
6. DISCUSSÃO	54
7. CONCLUSÃO	56
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
9. APÊNDICES E ANEXOS	63
9.1. Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	63
9.2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	64
9.3. Formulário de coleta de dados.....	65

1. INTRODUÇÃO

A cronologia gestacional é o marcador mais importante para sobrevivência do recém-nascido. Acredita-se que a determinação da idade gestacional com maior acurácia possa modificar positivamente os resultados perinatais¹, pois esse parâmetro auxilia na tomada de decisão da equipe de saúde, em relação ao melhor cuidado neonatal². Incertezas na cronologia da gestação são consideradas de risco potencial para o sucesso da gravidez. A possibilidade de identificação de outras ferramentas para essa estimativa tem utilidade na prática clínica, especialmente, nos casos em que os parâmetros clínicos e ultrassonográficos são inconclusivos ou inexistentes.

É fato que a imprecisão na cronologia da gravidez se inicia com a ausência de referencial clínico ou mesmo bioquímico fidedigno para a fecundação. Além disto, a duração do ciclo menstrual é variável entre as mulheres e muitas desconhecem a data da sua última menstruação (DUM)³. Somado a isto, o ultrassom obstétrico, salvo quando realizado no primeiro trimestre da gestação, e os escores pós-natais de maturação possuem erro esperado de 1 semana, variando de 2 a 3 semanas^{1; 4}.

Estas incertezas constituem, por um lado, um desafio para os atuais métodos de avaliação da idade gestacional e, por outro, estimulam o desenvolvimento de novas tecnologias, mais acessíveis para datação da gravidez⁵.

Sabe-se que durante a vida intrauterina o desenvolvimento da pele é contínuo e envolve etapas embriológicas e maturação progressiva das camadas da pele⁶. Atualmente, abordagens baseadas em equipamentos óticos têm se mostrado eficientes para caracterização da pele, de forma adicional ou em substituição à biópsia e estudo histológico^{7; 8}. O ultrassom de alta frequência é considerado um método preciso e não invasivo para estimar elementos constitutivos da pele^{9; 10; 11}. Acredita-se que a espessura da pele do neonato seja um dos parâmetros evolutivos com potencial de estimar a cronologia da gravidez, no entanto, não existem estudos específicos disponíveis, até o momento, que relacionam a medição não invasiva da espessura da pele com a idade gestacional.

Esta dissertação se insere na linha de pesquisa Tecnologia aplicada a saúde da mulher na área de concentração Perinatologia. Faz parte de um projeto de pesquisa chamado *Light*

Scan Skin Age, que foi contemplado com financiamento da Fundação Bill e Melinda Gates, na 14ª rodada do *Grand Challenges Exploration*, em 2015. Um grupo multidisciplinar de pesquisadores, sensibilizado com a grande incerteza em torno da idade gestacional, a falta de acesso a esse dado em todo o mundo, e a preocupação com o cuidado adequado ao recém-nascido, tem como desafio, desenvolver um novo método de estimativa da idade gestacional ao nascimento através de um dispositivo optoeletrônico. O dispositivo de baixo custo, que está sendo desenvolvido, irá realizar a leitura de propriedades biofísicas da pele através da luz. Para que esse dispositivo tenha a acurácia pretendida na determinação da duração da gravidez vários estudos sobre a pele neonatal estão em andamento sob a responsabilidade desse grupo de pesquisadores. O presente estudo avaliou a capacidade da técnica de ultrassonografia para mensuração da espessura da pele do neonato, a relação entre sua espessura e a idade gestacional e se os diversos perfis de crescimento fetal exerciam influências na espessura da pele mensurada à ultrassonografia".

Sou biomédica com habilitação em Toxicologia Analítica pela Universidade FUMEC e pós-graduada em Biomedicina Estética pelo Centro de pós-graduação e extensão Nepuga. Pesquisadora do Núcleo de Pesquisa de Informática em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Atuo no projeto de extensão: Aplicativo Meu Pré-natal, da Faculdade de Medicina da UFMG. Dispus de uma grande oportunidade de participar de um grupo de pesquisadores, que hoje faço parte, em um projeto de pesquisa chamado *Light Scan Skin Age*. Ao longo da minha graduação, por meio de iniciações científicas, esforcei-me para acompanhar pesquisas e me aproximar de grandes pesquisadores. Acreditava que um dia seguiria uma carreira acadêmica. E agora, mais do que nunca, sei que este trabalho poderá abrir portas para o meu futuro profissional e acadêmico. Este projeto de pesquisa preencheu lacunas da minha formação e espero ter sucesso nos desafios que a ele me comprometi.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cronologia da gestação

Por definição, a duração da gestação é medida a partir do primeiro dia do último período menstrual normal. A idade gestacional é expressa em dias ou semanas completas¹². Considera-se, do ponto de vista clínico, que a gestação humana tenha duração média de 280 dias, ou 40 semanas¹³. A forma mais correta de calcular o tempo de uma gravidez seria a partir do dia da concepção, porém, é quase impossível descobrir o dia exato em que ocorreu a fecundação¹⁴.

2.1.1. Importância da idade gestacional

O conhecimento da idade gestacional afeta a abordagem clínica durante a gravidez, no parto e no cuidado neonatal. O desconhecimento dessa informação pode resultar em riscos para o recém-nascidos, além de levar a problemas na classificação do neonato em curvas de crescimento e modificar a proporção de prematuros¹⁵.

A Pesquisa “Nascer no Brasil” (2014) destacou que 55% dos nascimentos acontecem sem a correta cronologia da gestação, resultante da falta de acesso ao exame de ultrassom no início da gravidez¹⁶. Esse índice é ainda pior em outros países da América Latina e África⁴. As principais causas de morte infantil no nosso país são as condições perinatais, predominantemente associadas à prematuridade (61,4%), que é considerada um problema de saúde pública no Brasil e com incidência crescente¹⁷. Ainda, de acordo com o estudo “Nascer no Brasil” (2014), 23,3% das mães apresentaram pré-natal inadequado, resultando um risco de morte neonatal quatro vezes maior em relação às que tiveram atenção adequada¹⁶. Acredita-se que a maioria destas vidas poderia ser salva a partir da pronta identificação da idade gestacional ao nascer seguida do provimento de cuidados apropriados. Sabe-se no entanto, que o problema da morte evitável vai além da idade gestacional, pois envolve um pré-natal de qualidade e atenção perineonatal adequada. Para promover melhor qualidade de vida a longo prazo, a identificação e o tratamento precoce dos desvios do desenvolvimento são estratégias efetivas para minimizar as consequências graves dos neonatos^{2; 18}. Em virtude dos inúmeros problemas apresentados pelos prematuros no período neonatal, dados na literatura sugerem que eles são os que recebem maiores cuidados na sala de parto¹⁹. Cuidados como suporte respiratório, manutenção rigorosa da temperatura ou o encaminhamento para um hospital que possua

unidade de tratamento intensivo neonatal são deliberações importantes neste contexto²⁰. Por isso, avaliar a viabilidade do recém-nascido e atendê-lo em suas necessidades detectando a prematuridade é fator crítico para sua sobrevivência.

2.1.2. A cronologia gestacional pela informação clínica

Essa contagem se inicia a partir do primeiro dia do ciclo menstrual em que a fecundação ocorreu, ou seja, da data da última menstruação (DUM), mas apenas para as mulheres com ciclo menstrual regular²¹. Usar o início do ciclo facilita a padronização do tempo de gravidez, mesmo que isso signifique alguns dias de diferença em relação ao real tempo de gestação²².

É consensual que o cálculo da idade gestacional e da data provável do parto, baseado na DUM, não é fidedigno já que vários problemas podem interferir com a validade deste método²³. A duração média de um ciclo menstrual é de 28 dias, mas existem ciclos mais curtos e mais longos, em resposta à variabilidade da fase folicular ser expressiva e nem sempre as mulheres ovulam no mesmo dia do ciclo menstrual³.

Além disto, no Brasil, uma grande parcela da população apresenta baixo nível de escolaridade – uma característica associada à pior qualidade da informação sobre a DUM²³. Nos casos em que se desconhece a DUM, ou quando ela é incerta, recorre-se a outras formas de cálculo da idade gestacional.

2.1.3. A cronologia gestacional pela ultrassonografia obstétrica

Atualmente, o método de maior acurácia para aferição da idade gestacional é o exame de ultrassom obstétrico no primeiro trimestre de gestação^{1; 24}. As medidas habitualmente usadas para estimar a idade gestacional variam com o período da gestação, sendo o comprimento cabeça-nádega (CCN) utilizado antes das 14 semanas e o diâmetro biparietal (DBP), o comprimento do fêmur (CF), o perímetro cefálico (PC) e a circunferência abdominal (CA) a partir de 14 semanas¹. A Tabela 1, apresenta como a cronologia da gestação pode ser ajustada pelo ultrassom obstétrico. Nota-se que no período em que o método de medida é o CCN, há uma menor diferença entre a data pelo ultrassom obstétrico e a DUM.

Tabela 1 – Cronologia gestacional a partir da ultrassonografia obstétrica

Faixa etária gestacional	Método de medida	Discrepância entre data de ultrassom obstétrico e DUM
<8 semanas e 6 dias	CCN	Mais que 5 dias
9 a 13 semanas e 6 dias	CCN	Mais que 7 dias
14 a 15 semanas e 6 dias	DBP,PC,CA,CF	Mais que 7 dias
16 a 21 semanas e 6 dias	DBP,PC,CA,CF	Mais do que 10 dias
22 a 27 semanas e 6 dias	DBP,PC,CA,CF	Mais do que 14 dias
>28 semanas	DBP,PC,CA,CF	Mais do que 21 dias

Fonte: Committee opinion n° 611: Method for estimating due date. *Obstet Gynecol* 2014.

A maior precisão no primeiro trimestre se explica porque antes das 13 semanas gestacionais os fatores externos e maternos influenciam pouco no desenvolvimento embrionário, portanto, há um crescimento com pouca variabilidade²⁵. Além disso, a estimativa neste período é feita a partir de apenas uma medida (CCN), o que favorece sua acurácia, e pode ser obtida pela via transvaginal, que oferece melhor qualidade de imagem em relação a via abdominal²⁴.

Na ausência do padrão-ouro para datação da gravidez, a estimativa é feita por uma combinação das informações relativas à DUM, ao exame físico da mãe e ao resultado das ecografias obstétricas²⁶.

2.1.4. A avaliação da cronologia gestacional no período neonatal

Ao nascer, existem recursos para estimativa da idade gestacional, utilizados de forma complementar aos antenatais, especialmente, no caso de dúvidas na datação. São importantes para classificar corretamente o recém-nascido. Os métodos mais utilizados na neonatologia para esse fim são: Método de Dubowitz, New Ballard e Método de Capurro^{27; 28; 29}. O score New Ballard, por exemplo, uma opção simplificada do score de Dubowitz, consiste na avaliação da idade gestacional de recém-nascido através da análise de 6 parâmetros neurológicos e 6 parâmetros físicos, a cada um dos quais se atribui uma pontuação que na somatória determinará a estimativa da idade gestacional. Este é o

método mais usado para esse fim, pois é mais rápido que o método de Dubowitz, pode ser feito em até 96 horas de vida e pode ser realizado em recém-nascidos doentes e com idade gestacional a partir de 20 semanas³⁰. Porém os escores de maturidade neonatal demandam capacitação e mesmo assim acompanham-se de erro entre 2 a 3 semanas⁴. Muito ainda precisa ser feito para que se possa ofertar métodos essenciais e acessíveis, aplicados à saúde para a determinação da idade gestacional⁵.

2.2. Perfis de crescimento fetal

A avaliação do crescimento fetal é um importante instrumento que profissionais de saúde utilizam para estimar as condições de saúde do recém-nascido³¹. O crescimento fetal é um indicador global de bem-estar, portanto, identificar e classificar adequadamente o recém-nascido é de extrema importância para sua saúde e qualidade de vida³². Essa avaliação pode ser prejudicada quando a idade gestacional é desconhecida ou imprecisa, afetando os resultados perinatais²⁰.

Existem curvas de crescimento fetal construídas por diferentes metodologias^{33; 34}. A definição de qual curva utilizar, a partir das muitas disponíveis representa um desafio, principalmente, porque existem diversos fatores que modificam os resultados finais, como por exemplo, raça/etnia.

A curva de crescimento fetal do grupo Intergrowth - 21st, é multiétnica e se ajusta às curvas da Organização Mundial de Saúde (OMS). Essa curva classifica a adequação do peso ao nascer de acordo com a idade gestacional³³. De acordo com Battaglia *et al.* (1967), são considerados Pequenos para Idade Gestacional (PIG) aqueles com peso ao nascer abaixo do percentil 10, Grandes para Idade Gestacional (GIG) os com peso acima do percentil 90 e Adequados para Idade Gestacional (AIG) os com o peso entre os percentis 10 e 90³⁵.

2.3. A pele humana e suas camadas

A pele, um órgão integrante do sistema tegumentar, é o revestimento externo do corpo, sendo considerada o maior e o mais pesado órgão humano³⁶. Devido à sua estrutura complexa é capaz de exercer diversas funções. Quando intacta, representa uma barreira para a perda descontrolada de água, além de limitar a velocidade de penetração de substâncias exógenas³⁷. A pele também possui funções de proteção contra ameaças físicas e contra o atrito, funções metabólicas e de termorregulação. É constituída por epiderme e

derme (Figura 1), tecidos intimamente unidos, que atuam de forma harmônica e cooperativa³⁸.

