

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Paola Conceição da Silva

**AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MELANINA NA PELE DE RECÉM-NASCIDOS
PREMATUROS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CRONOLOGIA DA GRAVIDEZ**

Belo Horizonte

2019

Paola Conceição da Silva

**AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MELANINA NA PELE DE RECÉM-NASCIDOS
PREMATUROS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CRONOLOGIA DA GRAVIDEZ**

Dissertação de Mestrado 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 Zilma Silveira Nogueira Reis

Co-orientador: Prof. Rodney Nascimento
Guimarães

Belo Horizonte

2019

S586a Silva, Paola Conceição da.
Avaliação do índice de melanina na pele de recém-nascidos prematuros e sua associação com a cronologia da gravidez [recursos eletrônicos]. / Paola Conceição da Silva. - - Belo Horizonte: 2019.
65 f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions

Orientador(a): Zilma Silveira Nogueira Reis.
Coorientador(a): Rodney Nascimento Guimarães.
Área de concentração: Perinatologia.
Dissertação (Mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Recém-Nascido Prematuro. 2. Pigmentação da Pele. 3. Idade Gestacional. 4. Fotometria. 5. Melaninas. 6. Estudos Transversais. 7. Dissertação Acadêmica. I. Reis, Zilma Silveira Nogueira. II. Guimarães, Rodney Nascimento. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM:WS 410

Paola Conceição da Silva

**AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MELANINA NA PELE DE RECÉM-NASCIDOS
PREMATUROS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CRONOLOGIA DA GRAVIDEZ**

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Minas Gerais

Banca examinadora

Prof.^a Roberta Maia Castro Romanelli- [Departamento de Pediatria UFMG];

Prof.^a Juliana de Oliveira Marcatto - [Departamento de Enfermagem Materno-infantil e Saúde Pública, Escola de Enfermagem UFMG];

Membro suplente

Prof.^a Eura Martins Lage - [Departamento de Ginecologia e Obstetrícia UFMG];



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

Declaração

Declaramos, para os devidos fins, que **PAOLA CONCEIÇÃO DA SILVA**, número de registro 2017652150, cumpriu os requisitos regulamentares para obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em **SAÚDE DA MULHER** da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, tendo defendido sua dissertação intitulada "**AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MELANINA NA PELE DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CRONOLOGIA DA GRAVIDEZ**", no dia 03/06/2019.

Belo Horizonte, 2 de agosto de 2019.

Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina/UFMG
Av. Prof. Alfredo Balena, 190 - 5º andar
CEP 30130-100 Centro BH/MG

Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais



3

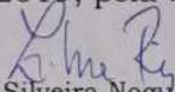
FOLHA DE APROVAÇÃO

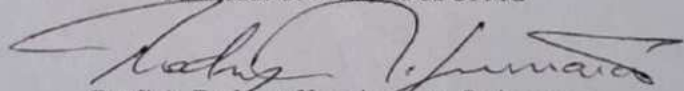
**AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MELANINA NA PELE DE RECÉM-NASCIDOS
PREMATUROS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CRONOLOGIA DA GRAVIDEZ**

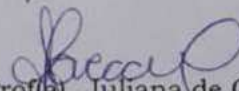
PAOLA CONCEIÇÃO DA SILVA

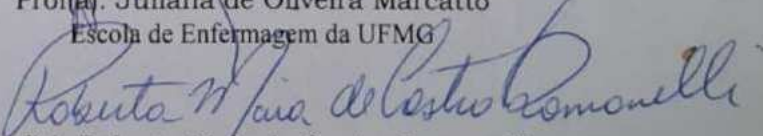
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PERINATOLOGIA.

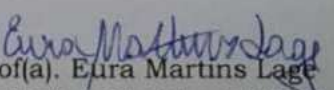
Aprovada em 03 de junho de 2019, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Zilma Silveira Nogueira Reis - Orientador
Faculdade de Medicina da UFMG


Prof(a). Rodney Nascimento Guimaraes
Faculdade de Medicina da UFMG


Prof(a). Juliana de Oliveira Marcatto
Escola de Enfermagem da UFMG


Prof(a). Roberta Maia de Castro Romanelli
Faculdade de Medicina da UFMG


Prof(a). Eura Martins Lage
Faculdade de Medicina da UFMG

Belo Horizonte, 3 de junho de 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor:

Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitoria de Pós-Graduação

Prof. Fabio Alves

Pró-Reitoria de Pesquisa

Prof. Mario Fernando Montenegro Campos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Humberto José Alves

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:

Prof. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Tarcizo Nunes

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

Coordenador

Professor Selmo Geber

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher: Prof. Fernando Marcos dos Reis

A minha família, por ser a base de cada degrau construído no decorrer da minha jornada acadêmica, e especialmente aos meus filhos, Gabriela e Paulo Augusto, razão da minha perseverança.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Zilma Reis pela oportunidade, companheirismo e aprendizagem, tornando possível a concretização de um sonho e deste trabalho.

Ao meu co-orientador, professor Rodney Guimarães, pelo apoio durante a pesquisa e contribuição no desenvolvimento deste projeto.

Aos amigos, pelo apoio constante e compreensão das ausências.

A toda equipe Premie-Test e do Centro de Informática em Saúde, pela receptividade e auxílio durante as coletas de dados e construção de trabalhos científicos.

Aos profissionais da maternidade e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, pela compreensão e apoio ao trabalho durante a realização dos exames.

Aos amigos do Hospital Sofia Feldman, pela parceria constante e auxílio nas coletas de dados.

À Fundação Bill & Melinda Gates, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

A Deus, toda minha gratidão, pois sem fé, dificilmente teria enfrentado as dificuldades e obstáculos que surgiram, seguindo minha caminha rumo a concretização de mais um sonho.

“Para ter sucesso, é necessário amar de verdade o que se faz. Caso contrário, levando em conta apenas o lado racional, você simplesmente desiste. É o que acontece com a maioria das pessoas” (Steve Jobs).

RESUMO

Introdução: Os escores de maturidade neonatal consideram entre os sinais clínicos avaliados, a textura e a cor da pele. Essas escalas têm usado o tamanho o escurecimento da aréola em torno dos mamilos para marcar características evolutivas da pele, com base na avaliação visual. O índice de melanina é um parâmetro óptico objetivo de avaliação da pele relacionado ao conteúdo de melanina no tecido. O interesse na detecção da prematuridade em cenários de parto apoiado pela fotometria não invasiva por contato é uma nova abordagem, ainda em avaliação. Este estudo teve como objetivo avaliar o índice de melanina na pele de recém-nascidos prematuros e associá-lo à cronologia da gravidez.

Métodos: Estudo transversal avaliou 80 recém-nascidos prematuros no primeiro dia de vida, segundo critérios de elegibilidade. Um fotômetro de refletância, que emite luz através de diodos emissores de luz (LED), avaliou a pigmentação da pele na aréola (n = 78), antebraço (n = 80) e sola do pé (n = 80) utilizando comprimento de onda centrado em 630 nm. A diferença média entre o índice de melanina em três locais do corpo da criança foi avaliada por teste-t de médias pareado. O fototipo da pele da mãe, obtido visualmente a partir da escala de Fitzpatrick, foi comparado com o índice de melanina do recém-nascido. Valores numéricos relacionados ao escurecimento da pele foram descritos através do índice de melanina e associados à cronologia da gravidez por meio de testes estatísticos.

Resultados: A idade gestacional dos neonatos variou de 24,1 a 36,9 semanas de gestação. Recém-nascidos com idade gestacional entre 24 e 34 semanas apresentaram na aréola índice de melanina com valor mediano de 38,3 (intervalo interquartil = 10,5) enquanto o grupo com idade gestacional entre 34 a <37 semanas apresentou valor mediano de 41,7 (intervalo interquartil 8,9), $p = 0,005$. Não houve associação entre os índices de melanina com a cronologia da gravidez, quando medidos na pele do antebraço ou na sola do pé. Os valores do índice de melanina na aréola foram maiores nessa região quando comparado com as regiões do antebraço ou na área da sola do pé ($p < 0,001$ para ambos).

Conclusões: A análise do índice de melanina corroborou antecedentes clínicos de que o escurecimento areolar é um marcador de maturidade física nos recém-nascidos. Tais valores objetivos, obtidos por fotômetros, têm o potencial de melhorar a avaliação física utilizada em escores de detecção da maturidade em prematuros.

Palavras-chave: recém-nascido prematuro; pigmentação da pele; idade gestacional; fotometria.

ABSTRACT

Background: Clinical scores to estimate the gestational age of neonates have considered skin texture and color as signals to judge physical maturity. Such scales use the size and darkness of areola around the nipple to grade skin characteristics, based on visual appearance. Melanin index (M-Index) is an optical skin parameter related to melanin content in the tissue. Prematurity detection in the birth scenario remains a challenge when antenatal parameters of dating are not available. This study is aimed to assess the M-Index of the skin, in premature newborns, and associated it with the pregnancy chronology.

Methods: A cross-sectional study evaluated 80 premature newborns at birth according to eligibility criteria. A monochromatic narrow band light-emitting diode (LED) centered at 630 nm and a photo-diode, used as a sensor, quantified the skin pigmentation on the areola (n=78), the forearm (n= 80) and the sole of the foot (n=80) in a non-invasive approach. Paired-average difference of M-Index compared values among the three sites: the areola, the forearm and the sole of a newborn. The skin darkness values were described and M-indexes associated with the pregnancy chronology. The phototype of the skin of the mother, according to the Fitzpatrick scale, was compared with the M-Index of the newborn in the skin over the areola.

Results: The gestational age of the newborns ranged from 24.1 to 36.9 weeks of gestation. Newborns with gestational age between 24 and 34 weeks had a melanin index with a median value of 38.3 (interquartile range = 10.5) in the areola, while the group with gestational age between 34 to <37 weeks had a median value of 41, 7 (interquartile range 8.9), $p = 0.005$. There was no association between melanin indices and the chronology of gestation when measured on the skin of the forearm or the sole of the foot. The values of the melanin index in the areola were higher in this region when compared to the regions of the forearm or in the sole area of the foot ($p < 0.001$ for both).

Conclusions: The analysis of the M-Index corroborated clinical antecedents of areolar darkness as a physical maturity marker in newborns. Such measureable values obtained by photometry have the potential to improve physical evaluation of maturity used in scores of prematurity.

Key-words: premature newborn; skin pigmentation; gestational age; photometry.

LISTA DE FIGURAS

DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Disposição dos melanócitos na epiderme, demonstrando discreta projeção em relação a derme (Melan-A/Giemsa ,1000x).....	18
Figura 2 - Escala de tons de pelproposta por Fitzpatrick.....	19
Figura 3 - Modelo fotobiológico da pele em três camadas.....	25
Figura 4 - Absorção de melanina, oxihemoglobina e desoxihemoglobina em função do comprimento de onda página.....	31
Figura 5 Modelo fotobiológico da pele em três camadas. A primeira camada possui melanina, a segunda hemoglobina e a terceira está livre de cromóforos, se comportando como um espalhador de parte da luz que atravessa as duas primeiras camadas.....	32

ARTIGO CIENTÍFICO

Figure 1 Simplified three-layered optical skin model.....	39
Figure 2 Scatter plot with values of areolar M-index according to gestational age calculated by early obstetric ultrasonography.....	41

LISTA DE TABELA

ARTIGO CIENTÍFICO

Table 1 – Clinical characteristics according to groups of analysis.....	39
Table 2 – M-index taken from areola, forearm, and sole of preterm infantis.....	40
Table 3 – Melanin index mean values measured at three sites of the skin of the mother's phototype.....	40
Table 4 – M-index of the skin of the newborn, according to gestational age and site.....	41

LISTA DE QUADROS

DISSERTAÇÃO

Quadro 1 – Análise visual da cor da pele como um dos componentes dos escores de maturidade do recém-nascido	20
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DISSERTAÇÃO

IG	Idade gestacional
LED	<i>Light Emmiting Diode</i>
RN	Recém-nascido
RNPT	Recém-nasido pré-termo
US	Ultrassom
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

ARTIGO CIENTÍFICO

CI	Confidence Interval
M-Index	Melanin Index
IQR	Interquartile Range
LED	Light Emitting Diode
SD	Standard Deviation

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. A cor da pele.....	17
2.2. A embriologia da pele e o surgimento da sua coloração	17
2.3. A avaliação da cor da pele.....	19
2.3.1.Avaliação visual da pele em adultos.	19
2.3.2.A cor da pele como indicador de maturidade do neonato	20
2.3.3.Métodos ópticos para avaliar a cor da pele.....	22
2.3.3.1Os cromóforos da pele.....	23
2.3.3.2.A espectrofotometria da pele	23
2.3.3.3.O índice de melanina	24
2.3.4. A avaliação da cor da pele de recém-nascidos pela óptica.....	24
2.3.5.Os desafios da datação da gravidez e o potencial da fotometria da pele.....	26
3. OBJETIVO	28
3.1. Objetivo Geral	28
3.2. Objetivos Específicos	28
4. METODOLOGIA.....	29
4.1. Delineamento do estudo e aspectos éticos.....	29
4.2. Critérios de elegibilidade para seleção do recém-nascidos	29
4.3. Coleta de dados clínicos	29
4.3.1.Exame da pele da mulher.....	30
4.3.2.O Exame da pele do recém-nascido	31
4.4. A obtenção do índice de melanina.....	32
4.4.1.Características do fotômetro utilizado.....	32
4.4.2.O cálculo do índice de melanina.....	32
4.5. Análise estatística	33
4.5.1.Os grupos de estudo.....	33
4.5.2.O cálculo amostral	33
4.5.3.A análise dos dados	33
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO	53
7. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXO E APÊNDICES.....	57

1. INTRODUÇÃO

A pele humana é o maior órgão do corpo humano e possui inúmeras funções de proteção(1). Nos últimos anos, o interesse a respeito da compreensão de sua morfologia e fisiologia têm aumentado(2).

No caso dos neonato, além das funções protetoras e imunológicas(3), a pele pode auxiliar na estimativa clínica da idade gestacional (IG) como parte dos escores de maturidade(4, 5).

Sabe-se que a pele de um recém-nascido (RN) prematuro oferece menos proteção contra agentes externos por ser mais fina, gelatinosa e com fina camada de estrato córneo, facilitando a maior perda de água por evaporação, e conseqüentemente, da temperatura, do peso corpora e maior gasto energético(3).

Estudo sobre os fenômenos envolvidos na maturação da pele humana já tem acontecido, dentre eles, os que analisam a pigmentação da pele pela análise da reflectância de seus cromóforos à luz em populações específicas(6).

