

Microscopia confocal de reflectância como suporte para a avaliação clínica das alterações do envelhecimento cutâneo

Reflectance confocal microscopy as a support for the clinical evaluation of the changes caused by aging skin

Autores:

Daiane Garcia Mercurio¹
Patrícia Maria Berardo G. Maia Campos²

¹ Doutoranda na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP/USP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

² Professora-associada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP/USP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

Correspondência para:

Patrícia Maria Berardo G. Maia Campos
Av do Café s/no – Monte Alegre
4040-903 – Ribeirão Preto – SP
E-mail: pmcampos@usp.br

Data de recebimento: 11/09/2015

Data de aprovação: 23/09/2015

Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP/USP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

Suporte Financeiro: Fapesp
Conflito de Interesses: Nenhum

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201573693>

RESUMO

Introdução: A microscopia confocal de reflectância a laser tem sido considerada ferramenta de extensa aplicação na clínica dermatológica, representando-se como revolução no diagnóstico de doenças de pele e avaliação de características cutâneas, por permitir a visualização em nível celular com resolução quase histológica de características celulares e teciduais por um método não invasivo, em tempo real.

Objetivo: Avaliar as características morfológicas e estruturais do envelhecimento cutâneo na epiderme e derme papilar por meio da microscopia confocal de reflectância a laser.

Métodos: 40 voluntárias de fototipo II, III e IV foram selecionadas e divididas em dois grupos de idade: pele jovem (18–35 anos) e pele envelhecida (40–65 anos). A avaliação das características celulares das diferentes camadas da pele foi realizada utilizando o microscópio confocal de reflectância a laser Vivascope 1500.

Resultados: Pela análise da microscopia confocal, foi observado padrão de pigmentação irregular, queratinócitos distribuídos irregularmente, achatamento da junção dermoepidérmica, presença de fibras de colágeno deterioradas e elastose solar na pele envelhecida.

Conclusões: A microscopia confocal de reflectância a laser é técnica de grande aplicação para avaliar as características morfológicas e estruturais do envelhecimento cutâneo no nível de epiderme e derme papilar.

Palavras-chave: microscopia confocal; envelhecimento da pele; epiderme; dermatologia

ABSTRACT

Introduction: Confocal laser reflectance microscopy has been regarded as a tool with extensive application in dermatology, emerging as a revolutionary factor in the diagnosis of skin disorders and the evaluation of cutaneous characteristics. This is due to the fact that it allows cellular level visualization with almost histological resolution of cellular and tissular features through a non-invasive method, in real time.

Objective: To evaluate the morphological and structural characteristics of skin aging in the epidermis and papillary dermis using confocal laser reflectance microscopy.

Methods: Forty female volunteers with II, III, and IV skin phototypes were selected and divided into two age groups: young skin (18–35 years old) and aged skin (40–65 years old). The evaluation of the cellular characteristics of the different cutaneous layers was performed using a confocal laser reflectance microscope Vivascope 1500.

Results: Using the confocal microscopy analysis, it was possible to observe an irregular pigmentation pattern, irregularly distributed keratinocytes, flattening of the dermal-epidermal junction, presence of damaged collagen fibers, and solar elastosis in the aged skin.

Conclusions: Confocal laser reflectance microscopy is a technique that is highly useful for assessing morphological and structural characteristics of cutaneous aging at the epidermis and papillary dermis levels.

Keywords: microscopy, confocal; skin aging; epidermis; dermatology

INTRODUÇÃO

A microscopia confocal de reflectância (MCR) a laser tem sido considerada ferramenta de extensa aplicação na clínica dermatológica, representando-se como uma revolução no diagnóstico de doenças de pele e avaliação de características cutâneas, por permitir a visualização em nível celular com resolução quase histológica de características celulares e teciduais por um método não invasivo, em tempo real.¹⁻³