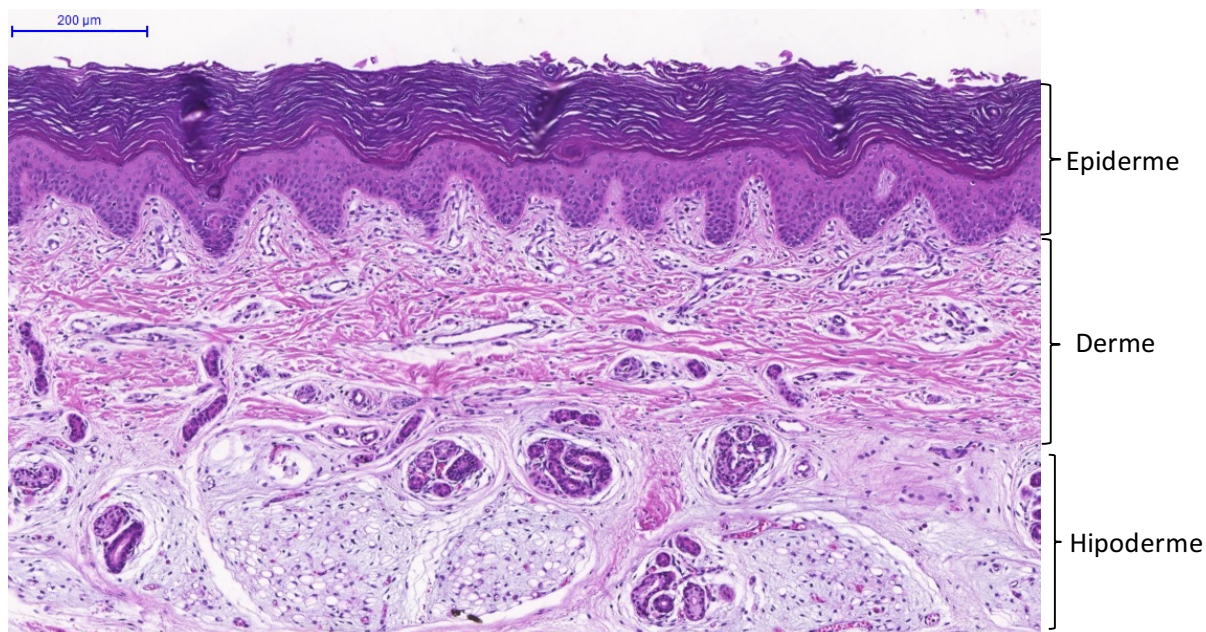


Figura 1 - Imagem histológica da pele de natimorto de 40 semanas gestacionais.

Aumento 200x; coloração: hematoxilina e eosina.

Fonte: Imagens da coleção do Projeto Skinage.

2.3.1. Epiderme:

A epiderme é a camada mais externa da pele, composta por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado. É avascular, sendo nutrida por difusão dos vasos sanguíneos do tecido conjuntivo subjacente. A epiderme possui cinco camadas - camada basal, camada espinhosa, camada granulosa, camada lúcida e camada córnea³⁷ – no sentido derme para a superfície e que apresentam as seguintes características:

- Camada Basal: Também chamada de estrato germinativo, é a camada mais profunda, delimitando-se com a derme. É constituída, habitualmente, por única fileira de queratinócitos que se dividem continuamente dando origem a todas as outras camadas³⁹.
- Camada Espinhosa: Formada por células provenientes da camada basal. É constituída por células com feixes de filamentos de queratina³⁸.
- Camada Granulosa: Nessa camada é possível identificar os grânulos de queratohialina, onde são sintetizadas proteínas envolvidas no processo da queratinização.

- Camada Lúcida: É constituída de células achatadas repletas de queratina e possui espessura variada em diferentes locais do corpo. Esta camada está mais evidente na pele sem folículos pilosos, ou seja, somente na pele da palma da mão e planta do pé³⁸.

- Camada Córnea: É a camada mais superficial da pele, também possui espessura variada em diferentes locais do corpo. Suas células são totalmente recobertas por queratina. Estas células não desempenham qualquer atividade vital³⁸.

2.3.2. Derme:

É a camada encontrada logo abaixo da epiderme, sendo separada da mesma por uma fina membrana basal composta por inúmeras pregas cutâneas. É constituída de tecido conjuntivo e responsável por cerca de 90% da espessura cutânea. O principal componente da derme é o colágeno, uma proteína fibrosa com função de resistir às abrasões mecânicas e manter a integridade estrutural do tecido⁴⁰. A derme é responsável pela resistência e elasticidade da pele, suporte estrutural; por amortecer impactos; pelo transporte de nutrientes; pelo espalhamento de células de defesa pelo corpo; e armazenamento gordura⁴¹.

A derme é subdividida em duas camadas:

- Camada papilar em contato com a epiderme, formada por tecido conjuntivo frouxo.
- Camada reticular, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, onde predominam as fibras colagenosas³⁹.

2.3.3. Embriologia da pele humana

A pele constitui-se de porção epitelial de origem embriológica ectodérmica, formando a epiderme, e porção conjuntiva de origem embriológica mesodérmica formando a derme e estruturas epidérmicas⁴². A proliferação e diferenciação do ectoderma embrionário em camadas, embora seja de mecanismo pouco compreendido, é o que irá resultar nas propriedades bioquímicas e funcionalidades da pele adulta⁴³. Holbrook et al, 1975 descreveram a estratificação epidérmica e o estado de queratinização nas diferentes idades de gestacionais⁴⁴, como apresenta a Figura 2.

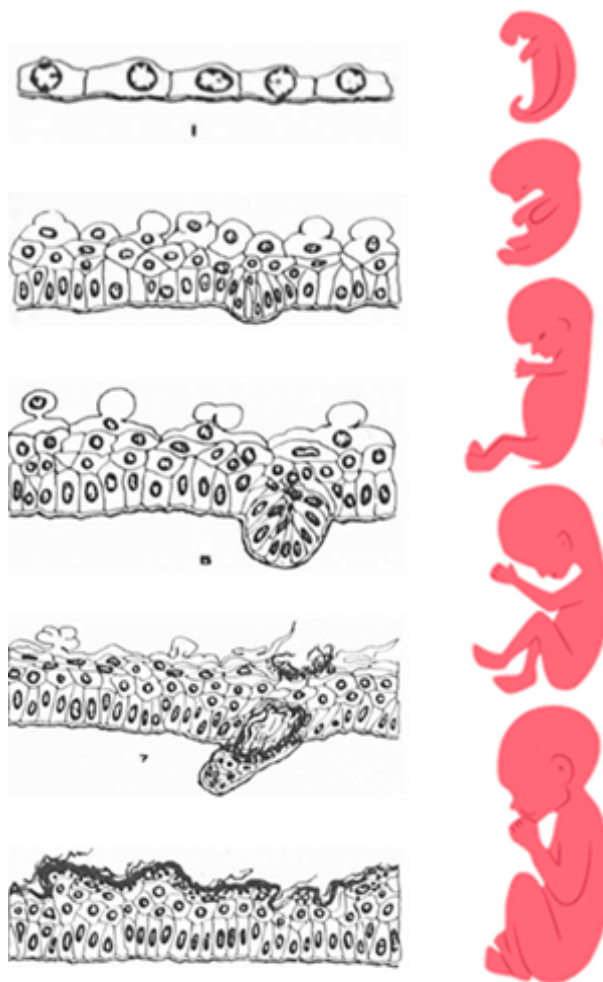


Figura 2 – Embriologia da pele humana
 Fonte: Adaptado de Holbrook, 1975

O desenvolvimento da pele é um processo contínuo na vida intrauterina e não parece ser afetado pela má nutrição ou anomalias cromossômicas⁴⁵. Durante a vida intrauterina, o desenvolvimento da pele em camadas é contínuo e diretamente relacionado à idade gestacional⁶. A seguinte sequência evolutiva da pele é capaz de descrever a duração da gestação (Quadro 1):

Quadro 1 - Embriologia da pele humana em semanas gestacionais, a partir da fecundação.

1 ^a semana	Ocorre a fecundação.
2 ^a semana	Formação do disco embrionário bilaminar (epiblasto e hipoblasto).

3 ^a semana	Formação do disco embrionário trilaminar (ectoderma, mesoderma e endoderma). Epiderme primitiva consiste de uma única camada de células epiteliais achatadas ⁴⁶ .
4 ^a semana	Epiderme primitiva apresenta um aspecto cuboide ⁴⁶ . Formação do estrato basal ou germinativo ⁴⁷ . Surgimento da periderme - epitélio pavimentoso ⁴⁶ .
6 ^a semana	Epiderme primitiva consiste em duas camadas: a periderme e o estrato basal ^{42; 44} .
8 ^a semana	Formação da membrana basal que separa a epiderme da derme.
11 ^a semana	Surgimento de uma nova camada intermediária (entre a camada basal e periderme) ⁴⁸ . Surgimento da derme (sem matriz fibrosa) ⁴¹ .
12 ^a semana	Os fibroblastos começam a produzir feixes de colágeno. Surgimento das primeiras papilas dérmicas e epidérmicas. Formação inicial de glândulas merócrinas (controle de temperatura).
13 ^a semana	Derme possui feixes de fibras organizados e uniformemente densos em toda a parte ⁴¹ .
15 ^a semana	Camada papilar e reticular da derme começam a se distinguir. Formação inicial de glândulas sebáceas e sudoríferas.
16 ^a semana	Início da queratinização celular. Início de folículos pilosos ⁶ .
17 ^a semana	Aparecimento da camada adiposa.
18 ^a semana	Cabelo visível ⁶ .
21 ^a semana	Surgimento de grânulos de querato-hialina e corpos lamelares. Estratificação da camada intermediária, formando, inicialmente, o estrato espinhoso, seguido pelo estrato granuloso e o estrato córneo.
24 ^a semana	Células da periderme são gradualmente descartadas no fluido amniótico, junto com o lanugo, sebo e outros materiais. Fibroblastos produzem fibras elásticas.
25 ^a semana	Papilas tornam-se reconhecíveis na superfície dos dígitos.
29 ^a a 30 ^a semana	Ductos glandulares tornam-se enovelados com múltiplas secções na profundidade da derme ⁶ .

34 ^a semana	Desenvolvimento epidérmico completo ⁴⁹ .
35 ^a semana	Fibras elásticas começam a amadurecer.

Fonte: Criado pelo autor

A pele é anatomicamente madura ao nascer, constituída pelas mesmas cinco camadas identificadas no adulto⁴⁶. No entanto, sua capacidade funcional continuará a ser adquirida após o nascimento⁴⁵. Um aspecto importante visto em análise histológica sugere que o desenvolvimento epidérmico se torna completo intraútero com aproximadamente 34 semanas de idade gestacional, mas, só se torna funcional na primeira semana de vida⁴⁹.

A periderme é uma estrutura não queratinizada, totalmente embrionária e é perdida intraútero assim que ocorre a queratinização da epiderme definitiva. A derme, ao nascer, transita entre fetal e adulta, quanto à sua organização, espessura e tamanho dos feixes de fibras. Uma porção significativa do tecido conjuntivo fibroso é sintetizado pós-natal⁵⁰.

A partir de 24 semanas, a epiderme de quase todas as regiões do corpo já é queratinizada. A queratinização é gradualmente desenvolvida, começa a partir da 16^a semana e torna-se completa nos últimos meses de gestação, pois, no momento em que a periderme é descartada, as células queratinizadas são formadas protegendo o feto com um sistema de revestimento impermeável ao fluido amniótico⁴⁸.

Em estudo anterior, Ersch et al., 1999, relataram padrões de fácil reconhecimento à histologia da pele, preditivos da idade gestacional com 97% de acurácia⁶. Esta avaliação, no entanto, é invasiva e baseada em cortes histológicos provenientes de necropsias.

2.4. Pele do neonato

Os recém-nascidos prematuros possuem o tegumento subdesenvolvido e uma fina camada de estrato córneo. Apresentam pele mais fina e gelatinosa que os recém-nascidos a termo⁴⁹, como é representada na Figura 3, onde evidencia a estratificação e queratinização com o passar da idade gestacional.

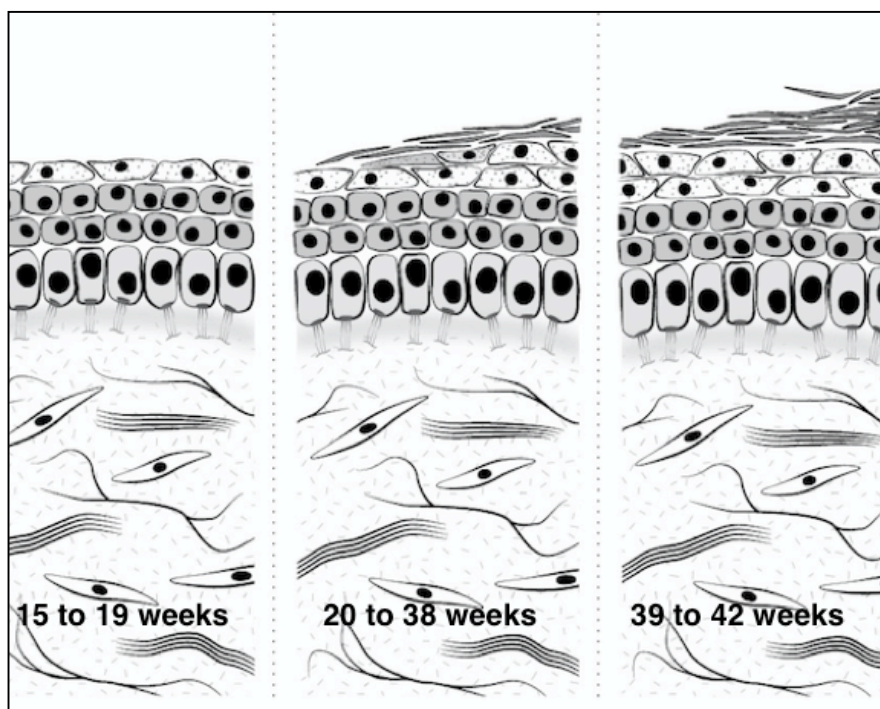


Figura 3 – Espessura da pele intrauterina
 Fonte: Criado pelo autor

Possuem taxas elevadas de perda de água e perda de calor transcutâneo, além de dificuldade em manter a homeostase⁴⁹, e ter barreira impermeável deficiente⁵⁰. Isso explica alguns riscos à sua sobrevivência, como por exemplo a perda de água, descontrole térmico e variações no peso corporal⁵⁰.

O período neonatal, em particular, é o momento em que a pele está se adaptando de um ambiente úmido e quente com temperatura constante para um ambiente com variações de temperatura.

2.4.1. Espessura da pele do neonato

A espessura da pele humana tem sido objeto de muitos estudos invasivos e não invasivos. O conhecimento quanto à espessura da pele do neonato possibilita a quantificação de parâmetros como perda de água transepidermica, hidratação do estrato córneo, além da avaliação integral do estado da barreira cutânea⁹. É possível também, avaliar a eficácia de fármacos e cosméticos neonatais de via dermatológica⁵¹.

A variabilidade anatômica da espessura da pele é um tema conhecido⁵². A espessura e a estruturação em camadas da epiderme variam com o local estudado, sendo mais espessa e complexa na palma da mão, planta dos pés e junto a algumas articulações, conhecida

como pele glabra por não possuir pelos³⁸. Nos demais locais, a pele humana é fina em sua maior parte, principalmente sobre as pálpebras e próximo dos genitais. Na pele fina, a epiderme é mais simples, faltando, frequentemente, a camada lúcida, e sendo a camada córnea muito reduzida⁴⁵.