Um dos períodos de interesse é o intrauterino, ao que se refere o amadurecimento progressivo da pele ao longo da IG avaliado no primeiro dia de vida, motivo deste estudo. No entanto, as publicações ainda são escassas no período neonatal imediato, momento em que o espessamento da pele tem sido relatado como fator mais importante nas mudanças de pigmentação da pele ao longo da gestação(6).

As propriedades ópticas da pele permitem o seu estudo não invasivo por meio da absorção e reflectância de fótons emitidos por dispositivos ópticos, um fenômeno complexo mas bem descrito e estudado na literatura(7). Entre estes estudos está a interação da luz com a melanina e a hemoglobina(8). Sabe-se que as variações na concentração de melanina na pele podem influenciar fortemente a intensidade e sensibilidade dessa medida feita por fotometria(9). Estudos de reflectância da idade da pele têm sido documentados em vários estágios do ciclo de vida, mas poucos tem se dedicado a estudar este desenvolvimento intrauterino ou as alterações ocorridas nas primeiras semanas de vida(10).

A identificação do RN prematuro é ainda um desafio em muitos cenários de parto, especialmente naqueles com acesso limitado às tecnologias de elevado custo, como a ultrassonografia obstétrica(11). Sensibilizados com o desafio da identificação oportuna da

prematividade ao nascer de forma segura e de baixo custo, um grupo multidisciplinar de pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) desenvolveu e patenteou um novo dispositivo que emite, capta e analisa a luz ao tocar a pele de um RN, estimando a sua IG(5).

O desenvolvimento desta tecnologia baseou-se na análise das propriedades ópticas da pele do RN. Resultados preliminares do Premie-Test apontam para a relevância da reflexão da pele, a partir de um feixe de luz emitido por *Light Emitting Diode* (LED), como um indicador da maturidade desse tecido, inferindo a IG(12). O dispositivo, que irá realizar a leitura de propriedades biofísicas da pele através da luz já se encontra na sua 5ª versão e tem como vantagem ser de baixo custo. Uma pesquisa multicêntrica iniciará em 2019 para validar o dispositivo na prática clínica.

Não se sabe, no entanto, qual é a influência da cor da pele, mais especificamente da concentração de melanina presente neste tecido ao nascer, e, em consequência, no resultado deste exame.

O presente estudo justifica-se ao analisar a influência da cor da pele do recém-nascido pré-termo (RNPT) e sua interação com a luz, validando o resultado do Premie-Test em RN com cores de pele diferentes.

É preciso ressaltar, que o Programa de Pós-graduação em Saúde da Mulher, da Faculdade de Medicina da UFMG, há quase 50 anos, vem desenvolvendo pesquisas relevantes em perinatologia. Entre elas está o projeto de pesquisa chamado *Light Scan Skin Age*, que tem como proposta a identificação acurada da IG de forma automatizada. O projeto foi contemplado com financiamento da Fundação Bill e Melinda Gates, na 14ª rodada do *Grand Challenges Exploration*, em 2015, Ministério da Saúde e Grand Challenges Canadá em 2018, além do apoio financeiro da FAPEMIG. Esta dissertação, que faz parte do projeto *Light Scan Skin Age*, se insere na linha de pesquisa Tecnologia aplicada a saúde da mulher, área de concentração Perinatologia.

O desejo de trabalhar com gestantes e neonatos sempre foi um sonho meu, desde a infância, que se realizou por meio da minha formação na Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais no curso de graduação em Enfermagem. Durante minha vida acadêmica, procurei participar de projetos relacionados as práticas educativas em saúde, projetos de extensão,

eventos e seminários, por reconhecer que o conhecimento é base para uma assistência mais resolutiva e segura.

Sempre acreditei que mais que ofertar um cuidado pautado na teoria, é preciso se sensibilizar e se colocar no lugar do outro, visando um atendimento que seja, além de resolutivo e seguro, humano. Na graduação, tive a oportunidade de atuar como monitora, por um ano, da disciplina “Saúde da Mulher e Obstetrícia”, quando foi possível aprofundar e melhor entender essa população tão singular que é a mulher gestante, puérpera, mãe o seu filho RN. Foi nesta época também, que iniciou o meu desejo pela pesquisa, pois as curiosidades sem respostas eram muitas, bem como o início do desejo de seguir a carreira docente.

Como enfermeira iniciei minha carreira trabalhando no Hospital Sofia Feldman, onde pude observar, que apesar de todas as dificuldades, a busca pelo cuidado integral e humanizado é possível. No mesmo ano que iniciei neste Hospital, comecei a pós-graduação em Enfermagem em Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica, também pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Senti-me realizada, por poder trabalhar naquilo que sempre sonhei.

O Hospital Sofia Feldman, referência em Belo Horizonte no cuidado a gestante de alto risco e atendimento neonatal, principalmente de prematuros (bebês que necessitam de cuidados específicos, como incubadoras de parede dupla e umidificada) possui um elevado índice de atendimentos diário, e com isso, a necessidade de uma equipe pronta para tomadas de decisões imediatas para conseguir atender a gestante em trabalho de parto prematuro.

Por vezes um prematuro extremo estava para nascer, e necessitava de uma incubadora mais complexa, para fornecer a melhor assistência possível, com menor perda de água e calor, e conseqüentemente, prevenção de possíveis distúrbios hidroeletrólíticos, comuns entre estes pacientes tão singulares. Tais situações, muitas vezes, gerava estresse aos profissionais de enfermagem, que nos víamos em situações difíceis para otimizar leitos, remanejar pacientes para incubadoras simples ou berços aquecidos.

Além das particularidades presentes nos RNPT, muitas vezes relacionados a doenças maternas como hipertensão arterial ou infecções, grande parte destas mulheres não possuíam um exame de ultrassom (US) ou um pré-natal adequado. Tal situação gerava dúvidas pelos profissionais da saúde a respeito da correta IG do neonato, e assim, quanto ao protocolo a ser seguido para preparar o leito adequado para receber essa criança na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN).

Reconhecendo a equipe de enfermagem como profissionais presentes 24 horas no cuidado ao paciente, em qualquer fase da sua vida, e que, portanto, tem papel fundamental na assistência a ser ofertada, se faz necessário compreender o processo de avaliação existentes na detecção da IG ao nascimento assim como os sinais de alterações hemodinâmicas presentes no RN são essenciais para assegurar a saúde neonatal e eventuais complicações decorrentes do cuidado. É preciso lembrar, ainda, que o trabalho com uma equipe multidisciplinar representa um forte aliado para uma assistência mais segura e eficaz.

Ao vivenciar tantos nascimentos prematuros, seguido muitas vezes da incerteza da cronologia da IG ao nascimento, fazer parte deste estudo que será descrito adiante sobre forma de artigo científico, foi algo desafiador e ao mesmo tempo gratificante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cor da pele

A cor da pele resulta da interação da luz com a epiderme e a derme(13), definida, basicamente, por três pigmentos cromóforos: a melanina, a hemoglobina e os carotenoides(13, 14). Existem variações genéticas na quantidade e produção de melanina entre seres humanos, assim como há diferenças conforme o local do corpo, sexo, exposição à luz ultravioleta e a idade(15).

Didaticamente, a pigmentação da pele é dividida em cor constitutiva determinada geneticamente, e cor induzida ou facultativa que é cor de pele mais intensa resultante de exposição solar ou de doenças pigmentares, refletindo a capacidade genética para o bronzeamento em resposta a radiação ultravioleta(13).

2.2. A embriologia da pele e o surgimento da sua coloração

A pele consiste em duas camadas morfológicamente diferentes, derivadas de duas camadas germinativas, a epiderme é uma camada mais superficial, composta por uma porção epitelial especializada, de origem embriológica ectodérmica, a epiderme(16).

A camada profunda é mais espessa, composta de tecido conjuntivo denso vascularizado e de origem embriológica mesodérmica, a derme(16). A proliferação e diferenciação do ectoderma embrionário em camadas e seus componentes determina as propriedades bioquímicas e funcionais da pele(17).

O processo de formação da pele se inicia após a neurulação. As células ectodérmicas superficiais proliferam e produzem outra camada protetora superficial de epitélio escamoso simples, a periderme. Esse tecido embrionário já apresenta continuamente o processo de queratinização e descamação, e é substituída por células que provém da camada basal(16).

Na 3ª semana embrionária, a epiderme primitiva possui uma única camada de células epiteliais achatadas e durante a 4ª semana essas células já apresentam um aspecto cubóide, formando o estrato basal(18). Na 6ª semana, duas camadas de células podem ser distinguidas: a periderme e o estrato basal, este último chamado posteriormente de estrato germinativo(19).

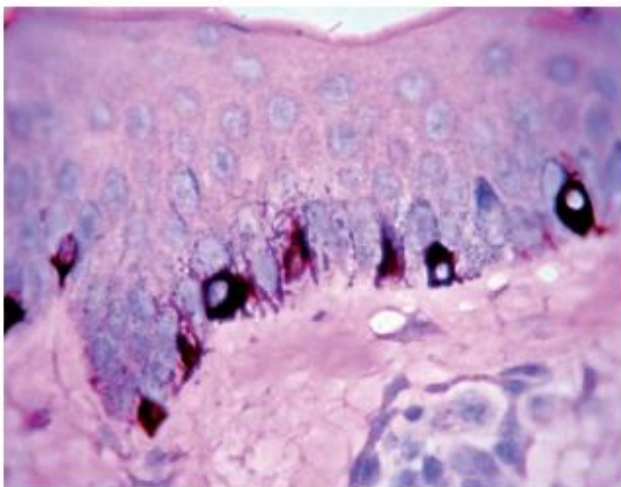
A partir de 40 a 50 dias de gestação se observa a produção de melanoblastos, com produção de melanina a partir de 70 dias(20). Os melanoblastos migram da crista neural para a

junção dermoepidérmica na 11ª semana de IG onde se diferenciam em melanócitos e células dendríticas, determinando a cor da pele conforme o teor de pigmento, denominado melanina, responsável também pela pigmentação dos pelos(16)

Os melanócitos são células derivadas embriologicamente do sistema nervoso central (SNC)(13). Presentes na camada basal da pele entre a epiderme e a derme, os melanócitos começam a ser produzidos antes do nascimento por meio da oxidação progressiva do aminoácido tirosina(21). Em indivíduos de raça negra, uma intensa atividade pigmentária na epiderme já pode ser observada ainda intraútero, e em menor quantidade em fetos brancos(16).

Observa-se que as células basais epidérmicas estão conectadas às células vizinhas por estruturas específicas, nomeadas desmossomas, e pela membrana basal por hemidesmossomas. Os melanócitos não estão fixos na epiderme, observando-se apenas um pequeno desnível na posição destes em semelhança ao alinhamento da camada basal, projetando-se, ligeiramente, em direção a derme(22) (Figura 1).

Figura 1 – Disposição dos melanócitos na epiderme, demonstrando discreta projeção em relação a derme. (Melan-A/Giemsma, 1000x)



Fonte: MIOT et al. (2009)(22)

Cada melanócito na camada basal da epiderme é, funcionalmente, ligado aos subjacentes fibroblastos na derme e os queratinócitos na epiderme sobrejacente. Essas células são altamente interativas e se comunicam entre si através de fatores secretados, de seus receptores e via contatos célula/célula para regular a função e fenótipo da pele(23).

Manchas sacrais em fetos de 22 semanas de raça negra já podem ser observadas, bem como maior pigmentação nos dedos, axila, aréola e genitália(24). A pele de prematuros, com 25 semanas possui pouca ou nenhuma pigmentação visível, sendo marcadamente eritematosas. Após 32 semanas, a pele de RN negros torna-se mais escura que a dos brancos, o que pode ser explicado pela diferença na atividade melanocítica(10).

Os pigmentos responsáveis pela cor da pele são muitos e estão localizados em diversas camadas da pele, sendo a melanina o principal pigmento presente na epiderme, além do caroteno, da oxi-hemoglobina e da hemoglobina reduzida na derme. Na derme e nos plexos vasculares mais profundos do subcutâneo, a melanina também se faz presente, assim como o caroteno(13). Mas é o resultado de uma interação complexa entre os pigmentos da pele com a luz incidente o maior determinante para a coloração definitiva, motivo pelo qual fatores endógenos e do meio ambiente contribuem determinação da cor da pele(13).

2.3. A avaliação da cor da pele

2.3.1. Avaliação visual da pele em adultos

Em 1975, Fitzpatrick criou o conceito de tipagem cutânea a partir de uma escala, por uma necessidade específica de classificar pessoas com pele branca, uma vez que essa classificação, anteriormente, era feita apenas pela cor dos olhos e cabelos(25). Esta escala, conhecida como Escala de Fitzpatrick, é uma ferramenta composta por seis tonalidades de cor de pele para classificar os fototipos cutâneos de pigmentação da pele humana (figura 2).

Figura 2 – Escala de tons de pele proposta por Fitzpatrick



Fonte: traduzido e adaptado do site da Sociedade Brasileira de Dermatologia(26)

A classificação ocorreu a partir de uma simples avaliação com a tonalidade e a reação da pele à exposição solar. Fitzpatrick observou que o tipo de pele I sempre queima e nunca bronzeia (muito sensível ao sol); o tipo de pele II geralmente queima e bronzeia muito pouco (sensível ao Sol); o tipo III tem leve queimadura e sempre bronzeia (sensibilidade normal ao sol), tipo IV raramente queima, sempre bronzeia (pouco sensível ao Sol); tipo VI nunca queima, totalmente pigmentada (insensível ao Sol)(27).

Um estudo, que teve como objetivo estabelecer possíveis diferenças na concordância intra e inter observador de dois dermatologistas que avaliaram o fototipo de peles usando a escala de Fitzpatrick, antes e após um processo de padronização clínica evidenciou que essa escala permite conhecer a sensibilidade da pele contra a luz ultravioleta, reproduzindo resultados confiáveis, reproduzíveis e estáveis(28).

2.3.2. A cor da pele como indicador de maturidade do neonato

As incertezas quanto a correta cronologia da IG e neonatal ainda constituem um desafio para os atuais métodos pós-nascimento(11), no qual, os indicadores clínicos utilizados na avaliação da pele do RN, ainda apresentam grande margem de erro na predição da IG.

Ao nascer, algumas características clínicas da pele que indicam maturidade são verificadas visualmente pelo examinador como métodos para se estimar a IG do RN, assim como um conjunto de critérios neurológicos facilmente observáveis no neonato, agrupados em um sistema de score, que são utilizados para complementar as informações antenatais, principalmente quando há dúvidas na datação.

Métodos como Dubowitz(29), por exemplo, possui erro esperado de duas semanas. O método Meu Ballard(4), o mais usado para esse fim, pode ser aplicado tanto em neonatos muito prematuros quanto nos pós-termos. O Quadro 1 apresenta os três principais métodos de avaliação da IG ao nascimento.