Muitos estudos relatam que MCR é técnica adequada e confiável para a caracterização e quantificação das características estruturais da epiderme e derme superior e supera as desvantagens da avaliação histopatológica. As imagens obtidas pelo microscópio confocal permitem a avaliação de características cutâneas tais como espessura das diferentes camadas da epiderme, organização dos queratinócitos, alterações no padrão de pigmentação, quantidade de papilas dérmicas por área, formato dos contornos das papilas dérmicas, tamanho das glândulas sebáceas, e estrutura da rede de colágeno, contagem e tamanho de poros e microcomedões, e avaliação de sinais primários de irritação cutânea.⁴⁻⁸

Devido à grande possibilidade de aplicação da técnica, a elucidação e interpretação das imagens da MCR relacionadas ao envelhecimento cutâneo fornecerão subsídios para sua aplicação na clínica dermatológica a fim de avaliar as alterações cutâneas decorrentes do envelhecimento.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as características morfológicas e estruturais do envelhecimento cutâneo na epiderme e derme papilar por meio da MCR a laser.

MÉTODOS

Para este estudo prospectivo e comparativo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP (ANEXO I), 40 voluntárias de fototipo II, III e IV foram selecionadas e divididas em dois grupos, segundo a idade: 20 voluntárias com pele jovem (18-35 anos), e 20 voluntárias com pele envelhecida (40-65 anos).⁹

As voluntárias foram orientadas sobre os objetivos e métodos da pesquisa e, concordando em participar da mesma, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CEP/FCFRP – Protocolo nº 273/2012). O estudo foi conduzido na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

A avaliação das características celulares das diferentes camadas da pele foi realizada utilizando o microscópio confocal de reflectância a laser Vivascope 1500, que utiliza uma fonte a laser com comprimento de onda de 830nm e uma objetiva de imersão com capacidade de detectar 20 imagens por segundo.⁴

As imagens microscópicas foram realizadas utilizando o sistema de obtenção de imagens, Vivastack, constituído por múltiplas imagens confocais em profundidades sucessivas em determinado local do tecido, obtendo-se imagens a cada 1,5µm até a profundidade de 37,5µm, a cada 3µm até a profundidade

de 112,5µm e a cada 4,5µm até a profundidade de 132,5µm.^{10,11} As imagens foram colhidas na região periorbital da face das voluntárias.

RESULTADOS

Em relação ao padrão da epiderme, observa-se uma desordem do padrão de “favo de mel” com pleomorfismo de tamanho e forma de queratinócitos e também pigmentação irregular na pele envelhecida, quando comparada ao aspecto normal da pele jovem (Figura 1). Quanto à pigmentação, observa-se que há um acúmulo de melanina nos queratinócitos, o que caracteriza um padrão de pigmentação irregular (Figura 2).

O padrão da junção dermoepidérmica apresenta-se completamente alterado na pele envelhecida (Figura 3). Observa-se que ocorre perda das papilas dérmicas, e conseqüentemente há