A espessura da pele de recém-nascidos já foi descrita anteriormente^{52; 53}. Estudos anteriores, utilizaram métodos, como o ultrassom de alta frequência e o exame de Tomografia de Coerência Ótica para realizar esta medição de forma não-invasiva, como descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Espessura da pele de recém-nascidos, medida por OCT e ultrassonografia.

Local do corpo		Valores de espessura
Epiderme	Antebraço	0,070mm (variando de 0,056 a 0,077mm)
Epiderme	Abdome	0,063mm (variando de 0,049 a 0,070mm)
Epiderme	Calcanhar	0,084mm (variando de 0,084 a 0,091mm)
Epiderme	Perna	0,063mm (variando de 0,056 a 0,070mm)
Epiderme	Testa	0,063mm (variando de 0,056 a 0,063mm)
Derme	Abdome	0,63mm (variando de 0,47mm no baixo peso e 0,80mm no sobrepeso).
Derme	Lombar	0,72mm (variando de 0,52mm no baixo peso e 0,85mm no sobrepeso).
Pele total	Abdome	2,24mm (variando de 1,13mm no baixo peso e 3,57mm no sobrepeso).
Pele total	Lombar	2,34mm (variando de 1,31mm no baixo peso e 3,21mm no sobrepeso).

Fonte: Adaptado de Petersen e Shivko.

A espessura do estrato córneo é influenciada por diversos fatores, como exposição ao sol, uso de substâncias tóxicas, mas as maiores variações são em relação a idade gestacional e local do corpo^{53; 54; 55}. Outras influências como o índice de massa corpórea, fototipo cutâneo, sexo e a origem étnica são questionáveis⁵⁴.

A análise da espessura da pele com base em avaliações não invasivas para verificar a relação com a idade gestacional e os efeitos do crescimento fetal intrauterino é uma

abordagem inovadora. Existem poucos relatos sobre a medição não invasiva da espessura da pele do neonato, incluindo principalmente crianças prematuras.

2.4.2. Ultrassonografia da pele do neonato

O ultrassom de alta frequência é um método não invasivo que permite avaliação *in vivo* dos aspectos fisiológicos e patológicos do sistema tegumentar^{11; 52}. Representa uma alternativa mais aceitável, pelo fato de ser indolor, em relação à biópsia de pele, rotineiramente usada no campo dermatológico¹⁰.

O aparelho de ultrassom portátil DermaLab USB SkinLab Series da Cortex Technology (Figura 4) dispõe de uma sonda de ultrassom de alta frequência (20 MHz). Essa sonda de medição de espessura da pele permite a melhor resolução nas imagens-superficiais⁵⁶.



Figura 4 – Aparelho de ultrassom portátil DermaLab USB SkinLab, Cortex Technology. Fonte: Cortex Technology., DermaLab ® Series SkinLab USB Instrution Manual 2015.

Sua resolução é de 60 a 200 μm , e sua capacidade de penetração é de 3,4 mm com ganho totalmente ajustável (10 dB). A sonda também possui um transdutor rotativo, um comprimento de varredura de 17 mm. O sistema tem capacidade de exibir medidas reais e em tempo real, armazenadas lado a lado⁵⁶. A visualização de todas as camadas da pele é vista em cortes seccionais. A imagem de ultrassom é gerada a partir da intensidade do sinal recebido referindo-se a uma escada de cores (Figura 5).

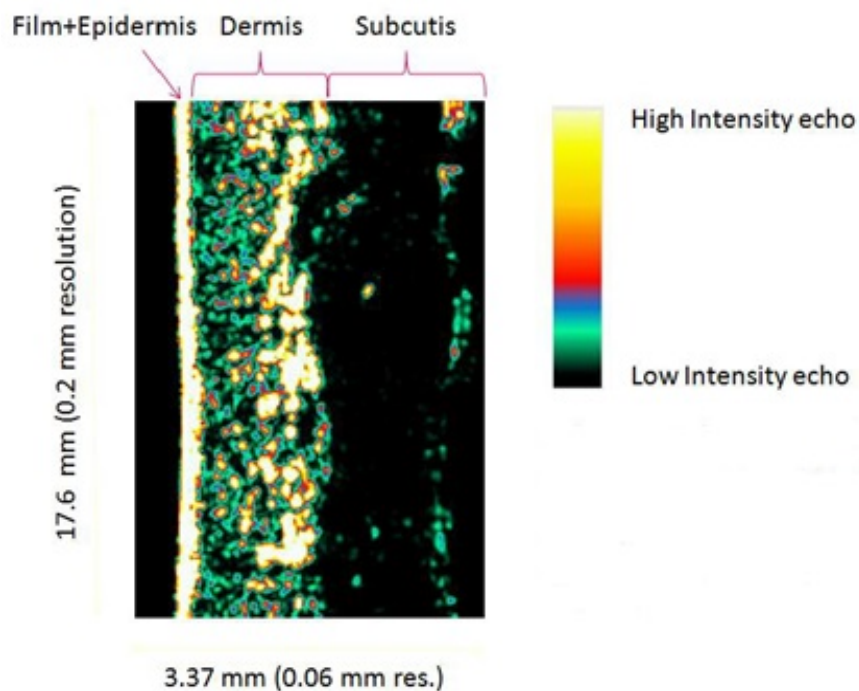


Figura 5 - Imagem ultrassonográfica da pele normal.

Fonte: Cortex Technology., DermaLab® Series SkinLab USB Instrution Manual 2015.

A cor escura representa eco de baixa intensidade e a cor clara uma alta intensidade, ou seja, as cores escuras representam áreas da pele com baixa reflexão, isto é, nenhuma ou pequenas alterações na densidade entre as estruturas da pele. As cores brilhantes representaram áreas com reflexões fortes, ou seja, mudanças significativas em densidades entre estruturas⁵⁷.

A epiderme proporciona uma intensidade alta de eco (branco amarelado) e a derme uma mistura de muitas cores. As fibras musculares e adiposas subcutâneas retornarão um sinal de baixa intensidade (verde escuro e preto). A derme é caracterizada pela variação de cores, e a hipoderme por áreas de baixa intensidade devido a uma composição homogênea⁵⁸, como mostra o Quadro 2.

Quadro 2 – Características ultrassonográficas da pele normal (humana e porcina).

	Componente da pele	Características ao ultrassom (sonda 20 MHz)
Epiderme	Estrato córneo	Forte eco de entrada na dependência da espessura do estrato córneo.
	Camada celular	Banda fina ecolucente, usualmente, não mensurável.
Derme	Derme papilar	Região pobre em ecos, mas intercalada com áreas de alta ecogenicidade.
	Derme reticular	Região rica em ecos, a maioria originados das fibras colágenas.
	Hipoderme	Região pobre em eco, mas com fina rede de colágeno de alta ecogenicidade.
Inclusões	Vasos sanguíneos. Folículos pilosos. Glândulas sebáceas	Seu interior é pobre em ecos, porém, as paredes dos vasos podem possuir alta ecogenicidade
Camada muscular	Tecidos muscular e conectivo	Áreas ricas em ecos com alinhamento regular de fibras, apesar do tecido muscular em si ser pobre em ecos.

Fonte: Adaptado de Rippon M, et al., 1998.

A maioria dos estudos publicados utilizando a ultrassonografia da pele envolve análise do fotenvhecimento¹⁰, análise de locais adequados para vacinação em crianças¹¹, estudos de lesões de carcinoma e melanoma⁵⁹, além de avaliar efeitos de fármacos tópicos⁵⁴. Não identificamos na literatura nenhum estudo que tenha realizado uma avaliação evolutiva da espessura da pele do neonato ou verificação de possível associação dessa espessura com a cronologia gestacional e estado de nutrição intrauterino. Isso, torna o presente estudo, até o momento, inédito.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Verificar se a espessura da pele do neonato medida por ultrassonografia é capaz de inferir a idade gestacional ao nascer.

3.2 Objetivos secundários

Avaliar a capacidade da técnica de ultrassonografia para mensuração da espessura da pele do neonato.

Avaliar a influência dos perfis de crescimento fetal na espessura das camadas cutâneas ao nascimento.

4 METOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos

Esta pesquisa do tipo observacional transversal foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Projeto: CAAE: 49798915.2.0000.5149 – Anexo 1) e foi realizada no período de janeiro a dezembro de 2016. Todas as gestantes com seus respectivos recém-nascidos que aceitaram participar do estudo, receberam previamente informações completas e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Anexo 2).

4.2 Critérios de elegibilidade para seleção de neonatos

Foram selecionados 198 recém-nascidos nascidos nas maternidades do Hospital das Clínicas da UFMG e do Hospital Sofia Feldman no período de janeiro a dezembro de 2016.

Foram incluídos recém-nascidos vivos, de idade gestacional entre 25 a 42 semanas ao nascer, que tiveram sua idade gestacional estimada por ultrassonografia obstétrica precoce, ou seja, até 13 semanas gestacionais.

Não foram incluídos recém-nascidos com existência de doenças fetais que possam interferir no desenvolvimento da pele intrauterina, como a hidropisia fetal, anidramnio e malformações que se associam a anormalidades da pele (genodermatoses), além de estado de corioamnionite confirmado com evidências de infecção no neonato.

4.3 Coleta de dados clínicos

Dados maternos e neonatais de interesse foram obtidos através de breve entrevista com a gestante, consulta em prontuário clínico e consulta em base de dados hospitalar do Hospital das Clínicas - UFMG, SISMater® (Sistema de Informação sobre Saúde Materno-Neonatal)⁶⁰. Os dados foram coletados em um formulário criado pelos pesquisadores para cada recém-nascido avaliado (Anexo 3) que, posteriormente, foi transferido para base de dados digital.

Dados coletados:

- Dados maternos: nome da gestante, número do prontuário materno, risco gestacional (baixo ou alto risco), doença materna e/ou perinatal, DUM, cor de pele (Escala de Fitzpatrick), altura e peso da gestante no momento do parto, data e idade gestacional do primeiro ultrassom obstétrico.
- Dados do parto: data e hora de nascimento, idade gestacional ao nascimento.
- Dados do recém-nascido: número do prontuário neonatal, sexo, peso ao nascer, comprimento e perímetro cefálico, intervenções neonatais nas primeiras 24 e 48 horas de vida (necessidade de incubadora, assistência ventilatória como intubação, uso de surfactantes e outros).
- Dados do exame: dia e hora do exame ultrassonográfico de pele, espessura dérmica relatada pelo *Software* DermaLab USB SkinLab, condições ambientais, como temperatura e umidade do ambiente ou incubadora.

4.4 Exame ultrassonográfico da pele do neonato:

Cada neonato teve sua pele avaliada e submetida ao exame de ultrassonografia da pele com o aparelho de ultrassom portátil DermaLab USB SkinLab Series da Cortex Technology. A avaliação neonatal ocorreu nas primeiras 24 horas de vida, logo que possível após o nascimento, com tempo médio de 3 a 5 minutos (Figura 6).



Figura 6 - Exame de ultrassonografia da pele do neonato.
Fonte: Imagem dos autores, fotografia com permissão dos pais.

Os neonatos foram abordados com todos os cuidados necessários, com mínima manipulação para manutenção da temperatura corporal e do calor na incubadora. Os recém-nascidos foram avaliados no colo materno quando no alojamento conjunto, berço comum, berço aquecido ou incubadora quando assistidos em Unidade de Tratamento Intensivo, enfermaria, ou onde estavam sendo cuidados para preservação de suas condições clínicas. A ultrassonografia de alta frequência examinou a pele sobre o antebraço, na região anterior distal, e a face plantar do pé. (Figura 7).



Figura 7 - Exame de ultrassonografia da pele do neonato na região anterior distal do antebraço e região plantar do pé.

Fonte: Imagem dos autores, fotografia com permissão dos pais.

A sonda de ultrassom foi previamente preparada com anteparo de solução aquosa (água bidestilada) conforme recomenda o fabricante⁵⁶. Para realização do exame, um examinador devidamente treinado direcionou o transdutor verticalmente nas áreas

escolhidas a serem digitalizadas. Nos locais da aferição da espessura da pele foi espalhada uma camada fina de gel previamente aquecido. A imagem de melhor qualidade da pele do neonato foi obtida massageando a pele com movimentos leves da sonda para que o gel se distribua uniformemente. A digitalização da pele foi obtida uma ou mais vezes até obter uma imagem de boa qualidade, sem artefatos (Figura 8). Antes da análise dos dados, foi feita uma revisão final da qualidade de cada imagem ultrassonográfica, uma a uma.

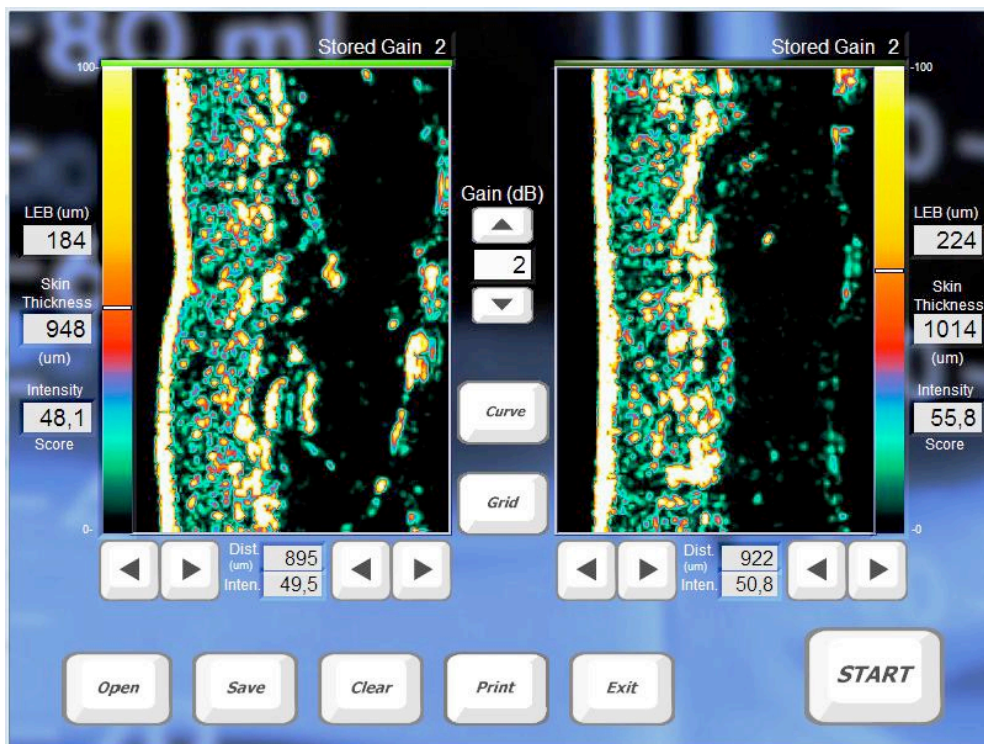


Figura 8 - Interface do *Software* DermaLab USB SkinLab.
Fonte: Imagem dos autores.

