

Estudo-piloto da pele fotodanificada e do melasma pela microscopia confocal de reflectância

Pilot-study of photodamaged skin and melasma using reflectance confocal microscopy

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20181021145>

RESUMO

Introdução: O fotoenvelhecimento e o melasma são queixas dermatológicas frequentes. A microscopia confocal de reflectância (MCR) é técnica recente que pode ser usada para avaliação diagnóstica dessas dermatoses.

Objetivos: Avaliar as características da epiderme e derme nas alterações pigmentares da pele fotodanificada e do melasma pela MCR e comparar os achados dessas alterações com a região perilesional.

Métodos: Foi realizado estudo-piloto com oito participantes do sexo feminino, com idades variando de 38 a 50 anos, fototipos de II a IV, com diagnóstico clínico de fotodano (n = 4) e melasma (n = 4) na região malar da face. Foram comparadas a espessura do estrato córneo e da epiderme viável, a profundidade das cristas interpapilares e a presença de estruturas hiper-refrativas na região perilesional e lesional.

Resultados e Discussão: As alterações pigmentares da pele fotodanificada revelaram padrão morfológico característico do lentigo solar, como aumento na profundidade das cristas interpapilares na região da lesão. Nas voluntárias com melasma, foi possível observar a presença de células dendríticas na epiderme e melanóforos na derme na região da lesão. Todas as voluntárias apresentaram queratinócitos hiper-refrativos na epiderme da região lesional.

Conclusões: Considerando o número de pacientes avaliados, foi possível caracterizar e comparar as alterações pigmentares na pele fotodanificada e no melasma.

Palavras-chave: Envelhecimento da pele; Microscopia confocal; Diagnóstico

ABSTRACT

Introduction: Photoaging and melasma are frequent dermatological complaints. Confocal reflectance microscopy (CRM) is a recent technique that can be used for diagnostic evaluation of these dermatoses.

Objectives: To evaluate the characteristics of the epidermis and dermis containing pigmentary alterations caused by photodamage and melasma with the assistance of CRM, and compare the findings linked to these changes with the perilesional region.

Methods: A pilot study was conducted with eight female individuals (aged 38 to 50 years, Fitzpatrick phototypes from II to IV) with clinical diagnoses of photodamage (n = 4) and melasma (n = 4) in the facial malar region. The perilesional and lesional regions were compared regarding the thickness of the stratum corneum and viable epidermis, the depth of the interpapillary crests, and the presence of hyper-refractive structures.

Results: The pigmentary alterations in the photodamaged skin revealed a morphological pattern – such as an increase in the depth of the interpapillary ridges in the lesion region – typical of solar lentigo. In the lesional region of volunteers bearing melasma, it was possible to observe the presence of dendritic cells in the epidermis and melanophages in the dermis. All volunteers had hyper-refractive keratinocytes in the lesional epidermis region.

Conclusions: Considering the number of patients evaluated, it was possible to characterize and compare cutaneous pigmentary alterations caused by photodamage to those caused by melasma.

Keywords: Aging; Microscopy, confocal; Diagnosis

Artigo Original

Autores:

Francine Celise Siqueira César¹

Ana Paula Martins Martini²

Maria Claudia Almeida Issa³

Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos¹

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP) - São Paulo (SP), Brasil.

² Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP) - São Paulo (SP), Brasil.

³ Departamento de Dermatologia, Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói (RJ), Brasil.

Correspondência para:

Patrícia M. B. G. Maia Campos

Av. do Café, s/n - Ribeirão Preto (SP),

Brasil

14040-903

E-mail: pmcampos@usp.br

Data de recebimento: 30/01/2018

Data de aprovação: 29/05/2018

Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade São Paulo - Ribeirão Preto (SP), Brasil

Suporte financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp)

Conflito de interesse: Os autores declaram que não há qualquer conflito de interesses.