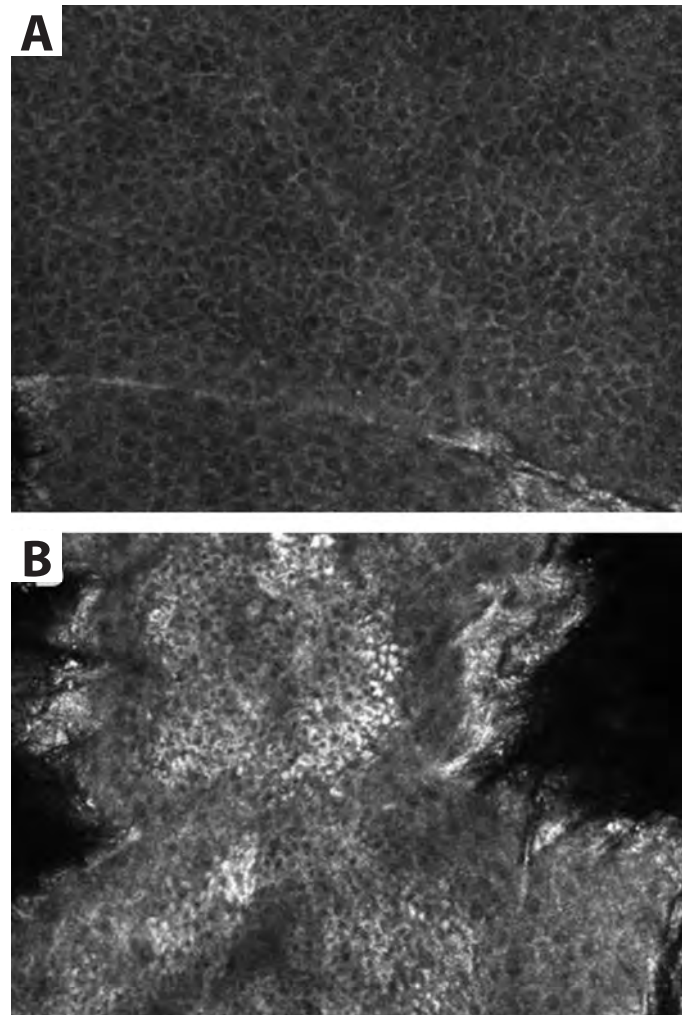


FIGURA 1: Padrão de distribuição dos queratinócitos no rosto em pele jovem (A) e em pele envelhecida (B). Observa-se desordem do padrão de “favo de mel”, com pleomorfismo de tamanho e forma de queratinócitos e também pigmentação irregular

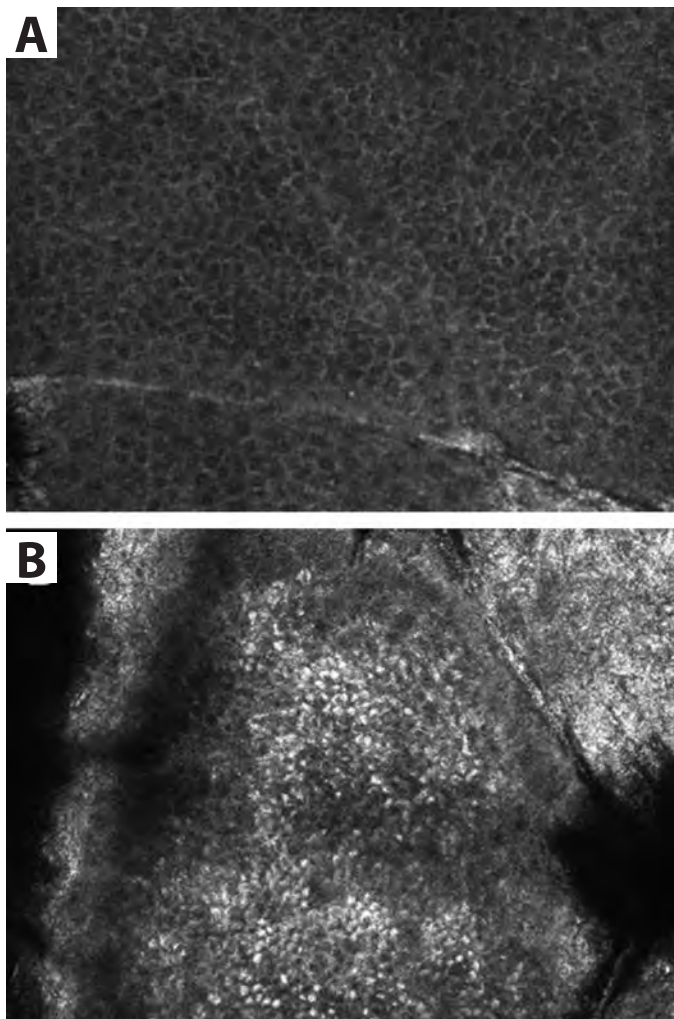


FIGURA 2: Padrão de pigmentação nos queratinócitos no rosto em pele jovem (A) e em pele envelhecida (B). Em B, queratinócitos pigmentados são representados por pontos claros, de alta refringência