4.5 Cálculo da espessura da pele do neonato

A cada imagem de ultrassom gravada, o *software* embutido DermaLab USB SkinLab calculou automaticamente a espessura média da derme em micrometros. A espessura média da epiderme não pôde ser aferida por este mesmo equipamento, para isto, foi desenvolvido um novo *software* capaz de detectar automaticamente as bordas da epiderme e estimar sua espessura a partir das imagens de ultrassom.

O *software* Skin® (INPI: 5120160005181), de linguagem Phyton, permite que os pixels da imagem que representam a epiderme sejam detectados, delimitando a área de interesse. O cálculo da espessura epidérmica baseou-se no conhecimento do tamanho de um pixel⁶¹.

A partir de uma amostra pré-definida de medidas de espessura, reamostrada randomicamente por n vezes (bootstrap), a espessura média e seu desvio-padrão foram calculados automaticamente através da distribuição de valores de espessura obtidos. Um histograma de frequência da espessura estimada acompanhou o resultado.

4.6 Classificação de crescimento fetal

Para classificação do crescimento fetal ao nascer, foram utilizados a idade gestacional, o peso ao nascer e uma curva de referência. A idade gestacional ao nascer foi calculada com base em ultrassonografia obstétrica realizada no primeiro trimestre da gravidez, tomada em semanas e dias para classificação do estado nutricional e em semanas e seus decimais para os cálculos estatísticos. O peso ao nascer foi o registrado em prontuário clínico, em gramas. Os grupos de interesse foram organizados de acordo com a tabela de crescimento no padrão Intergrowth – 21st³³, e calculado o percentil com base na calculadora Intergrowth – 21st *on-line*⁶². Foram considerados PIG, os recém-nascidos com peso ao nascer abaixo do percentil 10, GIG os com peso acima do percentil 90 e AIG os nascidos com o peso entre os percentis 10 e 90³⁵.

4.7 Precisão da medida da espessura da epiderme em imagens de ultrassom

Precisão foi definida como a capacidade de oferecer o mesmo valor tomado no mesmo local do corpo muitas vezes, através do cálculo de coeficiente de variação e seu intervalo de confiança de 95%.

Considerando que a espessura epidérmica medida pelo novo software desenvolvido Skin® nunca foi descrita, a precisão das medidas foi calculada em uma amostra de 28 voluntários adultos utilizando imagens ultrassonográficas de pele abdominal por apresentar melhor qualidade de imagem. Foram realizadas 30 imagens em um mesmo local em cada voluntário por avaliador treinado, totalizando 837 imagens analisadas.

4.8 Análise estatística

As características clínicas, as variáveis maternas e neonatais de interesse quando numéricas, foram descritas através de medidas de tendência central e respectivas variabilidades, conforme natureza da sua distribuição. Para variáveis com distribuição Gaussiana, empregou-se a média e o desvio padrão e para as variáveis assimétricas, a

mediana com intervalo interquartil ou valor máximo e mínimo. As variáveis categóricas foram apresentadas por sua frequência absoluta e relativa.

A associação entre variáveis categóricas foi analisada por testes Qui-Quadrado de Pearson e o teste de razão de verossimilhança *Likelihood Ratio*, quando indicado. A espessura das camadas cutâneas, epiderme, derme e pele total foram associadas aos padrões de crescimento fetal: PIG, AIG e GIG. As variáveis numéricas foram comparadas em subgrupos pelo teste de ANOVA quando apresentaram distribuição normal, e pelo teste de Kruskal-Wallis quando não-normais. O teste Post-HOC foi utilizado para verificar diferenças entre os subgrupos. A espessura da pele foi analisada, em função da idade gestacional pela análise de regressão univariada. Modelos não-lineares de regressão foram ajustados para melhor adequar a correlação entre os preditores e o desfecho. O melhor modelo foi considerado aquele que apresentou maior coeficiente de determinação (R^2). Foi empregado o teste de normalidade para análise residual. O nível de significância para os testes de hipóteses foi de 5%. O intervalo de confiança empregado foi 95% (Intervalo de confiança) e o software utilizado foi o SPSS®, versão 23.

5 RESULTADOS

Os resultados encontrados são demonstrados em formato de artigo científico submetido em 12/04/2017 para revista BMC Pregnancy and Childbirth (2016/2017 Impact Factor: 2.263)

5.1 Artigo científico

Skin thickness as a potential marker of gestational age at birth despite different fetal growth profiles: a cross-sectional analysis

Short title: Skin and age at birth

Vitral, Gabriela Luiza Nogueira², Aguiar, Regina Amélia P. Lopes^{2,3}, de-Souza, Ingrid Michelle Fonseca¹, Rego, Maria Albertina Santiago⁴, Guimaraes, Rodney do Nascimento^{1,2}, and Reis, Zilma Silveira Nogueira^{1,2,3,*}

¹Center of Health Informatics, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

²Postgraduation Program of Women's Health, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

³Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

⁴Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Current Address: Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Professor Alfredo Balena, 190, sala 601, CEP 30.130.100 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

*Corresponding author; Zilma Reis. Avenida Professor Alfredo Balena, 190, sala 601, CEP 30.130.100 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. E-mail: zilma@medicina.ufmg.br. Telephone and Fax: +553134099928. Orcid.org/0000-0001-6374-9295 ResearcherID:H-8105-2013.

Abstract

Background

New methodologies to estimate gestational age at birth are demanded to face limited access to obstetric ultrasound, and imprecision of postnatal scores. The study analyzed the correlation between neonatal skin thickness and duration of pregnancy, investigating the influence of anormal profiles of fetal growth in the tissue layer dimensions at birth.

Methods

In the study, 198 selected infants were assessed within 24 hours after birth for referral neonatal care. Reliable information on gestational age based on the first trimester obstetric ultrasound result was the required criterion. In the cross-sectional analysis, the thickness of the skin layers, epidermis and dermis, was examined in accordance with the standards of fetal growth: adequate-for-gestational-age (AGA), small-for-gestational-age (SGA), and large-for-gestational-age (LGA). High-frequency ultrasound scanned the skin over the forearm and foot plantar surface of the newborns. A dedicated software was developed to assess the skin thickness from the ultrasound images automatically. The statistical analyses determined the influence of underweight and overweight profiles on the skin thickness at birth. The regression model was adjusted to determine the correlation of gestational age with the skin layer dimensions.

Results

About a quarter of the newborns had an inappropriate fetal growth according to gestational age. After excluding eight images, 388 (98.0%) skin images were selected according to quality. The best model to correlate skin thickness with gestational age was fitted using the epidermal layer on the forearm site. The non-linear multivariate model assumed a quadratic function ($R = 0.607$, $R^2 = 0.369$, $P < 0.001$). Epidermal thickness was not fetal-growth-standard-dependent: 172.5 (20.0) μm for AGA, 171.6 (21.5) μm for SGA, and 179.7 (14.8) μm for LGA ($P = 0.903$, average [SD] on the forearm). Dermal layer thickness on the forearm and plantar surface had a negative moderate linear correlation with gestational age ($R = - 0.556$, $P < 0.001$; $R = - 0.416$, $P < 0.001$, respectively).

Conclusions

The analysis highlights a new opportunity to relate the gestational age at birth to the skin layer thickness. Since this parameter was not influenced by the standard of fetal growth, skin maturity can contribute to clinical applications, considering that high-risk newborns

are often affected by intrauterine growth disturbances and new markers for postnatal gestational age are demanded.

Keywords: ultrasound; aging skin; skin thickness; newborn; small-for-gestational-age; large-for-gestational-age; gestational age

Background

Noninvasive skin thickness measurement is an approach in medicine applied in different healthcare areas. Skin image analysis has been supporting innovations in health protection [1, 2] and improvements in cancer research [3]. Diagnostic imaging methods offer a view into the skin layers in vivo and in real-time. It has advantages over the histology in that it provides timely results, and morphology maintenance highlights the importance of noninvasive image analyses [2]. High-frequency ultrasonography had a previous validation as a method in determining dermal and subcutaneous thickness [4, 5].

Cutaneous aging is a biological phenomenon studied in adults and elderly. Skin thickness, dermal density, and echogenicity changes are part of the maturity process documented by imaging markers and comparable to histological parameters [6]. During intrauterine life, the skin development process is a continuum that involves embryological steps and maturation of the skin layers, including the stratum corneum [7, 8]. The connection of an age-related morphologic post-mortem pattern of the fetal skin was previously reported with a high concordance with the chronology of gestation [9]. To date, the relationship between skin layer thickening with the age or nutritional status of a newborn has not been established.

The neonatal age at birth is determined by the chronology of gestation in weeks. The first trimester obstetric ultrasound result is the standard that establishes or confirms the gestational age (GA) [10]. However, limited access to obstetric ultrasound, late prenatal care, and imprecision of postnatal scores of maturity hinders the assessment of the actual GA [11, 12]. Unknown or inaccurate GA results in risks for infants at birth, since caregivers take critical decisions based on the degree of prematurity [13]. Besides, the lack of quality in GA information results in misclassification of newborn nutrition, resulting in inexact proportions of small-for-gestational-age (SGA) and large-for-gestational-age (LGA) infants [14, 15]. New methodologies to estimate GA are claimed by health policies to offer more democratic and easy-to-use solutions, mainly in low- and medium-income countries [11, 12, 16]. This study investigated the influence of

underweight and overweight infant profiles on the skin layer dimensions, analyzing the correlation between the length of pregnancy and neonatal skin thickness at birth.

Subjects and methods

In this cross-sectional study, 198 liveborn infants in tertiary referral neonatal care hospitals from January to December 2016 were selected in accordance with the eligibility criteria. The protocol of research was approved by the institutional review boards in Brazil, register number: CAAE 49798915.2.0000.5149. The inclusion criteria were neonates with GA >25 weeks calculated using an early ultrasound performed before 14 weeks [10]. Infants with fetal diseases that can affect the skin structure [17], such as fetal hydrops, anhydramnios, or genodermatoses, or clinical evidence of intrauterine infections were not included.

The groups of interest were arranged in accordance with the growth chart for newborns and the calculated percentile based on the Intergrowth standard [18, 19] using the on-line Intergrowth Calculator [20]. The definition of SGA was based on the distribution of live births at a given GA, taking into account birth weight values below the 10th percentile. LGA infants were the newborns with birth weight values above the 90th percentile of the expected GA. Adequate-for-gestational-age (AGA) infants included those with birth weight values between the 10th and 90th percentiles [21].

Neonatal assessment was performed as soon as possible after birth during the first day of life. The infants were evaluated in the mother-child room or in the neonatal intensive care unit (NICU), inside their incubators or in an open heating crib, wherever they were taken care of to ensure minimum manipulation and stable clinical conditions. A handheld DermaLab® USB Series ultrasound from Cortex Technology scanned the skin over the internal forearm and on the plantar surface of the foot once or more until a good quality of image without artifacts was obtained [22]. A mechanical/circular (20 MHz) probe with a resolution of 60 mm × 200 mm, penetration capacity of 3.4 mm, adjustable gain settling of 10 dB, scan length of 17 mm, and footprint of 11 mm was used. Before data analysis, a final quality review checked the image storage data one by one.

Automated measurements of skin layer thickness involved the use of two different software of digital image processing. DermaLab® embedded software provided dermal measurements but not epidermal thickness. For the epidermal axial dimension estimation, we developed a dedicated software in Python language [23]. The ultrasound skin image

(Figure 1A) with a 356×276 -pixel resolution automatically identified the epidermis (white layer in Figure 1B, which was separated in a new frame in Figure 1C). The calculation of the epidermal thickness for each line in the image array was based on the size of the pixel in the frame obtaining 356 thickness values. Using a bootstrap technique in the selected sample size with 70 lines, the software resampled the thickness values 2,000 times, obtaining a frequency distribution (Figure 1D). From a Gaussian distribution adjustment curve to the epidermis measurement, the peak was the thickness value, and the full width with a half-maximum (FWHM) area was the sigma error value. During the image quality analysis, the measurements with non-normal distributions were promptly indicated to promote a visual inspection of the ultrasound image.

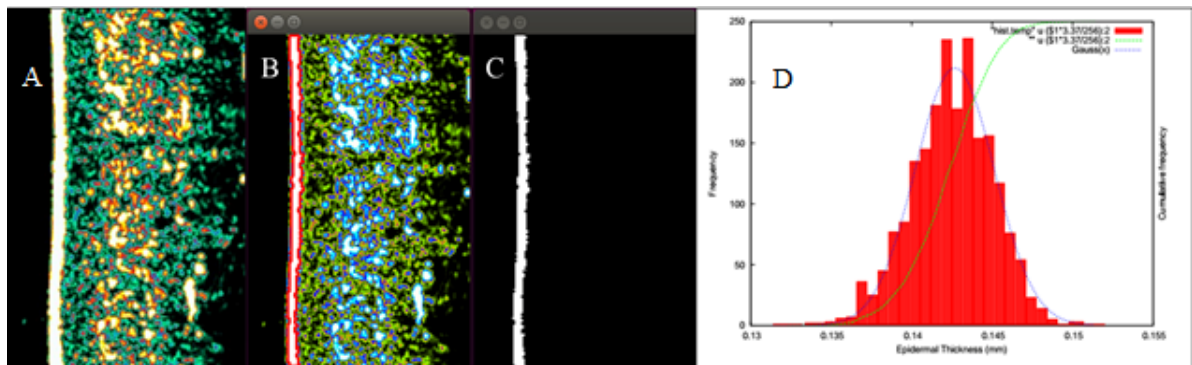


Figure 1 – Image of the skin over the forearm by high-frequencyultrasound with automated epidermal thickness estimation

Note: (A) Skin image by ultrasound (B) Red color corresponds to the automated epidermis boundaries' detection by software. (C) Image corresponds to the white and black limits of the epidermis to mean thickness estimation. (D) Software output with mean skin thickness and its variability. Total skin thickness was the sum of epidermis and dermis measures.