Quadro 1 – Análise visual da cor da pele como um dos componentes dos escores de maturidade do recém-nascido

Região do corpo	Escore de Capurro(30)	Escore de Dubowitz(29)	Escore New Ballard(4)
Características do mamilo	<p>0: apenas visível</p> <p>5: aréola pigmentada, diâmetro menor que 7,5mm</p> <p>10: aréola elevada não pontilhada maior que 7,5 mm</p> <p>15: aréola elevada, maior que 7,5 mm</p>	<p>0: nenhum tecido mamário palpável</p> <p>1: tecido mamário em um ou ambos os lados menores que 5mm</p> <p>2: tecido mamário em um ou ambos os lados entre 5 e 10 mm</p> <p>3: tecido mamário em um ou ambos lados maior que 10 mm</p>	<p>-1: imperceptível</p> <p>0: pouco perceptível</p> <p>1: aréola plana sem broto</p> <p>2: aréola pontilhada 1-2 mm</p> <p>3: aréola levantada 3-4 mm</p> <p>4: aréola cheia 5-10 mm</p>
Textura da pele	<p>0: fina, gelatinosa</p> <p>5: fina e lisa</p> <p>10: lisa, espessura média, descamação superficial</p> <p>15: Espessamento leve, rachadura e descamação superficial das mãos e pés</p>	<p>0: fina, gelatinosa</p> <p>1: fina e lisa</p> <p>2: lisa, espessura média, erupção cutânea e descamação superficial</p> <p>3: espessamento superficial leve rachadura e descamação especialmente de mãos e pés</p> <p>4: espessa ou apergaminhada, rachaduras superficial ou profunda</p>	<p>-1: pegajoso, friável, transparente</p> <p>0: gelatinoso, vermelha, translúcida</p> <p>1: veias visíveis, rosa claro</p> <p>2: descamação superficial e/ou rachadura, poucas veias.</p> <p>3: áreas com rachaduras pálidas, raras veias</p> <p>4: rachaduras profundas, veias não visíveis</p> <p>5: rugas e rachaduras na pele</p>

Referência: baseado em Capurro et al. (1978), Ballard et al. (1991), Dubowitz et al. (30) (1970).

2.3.3. Métodos ópticos para avaliar a cor da pele

A cor da pele resulta da combinação de absorção seletiva e espalhamento de alguns comprimentos de onda de luz ao interagir com o tecido. A absorção e dispersão são as duas maneiras pelas quais a luz branca é transformada em luz colorida pela interação com a pele(7). A melanina, principal pigmento da pele, está impregnada na epiderme e é responsável pelos tons de marrom a preto percebidos visualmente(7).

Os cromóforos como a eumelanina e feomelanina são subtipos de melanina(31, 32). Normalmente estão localizados na epiderme, possuem cores castanhos escuros a castanho avermelhado, respectivamente, e são amplamente absorvidos pela luz visível e ultravioleta(7).

Outros pigmentos também são responsáveis pela coloração da pele. Os carotenóides, a exemplo, podem ser abundantes dentro da epiderme e têm um tom amarelo, enquanto a oxi-hemoglobina é vermelho brilhante. A hemoglobina reduzida é vermelho-azulada e a bilirrubina é amarela(7).

Do ponto de vista óptico, a cor de um objeto, a exemplo da pele, depende do comprimento de onda da luz iluminadora e da óptica dos tecidos. Quando a luz interage com as matérias da pele, fenômenos ópticos resultam em alteração da luz que pode ser absorvida ou espalhada pelos diferentes pigmentos(7).

De forma simplificada, a pele é composta por tecido do tipo epitelial de revestimento, sendo formada por três camadas, a epiderme, derme e o subcutâneo que possuem propriedades ópticas distintas(1). A melanina encontra-se na camada mais superficial (epiderme), a hemoglobina na camada média (derme), sendo a camada inferior (subcutâneo) livre de cromóforo e composto por colágeno (33).

A introdução de conceitos da Física aplicada às Ciências da Saúde tem subsidiado o desenvolvendo de métodos ópticos para diagnóstico e tratamento em seres humanos por meio de estudo das propriedades ópticas de tecidos biológicos(34). Equipamentos não invasivos tem se mostrado eficientes para caracterização da pele, seja de forma adicional ou em substituição a biópsia e estudo histológico(35). Nos últimos anos, vários métodos vêm empregando a espectroscopia de refletância para estudar o envelhecimento da pele(36), o câncer de pele(37) e a cor da pele(6, 38).

2.3.3.1. Os cromóforos da pele

De maneira geral, a avaliação da cor da pele por meio da óptica se faz pela interação da luz com os cromóforos existentes na pele. Os cromóforos são moléculas capazes de absorver a luz, interagindo com ela, e que podem ser medidos por métodos fotométricos. Moléculas dos cromóforos podem interagir de maneira adequada com determinados comprimentos de onda da luz para que esta possa ser absorvida, espalhada ou refletida(39).

Ao conhecer as propriedades ópticas de cada cromóforo, a análise de uma específica parte de comprimentos de onda de luz para o cromóforo a ser pesquisado pode ser selecionada, com comprimentos de ondas específicos(40).

2.3.3.2. A espectrofotometria da pele

Baseado neste conhecimento, a abordagem para medida indireta da cor da pele pela espectrofotometria de reflectância em banda larga é composta por um espectro que vai desde o ultravioleta (comprimento de onda de 350 nm) até o início da irradiação infravermelha (comprimento de onda de 800 nm) (7).

Vários são os métodos disponíveis para avaliar as variações na cor da pele, como o espectrofotômetro de refletância usado em estudos dermatológicos. Este instrumento fornece uma leitura dos índices de eritema e melanina em função da característica de absorbância da pele humana(41).

A espectroscopia emprega as interações da radiação com a matéria para obter informações sobre uma amostra, geralmente estimulada aplicando-se energia na forma de calor, energia elétrica, luz ou por uma reação química(42). A espectroscopia envolve a interação de formas monocromáticas de radiação eletromagnética com moléculas, geralmente nas regiões ultravioleta /visível /infravermelho próximo, cerca de 200 a 1300 nm. A maior parte da radiação incidente é espalhada sem alteração no número de onda, mas uma fração muito pequena de fótons é espalhada com números de onda deslocados(43). A refletância se associa às informações visuais relativas à textura da superfície enquanto o espalhamento contém informações sobre a pigmentação, eritema e vascularização da pele(44).

Com a introdução da imagem digital em associação à espectroscopia, tornou-se possível definir padrões de qualidade e exposição e estocar imagens. A fotografia tornou-se assim uma possibilidade interessante na avaliação da cor da pele(45).

Já a fotometria é técnica que realiza uma medida simplificada de um determinado cromóforo de interesse, como a melanina e hemoglobina, baseando-se nas suas propriedades ópticas já conhecidas, por meio de espectro de banda estreita(7).

2.3.3.3. *O índice de melanina*

A melanina absorve fótons predominantemente na faixa de luz visível, sendo o índice de melanina correspondente ao logaritmo decimal da relação entre a luz total refletida e a luz vermelha refletida, aumentando à medida que a pele se torna mais eritematosa ou mais pigmentada(7). O índice de melanina pode ser medido por um comprimento de onda ou banda estreita correspondentes à luz vermelha (620 e 720 nm)(46, 47).

A medida que a pele se torna mais eritematosa e mais pigmentada, esse índice aumenta. Dessa forma, o índice de melanina pode ser considerado como um parâmetro que é influenciado principalmente pelo conteúdo de melanina(33).

2.3.4. *A avaliação da cor da pele de recém-nascidos pela óptica*

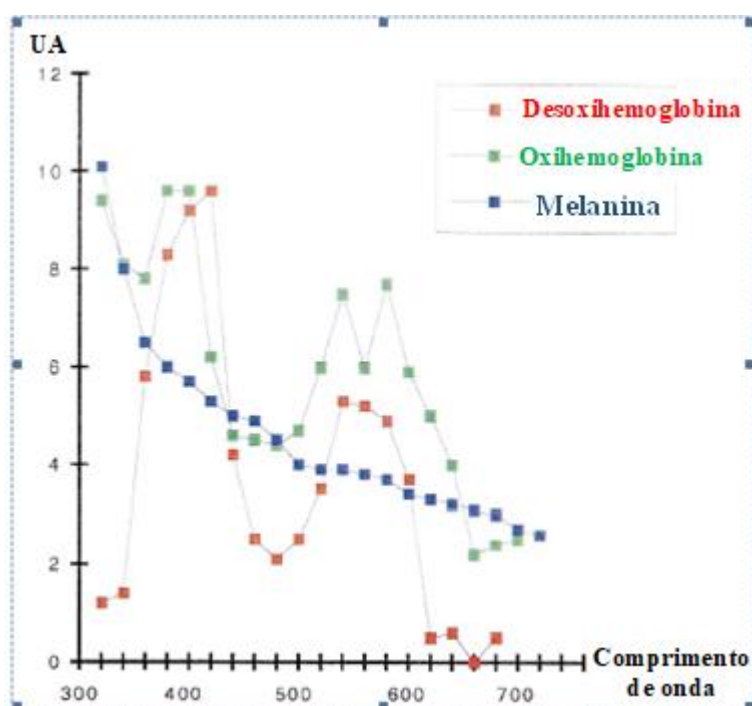
Em relação ao período neonatal, a possibilidade de medir o nível de bilirrubina transcutânea em RN a partir da refletância de propriedades na pele, abriu um campo importante de atuação no diagnóstico e monitoramento não invasivo de doenças específicas para essa população, a citar, o bilirrubiômetro. Este equipamento foi criado para determinar a concentração de bilirrubina na pele, em especial de RN(48).

A luz refletida da pele a testar foi analisada para determinar a concentração de bilirrubina na pele, corrigida para propriedades ópticas dependentes da maturidade da pele, a quantidade de melanina na pele e a quantidade de sangue na pele. A luz vermelha refletida para infravermelho é usada para determinar as propriedades ópticas dependentes da maturidade, enquanto a luz vermelha refletida é usada para determinar o conteúdo de melanina e a luz amarela-alaranjada refletida é usada para determinar a quantidade de sangue na pele. Em

seguida, essas quantidades são usadas em combinação com a luz azul refletida, para calcular a concentração de bilirrubina cutânea(48).

Existem basicamente duas abordagens distintas para medir a cor da pele usando espectrofotometria de reflectância. Uma é a utilização de banda larga do espectro óptico de luz visível e o sistema que se concentra na quantificação de comprimentos de onda de luz de banda estreita(7). A quantificação de comprimentos de onda de luz selecionados corresponde à cor de características biológicas específicas, como os cromóforos (melanina, hemoglobina, bilirrubina). Quando a luz é dirigida perpendicularmente à superfície da pele, o estrato córneo induz espalhamento difuso para a frente e sua influência sobre a reflectância da pele é mínima. A melanina absorve fortemente todos os comprimentos de onda, mas mais fortemente quando atenua as radiações ultravioleta próximas. A hemoglobina oxigenada e desoxigenizada absorve especificamente entre 540 e 575nm(7) (Figura 3). 997586003

Figura 3 - Absorção de melanina, oxihemoglobina e desoxihemoglobina em função do comprimento de onda



Fonte: Piérard (1998)(7)

A avaliação da pigmentação da pele nas propriedades ópticas na influência na idade, utilizando in vivo a absorção de coeficiente de dispersão da pele neonatal entre 450 e 600 nm mostrou variação de absorção mais forte em pacientes de pele escura(49).

Métodos de reflectância, na análise da cor da pele de RN brancos e negros com IG entre 25 e 44 semanas, por espectrofotometria de reflectância evidenciou que a produção de melanócitos é um processo que ocorre ainda intraútero, sendo mais presente em raças negras após a 32 semanas de IG(10).

Outro estudo, realizado na Coréia, desenvolveu um novo dispositivo de reflectância difusa do infravermelho próximo por espectroscopia, visando a análise dos fatores que tem relação com o envelhecimento da pele, comprovando que os fatores externos influenciam na espessura da pele assim como a presença de água na pele de um neonato pode alterar essa medida(50).

2.3.5. Os desafios da datação da gravidez e o potencial da fotometria da pele

A medição do embrião ou feto no primeiro trimestre (13^a semana gestacional) pelo US, é o método mais preciso para estabelecer ou confirmar IG, quando o erro é de 5 a 7 dias com a cronologia clínica(51, 52). Isso porque, antes da 13^a semana de gestação, os fatores externos e maternos pouco influenciam no desenvolvimento embrionário, com pouca variabilidade do crescimento intrauterino(53).

Neste período, a medida do embrião é feita por meio de uma única medida, o comprimento cabeça nádega, que favorece sua acurácia. O exame, realizado através do US transvaginal, permite a medida do embrião com melhor qualidade de imagem quando comparado ao US abdominal(54).

Na ausência deste padrão-ouro para datação da gravidez, a estimativa se faz utilizando uma combinação de informações, como a data da última menstruação (DUM), exame físico da mãe, laudos de US obstétricos(55) e análise de características externas não muito precisas(56). Dentre os escores pós-nascimento para a estimativa da IG ao nascimento há os métodos de Meu Ballard(4), Dubowitz(29) e Capurro(30).

Devido à falta da realização de US e o acesso ao pré-natal precoce, bem como a baixa urácia da IG após 20 semanas de gestação, a utilização dos métodos para datação da gestação

são um desafio em países de baixa renda(57,58), o que vem estimulando pesquisadores ao desenvolvimento de novas tecnologias acessíveis para datação da gravidez(58).

Na ausência de uma datação confiável, o desfecho da gestação pode ser afetado, assim como possíveis alterações deixam de ser detectadas e tratadas precocemente, gerando resultados desfavoráveis(59). Além disto, a correta IG permitirá a classificação do estado nutricional do neonato, auxiliando no diagnóstico do crescimento intrauterino restrito e da macrossomia, bem como nos desdobramentos no seguimento do crescimento e desenvolvimento infantil(60).

O aprofundamento e reconhecimento da pele de um neonato, bem como as suas características particulares, possibilitará a obtenção de informações indispensáveis para o planejamento de uma assistência de excelência(61).

Frente ao desafio de se oferecer uma nova opção para datação da gravidez ao nascimento, acessível, de baixo custo e com boa acurácia, o *Preemie-Test* tem como objetivo a criação de um indicador da maturidade da pele neonatal através da leitura de propriedades biofísicas por meio da luz, inferindo a IG(12).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o índice de melanina da pele em recém-nascidos prematuros e associá-lo à IG ao nascimento.

3.2. Objetivos Específicos

- Verificar se o índice de melanina medido na pele do RN varia de acordo com a **IG**;
- Verificar se o índice de melanina medido na pele do RN muda conforme local do corpo;
- Comparar se o índice de melanina medido na pele de RN apresenta relação com o sexo da criança;
- Verificar se a cor da pele da mãe influencia na concentração de melanina na pele do RN.