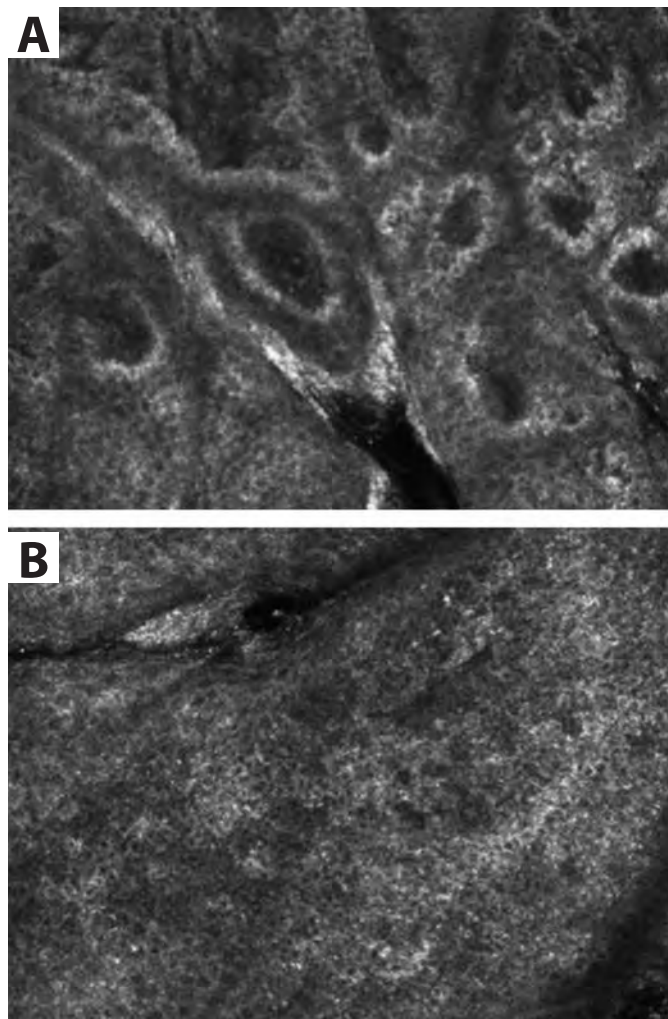


FIGURA 3: Padrão da junção dermoepidérmica no rosto em pele jovem (A) e em pele envelhecida (B). Observa-se (A) na região envelhecida achatamento da epiderme com perda, portanto, das papilas dérmicas

um achatamento da epiderme. Na derme papilar, a pele jovem apresenta fibras de colágeno finas e altamente refringentes, enquanto na pele envelhecida, as fibras são pouco visíveis e apresentam a aparência encolhida e amorfa (Figura 4). Em alguns casos, é possível observar a presença de elastose solar na pele envelhecida (Figura 5).

Pela análise da microscopia confocal, foram observados padrão de pigmentação irregular, queratinócitos distribuídos irregularmente, achatamento da junção dermoepidérmica, presença de fibras de colágeno deterioradas e elastose solar severa na pele envelhecida.

DISCUSSÃO

A epiderme envelhecida apresenta características morfológicas e estruturais distintas, com queratinócitos desorganizados, decorrente da menor renovação celular nesse

tipo de pele. Além disso, a técnica apresenta excelente aplicação para a avaliação da pigmentação irregular na epiderme, uma vez que, pelo princípio da técnica, a melanina fornece grande contraste, facilitando a análise e interpretação das imagens.¹²

As características morfológicas e estruturais da junção dermoepidérmica também são relacionadas ao envelhecimento, sendo esse fato decorrente do envelhecimento intrínseco e agravado com a exposição solar prolongada.¹³ A MCR a laser mostrou-se ferramenta de grande utilidade para avaliar a integridade e morfologia da junção dermoepidérmica e suas alterações decorrentes do envelhecimento, sendo possível, além disso, avaliar a profundidade das papilas dérmicas, por meio da análise das imagens consecutivas.