Statistical analysis

The descriptive statistics assessed the clinical, skin measure, and environmental variables during the assessment. Depending on the data distribution, quantitative variables were presented as means (95% confidence interval [CI]), standard deviations (SDs), medians (minimum and maximum), or interquartile ranges (IQRs). Magnitude of the skin layer thickness was presented using histograms of frequency. Qualitative variables were presented as absolute values and percentages. The clinical characteristics of the infants and thickness of skin layers were described in accordance with the standard fetal growth: AGA, SGA, and LGA [20, 21] and compared using Kruskal-Wallis or Chi-

square tests.

Considering that the skin layer measures are dependent on the visual quality of the images and ultrasound equipment functionality adjustments and that epidermal thickness measurement using the ultrasound machine was not reported yet, the precision of the thickness measurements was calculated in a sample of 28 volunteer adults aged 18 to 50 years. Abdominal skin image scanning and automated processing using our dedicated software [23] were performed. Precision was defined as the ability to report the same value taken on the same site of the body for several times. The coefficients of variation of 30 assessments per person were calculated, and the precision of the measurements was estimated using twice the standard deviations of the mean as the repeatability. The coefficients of variations of epidermal thickness were <1% (mean, 0.34%) for all 28 adults, and the number of their scanned images was 837. The precision of the measurements was 0.114 mm to 0.187 mm for the images with 0.150-mm thickness.

Growth standard-dependent differences in the skin layer thickness were determined using a one-way ANOVA or Kruskal-Wallis and Post-hoc test. A regression analysis was performed to determine the correlation between skin thickness parameters and GA for each body site. Non-linear models were adjusted to fit the correlation between predictors and outcomes better. The best body site on the newborn skin to correlate with GA was inferred from the regression coefficients obtained in the scatter plot of skin layer thickness versus GA. Coefficients of determination (adjusted R^2) were determined on the basis of the hypothesis that all coefficients were 0. A normality test for the residual analysis was performed. The statistical program SPSS® 22.0 was used for the analysis. The significance level adjusted for the hypothesis test was set at 5% with 95% CIs.

Results

Newborn characteristics

About a quarter of the 198 infants had an inappropriate fetal growth expected for their GA (48, 24.2%; underweight, 33, 16.7%; overweight, 15, 7.6%). GA at birth and prematurity rate were similar between the groups (Table 1, lines 1 and 2). There was a maternal nutrition-dependent difference in the neonatal classification of fetal growth, with lower body mass index (BMI) in the SGA group related to AGA ($P = 0.031$) and LGA ($P = 0.025$) infants (Table 1, line 4). Further, major malformations and longer NICU

stays were more frequent in the SGA infants (Table 1, lines 5 and 8).

Table 1 Clinical characteristics of the studied newborns considering their birth weight patterns

	AGA	SGA	LGA	Total	
Clinical and obstetric characteristics	n = 150 (75.8%)	n = 33 (16.7%)	n = 15 (7.7%)	n = 198 (100.0%)	P
Gestational age, weeks	37.6	35.9	37.7	37.6	
median (min-max)	(26.1–41.8)	(26.7–40.5)	(31.6–41.0)	(26.1–41.8)	0.158*
Prematurity, n (%)	68 (45.3%)	19 (57.6%)	5 (33.3%)	92 (46.5%)	0.252 [¶]
Birth weight, g	2887.5**	1830.0**	3990.0**	2742.5	<
median (min-max)	(840 to 3990)	(510 to 2810)	(2025 to 4340)	(510 to 4340)	0.001*
Maternal nutrition (BMI), kg/m ²	29.3	27.6**	30.5	29.2	
median (min-max)	(20–42.9)	(18.8–74.2)	(21.8–46.1)	(18.8–74.2)	0.040*
Major malformations, n (%)	7 (4.7%)	6 (18.2%)	2 (13.3%)	15 (7.6%)	0.037 [§]
Twinning, n (%)	18 (12.0%)	2 (6.1%)	0	20 (10.1%)	0.108 [§]
Male sex, n (%)	81 (54.0%)	16 (48.5%)	9 (60.0%)	106 (53.5%)	0.740 [¶]
NICU at the assessment, n (%)	49 (32.7%)	18 (54.5%)	3 (20.0%)	70 (35.4%)	0.025 [¶]
Incubator staying, n (%)	47 (31.3%)	15 (45.5%)	3 (20.0%)	65 (32.8%)	0.161 [¶]

AGA = Appropriate-for-gestational-age; LGA = Large-for-gestational-age; SGA = Small-for-gestational-age; BMI = body mass index; NICU: neonatal intensive unit care. *Kruskal-Wallis Test, **Significant Post-hoc test value, [§]Chi-square test by likelihood ratio, [¶]Pearson's Chi-square Test.

Three hundred eighty-eight skin images were selected based on quality after excluding eight (2.0%) images. The magnitude of skin thickness of the epidermal and dermal layers of the 198 newborns during the first day of life was presented as histograms of frequency (Figure 2).

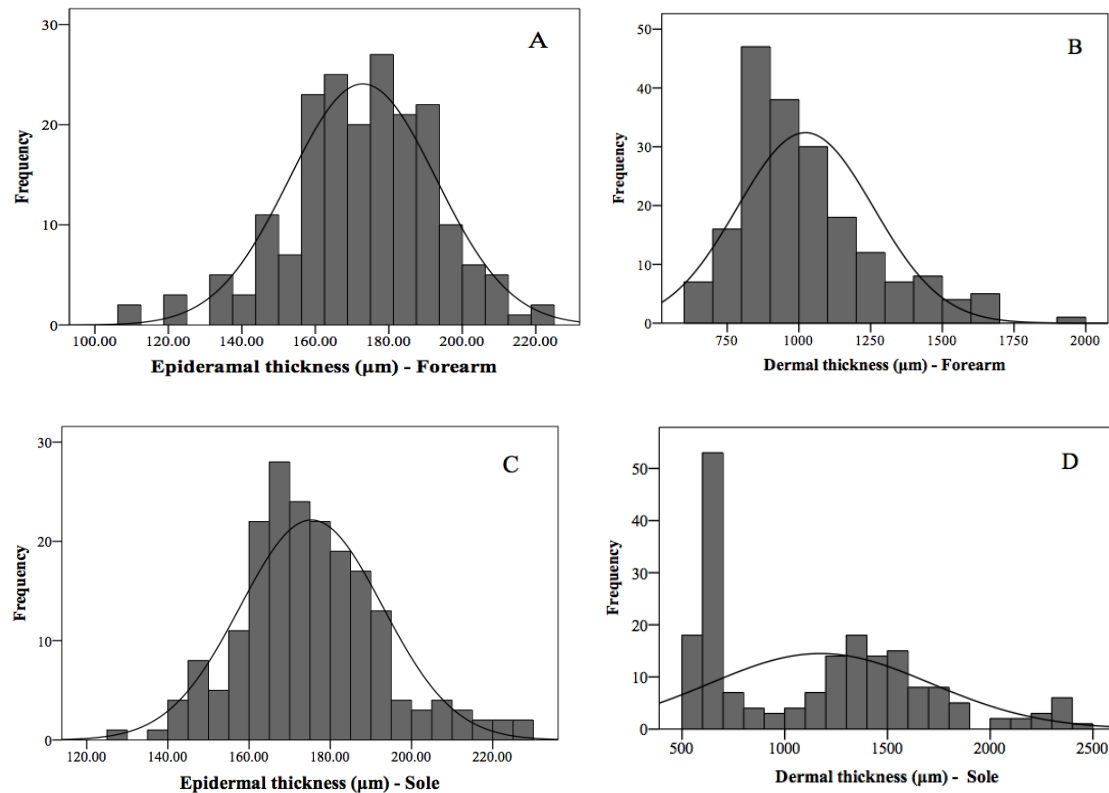


Figure 2 – Magnitude of skin layers thickness of 198 newborns, during the first day of life.

Note: (A) Distribution corresponds to the epidermal skin over forearm. Values: N = 193; Mean = 172.9 (20.0) μm ; (170.1 to 175.8) 95% CI of mean. (B) Distribution corresponds to the dermal skin over forearm. Values N = 193; Mean = 1022.9 (237.6) μm ; (989.1 to 1056.6) 95% CI of mean. (C) Distribution corresponds to the epidermal skin over the plantar face. Values: N = 195; Mean = 175.4 (17.6) μm ; (172.9 to 177.3) 95% CI of mean. (D) Distribution corresponds to the dermal skin over plantar face. Values: N = 195; Mean = 1173.6 (534.0) μm ; (1097.7 to 1249.4) 95% CI of mean.

Some of the newborns (70, 35.4%) were assessed in the NICU under variable conditions of temperature and humidity, depending on the installed interventions as incubators, equipment, catheters, and medical devices. The other newborns in the maternal-child room received phototherapy inside incubators or in open heating cribs. Environmental conditions during the scanning are presented in Table 2.

Table 2 Environmental conditions during newborn assessment

Environmental parameters	n	Values
Ambient temperature, °C (average [SD])	198	25.9 (2.0)
Ambient humidity, % (average [SD])	198	57.4 (6.5)
Incubator temperature, °C (average [SD])	67	33.7 (1.7)
Incubator humidity, % (median [range])	61	52.0 (59)
Newborn temperature*, °C (average [SD])	35	36.9 (0.4)
Oximetry at the beginning of assessment*, % (median [IQR])	35	96.5 (2.8)
Oximetry at the ending of assessment*, % (median [IQR])	35	96.0 (1.8)

SD = standard deviation. IQR = interquartile range

*Note: under monitoring

Skin layer thickness at birth

Epidermal thickness had a normal distribution, and the mean (SD) dimensions were similar between the groups, considering the skin on the forearm and plantar surface (Table 3, lines 2 and 7). Dermis, dermis/epidermis ratio, and total skin had asymmetric distributions and were presented as medians and IQRs. There were no birthweight pattern-dependent differences in the skin layer thickness of the dermis on the forearm ($P = 0.194$) and plantar surface ($P = 0.496$), despite the asymmetric trimodal distribution of the latter data (Figure 2D). There were also no median (IQR) differences in the dermis/epidermis ratio or total skin thickness on the forearm and plantar surface (Table 3).

Table 3 Variation of skin thickness at birth based on the birthweight patterns and site of examination in the newborns

	AGA	SGA	LGA	Total	
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	P
Skin over the forearm	N = 147	N = 32	N = 14	N = 193	
Epidermis (µm)	172.5 (20.0)	171.6 (21.5)	179.7 (14.8)	172.9 (20.0)	0.903 [†]
Dermis (µm)	948.0 (263)	1066.5 (306.0)	948.0 (310.0)	974.0 (275.0)	0.194 [*]
Dermis/epidermis ratio	5.5 (2.00)	6.0 (2.04)	5.4 (5.4)	5.6 (1.98)	0.239 [*]
Total skin (µm)	1123.2 (251.1)	1250.3 (315.1)	1130.1 (300.2)	1154.1 (252.4)	0.192 [*]
Skin over the plantar surface	N = 147	N = 33	N = 15	N = 195	
Epidermis (µm)	174.7 (17.5)	178.2 (17.9)	176.1 (17.6)	175.4 (17.6)	0.431 [†]
Dermis (µm)	1251.0 (895.0)	1211.0 (906.0)	685.0 (737.0)	1224.0 (882.0)	0.496 [*]
Dermis/epidermis ratio	6.9 (5.3)	6.2 (5.2)	4.3 (5.4)	6.8 (5.2)	0.540 [*]
Total skin (µm)	1406.3 (880.7)	1387.4 (934.5)	898.7 (728.4)	1387.4 (877.6)	0.515 [*]

AGA = Appropriate-for-gestational-age, LGA = Large-for-gestational-age, SGA = Small-for-gestational-age, SD = standard deviation, IQR = interquartile range, [†]ANOVA, ^{*}Kruskal-Wallis Test.

Epidermal skin thickness on the forearm correlated with the gestation length in all newborns. The best adjusted univariate model to explain the correlation between skin epidermal thickness and the GA was that which included the epidermal layer on the forearm in the quadratic function: equation: $Thickness = -112.6 + 12.9 GA - 0.14 GA^2$; $R = 0.607$, $R^2 = 0.369$, $P < 0.001$ (Figure 3). In this model, the residual values of GA that were not explained by the univariate model had a normal distribution (Shapiro-Wilk Test, $P = 0.935$).

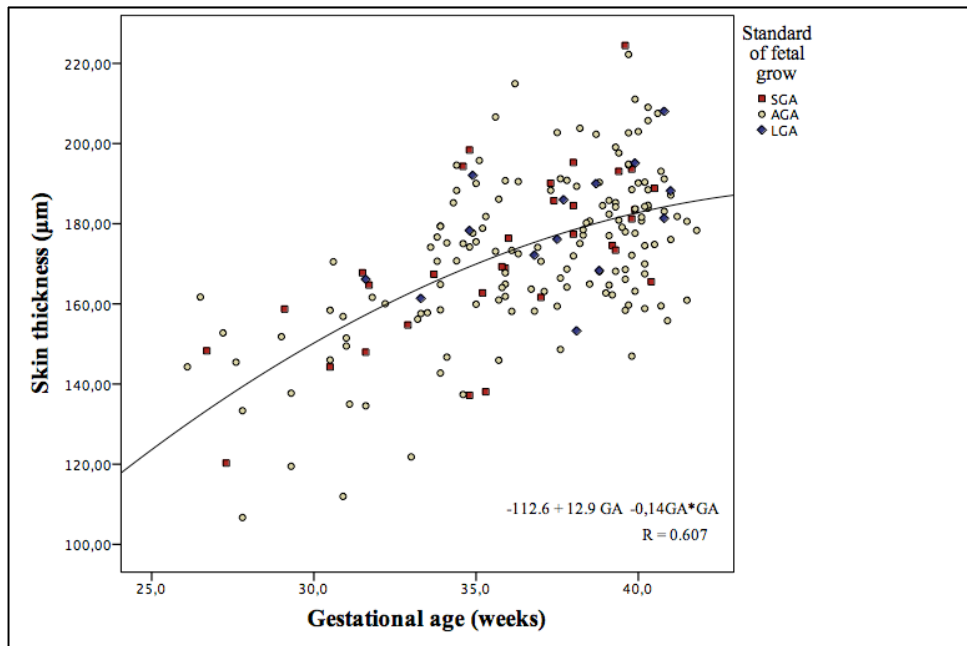


Fig 3. Epidermal skin thickness of the skin of forearm versus gestational age at birth.