INTRODUÇÃO

O fotoenvelhecimento e o melasma são queixas dermatológicas frequentes nos consultórios dermatológicos.¹⁻³ Clinicamente, a pele fotodanificada se apresenta com rugas, alterações da textura e da pigmentação e perda da elasticidade e firmeza.³⁻⁵ O paciente com melasma tipicamente apresenta manchas castanhas com bordas irregulares e limites nítidos localizadas nas áreas de exposição solar, principalmente na face e em mulheres. Ambas as dermatoses podem impactar a qualidade de vida dos pacientes.⁵⁻⁹ No Brasil, cerca de 8,4% da população apresenta algum transtorno de pigmentação, assim como 10% da população latina que vive nos Estados Unidos apresenta melasma.^{7,10}

O lentigo solar, também conhecido como lentigo senil ou mancha do envelhecimento, é desordem pigmentar benigna que surge no processo do fotoenvelhecimento. Essa hiperpigmentação ocorre em áreas expostas ao sol, principalmente no dorso das mãos, antebraços e face.¹¹⁻¹⁴ Acomete mais de 90% da população branca com idade acima de 50 anos.¹⁵ Os fatores relacionados a seu aparecimento estariam ligados à exposição da pele aos fatores externos, como a radiação ultravioleta (UV), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (poluição) e à expressão de fatores de crescimento e inflamatórios.^{12,16,17}

O melasma é desordem de pigmentação caracterizada pela presença de máculas localizadas principalmente nas regiões centropacial, malar e/ou mandibular.^{1,7,16-18} A radiação ultravioleta (UV), os hormônios femininos (gravidez, disfunções endócrinas, uso de contraceptivos orais) e processos inflamatórios estão envolvidos em sua patogênese como fatores desencadeantes, associados à predisposição genética.^{1,7,19,20} A fisiopatologia desse transtorno pigmentar ainda não foi completamente elucidada, mas algumas teorias relatam que seu surgimento estaria relacionado ao aumento da expressão de fatores melanogênicos e receptores específicos, como os de estrógeno.^{1,19} O aumento do número e do calibre dos vasos sanguíneos na região afetada, bem como o aumento na expressão do fator de crescimento vascular endotelial, está também envolvido.^{16,20}

O diagnóstico das alterações pigmentares da face é realizado predominantemente pelo exame clínico e/ou exame histopatológico quando existe a suspeita de malignidade. Uma nova técnica não invasiva, como a microscopia confocal de reflectância (MCR), pode auxiliar o diagnóstico clínico e também contribuir para a avaliação de eficácia terapêutica.²¹⁻²³ Além disso, a MCR pode ser aplicada na quantificação da pigmentação epidérmica,²⁴ visto que o princípio dessa metodologia consiste na emissão de luz infravermelha sobre a pele e sua captação seletiva, refletida por estruturas cutâneas que apresentam diferentes índices de refração, resultando em imagens em preto e branco. Queratina, melanina e fibras de colágeno da derme são estruturas hiper-refrativas, visualizadas em coloração mais clara.²⁵⁻²⁸

Métodos para avaliação instrumental da pele fotodanificada e do melasma

Atualmente, existe uma diversidade de técnicas para a avaliação instrumental da pele, auxiliando o diagnóstico clínico.²⁹ Dentre os métodos disponíveis para a avaliação do melasma e do

fotodano destacam-se a espectroscopia de reflectância e a análise de imagens em alta resolução na investigação da coloração da pele e distribuição de melanina.^{30,31} O instrumento Cutometer® (Courage-Khazaka, Alemanha) avalia as propriedades mecânicas (alterações da elasticidade e da firmeza) da pele fotodanificada. Além disso, a análise de espessura da epiderme e derme pela ultrassonografia de alta frequência contribui substancialmente para avaliação de eficácia terapêutica.^{32,33}

A microscopia confocal de reflectância (MCR) é técnica avançada que permite o exame da epiderme e da derme papilar com resolução próxima à do exame histopatológico, identificando estruturas e células com alta resolução.^{2,34} O princípio básico dessa técnica envolve a emissão de um feixe de luz infravermelho sobre a pele e a captação seletiva dessa luz, que é refletida por estruturas cutâneas, como queratina, melanina e fibras de colágeno, cujos índices de refração são diferentes.²⁶ A MCR é considerada ferramenta para confirmação diagnóstica das alterações pigmentares da pele fotodanificada e do melasma, evitando-se a biópsia cutânea na face.²

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar as características da epiderme e derme papilar nas alterações pigmentares do melasma e da pele fotodanificada pela MCR e comparar os achados dessas alterações com as características da região perilesional.

MÉTODOS

Recrutamento

Este estudo-piloto foi realizado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (CEP/FCFRP protocolo n. 1.418.673/2015).