4. METODOLOGIA

4.1. Delineamento do estudo e aspectos éticos

O delineamento deste estudo foi um coleta observacional transversal. Compreendeu a coleta de dados obstétricos e neonatais, observação clínica da cor da pele em puérperas e avaliação do índice de melanina em pele de RN utilizando um dispositivo óptico não invasivo.

Dois centros perinatais de referência no Brasil participaram desta avaliação. O Hospital das Clínicas, da Universidade Federal de Minas Gerais e o Hospital Sofia Feldman. Cada comitê de ética independente aprovou o protocolo do estudo. A pesquisa foi registrada na Plataforma Brasil sob o número de protocolo CAAE 49798915.2.0000.5149 (Anexo I). Os pais assinaram um termo de consentimento (Apêndice I) informado em nome dos neonatos. A coleta prospectiva de dados e aquisições de sinais cutâneos ocorreram entre agosto de 2017 e setembro de 2018.

4.2. Critérios de elegibilidade para seleção do recém-nascidos

Como critérios de inclusão para o estudo foram selecionadas mulheres puérperas e seus respectivos neonatos a partir dos seguintes critérios:

- Recém-nascido com até 24 horas de vida.
- IG entre 24 semanas a 36 semanas + 6 dias ao nascimento e confirmada com avaliação ultrassonográfica obstétrica realizada antes das 14 semanas de gestação.

Os critérios de exclusão foram:

- Existência de malformações com alterações estruturais da pele;
- Condições modificadoras da pele fetal: anidrânio, hidropisia, dermatopatias congênicas ou corioamnionite

4.3. Coleta de dados clínicos

As informações maternas e neonatais foram obtidas a partir dos registros médicos e de enfermagem das puérperas e dos neonatos. Os pesquisadores realizaram uma breve entrevista com a mulher. Um formulário-padrão foi criado, para cada RN avaliado (Apêndice II). Posteriormente, os dados foram transferidos para uma base de dados digital, protegida por

senha. O exame de US do primeiro trimestre da gravidez foi a referência para a IG calculada ao nascimento.

4.3.1. Exame da pele da mulher

A cor da pele da mãe foi avaliada no antebraço interno usando a referência de Fitzpatrick (8). Esta escala visual para fototipos de pele variou de I (branco pálido) a VI (castanho muito escuro a preto):

- Tipo I – Pele branca pálida
- Tipo II – Pele branca
- Tipo III – Pele castanho clara
- Tipo IV – Pele castanho moderada
- Tipo V – Pele castanho escura
- Tipo VI – Pele castanho muito escuro a preta

A avaliação da pele da puérpera foi realizada durante coleta de dados e entrevista, no mesmo dia do exame feito no RN, aproximando a escala de Fitzpatrick na região do antebraço observando a cor mais próxima com a pele da mulher.

4.3.2. O Exame da pele do recém-nascido

Os RNPT selecionados tiveram sua pele avaliada em três locais do corpo: antebraço distal anterior, planta do pé e aréola (Figura 4), por ser local de fácil acesso e de menor necessidade de manusear a criança.

A aréola foi incluída devido a sua importância como marcador de maturidade clínica (1, 2, 4). A escolha dessas áreas evitou qualquer interferência entre as ações do examinador com sensores de monitorização de sinais vitais, a exemplos da oximetria de pulso e dos eletrodos do eletrocardiograma (ECG), que possivelmente a criança estivesse em uso.

Figura 4 - Locais avaliados pelo fotômetro para avaliação do índice de melanina



Fonte: Gratuita disponível na internet

O exame da pele foi realizado de forma segura para o RN, em especial os prematuros extremos que foram mantidos na incubadora, com o mínimo manuseio, objetivando a manutenção da temperatura, da luminosidade adequado e, conseqüentemente, da preservação das condições clínicas.

A fototerapia, quando em andamento, foi desligada durante a avaliação para não interferir na funcionalidade e análise do dispositivo óptico.

4.4. A obtenção do índice de melanina

4.4.1. Características do fotômetro utilizado

Um dispositivo optoeletrônico portátil de reflectância multibanda foi desenvolvido para este estudo. Três versões do equipamento portátil foram construídas no Laboratório de microeletrônica do Centro de Informática em Saúde da Faculdade de Medicina da UFMG e utilizadas na avaliação. A luz emitida é do tipo luz não-ionizante, sendo a fonte lâmpadas do tipo LED centralizado em 630nm. Esse dispositivo quando em contato com a pele, de um RN é capaz de emitir luz, capturar a luz refletida pela pele e armazenar os dados em seu processador.

O fenômeno óptico de interação da luz com a pele se dá porque parte da luz atravessa a pele e parte é refletida pelos seus constituintes(62). O componente que é refletido pode ser usado para inferir indiretamente a concentração destes constituintes(62, 63).

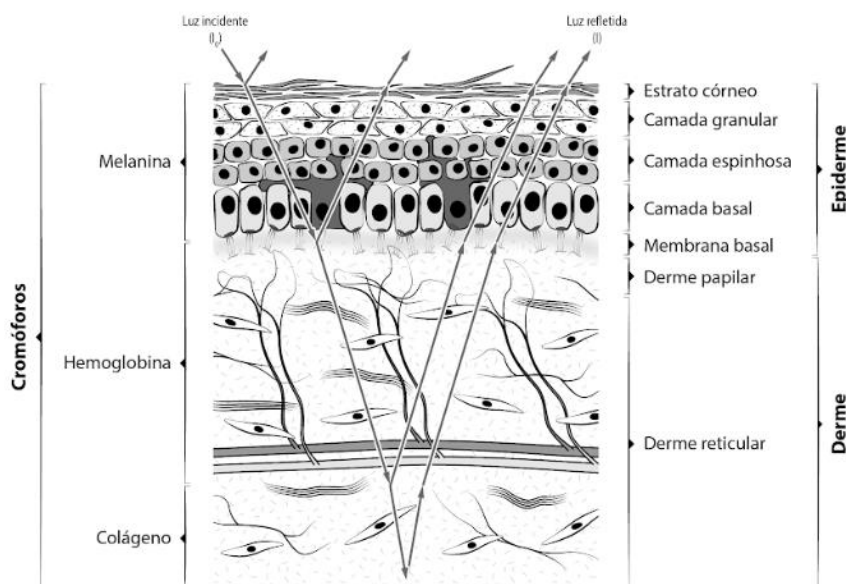
O exame foi realizado por três examinadores treinados. A precisão deste equipamento foi previamente determinada a partir de testes entre examinadores(15).

4.4.2. O cálculo do índice de melanina

A obtenção da concentração dos constituintes da pele que interagem com a luz incidente são possíveis através do conhecimento destes constituintes (fotobiologia), da estrutura da pele e suas camadas (histologia) e da lei de Beer-Lambert(64), que relaciona a quantidade de luz monocromática absorvida por uma substância em função de sua concentração. Uma equação matemática relacionou a reflexão da pele com a concentração de melanina considerando um modelo simplificado de pele com três camadas (Apêndice III).

O caminho reflete a luz incidente (I_0) que entra nas primeiras camadas da pele e segue um caminho tortuoso até que ela saia da pele sendo atenuada pelos cromóforos da pele (16). Em sequência, a intensidade da luz refletida (I) adquirida pelo fotômetro foi analisada (Figura 5).

Figura 5: Modelo fotobiológico da pele em três camadas. A primeira camada possui melanina, a segunda hemoglobina e a terceira está livre de cromóforos, se comportando como um espalhador de parte da luz que atravessa as duas primeiras camadas.



Fonte: dos autores com apoio do Centro de Informática em Saúde da Faculdade de Medicina da UFMG

As aquisições de dados ocorreram automaticamente, quando o sensor tocou a pele da criança, registrando uma vez por RN e área do corpo. A intensidade da luz vermelha refletida

avaliou a densidade óptica da pele relacionada ao conteúdo de melanina em termos de índice de melanina, segundo Fullerton et al(62) Equação simplificada: índice de melanina= 100 x Log10 (1 / Ired).

4.5. Análise estatística

4.5.1. Os grupos de estudo

Dois grupos de análise foram organizados, considerando-se os seguintes intervalos de IG entre:

- 24 a <34 semanas.
- 34 a <37 semanas.

Tais agrupamentos seguiram os marcos cutâneos visuais mais expressivos da evolução física da maturidade dos recém-nascidos(65).

4.5.2. O cálculo amostral

O tamanho da amostra foi planejado inicialmente com base na existência de uma correlação moderada ($r=0,70$) entre a IG e a maturidade da pele no período neonatal, por meio da interação desse tecido com a luz (15). Para validação a posteriori, estima-se que 80 recém-nascidos tem o poder de 82% para detecção de uma diferença média entre os grupos de estudo, considerando um efeito tamanho médio (0,60), um intervalo de confiança de 95% e um teste de hipóteses unicaudal.

4.5.3. A análise dos dados

A análise descritiva em termos de frequências, média e desvio-padrão apresentou características basais do grupo de estudo e medidas de pele, enquanto a mediana e o intervalo interquartil foram preferidos para variáveis contínuas com distribuição não normal. As variáveis categóricas foram apresentadas por sua frequência absoluta e relativa.

As variáveis numéricas foram comparadas em subgrupos pelos testes independentes ANOVA quando apresentaram distribuição normal, ou Kruskal Wallis quando não normais, seguidos por análise de testes Post-Hoc, quando necessário, foram utilizados para avaliar a relação entre a medida do índice de melanina da pele e os subgrupos de interesse. O teste t

pareado comparou o índice de melanina entre as diferenças entre os três locais do corpo da criança. O nível de significância para os testes de hipóteses foi de 5%, e o intervalo de confiança (IC) de 95% e o software utilizado foi o SPSS®, versão 23.

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em formato de artigo, submetido em setembro de 2019 a Revista Skin Research and Technology.

A quantitative cross-sectional analysis of the melanin index in the skin of preterm newborns and its association with gestational age at birth

Abstract

Background: Estimation of gestational age (GA) is important to make timely decisions and provide appropriate neonatal care. Clinical maturity scales to estimate GA have used skin texture and color to assess maturity at birth facing situations of the uncertainty of pregnancy dating. The size and darkness of the areola around the nipple to grade skin characteristics are based on visual appearance. The melanin index (M-Index) is an optical skin parameter related to the melanin content in the tissue. This study is aimed to associate the M-Index of the skin with the GA.

Methods: A cross-sectional study evaluated 80 newborns at birth. A photometer device quantified the skin pigmentation on the areolae, forearms, and soles. Paired average differences of M-Index were compared among the three body sites. The skin M-Indexes were compared between subgroups of newborns until 34 weeks or with 34 and more.

Results: The skin over the areola had the highest values of M-Index compared with the forearm or sole areas ($P < .001$ for both). Infants with a GA between 34 and <37 weeks had higher M-Index values over the areola than the group with a GA with 24 to <34 weeks: 41.7 (8.9) and 38.3 (10.5) median (IQR), $P = .005$.

Conclusions: The measurable M-Index values have the potential to improve physical evaluation in assessing GA at birth.

KEYWORDS gestational age, infant, premature, photomedicine, physiological phenomena, pigmentation, skin

1 INTRODUCTION

Physical characteristics of neonates have been used to estimate maturity as they depend on the duration of pregnancy.¹ Clinical score systems consider skin texture and color as signals to estimate gestational age (GA) after birth. Among a set of neurological testing and physical signs, health professional grade the size and darkness of the areola around the nipple based on visual appearance.²⁻⁴ However, under visual inspection to the color assessment of skin is subjective, sometimes clinically inadequate, and discordant between observers.⁵ In such evaluation, the color of the skin plays a major role despite being a subjective perception.

Skin color is the result of the existence of two main cutaneous chromophores, melanin and hemoglobin located in the epidermis and dermis, whose optical properties are well studied.⁶

Photometric methods to measure skin color evaluate the interaction of light with chromophores taking into account the optical properties of these compounds, their concentrations, and specific wavelengths of the illuminating source.⁵ The melanin index (M-Index) is an optical skin parameter related to the melanin content in the tissue.⁷ In clinical practice, the phototype scale of Fitzpatrick et al is a semi-quantitative measure of the skin color that combines the intensity of the melanization and the erythematous response to sun exposure.⁸

During the neonatal period, skin color is the result of pigments and skin thickness.⁹ Analyzing skin reflectance at birth, Post et al reported that, in utero life, black and white infants already show skin reflectance differences due to the sex and site of the body after 32 weeks of gestation.⁹ In fact, another report assessing the M-Index in 447 healthy neonates from 35 to 42 weeks of gestation showed that the skin color of neonates is mainly determined genetically.¹⁰ Therefore, knowledge about physiological variations in skin pigmentation has clinical relevance because of associations with jaundice, anemia, plethora, and hormonal dysfunctions.¹¹ Studies on the skin pigmentation of newborn infants are scarce or focused on the measurements of transcutaneous bilirubin,¹² namely the influence of melanin in noninvasive measurements.¹³ Meanwhile, assessment of GA at birth supported by noninvasive photometry by skin contact is a new approach, which is under clinical validation. There is a potential association between skin reflectance and GA at birth.¹⁴ Post-natal approaches to pregnancy dating have limitations regarding accuracy and precision.¹⁵ Preterm infants require special health care, mostly when they are born within <32 weeks of gestation, demanding inpatient care to survive. Innovations are still necessary to measure gestational age more efficiently in low-income settings, considering low-cost solutions.¹⁶

This study aimed to assess the M-index of the skin in premature newborns and associate it with the GA at birth. We hypothesize that the darkness of the areola, assessed with a handheld photometer device, has the potential to contribute to pregnancy dating after birth in preterm neonates.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Study design and setting

The design of the study was an observational cross-sectional gathering of obstetric data,

a clinical observation of the skin color in women, and an assessment of the M-Index in the skin of newborns using a noninvasive optical device. Two referral perinatal centers in Brazil participated in this evaluation: Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais, and Hospital Sofia Feldman. Each local independent ethics review board approved the study protocol. This study was logged in Plataforma Brasil under protocol number CAAE 49798915.2.0000.5149. Parents signed a written informed consent form on behalf of the newborns. Prospective data and skin signal collection occurred between August 2017 and September 2018.

A sequential enrollment process selected women and their infants with the following inclusion criteria: age newborn up to 24 hours of life with a GA between 24 and 36 weeks + 6 days at birth, confirmed with an obstetric ultrasound assessment before 14 weeks of pregnancy. Exclusion criteria were malformation with structural skin alterations or skin modifiers as follows: anhydramnios, hydrops, congenital skin diseases, or chorioamnionitis.