Note: Equation: $Thickness = -112.6 + 12.9GA - 0.14GA^2$; $R = 0.607$, $R^2 = 0.369$, $P < 0.001$

Epidermal skin thickness on the plantar surface had no linear correlation with GA ($R = 0.087$, $R^2 = 0.008$, $P = 0.288$). Dermal skin thickness on the forearm and on the plantar surface had a negative linear correlation with GA: $R = -0.556$, $R^2 = 0.309$, $P < 0.001$ for the forearm and $R = -0.416$, $R^2 = 0.173$, $P < 0.001$ for the plantar surface.

Discussion

Main findings of the study

The birth weight patterns did not influence the epidermal and dermal thickness. This might be because the dimensions did not include the subcutaneous fat layer. Skin development has a layered organization, including the avascular epidermis and vascularized dermis [17, 24]. The epidermal layer is essentially formed by keratinocytes since 20 weeks of gestation and becomes functional late in the fetal life [25]. Neonatal skin contains less total lipids compared to adult skin [26]. The noninvasive epidermal skin measurement on the forearm correlated with the gestation length, mirroring the intrauterine stratification and keratinization of the surface responsible for tissue thickening. Our results can detect the lack or small effect of fetal growth input on skin thickening. The negative correlation between the dermal layer thickness and GA,

although weak, deserves more attention and further investigation. Skin anchoring evolution in the dermis and lipid skin barrier over the epidermis are related to expressive structural modifications [27] that can be associated with progressive dermis changes.

To support this reasoning, we used the skin images at 21, 34, and 40 weeks of gestation where the dermal layer was more defined and is less thick at term (Figure 4).

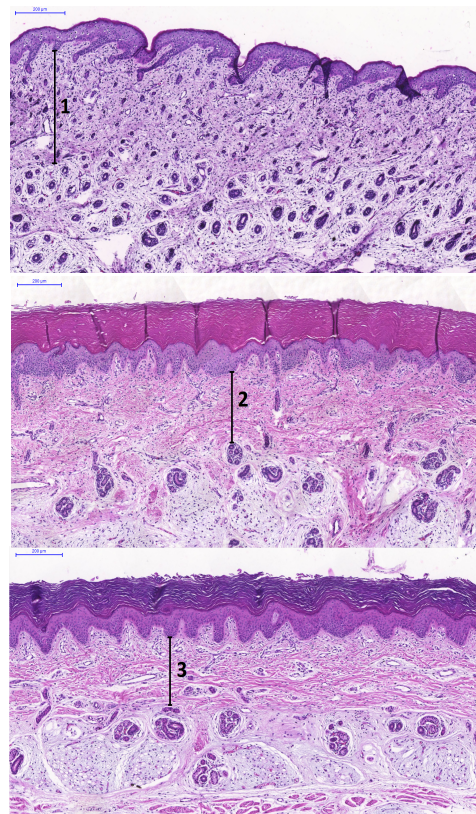


Figure 4 - Neonatal skin with dermal layer measurements of stillbirths from biopsies over the plantar face of foot

Note: Scale: 200 μm . (A) at 21 weeks of gestation, 406.5 μm (B) at 34 weeks of gestation, 284.6 μm (C) skin at 40 weeks of gestation.

Comparison with previous studies

Skin thickness analysis based on noninvasive assessments to verify the intrauterine fetal growth effects is a novel approach. There are few reports on noninvasive neonatal skin thickness measurement, mainly including premature infants. A pioneer study on the neonatal skin using a high-frequency ultrasound evaluated the relation of the epidermal, dermal, and subcutaneous fat thickness to the skinfold measure to support the nutritional evaluation in the neonatal period [28]. In this study, we found that the skin

thickness magnitude on the plantar surface was comparable with that of Petersen et al. in which they used an equivalent image acquisition but only in seven newborns [28]. Other studies reported the anatomical variability of skin thickness to support vaccine delivery in 384 children after 4 months of age [29] and 10 children in another study to verify the effects of fitness on the skin [4]. Physiologic skin structure modifications throughout the lifespan included skin thickness in 42 infant and adult subjects [30]. Despite GA influence on the epidermal thickness in our sample, the skin layer dimensions were comparable with these previous findings.

The comparability and credibility of our results can be attributed to the learning curve of our team (GLNV and IMFS) before the newborn assessments to beware of the repeatability control and automated measurements of epidermal and dermal thickness via digital image processing software. High-risk newborn evaluations demanded previous trainings and rigid procedure standardizations to avoid contamination and manipulation risks during the ultrasound examination to obtain reliable data. Environmental control (particularly temperature) during newborn assessment was a concern, since internal body heat can affect skin thickness during physical activity [30]. Those conditions were stable during the assessments. High-frequency ultrasonography skin thickness measurement has previously shown precision, reproducibility, and validation as a method in determining only dermal and subcutaneous thickness in various anatomical locations [4, 5, 30] combined with gold standard methods [3, 31, 32]. We tested our own measurement repeatability for epidermal thickness, which corroborated previous reliabilities for the dermal and subcutaneous layers.

Strengths and limitations

The asymmetric dermal dimension distributions taken on the plantar surface directed the attention for a bias. This finding was not surprising, since the examiners noticed plantar reflex stimulation when the probe with a jelly touched the skin over the foot during the assessment as expected in newborns [17]. We still attributed the absence of linear and non-linear correlations with GA in this site to unpredictable plantar contraction variations, affecting the skin elasticity during in vivo analyses. Furthermore, dermis detection limits via high-frequency ultrasound in extremely premature infants weighing 510 g, as in our sample, were not reported. The dermal layer did not appear to be well-defined as in the epidermis layer in the premature infant images and may not have been adequately measured by the equipment-embedded software.

The outcomes in this study should be interpreted with restraint. The high-risk pregnancy rate represents referral neonatal services, not the general newborn population. Further, low birth weight, intrauterine growth restriction, and prematurity are complex and heterogeneous antenatal health problems with multifactorial etiologies [33, 34] that may not be entirely represented in our sample, limiting the generalizability of our results. The expected fetal growth is a marker of the health of pregnant women and long-term adverse consequences reflected in the compositions of neonatal tissues, organs, and functions [33, 35, 36]. Further analyses using other study designs focusing on fetal growth abnormalities are still necessary to confirm our initial interpretation.

Based on the gold standard GA using a noninvasive postnatal method, such outcomes can influence the search for postnatal gestational length markers. The GA accuracy estimated at birth has great variabilities because of the fetal intrinsic growth potentials and maternal influences on the intrauterine nutrition, resulting in inexact due dates. For instance, maternal diseases complicating pregnancy [37], socioeconomic status [34], and fetal malformations impact fetal nutrition and functional maturation of systems [33, 38]. In fact, in our sample, SGA was related to major fetal malformations and maternal BMI.

Despite the established gold standard for GA [10], not all pregnant women needing opportune ultrasound could access it [12]. In developing countries, lack of obstetric ultrasound access is a concern [12], and accurate gestation chronology data are frequently not available [39]. Unplanned pregnancy and late prenatal care are situations not exclusive in resource-constrained countries [40], which challenge advances and new GA markers at birth. A new opportunity to infer the GA at birth based on the epidermal thickness emerged. Hidden prematurity is the clinical target that needs to be achieved, considering that high-risk newborns are often affected by intrauterine growth disturbances.

Conclusion

We emphasize skin thickness as a newborn maturity marker at birth, without the influence of the fetal growth standard; the newborns' weight (underweight or overweight) has a potential to be added to the neonatal maturity scores and GA prediction. Nevertheless, we still believe that skin maturity, reflected in thickness dimension, can contribute to clinical applications aiding in better classification of groups with low birth

weight, prematurity, and intrauterine growth restriction, which are directly linked to GA accuracy.

Declarations

Abbreviations: gestational age (GA); adequate-for-gestational-age (AGA); small-for-gestational-age (SGA); large-for-gestational-age (LGA); neonatal intensive care unit (NICU); full width at half-maximum (FWHM); confidence interval (CI); standard deviations (SDs); interquartile ranges (IQRs); BMI: body mass index.

Ethics approval and consent to participate: The institutional review boards in Brazil approved the protocol of the research (registry number: CAAE 49798915.2.0000.5149, Plataforma Brasil: <http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil>). Informed consent to participate in the study was obtained from all participants.

Consent for publication: not applicable.

Availability of data and material: The dataset supporting the conclusions of this article is available in the [skinage] repository, [http://skinage.medicina.ufmg.br/wp-content/uploads/2017/03/DATA_BASE_SKIN.xlsx].

Competing interests: The authors declare a patent deposit number BR1020160256020 on behalf of the Universidade Federal de Minas Gerais and Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais. The inventors of the device were Zilma Silveira Nogueira Reis and Rodney Nascimento Guimaraes. The device was developed to estimate GA at birth by skin optical reflectance.

Funding statement: This research was supported by the Grand Challenges Exploration from the Bill & Melinda Gates Foundation (Grant number BMGF:01818000251): <http://www.gatesfoundation.org/> and Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais, Brazil: <http://www.fapemig.br/en/>. Revision in the manuscript written in English was supported by Pro-Reitoria de Pesquisa of Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil PRPq (Call number 02/2017; <http://www.ufmg.br/prpq>). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The authors thank Professor Geraldo Brasileiro Filho, Pathologist, for the Figure 4 preparation and his comments on it.

Authors' contributions: All the following authors also contributed equally to this work. Gabriela Vitral, Regina Amélia P. Lopes Aguiar, and Zilma Silveira N Reis were responsible for the conceptualization and methodology development and contributed to

the writing of the original draft preparation, review, and editing of the manuscript. Ingrid Michelle Fonseca, Maria Albertina S. Rego, and Rodney Guimarães contributed to the methodology execution, data collection, and manuscript review and agreed with the manuscript results and conclusions.

Acknowledgements: The authors thank the neonatology staff of Hospital das Clínicas of Universidade Federal de Minas Gerais and Sofia Feldman Hospital, which are both tertiary referral hospitals for high-risk newborns in the City of Belo Horizonte, Brazil.

References

1. Lambert PH, Laurent PE. Intradermal vaccine delivery: will new delivery systems transform vaccine administration? *Vaccine* 2008; 26: 3197–3208.
2. Sattler E, Kästle R, Welzel J. Optical coherence tomography in dermatology. *J Biomed Opt* 2013; 18: 061224–061224.
3. Meyer N, Lauwers-Cances V, Lourari S, Laurent J, Konstantinou MP, Lagarde JM, Krief B, Batatia H, Lamant L, Paul C. High-frequency ultrasonography but not 930-nm optical coherence tomography reliably evaluates melanoma thickness in vivo: a prospective validation study. *Br J Dermatol* 2014; 171: 799–805.
4. Schou A, Thomsen K, Plomgaard A, Wolthers O. Methodological aspects of high-frequency ultrasound of skin in children. *Skin Res Technol* 2004; 10: 200–206.
5. Tan C, Statham B, Marks R, Payne P. Skin thickness measurement by pulsed ultrasound; its reproducibility, validation and variability. *Br J Dermatol* 1982; 106: 657–667.
6. Crisan D, Lupsor M, Boca A, Crisan M, Badea R. Ultrasonographic assessment of skin structure according to age. *Indian J Dermatol Venereol Leprolol* 2012; 78: 519.
7. Moll I, Moll R, Franke WW. Formation of epidermal and dermal merkel cells during human fetal skin development. *J Invest Dermatol* 1986; 87: 779–787.
8. Hardman MJ, Moore L, Ferguson MW, Byrne C. Barrier formation in the human fetus is patterned. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 1106–1113.
9. Ersch J, Stallmach T. Assessing gestational age from histology of fetal skin: an autopsy study of 379 fetuses. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 753–757.
10. Committee opinion no 611: method for estimating due date. *Obstet Gynecol* 2014; 124: 863–866. DOI 10.1097/01.AOG.0000454932.15177.be.
11. Lee AC, Mullany LC, Ladhani K, Uddin J, Mitra D, Ahmed P, Christian P, Labrique A, DasGupta SK, Lokken RP. Validity of newborn clinical assessment to determine gestational age in Bangladesh. *Pediatrics* 2016; 138: e20153303.

12. Karl S, Suen CSLW, Unger HW, Ome-Kaius M, Mola G, White L, Wangnapi RA, Rogerson SJ, Mueller I. Preterm or not—an evaluation of estimates of gestational age in a cohort of women from rural Papua New Guinea. *PLoS One* 2015; 10: e0124286.
13. Mason E, McDougall L, Lawn JE, Gupta A, Claeson M, Pillay Y, Presern C, Lukong MB, Mann G, Wijnroks M. From evidence to action to deliver a healthy start for the next generation. *The Lancet* 2014; 384: 455–467.
14. Wingate MS, Alexander GR, Buekens P, Vahratian A. Comparison of gestational age classifications: date of last menstrual period vs. clinical estimate. *Ann Epidemiol* 2007; 17: 425–430.
15. Pereira APE, Dias MAB, Bastos MH, do Carmo Leal M. Determining gestational age for public health care users in Brazil: comparison of methods and algorithm creation. *BMC Res Notes* 2013; 6: 1.
16. Adeyekun A, Orji M. Predictive accuracy of transcerebellar diameter in comparison with other foetal biometric parameters for gestational age Estimation among pregnant Nigerian women. *East Afr Med J* 2014; 91: 138–144.
17. Oranges T, Dini V, Romanelli M. Skin physiology of the neonate and infant: clinical implications. *Adv Wound Care* 2015; 4: 587–595. DOI 10.1089/wound.2015.0642.
18. Villar J, Ismail LC, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, Lambert A, Papageorghiou AT, Carvalho M, Jaffer YA. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21 st Project. *The Lancet* 2014; 384: 857–868.
19. Villar J, Papageorghiou AT, Pang R, Ohuma EO, Ismail LC, Barros FC, Lambert A, Carvalho M, Jaffer YA, Bertino E. The likeness of fetal growth and newborn size across non-isolated populations in the INTERGROWTH-21 st Project: the Fetal Growth Longitudinal Study and Newborn Cross-Sectional Study. *lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2: 781–792.
20. INTERGROWTH-21st Calculator. <http://intergrowth21.ndog.ox.ac.uk/en/ManualEntry/Compute> [Access date: 12/08/2016.].
21. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967; 71: 159–163.
22. Cortex Technology. DermaLab® Series SkinLab USB Instruction Manual. In *Book DermaLab® Series SkinLab USB Instruction Manual*, (eds). Cortex Technology: Hadsund, 2015.
23. Vitral G, Fonseca M, Magalhães W, Guimarães R, Reis Z. Determinação automática da espessura da epiderme em imagens ultrassonográficas. In *Book Determinação automática da espessura da epiderme em imagens ultrassonográficas*, (eds). Sociedade Brasileira de Informática em Saúde: Goiânia, 2016.
24. Fluhr J, Darlenski R, Lachmann N, Baudouin C, Msika P, De Belilovsky C, Hachem JP. Infant epidermal skin physiology: adaptation after birth. *Br J Dermatol* 2012; 166: 483–490.