Foram incluídas no estudo oito participantes do sexo feminino, com idades entre 38 e 50 anos, fototipos de II a IV de acordo com a escala Fitzpatrick, com alterações de hiperpigmentação na região malar, diagnosticadas como alterações pigmentares da pele fotodanificada (n = 4) e melasma (n = 4).

Avaliação instrumental

Foram obtidas imagens em triplicata das regiões malares: lesional e perilesional, utilizando-se microscópio confocal de reflectância a laser VivaScope 1500 (Lucid, EUA) e padronizadas por meio do *software* acoplado Vivastack (Lucid, EUA). As imagens foram obtidas a cada 1,5µm a partir do estrato córneo até a profundidade de 37,5µm e a cada 3µm até a profundidade de 132,5µm.³⁵

A partir das imagens obtidas, foram avaliadas de forma quantitativa e objetiva, a espessura do estrato córneo, a epiderme viável (camadas granulosa, espinhosa e basal) e a profundidade das cristas interpapilares e, de forma qualitativa e subjetiva, a presença e ausência de estruturas hiper-refrativas na região perilesional e lesional de todas as voluntárias.

Análise estatística

Os dados apresentaram distribuição normal, e portanto foi utilizado o teste t para comparar as alterações morfológicas entre as regiões lesional e perilesional. Os resultados foram expressos na forma de média e desvio-padrão e foi utilizado o nível de signi-

ficância de $p < 0,05$. O software Origin8Pro® (OriginLab, EUA) foi utilizado para avaliação da distribuição dos dados, e GraphPad Prism 5® (GraphPad Software, EUA) para a análise estatística.

RESULTADOS

A análise quantitativa e objetiva dos dados obtidos a partir das voluntárias diagnosticadas com fotodano mostrou aumento não significativo nos valores da espessura do estrato córneo e da epiderme viável da região lesional em comparação com a perilesional e aumento significativo ($p < 0,05$) na profundidade das cristas interpapilares da região lesional em comparação com a perilesional. O mesmo não foi observado entre as voluntárias com melasma (Tabela 1).

A partir da análise qualitativa e subjetiva das imagens, foi possível observar a presença de estruturas hiper-refrativas na região lesional de todas as voluntárias (Tabela 2 e Figuras 1L.e, 2L.e e 3L.e).

Em todas as voluntárias diagnosticadas com fotodano foram observados padrão desorganizado das cristas interpapilares e acúmulo de queratinócitos hiper-refrativos na região lesional em comparação à região perilesional (Tabela 2 e Figura 1 L. JDE).

Duas voluntárias diagnosticadas com melasma apresentaram queratinócitos hiper-refrativos na região perilesional (Tabela 2). Além disso, foi observada a presença de células dendríticas na região lesional de uma voluntárias diagnosticada com melasma

(Tabela 2 e Figura 2L.e) e de melanófagos na derme da região lesional de outra voluntária também diagnosticada com melasma (Tabela 2 e Figura 3 L.d).

Numa terceira voluntária com melasma foi observado padrão desorganizado das cristas interpapilares na região perilesional (Tabela 2).

DISCUSSÃO

As imagens obtidas por MCR evidenciaram a presença de queratinócitos hiper-refrativos na epiderme das regiões com desordens benignas de pigmentação. Esse resultado indica o acúmulo de melanina nos queratinócitos, uma das consequências morfológicas do fotoenvelhecimento.³⁶ O depósito irregular de melanina na pele já foi relatado em estudos com MCR e caracteriza-se pela observação de estruturas brilhantes devido ao elevado índice refrativo da melanina.^{21,36,37}

O padrão desorganizado das cristas interpapilares – representado pela modificação do formato das papilas, que se tornam poligonais –, associado ao alinhamento irregular, foi observado na junção dermoepidérmica na região lesional das voluntárias

TABELA 1: Comparação dos achados à MCR das alterações pigmentares por fotodano e melasma nas regiões lesional (L) e perilesional (P)

| Desordem pigmentar | Espessura do estrato córneo (µm) | Espessura da epiderme viável(µm) | Profundidade das cristas interpapilares (µm) |
|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--|
| Melasma | | | |
| perilesional | 25 +/- 4,5 | 32,9 +/- 3,5 | 30,12 +/- 6,8 |
| lesional | 24,5 +/- 1,47 | 33,6 +/- 5,8 | 35,7 +/- 10,1 |
| Pele fotodanificada | | | |
| perilesional | 21,6 +/- 2,6 | 30,8 +/- 4 | 23,5 +/- 6,4 |
| lesional | 25,2 +/- 7,6 | 46,3 +/- 12,2 | 58,6 +/- 16,2* |