Inpatient medical records and a quick interview with the women were the sources of clinical data. The first-trimester ultrasound was the reference for GA calculated at birth. Ranges of age: 24 to <34 weeks, 34 to <37 weeks bound two groups of analysis, according to the priorities of the newborn.¹⁷ The color of the mother's skin was measured from the inner forearm using the Fitzpatrick reference.⁸ This visual scale for skin phototypes ranged from 1 (pale light white) to 6 (very dark brown to black).

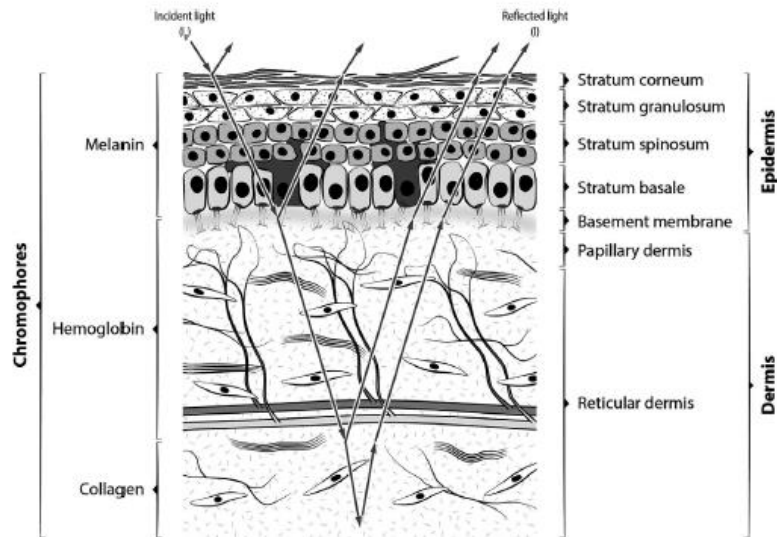
Neonates had their skin reflectance assessed at three body sites, the anterior distal forearm, the sole of the foot, and the areola. Choosing such areas, the examiner avoided any interference with vital signal sensors in use, ensuring minimum handling and stable clinical conditions in preterm infants, mainly inside incubators. The areola was assessed due to this importance as a clinical maturity marker.^{1,2,4}

2.2 M-Index measurement

A handheld multiband reflectance photometric device, previously detailed,¹⁸ provided noninvasive acquisitions of skin reflectance under red LED light centered at 630nm. A simplified equation was used to relate skin reflection to the melanin concentration, according to Fullerton et al: $M\text{-Index} = 100 \times \text{Log}_{10} (1/I \text{ red})$.⁵ A three-layered optical skin model was adopted. The incident light (I_0) enters the first layers of the skin and follows a tortuous path

until it exits back out of the skin being absorbed by chromophores,¹⁹ see Figure 1. The intensity of reflected light (I) acquired by the photometer was then analyzed. The data acquisitions occurred automatically, when the sensor touched the skin, recording once per newborn and body site.

FIGURE 1 Simplified three-layered optical skin model. Legend I , intensity of reflected light from a layered structure; I_0 , intensity of incident light



2.3 Data analysis

A descriptive analysis is expressed as the frequencies, the mean, and standard deviation (SD) presented baseline characteristics of the study group and skin M-Index, whereas the median and interquartile range (IQR) were preferred for non-normally distributed continuous variables. Independent mean or median tests, Student's t , Mann-Whitney, or Kruskal-Wallis, evaluate the relationship between the measurements and groups of interest. Paired t tests compared M-Index differences among the three body sites of the infant. The significance level for hypothesis tests will be 5%, together with 95% confidence interval (CI). A sample size of 80 newborns had the power of 82% for detecting a mean difference between the two groups, considering a medium size effect (0.6) and 95% of confidence, in onetail t test.²⁰

3 RESULTS

From among the 87 consented preterm newborns, 7 (8.0%) were excluded due to a technical problem of the sensor and producing invalid values. The median GA of 80 newborns was 34.3 (IQR = 3.7) and ranged from 24.1 to 36.9 weeks. We then stratified the infants by GA

and found 30 (37.5%) were between 24 and < 37 weeks. Birth weight ranged from 510 to 2545 g; with a mean (SD) of 1967 (SD = 628) grams. Measurements were taken, 34 (42.5%) were female and 46 (57.5%) were male. The evaluation occurred inside an incubator in 36 (45.0%) infants and 37 (46.3%) infants were under intensive care. Sixteen newborns were siblings, and the number of mothers was 72 women. Most mothers had a phototype classification of type-III (34/72 42.5%) or type-IV (22/72 27.5%). Table 1 summarizes clinical characteristics of the groups stratified by GA.

TABLE 1 Clinical characteristics according to the groups of analysis

	24 to <34 wk n = 30	34 to <37 wk n = 50	P
Gestational age, weeks, median (IQR)	31.7 (2.8)	35.6 (1.9)	<.001 [†]
Birth weight, grams, mean (SD)	1393 (424)	2311 (453)	<.001 [‡]
Color of the mothers skin [¶] , median (IQR)	4 (2)	3 (1)	.144 [†]
Sex (female) n (%)	13 (43.3%)	21 (42.0%)	.907 [§]
Incubator n (%)	28 (93.3%)	8 (16.0%)	<.001 [§]

Abbreviations: IQR, interquartile range; SD, standard deviation.

[†]Mann-Whitney.

[‡]Independent t test.

[§]Chi-square.

[¶]Fitzpatrick scale

A total of 238 optical assessments on the skin were taken, 80 on the anterior distal forearm, 80 on the sole, and 78 on the areolar area. M-Index mean (SD) values when evaluated on the anterior distal forearm were 33.5 (5.6); 35.4 (5.7) on the sole; and of 39.6 (7.6) on the areola. Two missing data were due to electrodes of ECG monitoring attached over areolae. The areola area was the darkest site of the three areas evaluated on the body of the newborn. Paired comparisons revealed significant within-subject differences in the M-Index on the areola compared with the forearm (Line 2 P < .001), and the sole (Line 2 P < .001), see Table 2.

TABLE 2 M-Index taken from areola, forearm, and sole of preterm infants

Comparisons	Areola (n=78)	Forearm (n = 80)	Sole (n = 80)	Mean-paired difference (SD)	95% CI	P [†]
Areola minus forearm	39.6 (7.6)	33.5 (5.6)	—	6.3 (5.5)	5.0-7.5	<.001
Areola minus sole	39.6 (7.6)	—	35.4 (5.7)	4.3 (6.4)	2.9-5.8	<.001
Forearm minus sole	—	33.5 (5.6)	35.4 (5.7)	-1.9 (2.7)	-2.5-1.3	<.001

Abbreviation: SD, standard deviation.

[†]Paired t test.

When we stratified M-Index values by sex of the neonate infant, no significant differences were found between the mean (SD) value on areola 38.9 (5.7) in females vs 40.2 (8.8) in males, $P = .456$; on forearm 34.2 (5.3) in females vs 33.0 (5.7) in males, $P = .358$; neither on the sole 35.8 (5.8) in females vs 35.0 (5.7) in males, $P = .525$. Comparison of the skin color of the mothers had no statistical association with the color of the skin of the newborns assessed by M-Indexes (Table 3). None of mothers had phototype classified as type-I evaluated with the Fitzpatrick scale.

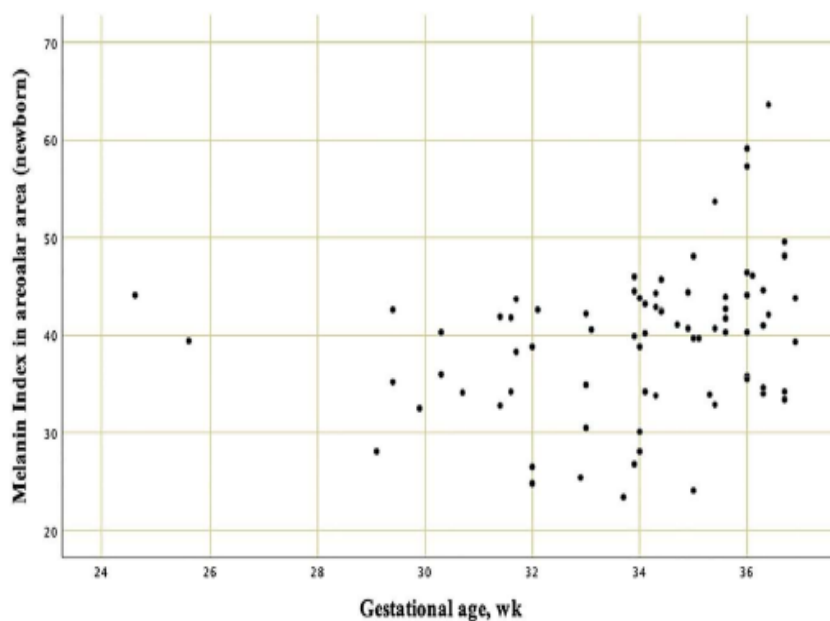
TABLE 3 Melanin index mean values measured at three sites of the skin of the newborns, according to the skin of the mother's phototype

Fitzpatrick scale	n (%)	Areola mean (SD)	Forearm mean (SD)	Sole mean (SD)
Type-II	7 (8.8%)	34.3 (7.2)	29.5 (6.0)	30.8 (4.3)
Type-III	34 (42.5%)	38.9 (7.4)	33.2 (5.3)	34.9 (5.8)
Type-IV	22 (27.5%)	41.0 (7.5)	34.8 (5.8)	37.2 (5.6)
Type-V	14 (17.5%)	41.7 (7.9)	33.9 (5.1)	35.5 (5.3)
Type-VI	3 (3.8%)	39.6 (7.6)	33.5 (5.6)	35.4 (5.7)

Note: P-values obtained with the one-way ANOVA test: areola $P = .133$; forearm $P = .160$; sole $P = .091$

Areolar M-Index had values plotted according to GA, Figure 2. The higher M-Indexes were found in late-preterm newborns.

FIGURE 2 Scatter plot with values of areolar M-Index according to gestational age calculated by early obstetric ultrasonography



In sequence, when analyzing statistical differences, comparisons among groups of prematurity ranges revealed a significant difference in the areolar M-Index of the group with GAs between 24 and < 37 weeks of gestation (Table 4 line 2).

TABLE 4 M-Index of the skin of the newborn, according to gestational age and site

	n	24 to <34 wk n = 30	34 to <37 wk n = 50	p [†]
Areola, median (IQR)	78	38.3 (10.5)	41.7 (8.9)	.005
Forearm, median (IQR)	80	34.9 (10.8)	34.8 (6.7)	.773
Sole, median (IQR)	80	38.2 (9.7)	35.8 (7.3)	.227

Abbreviation: IQR, interquartile range.

[†]Mann-Whitney.

4 DISCUSSION

4.1 Key results and interpretation

The central contribution of this analysis was associating the color of the areola with the pregnancy chronology at birth using a quantitative assessment of melanin in the skin of

neonates. The darkness of the areola, measured with an experimental photometer device, corroborated the importance of the nipple's physical modifications, already visually taken in clinical scores systems of maturity. A quantitative significant difference was present comparing newborns in the group from 24 to <34 weeks and from 34 to <37 weeks. Progressive development of the areolar skin is not new for caregivers of newborns. Before 30 weeks, the nipple is barely visible and no areola is perceptible, which markedly changes after this age.¹ As part of maturational scores, a gradual development in the diameter of the mammalian gland, size and color of the areola are criteria used to grade maturity. A visible areola should occur simultaneously with the abundance of lanugo,⁴ smooth and fine skin^{2,4} among a set of physical and neurological parameters. However, such clinical evaluations are complex, demanding training to evaluate neurological and physical conditions to estimate GA. Though, they lacked enough accuracy and reliability in comparison with the early obstetric ultrasound dating.¹⁵ New post-natal approaches are expected to combine existent parameters with new acquisitions or technology.¹⁶

Skin color by inspection was, in the past, recognized as an independent predictive variable of GA at birth.²¹ Regarding the skin color evaluation of newborns using optical approaches, there are scarce studies for comparisons. Previous results explored changing in the skin reflection due to pigment distribution and concentration, as well as tissue thickness according to GA.⁹ In that article, ethnicity of the infant was based on the appearance of the parents. There was a difference in the skin reflection between white and black neonates, after 32 weeks of gestation.⁹ The present study failed in demonstrating a relationship between the M-Index assessed over the areola in premature newborns with the tonality of the skin of the mother, assessed with the Fitzpatrick scale dissimilarities. Our interpretation is that the direct measurement of the color of the skin over the areola of preterm newborns at birth may have clinical utility to support maturity evaluation, independently of ethnicity. Even the analysis did not include the fathers of the infants, a sample of mixed ethnicities in our sample allowed the evaluation of a wide range of mothers' phenotypes of skin, varying from type-II to type-VI. In other body sites such as the forearm and sole, M-Index had no association with GA, neither with the areola pigmentation nor within variation between sites. Park & Lee (2005) found similar results, reporting no dissimilarities in the skin color of 447 newborns on the forehead, upper arm, abdomen, and inguinal area M-indexes, neither a relationship with pregnancy dating

considering the interval from 35 to 40 weeks of gestation.¹⁰ Physiological variations in the pigmentation of term newborns' skin were reported according to the sex and body sites in term gestation using spectroscopy, making results difficult to compare with this sample of preterm infants 11 studied. Differently to the full term, under visual inspection, the skin of an extremely premature infant has little or no visible pigmentation, being markedly erythematous.⁹ The sample analyzed here consisted of a broad scale of prematurity from 24 weeks toward the near term, most of them inside incubators and receiving intensive neonatal care. In preterm newborns, the lack of the skin barrier is a cause of loss of water by evaporation, hypothermia, and less protection against external agents.²² The fragility of the premature infant's skin needs to be promptly recognized at birth to face the important clinical challenges of newborn attention. The concern of offering the best neonatal health care justifies the exploration of skin maturity based on the optical properties of this tissue.

4.2 Limitations and perspectives

In situ measurements of the skin pigmentation involve mathematical bio-optical models to represent the interaction of light with the human skin. This study used the simplified principle in which the assessment of the intensity of the reflected red light is related to the optical skin density of melanin content, the M-Index.⁵ The reasons for the three layers' optical model assumption were previously reported to compare our results since commercial devices adopted the same model.^{10,23} Despite an experimental handheld device, the repeatability of acquisitions was excellent, as previously reported.¹⁷ For comparability of values using the same M-Index equation, Shriver et al²³ found values of M-Index varying from 30 to 76 in Europeans, East Asians, and African Americans adults, and Park & Lee reported values around 25 to 35 in Korean newborns.¹⁰

Another issue was the potential influence of bilirubin deposit in the skin of the newborns in the reflectance values of skin. Nonphysiologic or adaptive hyperbilirubinemia is the most common morbidity in the neonatal period, which is more severe in premature infants.²⁴ In our sample, there was no phototherapy ongoing. We believe that conducting the skin examination during the first hours of life was essential to prevent possible interferences related to bilirubin accumulation in the skin. Otherwise, the external validity of this study's results is limited to the first day of the preterm infants' life.