25. Telofski LS, Morello AP, Mack Correa MC, Stamatias GN. The infant skin barrier: can we preserve, protect, and enhance the barrier? *Dermatol Res Pract* 2012; 2012.
26. Agache P, Blanc C, Barrand C, Laurent R. Sebum levels during the first year of life. *Br J Dermatol* 1980; 103: 643–650.
27. Smith LT, Holbrook KA, and Byers PH. Structure of the dermal matrix during development and in the adult. *J Invest Dermatol* 1982; 79: 93–104.
28. Petersen JR, Petersen S, Serup J. High-frequency ultrasound measurement of dermis and subcutaneous fat in the newborn infant. *Skin Res Technol* 1995; 1: 86–89.
29. Ploin D, Schwarzenbach F, Dubray C, Nicolas JF, Goujon C, Trong MD, Laurent PE. Echographic measurement of skin thickness in sites suitable for intradermal vaccine injection in infants and children. *Vaccine* 2011; 29: 8438–8442.
30. Seidenari S, Giusti G, Bertoni L, Magnoni C, Pellacani G. Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20-MHz ultrasound. *Dermatology* 2000; 201: 218–222.
31. Vyas S, Meyerle J, Burlina P. Non-invasive estimation of skin thickness from hyperspectral imaging and validation using echography. *Comput Biol Med* 2015; 57: 173–181.
32. Rippon M, Springett K, Walmsley R, Patrick K, Millson S. Ultrasound assessment of skin and wound tissue: comparison with histology. *Skin Res Technol* 1998; 4: 147–154.
33. Pollack RN, Divon MY. Intrauterine growth retardation: definition, classification, and etiology. *Clin Obstet Gynecol* 1992; 35: 99–107.
34. Currie J, Moretti E. Biology as destiny? Short-and long-run determinants of intergenerational transmission of birth weight. *J Labor Econ* 2007; 25: 231–264.
35. Young MF, Nguyen PH, Addo OY, Pham H, Nguyen S, Martorell R, Ramakrishnan U. Timing of gestational Weight Gain on Fetal Growth and Infant Size at Birth in Vietnam. *PLoS One* 2017; 12: e0170192.
36. Veena SR, Krishnaveni GV, Karat SC, Osmond C, Fall CH. Testing the fetal overnutrition hypothesis; the relationship of maternal and paternal adiposity to adiposity, insulin resistance and cardiovascular risk factors in Indian children. *Public Health Nutr* 2013; 16: 1656–1666.
37. Catov J, Abatemarco D, Althouse A, Davis EM, Hubel C. Patterns of gestational weight gain among overweight and obese women related to small-and large-for-gestational-age births. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2015; 23: 1071.
38. Robert MF, Neff RK, Hubbell JP, Taeusch HW, Avery ME. Association between maternal diabetes and the respiratory-distress syndrome in the newborn. *N Engl J Med* 1976; 294: 357–360.
39. Graafmans WC, Richardus JH, Macfarlane A, Rebagliato M, Blondel B, Verloove-Vanhorick SP, Mackenbach JP. Comparability of published perinatal mortality rates in Western

Europe: the quantitative impact of differences in gestational age and birthweight criteria. *BJOG: Int J Obstet Gy* 2001; 108: 1237–1245.

40. Wellings K, Jones KG, Mercer CH, Tanton C, Clifton S, Datta J, Copas AJ, Erens B, Gibson LJ, Macdowall W. The prevalence of unplanned pregnancy and associated factors in Britain: findings from the third National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal-3). *The Lancet* 2013; 382: 1807–1816.

6. DISCUSSÃO

Durante a vida intrauterina o desenvolvimento da pele em camadas se dá de forma acelerada, em um fluxo contínuo, diretamente relacionado à idade gestacional⁶. Características estruturais da epiderme permitem identificar períodos com graus de maturidade progressivos, por isso, acreditamos que a espessura da pele do neonato possa refletir a cronologia da gravidez. Existem poucos estudos sobre a espessura da pele dirigidos ao público de recém-nascidos, principalmente em prematuros^{11; 52}. A relação entre o espessamento das camadas da pele, medida de forma não-invasiva, com a idade gestacional de um recém-nascido, ou seu estado nutricional não foi ainda estabelecida, tornando este estudo inédito.

A avaliação da espessura da pele humana tem sido objeto de muitos estudos com técnicas não invasivas. A ultrassonografia de alta frequência tem validação prévia. Ripponl *et al.*, 1998 verificaram que existe excelente correlação entre a espessura medida na imagem ecográfica da pele humana com a verificada na histologia ($r=0,96$, $p<0,0001$) em biopsias de pele de humanos e animais⁵⁸. Vyas *et al.*, 2015 validaram o ultrassom de alta frequência como método para determinação da espessura de camadas e subcamadas da pele em 48 adultos⁹. Neste contexto, escolhemos a técnica de ultrassom como uma metodologia confiável e segura para avaliar recém-nascidos.

Um estudo pioneiro sobre a pele neonatal usando ultrassom de alta frequência, avaliou a relação da espessura da pele total, espessura dérmica e subcutânea para avaliação do estado nutricional⁵². Apesar dos resultados envolverem apenas 7 recém-nascidos, os valores encontrados são comparáveis aos achados no presente estudo.

Outras abordagens, mostraram o potencial do estudo ultrassonográfico da pele para contexto em saúde. A variabilidade anatômica da espessura da pele em crianças foi empregada para determinar o comprimento ideal de microagulhas para vacinas¹¹. As variações diárias e diurnas da espessura da pele, e sua relação com o exercício físico foi objeto de estudo também em crianças^{54; 57}.

Vale a pena ressaltar que muitos dados coletados nesta pesquisa ainda estão sendo avaliados, como por exemplo, a correlação entre a espessura da pele e a evolução neonatal, abrindo portas para novas descobertas.

A maior limitação do presente estudo é que a incidência de prematuridade na amostra não reflete a da população real. A amostra foi coletada intencionalmente para que tivesse presente recém-nascidos de todas as idades gestacionais, prevalecendo prematuros. No entanto, essa escolha se justifica para que o estado nutricional e a cronologia da gravidez pudessem ser avaliados simultaneamente na faixa de idade gestacional que varia de 25 a 42 semanas. No futuro, essas relações poderão ser reavaliadas em uma amostra maior contendo a real incidência de prematuros, 11%¹⁶.

A correta idade gestacional ao nascer é de extrema importância, pois permite que o desfecho neonatal seja conduzido da forma mais adequada possível. Além disso, possíveis anormalidades, como a prematuridade e os distúrbios de crescimento fetal sejam detectadas e abordadas precocemente, o que reduz bastante a chance de resultados desfavoráveis, protegendo a saúde da criança². Outro aspecto, é que para ajuizar a viabilidade do recém-nascido e atendê-lo em suas necessidades, a detecção da prematuridade é fator crítico¹⁸. Atualmente, os métodos de datação da gravidez continuam sendo um desafio não resolvido no cuidado neonatal¹.

Neste contexto, a presente pesquisa contribuiu também para o desenvolvimento de um novo método preciso, não invasivo e de baixo custo baseado na interação entre a pele neonatal e a luz⁶³. Esta nova tecnologia permitiu identificar elementos constitutivos da pele fetal e estimar a idade gestacional ao nascer. O dispositivo criado levou em consideração os achados desta presente análise. O conhecimento gerado no estudo ultrassonográfico da pele e na resposta da pele à luz podem desempenhar um papel clínico importante na identificação da prematuridade, auxiliando profissionais de saúde a tomar decisões oportunas para prover o melhor cuidado neonatal. Ambos representam uma inovação com o potencial de beneficiar cerca de 55% dos 3 milhões de nascimentos anuais no país que ocorrem com idade gestacional desconhecida ou imprecisa³².

7. CONCLUSÃO

A espessura da epiderme da pele sobre o antebraço do neonato destacou-se como uma nova oportunidade de datação da gravidez, uma vez que se correlacionou à idade gestacional e não foi influenciada pelo padrão de crescimento fetal.

O ultrassom de alta frequência se mostrou uma importante ferramenta na mensuração da espessura da pele do neonato, de maneira não invasiva e em tempo real.

A avaliação da espessura da pele do neonato por meio da ultrassonografia poderá se constituir em importante ferramenta para auxiliar na construção de dispositivos de baixo custo para estimativa da idade gestacional após o nascimento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ GYNECOLOGISTS, A. C. O. O. A. Method for estimating due date. Committee Opinion No. 611. *Obstet Gynecol*, v. 124, p. 863-6, 2014.
- ² ORGANIZATION, W. H. Born too soon: the global action report on preterm birth. 2012. ISSN 9244503433.
- ³ OWEN, J. A. Physiology of the menstrual cycle. *The American journal of clinical nutrition*, v. 28, n. 4, p. 333-338, 1975. ISSN 0002-9165.
- ⁴ KARL, S. et al. Preterm or Not—An Evaluation of Estimates of Gestational Age in a Cohort of Women from Rural Papua New Guinea. *PloS one*, v. 10, n. 5, p. e0124286, 2015. ISSN 1932-6203.
- ⁵ ORGANIZATION, W. H. Human resources for medical devices, the role of biomedical engineers. 2017. ISSN 9241565470.
- ⁶ ERSCH, J.; STALLMACH, T. Assessing gestational age from histology of fetal skin: an autopsy study of 379 fetuses. *Obstetrics & Gynecology*, v. 94, n. 5, Part 1, p. 753-757, 1999. ISSN 0029-7844.
- ⁷ NIELSEN, K. P. et al. The optics of human skin: Aspects important for human health. *Nor. Acad. Sci. Lett*, v. 2008, p. 35-46, 2008.
- ⁸ TAN, C. et al. Skin thickness measurement by pulsed ultrasound; its reproducibility, validation and variability. *British Journal of Dermatology*, v. 106, n. 6, p. 657-667, 1982. ISSN 1365-2133.
- ⁹ VYAS, S.; MEYERLE, J.; BURLINA, P. Non-invasive estimation of skin thickness from hyperspectral imaging and validation using echography. *Computers in biology and medicine*, v. 57, p. 173-181, 2015. ISSN 0010-4825.
- ¹⁰ CRISAN, D. et al. Ultrasonographic assessment of skin structure according to age. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, v. 78, n. 4, p. 519, 2012. ISSN 0378-6323.
- ¹¹ PLOIN, D. et al. Echographic measurement of skin thickness in sites suitable for intradermal vaccine injection in infants and children. *Vaccine*, v. 29, n. 46, p. 8438-8442, 2011. ISSN 0264-410X.

- 12 SAÚDE, B. V. E. BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. BIREME/ OPAS/ OMS. Descritores em Ciências da Saúde: DeCS. Idade gestacional São Paulo 2017.
- 13 MATIAS, A.; TIAGO, P.; MONTENEGRO, N. Cálculo da idade gestacional: Métodos e Problemas. Acta medica portuguesa, v. 15, n. 1, p. 17-21, 2002. ISSN 0870-399X.
- 14 BEYDOUN, H.; UGWU, B.; OEHNINGER, S. Assisted reproduction for the validation of gestational age assessment methods. Reproductive biomedicine online, v. 22, n. 4, p. 321-326, 2011. ISSN 1472-6483.
- 15 HALL, M. H. et al. The extent and antecedents of uncertain gestation. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, v. 92, n. 5, p. 445-451, 1985. ISSN 1471-0528.
- 16 PEREIRA, A. P. E. et al. Determinação da idade gestacional com base em informações do estudo Nascer no Brasil. Cad. saúde pública, v. 30, n. supl. 1, p. S59-S70, 2014. ISSN 0102-311X.
- 17 SILVEIRA, M. F. et al. Aumento da prematuridade no Brasil: revisão de estudos de base populacional. Revista de Saúde Pública, v. 42, n. 5, p. 957-964, 2008. ISSN 0034-8910.
- 18 SANDERS, M. et al. Gestational age assessment in preterm neonates weighing less than 1500 grams. Pediatrics, v. 88, n. 3, p. 542-546, 1991. ISSN 0031-4005.
- 19 PERLMAN, J. M. et al. Neonatal resuscitation: 2010 international consensus on cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care science with treatment recommendations. Pediatrics, v. 126, n. 5, p. e1319-e1344, 2010. ISSN 0031-4005.
- 20 BULLETINS--OBSTETRICS, A. C. O. P. ACOG practice bulletin. Management of preterm labor. Number 43, May 2003. Int J Gynaecol Obstet, v. 82, n. 1, p. 127-35, Jul 2003. ISSN 0020-7292 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12834934> >.
- 21 RL, V. W. et al. Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. Recent Progress in Hormonal Research, v. 26, p. 63-103, 1971.
- 22 SAVITZ, D. A. et al. Comparison of pregnancy dating by last menstrual period, ultrasound scanning, and their combination. American journal of obstetrics and gynecology, v. 187, n. 6, p. 1660-1666, 2002. ISSN 0002-9378.