* $p < 0,05$, em relação à região perilesional. Valores expressos como média e desvio-padrão

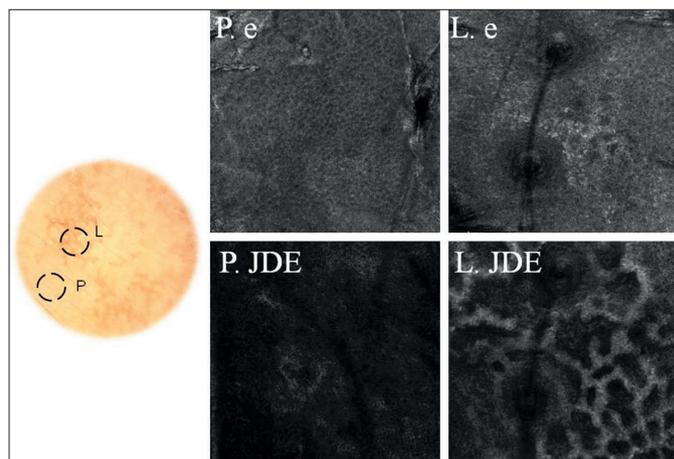


FIGURA 1: Lentigo solar: P: região perilesional; L: região lesional; P.e: epiderme da região perilesional; P. JDE: junção dermoepidérmica da região perilesional; L. e: epiderme da região lesional; L. JDE: junção dermoepidérmica da região lesional

TABELA 2: Comparação dos achados à MCR das alterações pigmentares por fotodano e melasma nas regiões lesional (L) e perilesional (P)

| Desordem pigmentar | Queratinócitos hiper-refrativos | | Células dendríticas na epiderme | | Melanófagos na derme | | Padrão desorganizado das cristas interpapilares | |
|--------------------|---------------------------------|---|---------------------------------|---|----------------------|---|---|---|
| | L | P | L | P | L | P | L | P |
| Melasma | | | | | | | | |
| 1 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 2 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| 3 | + | - | - | - | + | - | - | - |
| 4 | + | + | + | - | - | - | - | - |
| Fotodano | | | | | | | | |
| 5 | + | - | - | - | - | - | + | - |
| 6 | + | - | - | - | - | - | + | - |
| 7 | + | - | - | - | - | - | + | - |
| 8 | + | - | - | - | - | - | + | - |

L: região hiperpigmentada; P: região perilesional; +: presença; -: ausência

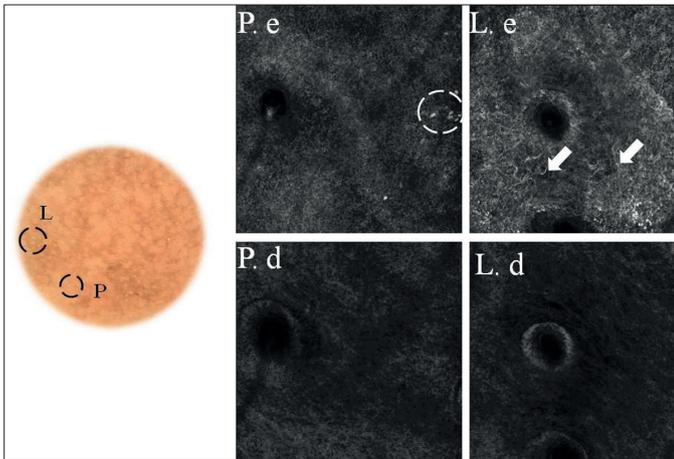


FIGURA 2: Melasma: P: região perilesional; L: região lesional; P.e: epiderme da região perilesional com células ovoides sugerindo infiltrado inflamatório; P.d: derme da região perilesional; L. e: epiderme da região lesional com células dendríticas apontadas pela seta; e L.d: derme da região lesional

com alterações pigmentares por fotodano. Essas alterações são características de lentigo solar, como descrito na literatura.^{21,37,38}