As imagens obtidas por MCR da derme papilar no presente estudo também foram observadas por outros grupos de pesquisa em que fibras colágenas espessas e amorfas na derme são observadas em indivíduos mais velhos, com perda de fibras

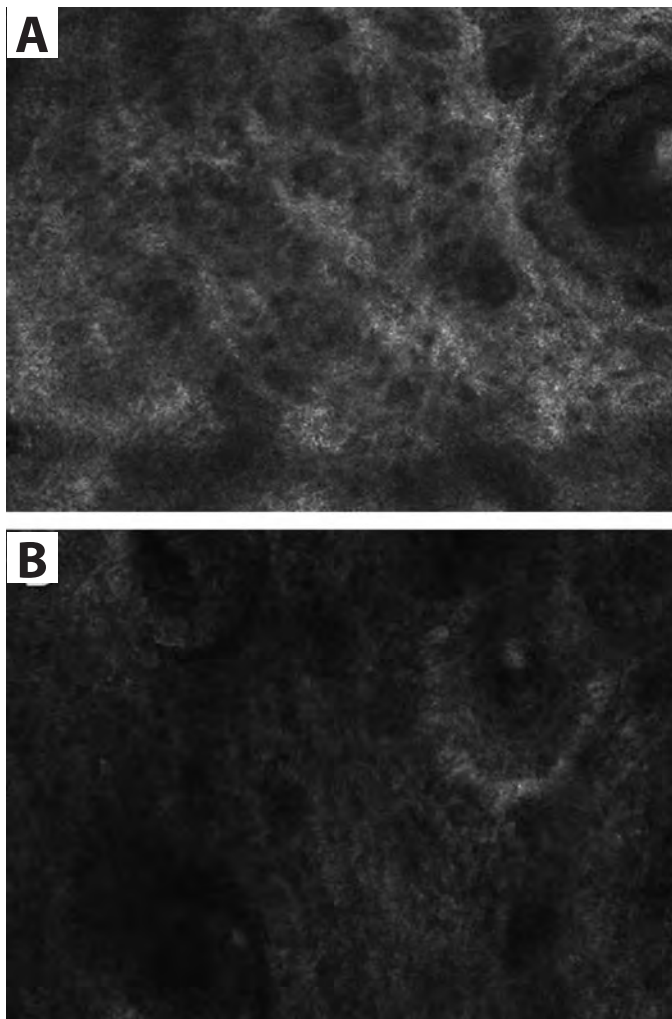


FIGURA 4: Características da derme papilar no rosto em uma pele jovem (A) e em uma pele envelhecida (B). Observa-se que na pele jovem, as fibras de colágeno são finas e altamente refringentes

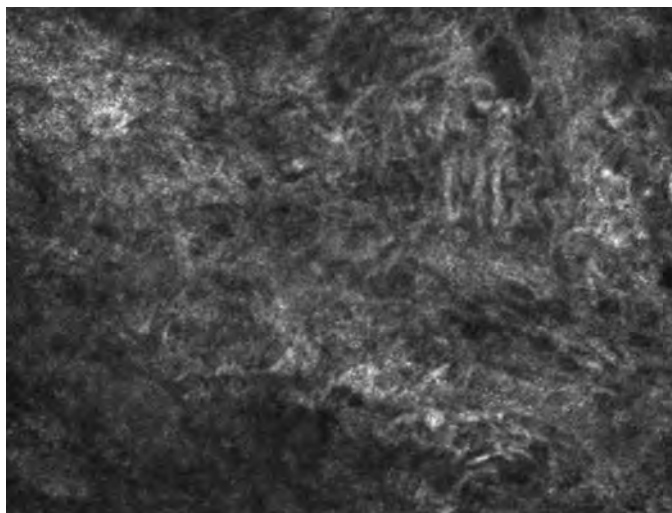


FIGURA 5: Presença de elastose solar em uma pele envelhecida. As fibras elásticas estão espessas, hiperrefrativas

de colágeno finas reticuladas, comuns em indivíduos mais jovens.^{6,7,14}

Com o envelhecimento, as diferenças entre o envelhecimento cronológico e o fotoenvelhecimento são observadas na matriz extracelular, revelando expressão reduzida de genes de colágeno intersticial no envelhecimento intrínseco e aumento da expressão de genes do tecido elástico no fotoenvelhecimento.¹⁵