- 23 WINGATE, M. S. et al. Comparison of gestational age classifications: date of last menstrual period vs. clinical estimate. *Annals of epidemiology*, v. 17, n. 6, p. 425-430, 2007. ISSN 1047-2797.
- 24 BUTT, K. et al. Determination of gestational age by ultrasound. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, v. 36, n. 2, p. 171-181, 2014. ISSN 1701-2163.
- 25 GOLDSTEIN, S. R. et al. Very early pregnancy detection with endovaginal ultrasound. *Obstetrics & Gynecology*, v. 72, n. 2, p. 200-204, 1988. ISSN 0029-7844.
- 26 DEPUTY, N. P. et al. Validity of gestational age estimates by last menstrual period and neonatal examination compared to ultrasound in Vietnam. *BMC Pregnancy and Childbirth*, v. 17, n. 1, p. 25, 2017. ISSN 1471-2393.
- 27 CAPURRO, H. et al. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *The Journal of pediatrics*, v. 93, n. 1, p. 120-122, 1978. ISSN 0022-3476.
- 28 BALLARD, J. et al. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *The Journal of pediatrics*, v. 119, n. 3, p. 417-423, 1991. ISSN 0022-3476.
- 29 DUBOWITZ, L. M.; DUBOWITZ, V.; GOLDBERG, C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *The Journal of pediatrics*, v. 77, n. 1, p. 1-10, 1970. ISSN 0022-3476.
- 30 LIMAWAL, F. et al. The accuracy of determining newborn's maturity between New Ballard's score, Ballard's score, and first day of last menstrual period. *Paediatrica Indonesiana*, v. 48, n. 2, p. 59, 2008.
- 31 COOKE, R.; AINSWORTH, S.; FENTON, A. Postnatal growth retardation: a universal problem in preterm infants. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, v. 89, n. 5, p. F428-F430, 2004. ISSN 1359-2998.
- 32 (S.B.P). Sociedade Brasileira de Pediatria. Monitoramento do crescimento de RN pré-terminos. *CIENTÍFICO, D. e NEONATOLOGIA, D. C. D.* 2017.
- 33 VILLAR, J. et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21 st Project. *The Lancet*, v. 384, n. 9946, p. 857-868, 2014. ISSN 0140-6736.
- 34 FENTON, T. R.; KIM, J. H. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC pediatrics*, v. 13, n. 1, p. 59, 2013. ISSN 1471-2431.

- 35 BATTAGLIA, F. C.; LUBCHENCO, L. O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *The Journal of pediatrics*, v. 71, n. 2, p. 159-163, 1967. ISSN 0022-3476.
- 36 TORTORA, G. J.; NIELSEN, M. T. *Princípios de anatomia humana*. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000. ISBN 852772300X.
- 37 SOUSA, M. A. J.; VARGAS, T. J. S. *Anatomia, fisiologia e histologia da pele*. Kede MPV; Sabatovich O. *Dermatologia estética*, v. 2, p. 3-7, 2004.
- 38 MCGRATH, J.; EADY, R.; POPE, F. *Anatomy and organization of human skin*. *Rook's Textbook of Dermatology, Seventh Edition*, p. 45-128, 2008. ISSN 0470750529.
- 39 WYSOCKI, A. B. *Skin anatomy, physiology, and pathophysiology*. *The Nursing Clinics of North America*, v. 34, n. 4, p. 777-97, v, 1999. ISSN 0029-6465.
- 40 GROSS, J.; SCHMITT, F. O. The structure of human skin collagen as studied with the electron microscope. *The Journal of experimental medicine*, v. 88, n. 5, p. 555, 1948.
- 41 SMITH, L. T.; HOLBROOK, K. A.; BYERS, P. H. Structure of the dermal matrix during development and in the adult. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 79, n. 1, p. 93-104, 1982. ISSN 0022-202X.
- 42 LARSEN, W. J. *Essentials of human embryology*. Churchill Livingstone, 1998. ISBN 044307514X.
- 43 BYRNE, C.; HARDMAN, M.; NIELD, K. Covering the limb—formation of the integument. *Journal of anatomy*, v. 202, n. 1, p. 113-123, 2003. ISSN 1469-7580.
- 44 HOLBROOK, K. A.; ODLAND, G. F. The fine structure of developing human epidermis: light, scanning, and transmission electron microscopy of the periderm. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 65, n. 1, p. 16-38, 1975. ISSN 0022-202X.
- 45 KING, A.; BALAJI, S.; KESWANI, S. G. Biology and Function of Fetal and Pediatric Skin. *Facial plastic surgery clinics of North America*, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2013. ISSN 1064-7406.
- 46 DA SILVA, A. P.; DA SILVA, E. D. A.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. Processo de Queratinização no Desenvolvimento do Sistema Tegumentar em Mamíferos-Revisão. *Saúde e Pesquisa*, v. 1, n. 2, p. 201-207, 2008. ISSN 2176-9206.
- 47 ACKERMAN, A. B. *Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases: an algorithmic method based on pattern analysis*. Ardor Scribendi, 2005. ISBN 1893357252.

- 48 DALE, B. A. et al. Expression of epidermal keratins and filaggrin during human fetal skin development. *The Journal of cell biology*, v. 101, n. 4, p. 1257-1269, 1985. ISSN 0021-9525.
- 49 KALIA, Y. N. et al. Development of skin barrier function in premature infants. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 111, n. 2, p. 320-326, 1998. ISSN 0022-202X.
- 50 HARDMAN, M. J. et al. Patterned acquisition of skin barrier function during development. *Development*, v. 125, n. 8, p. 1541-1552, 1998. ISSN 0950-1991.
- 51 ALEXANDER, H.; MILLER, A. D. Determining skin thickness with pulsed ultra sound. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 72, n. 1, p. 17-19, 1979. ISSN 0022-202X.
- 52 PETERSEN, J. R.; PETERSEN, S.; SERUP, J. High-frequency ultrasound measurement of dermis and subcutaneous fat in the newborn infant. *Skin Research and Technology*, v. 1, n. 2, p. 86-89, 1995. ISSN 1600-0846.
- 53 SHLIVKO, I. et al. Noninvasive study of structural and functional features of neonatal skin. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, v. 7, n. 03, p. 1450006, 2014. ISSN 1793-5458.
- 54 SCHOU, A. et al. Methodological aspects of high-frequency ultrasound of skin in children. *Skin Research and Technology*, v. 10, n. 3, p. 200-206, 2004. ISSN 1600-0846.
- 55 GAMBICHLER, T. et al. In vivo data of epidermal thickness evaluated by optical coherence tomography: effects of age, gender, skin type, and anatomic site. *Journal of dermatological science*, v. 44, n. 3, p. 145-152, 2006. ISSN 0923-1811.
- 56 TECHNOLOGY, C. *DermaLab® Series SkinLab USB Instrution Manual 2015*.
- 57 SEIDENARI, S. et al. Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20-MHz ultrasound. *Dermatology*, v. 201, n. 3, p. 218-222, 2000. ISSN 1018-8665.
- 58 RIPPON, M. et al. Ultrasound assessment of skin and wound tissue: comparison with histology. *Skin Research and Technology*, v. 4, n. 3, p. 147-154, 1998. ISSN 1600-0846.
- 59 MEYER, N. et al. High-frequency ultrasonography but not 930-nm optical coherence tomography reliably evaluates melanoma thickness in vivo: a prospective validation study. *British Journal of Dermatology*, v. 171, n. 4, p. 799-805, 2014. ISSN 1365-2133.

- ⁶⁰ GASPAR, J. et al. Health information system for obstetric and neonatal healthcare monitoring: SISMater. Information Systems and Technologies (CISTI), 2013 8th Iberian Conference on: IEEE, 2013. 1-7 p.
- ⁶¹ VITRAL G, F. M., MAGALHÃES W, GUIMARÃES R, REIS Z. Determinação automática da espessura da epiderme de imagens ultrassonográficas. Anais de evento. Sociedade Brasileira de Informática em Saúde, Goiânia 2016.
- ⁶² INTERGROWTH-21ST. Calculator online - <http://intergrowth21.ndog.ox.ac.uk/en/ManualEntry/Compute>.
- ⁶³ REIS, Z. S. N. et al. Newborn skin reflection: Proof of concept for a new approach for predicting gestational age at birth. A cross-sectional study. PloS one, v. 12, n. 9, p. e0184734, 2017. ISSN 1932-6203.

9. APÊNDICES E ANEXOS

9.1. Parecer de aprovação do Comitê de ética em pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 49798915.2.0000.5149

Interessado(a): Profa. Zilma Silveira Nogueira Reis
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 29 de outubro de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da espessura da pele de recém-nascidos e sua relação com a cronologia gestacional**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Profa. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG

9.2. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

AVALIAÇÃO DA ESPESSURA DA PELE DE RECÉM-NASCIDOS E SUA RELAÇÃO COM A CRONOLOGIA GESTACIONAL

Cara senhora

- 1- Você está sendo convidada a participar deste estudo porque teve seu parto no Hospital das Clínicas da UFMG.
- 2- O objetivo deste estudo é descobrir novas técnicas para estimar a idade de um bebê ao nascer, ou seja, o tempo de duração da gravidez. Acreditamos que a pele possui características que, se bem estudadas, podem de alguma forma refletir a idade das pessoas, e também dos bebês.
- 3- Incertezas na cronologia da gravidez podem aumentar o risco dos bebês no momento de seu nascimento e comprometer sua saúde e sobrevivência. As técnicas atuais para se estimar a idade do bebê possuem grande margem de erro, mesmo quando se utiliza o exame de ultrassom na gravidez.
- 4- Para isto, pedimos sua permissão para fazer um exame na pele de seu bebê ao nascer, nas regiões da palma da mão, planta do pé e abdome (barriga, perto do umbigo).
- 5- Com um ultrassom de tamanho pequeno iremos massagear a pele suavemente com movimentos leves e delicados para que o gel se espalhe. Com isto se formará imagens da pele que usaremos para analisar as características que possam refletir a idade da gravidez.
- 6- Com um aparelho chamado espectroscópio faremos um exame usando a luz também sobre a pele, nos mesmos locais.
- 7- A realização dos exames é indolor e segura, mas a movimentação do bebê precisa ser mínima, especialmente se ele estiver na incubadora, para evitar o risco de perda de calor ou de interferir nos tubos, cateteres e equipamentos que ele por acaso estiver utilizando. Para tentar minimizar este efeito, faremos o exame utilizando o menor tempo necessário e sem retirá-lo de sua incubadora.
- 8- Informamos que os resultados da pesquisa serão publicados ou apresentados em congressos sem revelar sua identidade. Os dados obtidos durante a pesquisa serão confidenciais e não serão usados para outros fins.
- 9- Sua participação deve ser voluntária e caso não concorde ou resolva desistir a qualquer momento isto não trará nenhum constrangimento para você ou para a forma como você será tratada neste hospital.
- 10- Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.
- 11- Eu....., portadora de documento de identidade, expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo o uso de minhas informações e de meu bebê para este projeto de pesquisa. Participo voluntariamente deste estudo e estou ciente de os exames na pele do meu bebê não trarão prejuízo à sua saúde.
- 12- O participante e o pesquisador assinarão duas vias iguais, ficando uma via com o participante e a outra com o pesquisador. O COEP-UFMG deverá ser contactado no caso de haver dúvidas quanto aos aspectos éticos da pesquisa.

Belo Horizonte, ____/____/____

Assinatura da paciente:.....

Assinatura do pesquisador:.....

Telefones de contato:

Maternidade Hospital das Clínicas da UFMG – (31) 34099422

Zilma Reis – (31) 985177473

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – Av. Prof. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005, Campus Pampulha, CEP: 31270-901. E-mail:coep@prpq.ufmg.br. Fone (31) 34094592.

9.3. Formulário de coleta de dados

BASE DE DADOS II - ESPESSURA DA PELE DE RECÉM-NASCIDOS E CRONOLOGIA GESTACIONAL

LIGHT SCAN
SKINAGE

1-DADOS SOBRE A GESTAÇÃO Número ID do caso: V____ Número do Prontuário HC: _____

<p>Nome da gestante * : _____</p> <p>DUM: ____/____/____ (Em branco: não sabe)</p> <p>Cor da pele (Escala de cor da pele de Fitzpatrick – número de 1 A 6): _____</p> <p>Peso da gestante * : _____ Kg com uma casa decimal (exemplo 69,3)</p> <p>Altura da gestante * : _____ Em centímetros (exemplo 167 para quem mede 1,67m) - perguntar a altura para paciente se não tiver no cartão de pre-natal</p> <p>IMC da gestante: _____ Será calculado automaticamente na BD</p> <p>Doenças maternas</p> <p>Risco gestacional: _____ Risco habitual (sem doenças) _____ Alto risco (com doenças)</p> <p>Nome da doença materna ou do conceito: _____ Hipertensão arterial _____ Diabete _____ Infecção</p> <p>Outras: _____</p> <p>Data do primeiro ultrassom *</p> <p>IG no primeiro ultrassom * : _____ Semanas completas _____ dias restantes a partir da semana de US (varia de 0 a 6 dias)</p> <p>Data de nascimento * : _____ Hora: _____</p> <p>Sexo neonatal * : _____ Masculino _____ Feminino _____ Indeterminado</p> <p>Peso ao nascer: _____ (g) Comprimento _____ PC _____</p> <p>Exame New Ballard</p> <p>Data do exame NB do neonato - se realizado: ____/____/____ Example: 03/05/2013 11:30 AM</p>

2- DADOS SOBRE A PRIMEIRA AVALIAÇÃO - IMAGENS E LUZ

1o. Exame próximo ao nascimento (DAY1)

Data do 1o exame do neonato: ____/____/____ Hora: _____

Local : _____ Alojamento conjunto _____ Sala de parto _____ UNCP _____ Canguru _____ Outro _____

Temp. corporal: _____ C (Graus Celsius)

Temp. ambiente: _____ C (Graus Celsius) **Umidade ambiente**: _____ Umidade local (%)

Temp. incubadora: _____ C (Graus Celsius) **Umidade incubadora**: _____ Umidade local (%)

Berço aquecido: _____ C (Graus Celsius) **Umidade berço aquecido**: _____ Umidade local (%)

Vapor na incubadora: _____ Sim / Não _____

Luz ambiente: _____ Acesa / Apagada _____

Intervenções:

Assistência ventilatória: _____ Ventilação mecânica (intubação) _____ CPAP _____ Hood

Oximetria de pulso: _____ Inicial _____ Final

Cateter umbilical: _____

Sedação: _____

Fototerapia (número de aparelhos): _____

Diagnóstico:

Infecção: _____

Choque (uso de aminas: dopamina, dobutamina, adrenalina): _____

Sinais de má nutrição fetal: _____ Descamação de pele _____ Emagrecimento de raiz de membros

Observações:

Recém nascido mexeu ou não na hora do exame?

Ultrassom:

Locais Examinados: A (antebraço) P (pé) O (Outro): _____

US automatico – Derme – Medida automaticamente no software do ultrassom

	dermeAntnUS Espessura da Pele US Derme Antebraço	dermePnUS Espessura da Pele US Derme Pé	dermeOnUS Espessura da Pele US Derme Outro
Medida 1			
Medida 2			
Medida 3			

Armazenar dados clínicos sobre a gestação, nascimento, ultrassom, espectroscopia, fotometria