Aumento significativo ($p < 0,05$) na profundidade das cristas interpapilares da região lesional e aumento não significativo na espessura da epiderme viável foram observados nas voluntárias que apresentavam pele fotodanificada com lentigo solar. De acordo com estudos histopatológicos relatados até o momento o aumento na espessura dos queratinócitos no lentigo solar pode estar relacionado à hipertrofia ou ao aumento da proliferação celular.^{39,40}

De acordo com a literatura, a presença de células dendríticas, comumente observadas nos melasmas, pode corresponder a melanócitos ativos.¹⁹ Em outra voluntária, diagnosticada com melasma, foi observada a presença de células ovoides com contraste, localizadas da derme, sugerindo tratar-se de melanófagos,

REFERÊNCIAS

1. Sofen B, Prado G, Emer J. Melasma and Post Inflammatory Hyperpigmentation: Management Update and Expert Opinion. *Skin Therapy Lett.* 2016;21(1):1-7.
2. Martini APM, Mercurio DG, Maia Campos PMBG. Assessment of skin pigmentation by confocal microscopy: Influence of solar exposure and protection habits on cutaneous hyperchromias. *J Cosmet Dermatol.* 2017;16(3):364-9.
3. Boulloc A, Vergnanini AL, Issa MC. A double-blind randomized study comparing the association of Retinol and LR2412 with tretinoin 0.025% in photoaged skin. *J Cosmet Dermatol.* 2015;14(1):40-6.
4. Kim HM, An HS, Bae JS, Kim JY, Choi CH, Kim JY, et al. Effects of palmitoyl-KVK-L-ascorbic acid on skin wrinkles and pigmentation. *Arch Dermatol Res.* 2017;309(5):397-402.
5. Issa MCA, Fassini A, Boechat M, Ferolla ACJ. Photodynamic therapy in photoaging: literature review. *Surg Cosmet Dermatol.* 2016;8(4):10-6.
6. Rendon MI, Barkovic S. Clinical Evaluation of a 4% Hydroquinone + 1% Retinol Treatment Regimen for Improving Melasma and Photodamage in Fitzpatrick Skin Types III-VI. *J Drugs Dermatol.* 2016;15(11):1435-44.
7. Cestari T, Arellano I, Hexsel D, Ortonne JP. Melasma in Latin America: options for therapy and treatment algorithm. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009;23(7):760-72.

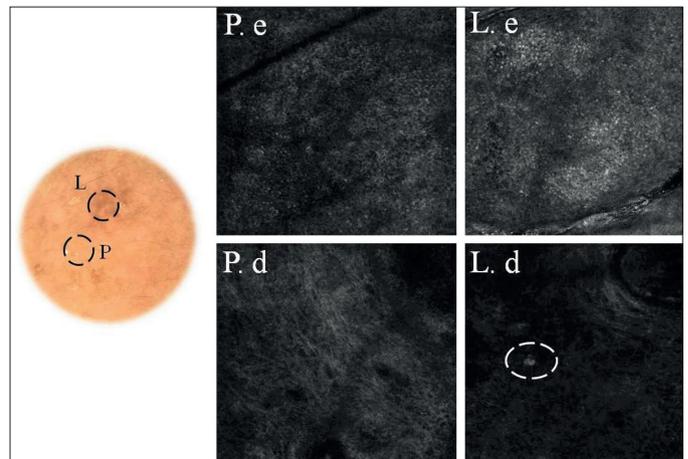


FIGURA 3: Melasma: P: região perilesional; L: região lesional; P.e: epiderme da região perilesional; P.d: derme da região perilesional; L.e: epiderme da região lesional; L.d: derme da região lesional com melanófagos identificados pela região circular pontilhada, aspecto característico de melasma dérmico; Lentigo solar: P: região perilesional; L: região lesional; P.e: epiderme da região perilesional; P. JDE: junção dermoepidérmica da região perilesional; L.e: epiderme da região lesional; L. JDE: junção dermoepidérmica da região lesional

de acordo com relatos da literatura.^{41,42} Os resultados obtidos são semelhantes aos observado nas investigações anteriores, o que sugere possível diferença morfológica entre essas desordens pigmentares detectável por MCR.^{19,21,36-24}