The present analysis brings new quantitative information comparing the relationship between neonatal maturity and M-Index in the areola of preterm infants. Quantification of melanin provides additional information with the advantage of reliability of measurement. Variations in the colored melanin pigment are still important for the estimative correction of the presence of other skin chromophores as bilirubin.

The analysis of the M-Index corroborated clinical antecedents of areolar darkness as a physical maturity marker in newborns. A direct quantitative value obtained by photometry is easy to acquire in birth or neonatal scenarios, just by touching the infant's skin with a small optical sensor. The timely interventions based on access to maturity of the newborn are strategic for decision-making regarding the best neonatal care. The risk related to an immature skin barrier is essential to prevent immediate complications and future diseases during childhood.²⁵ These results are not ready for a clinical proposal but highlighted the potential of the optical skin assessment to improve physical evaluation used in prematurity scores.

5 CONCLUSIONS

We noticed that quantification of the areolar darkness objectively evaluated the nipple's physical differences between the newborns at a cutoff of 34 weeks. The measureable M-Index values have the potential to improve physical evaluation to assessing GA at birth.

ACKNOWLEDGEMENTS This research was supported by the Grand Challenges Exploration from the Bill & Melinda Gates Foundation (Grant number OPP1128907, Contract), <http://www.gatesfoundation.org/>, and Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais, Brazil, <http://www.fapemig.br/en/>, non-profit sectors. The funders played no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

CONFLICT OF INTERESTS Authors RNG and ZSNR declare a patent deposit on behalf of the Universidade Federal de Minas Gerais and Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais, Brazil, <http://www.fapemig.br/en/>. The inventors were Reis, Zilma Silveira Nogueira and Guimaraes, Rodney Nascimento: BR1020170235688 (CTIT-PN862). **AUTHORS**

CONTRIBUTIONS PCS and RGS collected clinical data, interpreted and analyzed the data, wrote and revised the article. ZSNR and RNG designed the study, interpreted and analyzed the data, wrote and revised the article. ORCID Paola Conceição Silva <https://orcid.org/0000-0001-7589-7033> Zilma Silveira Nogueira Reis <https://orcid.org/0000-0001-6374-9295>

REFERENCES

1. Sharma A, Dhatt PS, Verma KC, Singh H, Gupta HL. Anthropometric measurements and physical characteristics in the assessment of neonatal maturity. II. Physical characteristics. *Indian J Pediatr.* 1975;42(333):305-309.
2. Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeyro-Barcia R. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr.* 1978;93(1):120-122.
3. Dubowitz LMS, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr.* 1970;77(1):b1-10.
4. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr.* 1991;119(3):417-423.
5. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis.* 1996;35(1):b1-10.
6. Piérard GE. EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1998;10(1):1-11.
7. Stamatas GN, Zmudzka BZ, Kollias N, Beer JZ. Non-invasive measurements of skin pigmentation in situ. *Pigment Cell Res.* 2004;17(6):618-626.
8. Fitzpatrick TB, Breathnach AS. The epidermal melanin unit system. *Dermatol Wochenschr.* 1963;147:481-489.
9. Post PW, Krauss AN, Waldman S, Auld PA. Skin reflectance of newborn infants from 25 to 44 weeks gestational age. *Hum Biol.* 1976;541-557.
10. Park JH, Lee MH. A study of skin color by melanin index according to site, gestational age, birth weight and season of birth in Korean neonates. *J Korean Med Sci.* 2005;20(1):105-108.
11. Grande R, Gutierrez E, Latorre E, Arguelles F. Physiological variations in the pigmentation of newborn infants. *Hum Biol.* 1994;66(3):495-507.
12. Lyngsnes Randeberg L, Bruzell Roll E, Norvang Nilsen L, Christensen T, Svaasand L. In vivo spectroscopy of jaundiced newborn skin reveals more than a bilirubin index. *Acta Paediatr.* 2005;94(1):65-71.
13. Bosschaart N, Kok JH, Newsum AM, et al. Limitations and opportunities of transcutaneous bilirubin measurements. *Pediatrics.* 2012;129(4):689-694.
14. Reis ZSN, Simeoni U, Vitral GLN, Souza IMFd, Rego MAS, Guimaraes RN. Newborn skin reflection: Proof of concept for a new approach for predicting gestational age at birth. A cross-sectional study. *PLoS ONE.* 2017;12(9):e 0184734.
15. Lee AC, Panchal P, Folger L, et al. Diagnostic Accuracy of Neonatal Assessment for Gestational Age Determination: A Systematic Review. *Pediatrics.* 2017;140(6):e20171423.
16. Lee AC, Blencowe H, Lawn JE. Small babies, big numbers: global estimates of preterm birth.

- Lancet Glob Health. 2019;7(1):e2-e3.
17. Howson CP, Kinney MV, McDougall L, Lawn JE, Group BTSPBA. Born too soon: preterm birth matters. *Reprod Health*. 2013;10(Suppl 1):S1.
 18. Reis ZSN, Vitral GLN, de Souza IMF, Rego MAS, Guimaraes RN. Newborn skin reflection: Proof of concept for a new approach for predicting gestational age at birth. A cross-sectional study. *PLOS One*. 2017;12(9):e0184734.
 19. Nielsen KP, Zhao L, Stamnes JJ, Stamnes K, Moan J. The optics of human skin: Aspects important for human health. *Solar radiation and human health*. 2008;1:35-46.
 20. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007;39(2):175-191.
 21. Parkin JM, Hey EN, Clowes JS. Rapid assessment of gestational age at birth. *Arch Dis Child*. 1976;51(4):259-263.
 22. Tamez RN. *Enfermagem na UTI neonatal: assistência ao recém-nascido de alto risco*. Brazil: Koogan G; 2013.
 23. Shriver MD, Parra EJ. Comparison of narrow-band reflectance spectroscopy and tristimulus colorimetry for measurements of skin and hair color in persons of different biological ancestry. *Am J Phys Anthropol*. 2000;112(1):17-27.
 24. Mishra S, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Jaundice in the newborns. *Indian J Pediatr*. 2008;75(2):157-163.
 25. Telofski LS, Morello AP, Mack Correa MC, Stamatias GN. The infant skin barrier: can we preserve, protect, and enhance the barrier? *Dermatology research and practice*. 2012;2012:1-18.

6. DISCUSSÃO

As características físicas e neurológicas do RN se diferencia conforme seu estágio de desenvolvimento(66) e podem ser utilizadas para estimar a IG ao nascimento(4, 30).

A pigmentação areolar é um dos sinais analisados e pontuados pelos profissionais de saúde, para avaliar o estágio de desenvolvimento fetal ao nascimento. O desenvolvimento progressivo da pele areolar após 30 semanas de gestação é algo perceptível pelos cuidadores dos neonatos. Antes das 30 semanas de IG o mamilo é pouco visível e perceptível(65).

Utilizado como parte dos escores de maturação, o desenvolvimento progressivo no diâmetro da glândula mamária, do tamanho e na cor da aréola são critérios para graduar esta maturidade (29, 30).

Acredita-se que esse desenvolvimento areolar ocorra simultaneamente com o aumento da lanugem(30), associando, ainda, a presença de pele lisa e fina(29, 30), bem como a um conjunto de outros parâmetros físicos e neurológicos. No entanto, tais avaliações são complexas, exigindo treinamento para estabelecer critérios neurológicos e físicos para estimar a IG, ou seja, esta avaliação pode apresentar diferenças significativas conforme profissional que realiza o exame.

Estudos apontam que uma das principais dificuldades relacionadas a assistência ao RN prematuro é a falta de consenso em relação aos indicadores e medidas usados para aferir alguns de seus potenciais fatores de risco(67, 68), como a IG ao nascimento.

O acesso ao pré-natal de qualidade no Brasil ainda enfrenta desafios. Grande parcela das mulheres brasileiras ainda o iniciam tardiamente, o que impossibilita a realização do US em períodos gestacionais nos quais sua inclinação diagnóstica é maior(69). Associado a este fator, a DUM é desconhecida em muitas situações, sendo o uso do exame clínico do neonato a única ferramenta para a estimativa da IG(69) apesar das críticas sofridas pela inadequação da maioria dos escores propostos para essa avaliação em neonatos.

Em RN nascido de baixo peso o exame clínico logo após seu nascimento pode ser o recurso mais valioso para avaliar seu prognóstico e necessidades imediatas(70, 71),72). Dentre essas necessidades, os cuidados prestados pelos profissionais de enfermagem são essenciais para garantir a saúde neonatal e a prevenção de agravos, como a correta escolha e manutenção adequada da incubadora, o acesso venoso a ser estabelecido para o tratamento, bem como a manipulação adequada dessa criança nascida prematuramente.

Neste contexto, a contribuição central deste estudo foi associar a cor da aréola com a cronologia da IG ao nascimento, utilizando uma avaliação quantitativa do índice de melanina na pele de RNPT.

O escurecimento da aréola, medida com um dispositivo de fotômetro experimental, corroborou a importância das modificações físicas do mamilo já visualmente tomadas em sistemas de maturidade de escores clínicos. A diferença significativa quantitativa estava presente comparando RN no grupo de 30 a <34 semanas e de 34 a <37 semanas.

A implementação de novas tecnologias na neonatologia tem favorecido a qualidade de vida dos RNPT a nível mundial. O exame da cor da pele neonatal pela óptica é uma delas. O desenvolvimento de um novo dispositivo refletômetro automático de pele, em combinação com variáveis clínicas, capaz de prever a IG ao nascimento pode ser útil quando há dúvidas ou é desconhecido a IG(5).

Embora existam poucos estudos publicados sobre a utilização da óptica na pele neonatal para comparações, a cor da pele por inspeção é uma variável preditiva independente da IG ao nascimento(73). Resultados anteriores exploraram mudanças na reflexão da pele devido à distribuição e concentração de pigmentos, bem como a espessura do tecido de acordo com a IG(10). Um estudo pioneiro nesta área apontou diferenças significativa na reflexão da pele entre neonatos brancos e negros após 32 semanas de gestação (5).

O presente estudo não conseguiu demonstrar uma relação do índice de melanina avaliado sobre a aréola em RNPT com a tonalidade da pele da mãe, analisada com as variações da escala de Fitzpatrick. Mesmo a análise não incluindo o pai da criança, uma amostra de raça mista permitiu a avaliação de uma ampla gama do fenótipo da pele das mães variando de tipo I a VI.

Nossa interpretação é que a medida direta da cor da pele sobre a aréola do RN prematuro ao nascimento pode ter utilidade clínica para apoiar a avaliação da maturidade, independentemente da raça. Em outros locais do corpo, como antebraço e sola do pé, o índice de melanina não apresentou associação com a IG, assim como na pigmentação da aréola com a variação entre os locais. No entanto, Park & Lee(38) encontraram resultados semelhantes ao descrito nesta investigação, relatando não haver diferenças na cor da pele de 447 RN nos índices de melanina ao analisar essa concentração na testa, braço, abdome e área inguinal, nem relação com a gravidez, considerando o intervalo de 35 a 40 semanas de gestação.

Variações fisiológicas na pigmentação da pele de RNT de acordo com os locais do corpo e sexo de neonatos utilizando a espectroscopia foi relatado(6). Tais resultados são difíceis de serem comparados com o nosso, que foi composta por uma amostra de RNPT e utilizado a fotometria para análise. Sob a inspeção visual, a pele do prematuro extremo, diferente da pele de um neonato a termo, apresenta pouca ou nenhuma pigmentação visível, sendo marcadamente eritematosa (5). A amostra, aqui analisada, consistiu em uma escala ampla de maturidade de 24 semanas, a maioria dentro de incubadoras e recebendo cuidados neonatais intensivos. Em RNPT, a falta da barreira cutânea é causa de perda de água por evaporação, hipotermia e menor proteção contra agentes externos(3).

A pele de um RN internado em uma unidade neonatal exige cuidados diários pelos profissionais de saúde, que precisam estar atentos em relação aos produtos que serão usados, bem como, na manutenção da temperatura corporal e umidade do ambiente através de incubadoras. A carência de reserva calórica (carboidrato e gordura) nessa população é responsável tanto pela labilidade térmica quanto pela fragilidade epidérmica(74).

A pele do RNPT apresenta algumas especificidades, como composição mais adelgada (40% a 60% em relação a do adulto), o que propicia a ocorrência de lesões, e conseqüentemente ao risco de adquirir infecções que podem causar danos irreversíveis(75). A fragilidade da pele do bebê prematuro precisa ser prontamente reconhecida no nascimento para enfrentar importantes desafios clínicos da atenção ao RN. A preocupação em oferecer o melhor cuidado neonatal justifica a exploração da maturidade da pele com base nas propriedades ópticas desse tecido sem a necessidade de procedimento invasivo que poderia colocar em risco a saúde da criança.

Este estudo utilizou o princípio simplificado de que a avaliação da intensidade da luz vermelha refletida está relacionada à densidade óptica da pele do conteúdo de melanina, o índice de melanina(62). Os motivos foram baseados em relatos anteriores para comparar nossos resultados, uma vez que dispositivos comerciais adotaram o mesmo modelo(38, 63) e ajustamos nossas duas versões do dispositivo fotômetro construído nos laboratórios da universidade.

Apesar de ser um dispositivo portátil experimental, a repetitividade das aquisições foi excelente, conforme relatado anteriormente(5). Para comparabilidade de valores usando a mesma equação do índice de melanina Shriver et al.(63) encontraram valores de índice de

melanina em adultos europeus, asiáticos e afro-americanos variando de 30 a 76. Park e Lee(38) relataram valores em torno de 25 a 35 em RNs coreanos.

Outra questão importante dessa análise foi a realização do exame cutâneo nas primeiras horas de vida do bebê, essencial para evitar possíveis interferências relacionadas ao acúmulo de bilirrubina na pele. A hiperbilirrubinemia não fisiológica ou adaptativa é a morbidade mais comum no período neonatal, sendo mais grave em prematuros(76). A fototerapia estava em andamento em apenas 7 (4,1%) crianças de toda a amostra, sendo a luz desligada na hora da realização da análise da pele.

A presente análise traz novas informações quantitativas comparando a relação entre maturidade neonatal e índice de melanina na aréola de prematuros. A quantificação da melanina fornece informações adicionais com a vantagem da confiabilidade da medição. Variações no pigmento da melanina ainda são importantes para a correção da estimativa da presença de outros cromóforos da pele como bilirrubina.