O microscópio confocal de refletância a laser permite a avaliação de características clínicas e subclínicas do fotoenvelhecimento, sendo ferramenta de grande utilidade para a detecção precoce de características cutâneas indesejáveis e fornecendo subsídios para a prescrição de tratamentos eficazes e seguros para a prevenção e melhoria do envelhecimento cutâneo. Portanto, é técnica útil para auxiliar a análise de características cutâneas que incomodam o paciente pelo caráter inestético, e também para possível detecção de características morfológicas e estruturais que podem estar relacionadas às disfunções cutâneas.

CONCLUSÃO

A MCR a laser é técnica de grande aplicação para avaliar as características morfológicas e estruturais do envelhecimento cutâneo na epiderme e na derme papilar. ●

REFERÊNCIAS

1. Branzan AL, Landthaler M, Szeimies RM. In vivo confocal scanning laser microscopy in dermatology. *Lasers Med Sci.* 2007;22(2):73-82.
2. González S, Gilaberte-Calzada Y. In vivo reflectance-mode confocal microscopy in clinical dermatology and cosmetology. *Int J Cosmet Sci.* 2008;30(1):1-17.
3. Nouveau-Richard S, Yang Z, Mac-Mary S, Li L, Bastien P, Tardy I, Bouillon C. Skin ageing: a comparison between Chinese and European populations. A pilot study. *J Dermatol Sci.* 2005;40(3):187-93.
4. Sauermann K, Cleemann S, Jaspers S, Gambichler T, Altmeyer P, Hoffmann K, et al. Age related changes of human skin investigated with histometric measurements by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol.* 2002;8(1):52-6.
5. Sugata K, Nishijima T, Kitahara T, Takema Y. Confocal laser microscopic imaging of conspicuous facial pores in vivo: relation between the appearance and the internal structure of skin. *Skin Res Technol.* 2008;14(2):208-12.
6. Longo C, Casari A, Beretti F et al. 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..
7. Wurm EM, Longo C, Curchin C, Soyer HP, Prow TW, Pellacani G. In vivo assessment of chronological ageing and photoageing in forearm skin using reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol.* 2012;167(2):270-9.
8. Andrade, JP, Mercurio, DG, Maia Campos PMBG. Avaliação celular das estruturas cutâneas por meio da Microscopia Confocal de Reflectância. *RBM: Rev Bras de Med.* 2015; 72:4-13.
9. Pathak, MA, Fitzpatrick, TB, Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis, and skin cancer with sun-protective agents. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freeberg IM, Austen KF (editors) *Dermatology in General Medicine.* McGraw-Hill: New York; 1993. p.1689-1717.
10. Bielfeldt S, Böhling A, Wilhelm PK. Bioengineering Methods to Assess Aging Parameters in the Depth of the Skin. *SOFW-Journal.* 2011;3:1-8.
11. Mercurio DG, Maia Campos PMBG, Simao JC. Biophysical, Morphological and clinical characterization of photodamaged skin for the development of effective cosmetic formulations. *IFSCC CONFERENCE; 2013, Rio de Janeiro (Brazil).* Book of Abstracts IFSCC Conference, 2013. p. 35-38.
12. Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero AL, Malvey J, Puig S, Rajadhyaksha M, et al. In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: Consensus terminology glossary and illustrative images. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(4):644-58.
13. Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48(1):1-19; quiz 20-2.
14. Imayama S, Braverman IM. A hypothetical explanation for the aging of skin. Chronologic alteration of the three-dimensional arrangement of collagen and elastic fibers in connective tissue. *Am J Pathol.* 1989;134(5):1019-25.
15. McGrath JA, Robinson MK, Binder RL. Skin differences based on age and chronicity of ultraviolet exposure: results from a gene expression profiling study. *Br J Dermatol.* 2012;166(12):9-15.