CONCLUSÃO

Considerando o número de pacientes avaliados, foi possível caracterizar as alterações pigmentares na pele fotodanificada e no melasma. A partir das análises realizadas por meio da MCR, foi possível identificar diferenças entre as alterações pigmentares e as áreas perilesionais, na região malar tanto no melasma quanto na pele fotodanificada. ●

8. Gold MH, Gallagher C. An Evaluation of the Benefits of a Topical Treatment in the Improvement of Photodamaged Hands With Age Spots, Freckles, and/or Discolorations. *J Drugs Dermatol.* 2013;12(12):1468-72.
9. Kang WH, Yoon KH, Lee ES, Kim J, Lee KB, Yim H, et al. Melasma: histopathological characteristics in 56 Korean patients. *British Journal of Dermatology* 2002;146(2):228-37
10. Agostinho KM, Karenine MH, Cavalcante PP, Cavalcanti DL. Doenças dermatológicas frequentes em unidade básica de saúde. *Cogitare Enfermagem.* 2013;18(4):715-21.
11. Goorochurn R, Viennet C, Granger C, Fanian F, Varin-Blank N, Le Roy C, et al. Biological processes in solar lentigo: insights brought by experimental models. *Exp Dermatol.* 2015;25(3):174-7.
12. Choi W, Yin L, Smuda C, Batzer J, Hearing VJ, Kolbe L. Molecular and histological characterization of age spots. *Exp Dermatol.* 2017;26(3):242-8.
13. Warrick E, Duval C, Nouveau S, Bastien P, Piffaut V, Chalmond B, et al. Morphological and molecular characterization of actinic lentigos reveals alterations of the dermal extracellular matrix. *Br J Dermatol.* 2017;177(6):1619-32.
14. Choi W, Yin L, Smuda L, Batze J, Hearing VJ, Kolbe K. Molecular and histological characterization of age spots. *Experimental Dermatology.* 2017;26(6):242-8.