Nas últimas décadas, um grande progresso nas imagens in vivo, não invasivo, na pele humana vem sendo adquirido. Vários métodos ópticos foram desenvolvidos para seccionar o tecido vivo com alta resolução e contraste, permitindo uma "biópsia" de diagnóstico não invasivo da pele que serve como uma ferramenta poderosa para pesquisa básica em dermatologia(8).

Assim como em outros campos da medicina, os avanços tecnológicos da última década melhoraram muito nossa capacidade de examinar a pele dos pacientes e de medir e quantificar as mudanças na pigmentação e na cor da pele. Atualmente, uma ampla gama de técnicas está disponível para auxiliar no diagnóstico e avaliação de distúrbios pigmentares, lesões pigmentadas e doenças de pele(77).

7. CONCLUSÕES

A pigmentação da pele na região areolar, quantificada pelo índice de melanina, é um marcador objetivo da maturidade física de RN. Na pele da sola do pé e antebraço, esta relação não foi encontrada.

O índice de melanina apresentou valores mais elevados na pele sobre a aréola, em relação à região do antebraço e da sola do pé, em coerência com o maior escurecimento da pele na região da aréola já evidenciado nos escores de maturidade neonatais.

O sexo do recém-nascido não se mostrou associado ao índice de melanina aferido na pele sobre a aréola, antebraço e sola do pé. Isto demonstra que, pelo menos em prematuros, as alterações físicas determinadas pela diferenciação sexual não se fazem presente na pele.

O índice de melanina, avaliado em recém-nascidos prematuros ao nascimento, não se mostrou influenciando pela cor da pele da mãe. Desta forma, acredita-se que a expressão racial da cor da pele de recém-nascidos prematuros não pode ser quantificada pelo índice de melanina no primeiro dia de vida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology*. 2002;12(4):390-401.
2. Machado M, Hadgraft J, Lane M. Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity. *International Journal of Cosmetic Science*. 2010;32(6):397-409.
3. Tamez RN. *Enfermagem na UTI neonatal: assistência ao recém-nascido de alto risco*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.
4. Ballard J, Khoury J, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman B, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *The Journal of Pediatrics*. 1991;119(3):417-23.
5. Reis ZSN, Vitral GLN, de Souza IMF, Rego MAS, Guimaraes RN. Newborn skin reflection: Proof of concept for a new approach for predicting gestational age at birth. A cross-sectional study. *PloS One*. 2017;12(9):e0184734.
6. Grande R, Gutierrez E, Latorre E, Arguelles F. Physiological variations in the pigmentation of newborn infants. *Human Biology*. 1994:495-507.
7. Piérard G. EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 1998;10(1):1-11.
8. Neerken S, Lucassen GW, Bisschop MA, Lenderink E, Nuijs TA. Characterization of age-related effects in human skin: a comparative study that applies confocal laser scanning microscopy and optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*. 2004;9(2):274-82.
9. Mustafa FH, Jones PW, McEwan AL. Near infrared spectroscopy for body fat sensing in neonates: quantitative analysis by GAMOS simulations. *Biomed Eng Online*. 2017;16(1):14.
10. Post PW, Krauss AN, Waldman S, Auld PA. Skin reflectance of newborn infants from 25 to 44 weeks gestational age. *Human Biology*. 1976:541-57.
11. Lee AC, Blencowe H, Lawn JE. Small babies, big numbers: global estimates of preterm birth. *The Lancet Global Health*. 2019;7(1):e2-e3.
12. REIS ZSN, Guimarães RN. Dispositivo para determinação da idade gestacional, processos e usos. In *Book: Dispositivo para determinação da idade gestacional, processos e usos 2016*. p. 22.
13. Monteiro ÉdO. Cor da pele e pigmentos. *RBM Especial Dermatologia*. 2010;67:5-10.
14. Nordlund JJ, Boissy RE, Hearing VJ, King RA, Oetting WS, Ortonne J-P. *The pigmentary system: physiology and pathophysiology*: Oxford University Press New York; 1998.
15. Young AR. Chromophores in human skin. *Physics in Medicine & Biology*. 1997;42(5):789.
16. Moore K. *Sistema tegumentar: pele, anexos cutâneos e dentes*. *Embriologia Clínica*. 3 ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1984.
17. Byrne C, Hardman M, Nield K. Covering the limb-formation of the integument. *Journal of Anatomy*. 2003;202(1):113-23.
18. Ackerman A. *Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases: an algorithmic method based on pattern analysis*. Ardor Scribendi; 2005.

19. Larsen WJ. Essentials of human embryology: Churchill Livingstone; 1998.
20. Holbrook KA, Vogel AM, Underwood RA, Foster CA. Melanocytes in human embryonic and fetal skin: a review and new findings. *Pigment Cell Research*. 1988;1:6-17.
21. Romão O. As melaninas refletem a cor da pele. Acesso em 15 de fevereiro de 2019. Disponível em:<http://editorarealize.com.br/revistas/cintedi/trabalhos/Modalidade_1datahora_07_11_2014_00_14_22_idinscrito_69_f155d736b26a2a275c9215f095f64a8f.pdf>.
22. Miot LDB, Miot HA, Silva M, Marques MEA. Fisiopatologia do melasma. *An Bras Dermatol*. 2009;84(6):623-35.
23. Yamaguchi Y, Brenner M, Hearing VJ. The regulation of skin pigmentation. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(38):27557-61.
24. Hoath SB, Maibach HI. Neonatal skin: structure and function: CRC Press; 2003.
25. Fitzpatrick TB. Soleil et peau. *J Med Esthet*. 1975;2:33-4.
26. Dermatologia SBd. Classificação dos fototipos de pele. 25 de outubro de 2016; 25 de outubro de 2016. Acesso em 15 de fevereiro de 2019. Disponível em:<<http://www.sbd.org.br/cuidados/por-que-as-pessoas-tem-tons-de-pele-diferentes>>.
27. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Archives of Dermatology*. 1988;124(6):869-71.
28. Sánchez G, Nova J. Confiabilidad y reproducibilidad de la escala de fototipos de Fitzpatrick antes y después de un ejercicio de estandarización clínica. *Biomédica*. 2008;28(4).
29. Dubowitz LM, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *The Journal of Pediatrics*. 1970;77(1):1-10.
30. Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeyro-Barcia R. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *The Journal of Pediatrics*. 1978;93(1):120-2.
31. Jones K, Hughes J, Hong M, Jia Q, Orndorff S. Modulation of melanogenesis by aloesin: a competitive inhibitor of tyrosinase. *Pigment Cell Research*. 2002;15(5):335-40.
32. Jimbow K, W.C. Quevedo TBFea. Biology of Melanocytes. In: T.B. Fitzpatrick AZE, K. Wolff, I.M. Freedberg KFA, editors. *Dermatology in General Medicine*. 1. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 192-220.
33. Takiwaki H, Overgaard L, Serup J. Comparison of narrow-band reflectance spectrophotometric and tristimulus colorimetric measurements of skin color. Twenty-three anatomical sites evaluated by the Deraspectrometer and the Chroma Meter CR-200. *Skin Pharmacol*. 1994;7(4):217-25.
34. Oriá RB, Ferreira FVA, Santana ÉN, Fernandes MR, Brito GA. Estudo das alterações relacionadas com a idade na pele humana, utilizando métodos de histo-morfometria e autofluorescência Study of age-related changes in human skin using histomorphometric and autofluorescence approaches. *An Bras Dermatol*. 2003;78(4):425-34.
35. Nielsen KP, Zhao L, Stamnes JJ, Stamnes K, Moan J. The optics of human skin: Aspects important for human health. *Solar Radiation and Human Health*. 2008;1:35-46.
36. de Oliveira MMF. Radiação ultravioleta/índice ultravioleta e câncer de pele no Brasil: condições ambientais e vulnerabilidades sociais. *Revista Brasileira de Climatologia*. 2014;13.
37. Cartaxo SB, Santos IDdAO, Bitar R, Oliveira AF, Ferreira LM, Martinho HS, et al. FT-Raman spectroscopy for the differentiation between cutaneous melanoma and pigmented nevus. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2010;25(4):351-6.


38. Park JH, Lee MH. A study of skin color by melanin index according to site, gestational age, birth weight and season of birth in Korean neonates. *J Korean Med Sci.* 2005;20(1):105-8.
39. Lenz G. Métodos fotométricos. Porto Alegre: UFRGS. 1997. Acesso em 20 de dezembro de 2018, Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/biofisica/Bio10003/MeFoto.pdf> >.
40. Park J-H, Lee M-H. A study of skin color by melanin index according to site, gestational age, birth weight and season of birth in Korean neonates. *Journal of Korean Medical Science.* 2005;20(1):105-8.
41. Troilius A, Ljunggren B. Reflectance spectrophotometry in the objective assessment of dye laser-treated port-wine stains. *Br J Dermatol.* 1995;132(2):245-50.
42. Goularte CS. Analisador não invasivo de icterícia neonatal utilizando led laser. Universidade Positivo; 2008. Acesso em: Disponível em: < <https://www.up.edu.br/blogs/engenharia-da-computacao/wp-content/uploads/sites/6/2015/06/2008.3.pdf> >.
43. Long DA. *Raman Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester. U.K.2002.
44. Anderson RR. Polarized light examination and photography of the skin. *Arch Dermatol.* 1991;127(7):1000-5.
45. Ampt AJ, Ford JB, Taylor LK, Roberts CL. Are pregnancy outcomes associated with risk factor reporting in routinely collected perinatal data? *N S W Public Health Bull.* 2013;24(2):65-9.
46. Feather J, Ellis D, Leslie G. A portable reflectometer for the rapid quantification of cutaneous haemoglobin and melanin. *Physics in Medicine & Biology.* 1988;33(6):711.
47. Kollias N, Baqer A. Spectroscopic characteristics of human melanin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology.* 1985;85(1):38-42.
48. Jacques SL, Oelberg DG, Saidi I. Method and apparatus for optical measurement of bilirubin in tissue. Google Patents; 1994.
49. Bosschaart N, Mentink R, van Leeuwen AT, Aalders MC, Kok JH. Optical properties of neonatal skin measured in vivo as a function of age and skin pigmentation. *Journal of Biomedical Optics.* 2011;16(9):097003.
50. Miyamae Y, Kawabata M, Yamakawa Y, Tsuchiya J, Ozaki Y. Non-invasive estimation of skin thickness by near infrared diffuse reflection spectroscopy—Separate determination of epidermis and dermis thickness. *Journal of Near Infrared Spectroscopy.* 2012;20(6):617-22.
51. Caughey AB, Nicholson JM, Washington AE. First-vs second-trimester ultrasound: the effect on pregnancy dating and perinatal outcomes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2008;198(6):703. e1-. e6.
52. Barr W, Pecci C. Last menstrual period versus ultrasound for pregnancy dating. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 2004;87(1):38-9.
53. Goldstein SR, Snyder JR, Watson C, Danon M. Very early pregnancy detection with endovaginal ultrasound. *Obstetrics and Gynecology.* 1988;72(2):200-4.
54. Butt K, Lim K, Bly S, Cargill Y, Davies G, Denis N, et al. Determination of gestational age by ultrasound. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.* 2014;36(2):171-81.
55. Deputy NP, Nguyen PH, Pham H, Nguyen S, Neufeld L, Martorell R, et al. Validity of gestational age estimates by last menstrual period and neonatal examination compared to ultrasound in Vietnam. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):25.

56. Luconi R, Ribeiro C, Casarin M, Pieniz C, Quatrin M. Determinação de idade fetal utilizando critérios comparativos entre características externas do feto, biometria e desenvolvimento histológico dos anexos da pele. Acesso em 20 de janeiro de 2019. Disponível em:<
<https://medicina.ucpel.edu.br/uploads/semanaacademica/2012/trabalhos/42.pdf>>.
57. Gynecologists ACoOa. Method for estimating due date. Committee Opinion No. 611. *Obstet Gynecol.* 2014;124(4):863-6.
58. WHO. Organization Health Organization. Human resources for medical devices, the role of biomedical engineers. 2017. Acesso em 20 de janeiro de 2019. Disponível em:<
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255261/9789241565479-eng.pdf;jsessionid=E6D7C7EB313E16E3F5A1CD1F32D8F5C4?sequence=1>>.
59. Egewarth C, Pires FDA, Guardiola A. Avaliação da idade gestacional de recém-nascidos pré-termo através do exame neurológico e das escalas neonatais e obstétrica. *Arq Neuropsiquiatr.* 2002;60(3-B):755-9.
60. De Onis M, Habicht J-P. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a World Health Organization Expert Committee. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 1996;64(4):650-8.
61. Fontenele FC, Cardoso MVLML. Lesões de pele em recém-nascidos no ambiente hospitalar: tipo, tamanho e área afetada. *Revista da Escola de Enfermagem da USP.* 2011;45(1):130-7.
62. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement skin colour and erythema A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact dermatitis.* 1996;35(1):1-10.
63. Shriver MD, Parra EJ. Comparison of narrow-band reflectance spectroscopy and tristimulus colorimetry for measurements of skin and hair color in persons of different biological ancestry. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists.* 2000;112(1):17-27.
64. Oliveira FC, de Souza A, Dias JA, Dias SC, Rubim JC. A escolha da faixa espectral no uso combinado de métodos espectroscópicos e quimiométricos. *Química Nova.* 2004; 27(2):218-25.
65. Sharma A, Dhatt PS, Verma KC, Singh H, Gupta HL. Anthropometric measurements and physical characteristics in the assessment of neonatal maturity. II. Physical characteristics. *Indian J Pediatr.* 1975;42(333):305-9.
66. Martins CP, Tapia CEV. A pele do recém-nascido prematuro sob a avaliação do enfermeiro: cuidado norteando a manutenção da integridade cutânea. *Revista Brasileira de Enfermagem.* 2009;62(5):778-83.
67. DUNN PM. The search for perinatal definitions and standards. *Acta Paediatrica.* 1985;74:7-11.
68. Henriksen TB, Wilcox AJ, Hedegaard M, Secher NJ. Bias in studies of preterm and postterm delivery due to ultrasound assessment of gestational age. *Epidemiology.* 1995:533-7.
69. Moraes CL, Reichenheim ME. Validade do exame clínico do recém-nascido para a estimação da idade gestacional: uma comparação do score New Ballard com a data da última menstruação e ultra-sonografia. *Cadernos de Saúde Pública.* 2000;16:83-94.
70. Vogt H, Haneberg B, Finne P, Stensberg A. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant: An evaluation of two methods. *Acta Paediatrica.* 1981;70(5):669-72.