15. Mashiko T, Oka A, Osawa E, Koshima I. A Deceptively Simple Solution for Refractory Melasma: Glycolic Acid Peels and Hydroquinone at Home. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2017;5(5):335.
16. Cameli N, Abril E, Agozzino M, Mariano M. Clinical and Instrumental Evaluation of the Efficacy of a New Depigmenting Agent Containing a Combination of a Retinoid, a Phenolic Agent and an Antioxidant for the Treatment of Solar Lentigines. *Dermatology*. 2015;230(4):360-6.
17. Nakamura M, Morita A, Seit S, Haarmann-Stemmann T, Grether-Beck S, Krutmann J. Environment-induced lentigines: formation of solar lentigines beyond ultraviolet radiation. *Exp Dermatol*. 2015;24(6):407-11.
18. Perper M, Eber AE, Fayne R, Verne SH, Magno RJ, Cervantes J, et al. Tranexamic Acid in the Treatment of Melasma: A Review of the Literature. *Am J Clin Dermatol*. 2017;18(3):371-81.
19. Costa MC, Eljaiek HV, Abraham LS, Azulay-Abulafia L, Ardigo M. In vivo reflectance confocal microscopy in a typical case of melasma. *An Bras Dermatol*. 2012;87(5):782-4.
20. Cohen PR. Melasma treatment: A novel approach using a topical agent that contains an anti-estrogen and a vascular endothelial growth factor inhibitor. *Med Hypotheses*. 2017;101:1-5.
21. Longo C, Zalaudek I, Argenziano G, Pellacani G. New Directions in Dermatopathology In Vivo Confocal Microscopy in Clinical Practice. *Dermatol Clin*. 2012;30(4):799-814
22. Moscarella E, Rabinovitz HI, Zalaudek I, Piana SI, Stanganelli I, Oliviero MC, et al. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(2):307-14.
23. Longo C, Casari A, Beretti F, Cesinaro AM, Pellacani G. Skin aging: In vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(3):e73-82.
24. Lagarrigue SG, George J, Questel E, Lauze C, Meyer N, Lagarde JM, et al. In vivo quantification of epidermis pigmentation and dermis papilla density with reflectance confocal microscopy: variations with age and skin phototype. *Exp Dermatol*. 2012;21(4):281-6.
25. Bielfendt S, Bohling A, Wilhelm KP. Bioengineering method to access aging parameters in the deep of the skin. *SOFW Journal*. 2011;137:2-9
26. Kang HY, Bahadoran P, Ortonne JP. Reflectance confocal microscopy for pigmentary disorders. *Exp Dermatol*. 2010;19(3):233-9.
27. Majdzadeh A, Lee A, Wang H, Lui H, McLean D I, Crawford RI, et al. Real time visualization of melanin granules in normal human skin using combined multiphoton and reflectance confocal microscopy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2015;31(3):141-8.
28. Malveyh J, Pellacani G. Dermoscopy, Confocal Microscopy and other Non-invasive Tools for the Diagnosis of Non-Melanoma Skin Cancers and Other Skin Conditions. *Acta Derm Venereol*. Forthcoming 2017.
29. Mercurio DG, Segura JH, Demets MB, Maia Campos PM. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate skin types. *Clin Exp Dermatol*. 2013;38(3):302-8.
30. Pandya A, Berneburg M, Ortonne JP, Picardo M. Guidelines for clinical trials in melasma. *Br J Dermatol*. 2006;156(suppl 1):21-8.
31. Brenner AV, Lubin JH, Calista D, Landi MT. Instrumental Measurements of Skin Color and Skin Ultraviolet Light Sensitivity and Risk of Cutaneous Malignant Melanoma: A Case-Control Study in an Italian Population. *Am J Epidemiol*. 2002;156(4):353-62.
32. Ulrich J, Schwürzer-Voit M, Jenderka KV, Voit C. Sonographic diagnostics in dermatology. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2014;12(12):1083-98.
33. Unholzer A, Korting HC. High-frequency ultrasound in the evaluation of pharmacological effects on the skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2002;15(2):71-84.
34. Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. In vivo assessment of melanocytic nests in nevi and melanomas by reflectance confocal microscopy. *Mod Pathol Italy*. 2005;18(4):469-74.
35. Mercurio DG, Jdid R, Morizot F, Masson P, Maia Campos PMBG. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin. *Br. J. Dermatol*. 2016;174(3):553-61.
36. Longo C, Casari A, Pace B, Simonazzi S, Mazzaglia G, Pellacani G. Proposal for an in vivo histopathologic scoring system for skin aging by means of confocal microscopy. *Skin Res Technol*. 2013;19(1):e167-73
37. Pollefliet C, Corstjens H, González S, Hellemans L, Declercq L, Yarosh D. Morphological characterization of solar lentigines by in vivo reflectance confocal microscopy: a longitudinal approach. *Int J Cosmet Sci*. 2013;35(2):149-55.
38. Kang HY, Bahadoran P, Suzuki I, Zugaj D, Khemis A, Passeron T, et al. In vivo reflectance confocal microscopy detects pigmentary changes in melasma at a cellular level resolution. *Exp. Dermatol*. 2010;19(8):e228-e233
39. Shin J, Park JY, Kim SJ, Kang HY. Characteristics of keratinocytes in facial solar lentigo with flattened rete ridges: comparison with melasma. *Clin Exp Dermatol*. 2015;40(5):489-94.
40. Carvalho N, Farnetani F, Ciardo S, Ruini C, Witkowski AM, Longo C, et al. Reflectance confocal microscopy correlates of dermoscopic patterns of facial lesions help to discriminate lentigo maligna from pigmented nonmelanocytic macules. *Br J Dermatol*. 2015;173(1):128-33.
41. Guitera P, Li LI, Scolyer RA, Menzies SW. Morphologic Features of Melanophages Under In Vivo Reflectance Confocal Microscopy. *Arch Dermatol*. 2010;146(5):492-98.
42. Liu H, Lin Y, Nie X, Chen S, Chen X, Shi B, et al. Histological classification of melasma with reflectance confocal microscopy: a pilot study in Chinese patients. *Skin Res Technol*. 2011;17(4):398-403.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Francine César |  ORCID 0000-0002-3748-1341
Avaliação instrumental, obtenção das imagens e redação do artigo.

Ana Paula Martini |  ORCID 0000-0003-3705-4339
Interpretação das imagens e participação na discussão e redação do artigo.

Maria Cláudia Issa |  ORCID 0000-0003-1031-7370
Organização estrutural e revisão final do texto.

Patrícia Maia Campos |  ORCID 0000-0001-6678-1207
Coordenação do estudo, discussão e revisão final do texto.