71. Spinnato JA, Sibai BM, Shaver DC, Anderson GD. Inaccuracy of Dubowitz gestational age in low birth weight infants. *Obstetrics and Gynecology*. 1984;63(4):491-5.
72. Constantine NA, Kraemer HC, Kendall-Tackett KA, Bennett FC, Tyson JE, Gross RT. Use of physical and neurologic observations in assessment of gestational age in low birth weight infants. *The Journal of Pediatrics*. 1987;110(6):921-8.
73. Parkin J, Hey E, Clowes J. Rapid assessment of gestational age at birth. *Archives of Disease in Childhood*. 1976;51(4):259-63.
74. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Atenção humanizada ao recém-nascido de baixo peso : Método Canguru : manual técnico. Editora do Ministério da Saúde, ed. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde; 2013. p. 204.
75. Oliveira C, Carneiro F, Oliveira L, Tavares M, Garcia R. Cuidados com a pele do recém-nascido prematuro: o conhecimento produzido por enfermeiros. *Rev Eletron Gestão Saúde [Internet]*. 2015;[cited 2018 Apr 19]; 6 (1): 419-36.
76. Mishra S, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Jaundice in the newborns. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2008;75(2):157.
77. Taylor S, Westerhof W, Im S, Lim J. Noninvasive techniques for the evaluation of skin color. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;54(5):S282-S90.

ANEXO

Parecer de aprovação dos Comitês de Ética em Pesquisa



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

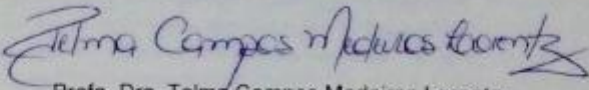
Projeto: CAAE – 49798915.2.0000.5149

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. Teima Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG

APÊNDICE 1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Análise da reflexão da luz pela pele neonatal e sua associação com a idade gestacional: a influência da cor da pele.

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 no pré-natal.
4. Para isto, pedimos sua permissão para ter acesso a seus dados sobre a saúde da gravidez, assim como de seu bebê, incluindo a classificação da cor da sua pele.
5. Além disso, pedimos autorização para fazer um exame na pele de seu bebê, nas regiões da mão, pé e peito. Com um pequeno aparelho chamado espectroscópio e com um sensor que foi desenvolvido e patenteado pela UFMG para indicar a idade do bebê faremos exames usando a luz também sobre a pele, nos mesmos locais. Com esse novo equipamento em teste, usaremos a parte chamada sensor, que encosta no bebê, emite luz e tem o tamanho de uma moeda. O sensor não apresenta pontas que possam ferir a pele e não esquenta o local. O exame dura alguns segundos reduzindo ao mínimo a chance de causar irritação no local. A luz utilizada equivale a do ambiente e, portanto não há efeitos imediatos ou futuros na saúde do seu filho(a). Outros equipamentos da mesma categoria já são usados nos bebês para fazer o teste do coraçãozinho e para tratamento da icterícia. Vamos também tirar fotos da pele diretamente no mesmo momento e local, com uma microcâmera do tamanho aproximado de uma caneta.
6. A realização dos exames é segura, não causa dor e traz riscos mínimos para a criança, relacionados principalmente com a perda momentânea de calor do corpo. Se o seu bebê estiver na incubadora, vamos abrir apenas a porta para realizar o exame e precisaremos segurar no pé ou na mão do bebê, o que pode desorganizar o “ninho” que envolve a criança e causar algum estresse. Em nenhum momento a criança que se encontra dentro de uma incubadora será retirada dela, ou qualquer equipamento será desconectado para a realização do exame, garantindo segurança ao paciente e prevenindo potenciais riscos a sua saúde. Para prevenir estes riscos, a avaliação será feita após confirmação da temperatura adequada e no menor tempo possível, bem como a abertura da porta ocorrerá somente na hora do exame e fechada logo ao seu término, evitando mexer muito no bebê. Será realizada a desinfecção (limpeza) de todos os equipamentos utilizados no exame antes de sua utilização em cada bebê, assim como os pesquisadores fazem a limpeza das mãos antes de tocá-lo.
7. Este estudo não implica em gastos para você, pois não terá que se deslocar para outro local ou permanecer mais tempo internado, uma vez que o exame é feito durante sua internação e de seu bebê no hospital.
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. Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.
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 contatado no caso de haver dúvidas quanto aos aspectos éticos da pesquisa.

Belo Horizonte, ____/____/____

Assinatura da gestante puérpera:.....

Assinatura do pai do bebê ou testemunha:.....

Assinatura do pesquisador:.....

Telefones de contato:

Maternidade Hospital das Clínicas da UFMG – (31) 34099422

Zilma Reis – (31) 985177473, e-mail: zilma@medicina.ufmg.br

Paola da Silva - (31) 97140952, email: paolacsilvagaby@gmail.com

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.

APÊNDICE 2 - Formulário de coleta de dados

FORMULÁRIO - REFLEXÃO DA PELE DE RECÉM-NASCIDOS E CRONOLOGIA GESTACIONAL

LIGHT SCAN
SKIN AGE

DADOS DEMOGRÁFICOS:

Número do caso: _____ Número do Prontuário materno: _____

Foto do cartão de pré-natal: _____ Examinador: _____

DADOS MATERNOS:

Nome da gestante: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____

Cor de pele da gestante: (Escala de cor da pele de Fitzpatrick – número de 1 A 6): _____

Corticoide antenatal: Sim Não Número de doses: _____

Motivo: maturação pulmonar Sim Não

Doenças maternas: Alto risco: Sim Não

1. Malformação: 4. Distúrbios hipertensivos:

2. Oligodramnio: 5. Diabetes:

3. Gemelaridade: 6. Outra doença: _____

Gestação múltipla: Sim Não Ordem de nascimento: _____

DADOS ANTENATAIS:

DUM: ____/____/____ (Em branco: não sabe) Não se aplica:

Confiança na data: Sim Não

Ciclos regulares: Sim Não

Concepção até 2 meses após a pilula: Sim Não

Concepção até 2 meses após aborto ou parto: Sim Não

IG na primeira consulta: _____

Data do primeiro ultrassom: ____/____/____ IG no ultrassom: _____ Semanas completas _____ dias

Infeções antenatais:

1. Arbovírus: 4. HIV: 7. Varicela: 10. Toxoplasmose:

2. Citomegalovírus: 5. Herpes: 8. Rubéola: 11. Nenhuma:

3. Enterovíruses: 6. Parvovírus: 9. Sífilis:

Outras infecções antenatais: _____

DADOS NEONATAIS:

Número do Prontuário neonatal: _____ IG: _____

Nome do neonato: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Hora: _____

Sexo neonatal: _____ Masculino _____ Feminino _____ Indeterminado

Peso ao nascer: _____ (g) Comprimento _____ PC _____

Apgar 1º minuto _____ Apgar 5º minuto: _____

Passos da ressuscitação neonatal:

1 Passos iniciais: Secagem e estimulação

2 Ventilação com pressão positiva

3 Intubação

4 Massagem cardíaca Não se aplica:

5 Drogas

DADOS SOBRE O EXAME:

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

Local de internação neonatal:

1. Sala de parto: 3. UTI Intermediária: 5. Outro: _____

2. Alojamento conjunto: 4. UTI Intensiva:

Tipo de leito neonatal:

1. Berço comum: 3. Incubadora: 5. Outro: _____

2. Berço aquecido: 4. Canguru:

Temp. corporal axilar: _____ C (Graus Celsius) – Última coletada – Hora: _____

Características da pele no local do exame:

1. Fria: 3. Descamativa: 5. Miliária: 7. Erupção cutânea: 9. Outra: _____

2. Cianótica: 4. Eritematosa: 6. Vernix: 8. Sem alterações:

FORMULÁRIO - REFLEXÃO DA PELE DE RECÉM-NASCIDOS E CRONOLOGIA GESTACIONAL

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

Temp. incubadora ou berço: _____ C (Graus Celsius), Umidade incubadora: _____ Umidade local (%)

Vapor na incubadora: Sim Não Não se aplica Intervenções na hora do exame:

Assistência ventilatória:

1.Nenhuma: 3.CPAP: 5.Ventilação mecânica: 2.Cateter nasal: 4.Hood: 6.Ventilação não invasiva:

Oximetria de pulso: _____ Inicial _____ Final

Sedação: Sim Não Choque: Sim Não Sinais de má nutrição: Sim Não Fototerapia: Sim Não Número de aparelhos: _____Uso de surfactante: Sim Não Uso de antibiótico: Sim Não Sepse precoce: Sim Não Taquipneia transitória: Sim Não

Síndrome da angustia respiratória: _____

RX de Torax:

1.Não realizado: 3. Air broncograms: 5.Outras doenças: _____2.Vidro moído: 4.Sem alterações: 6.Não se aplica:

Observações:

Recém-nascido mexeu ou não na hora do exame?

Locais Examinados: Antebraço Pé Aureola Outro: _____

PROTOTIPO :

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

FOTOGRAFIA:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

DADOS DA ALTA:

Data da alta neonatal: ____/____/____ Hora: _____

Data do óbito do neonatal: ____/____/____ Hora: _____

Complicações durante a internação:

1.Icterícia: 3.Sepis 5.Outra: _____2.SARE: 4.Taquipneia transitória: 6.CID: _____

Observações:

Apêndice 3 – O cálculo do índice de melanina baseado no modelo ótico de três camadas da pele

A luz, ao atravessar as camadas é absorvida pelos cromóforos, refletida pela superfície entre as camadas e transmitida também entre elas. Uma certa intensidade luminosa I_0 incide sobre a superfície da pele, ao atravessar a primeira camada parte dessa luz é refletida de volta a superfície, parte é absorvida pela melanina e parte é transmitida para a segunda camada. A parte transmitida será uma porcentagem da luz incidente I_0 , $T_1 \cdot I_0$, onde T_1 é a porcentagem da luz transmitida através da primeira camada.

A luz então incidente na segunda camada, agora é $T_1 \cdot I_0$, e assim como na primeira camada parte da luz incidente será refletida de volta a superfície, parte será absorvida agora pela hemoglobina e parte será transmitida até a terceira camada. A parte transmitida será uma porcentagem da luz incidente na segunda camada $T_1 \cdot I_0$, $T_2 \cdot (T_1 \cdot I_0)$, onde T_2 é a porcentagem da luz transmitida através da segunda camada.

A intensidade luminosa que atinge finalmente a terceira camada é $T_1 \cdot T_2 \cdot I_0$. No modelo de camadas consideramos que não temos cromóforos nessa última região e que o colágeno e as fibras de elastina agem como difusores da luz incidente, refletindo a mesma de forma difusa. Se considerarmos que parte da luz incidente na terceira camada, $T_1 \cdot T_2 \cdot I_0$, é refletida, teremos então que a luz que começa a fazer seu caminho de volta a superfície é $R_3 \cdot (T_1 \cdot T_2 \cdot I_0)$, onde R_3 é a porcentagem da luz refletida pela terceira camada.

No caminho de volta da luz da última camada até atingir a superfície a luz volta a passar pela segunda camada e novamente é absorvida pela hemoglobina e parte dela é transmitida até a primeira camada, $T_2 \cdot (R_3 \cdot T_1 \cdot T_2 \cdot I_0)$. Ao atravessar a primeira camada para chegar a superfície ocorre a absorção agora pela melanina e a luz emergente na superfície $I = T_1 \cdot (T_2 \cdot R_3 \cdot T_1 \cdot T_2 \cdot I_0)$, ou reescrevendo melhor, $I = T_1^2 \cdot T_2^2 \cdot R_3 \cdot I_0$.

O que nosso dispositivo mede é a porcentagem refletida da luz incidente, $R = I/I_0$, reescrevendo a equação acima temos: $R = I/I_0 = T_1^2 \cdot T_2^2 \cdot R_3$ (equação 1)

Agora para obtermos o índice de melanina, ou seja, um valor numérico proporcional a quantidade de melanina na pele precisamos relacionar a luz transmitida através da primeira camada a quantidade de luz absorvida pela melanina e a luz transmitida através da segunda camada a quantidade de luz absorvida pela hemoglobina. Para isso vamos utilizar a Lei

experimental de Beer-Lambert(64) que relaciona a transmissão da luz (T) à espessura da camada atravessada e a concentração do meio por onde passa a luz.

Lei de Beer-Lambert, $T=10^{-\varepsilon \cdot l \cdot C}$, onde T é a transmitância, ε é o coeficiente de extinção, l é a espessura da camada atravessada pela luz e C a concentração do meio.

Reescrevendo a equação 1 como o Log inverso da Reflexão para aplicar a lei de Beer – Lambert temos: $\log 1/R = \log (I_0/I) = 2 \cdot \log 1/T_1 + 2 \cdot \log 1/T_2 + \log 1/R_3$.

Substituindo $T_1=10^{-\varepsilon_1 \cdot l_1 \cdot C_1}$ e $T_2=10^{-\varepsilon_2 \cdot l_2 \cdot C_2}$ na equação acima temos finalmente: $A=\log 1/R = 2 \cdot \varepsilon_1 \cdot l_1 \cdot C_1 + 2 \cdot \varepsilon_2 \cdot l_2 \cdot C_2 + \log 1/R_3$ (equação 2), onde A é a absorbância, C_1 a concentração de Melanina e C_2 a concentração de Hemoglobina.

Reescrevendo a equação 2 de forma mais simples $A = m_\lambda \cdot C_1 + h_\lambda \cdot C_2 + d_\lambda$ (equação 3), onde $m_\lambda=2 \cdot \varepsilon_1 \cdot l_1$, $h_\lambda = 2 \cdot \varepsilon_2 \cdot l_2$ e $d_\lambda = \log 1/R_3$ são variáveis que dependem do comprimento de onda.

Se escolhermos um comprimento de onda fixo na equação 3, m e h passam a ser constantes e teremos uma equação com 3 incógnitas, C_1 , C_2 e d . Se considerarmos que a reflexão na camada 3 é constante para o comprimento de onda escolhido temos somente como incógnitas as concentrações de melanina C_1 e hemoglobina C_2 .

Nosso objetivo é medir a concentração de melanina, então devemos escolher um valor de comprimento de onda onde a luz absorvida pela hemoglobina seja desprezível. Nosso dispositivo utilizará o comprimento de onda de 630 nm para desprezar a absorção da luz nesse comprimento de onda pela hemoglobina e simplificar a equação 3 da seguinte forma: $A = m_{630} \cdot C_1 + d_{630}$ (equação 4), como $A = \log(1/R)$ e R é medido em nosso dispositivo para a emissão de luz no vermelho ($\lambda = 670$ nm) e m_{630} e d_{630} são constantes, podemos escrever que $\log(1/R)$ é proporcional a concentração de melanina na pele.