

JOANA LÚCIA RODRIGUES DA TRINDADE

**ENVELHECIMENTO DA PELE – REVISÃO NARRATIVA DA
EVOLUÇÃO HISTOLÓGICA**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2022

JOANA LÚCIA RODRIGUES DA TRINDADE

**ENVELHECIMENTO DA PELE – REVISÃO NARRATIVA DA
EVOLUÇÃO HISTOLÓGICA**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2022

ENVELHECIMENTO DA PELE – REVISÃO NARRATIVA DA EVOLUÇÃO HISTOLÓGICA

JOANA LÚCIA RODRIGUES DA TRINDADE

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob orientação da Professora Doutora Teresa Sequeira.

RESUMO

A pele, órgão vital, separa a homeostasia interna do meio externo, funcionando como barreira fundamental contra infecções, radiações UV, perda de água e outras agressões externas.

Pretende-se descrever as características histológicas da pele, caracterizando a função das suas populações celulares e posteriormente identificar as principais alterações que ocorrem na epiderme e na derme como resultado do envelhecimento intrínseco, cronológico ou natural, que ocorre com o passar do tempo.

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa com base em artigos publicados online, nos últimos dez anos. Procedeu-se ao levantamento de artigos nas bases de dados *PubMed* e *Science Direct*. Os critérios utilizados para inclusão das publicações foram (a) presença dos descritores utilizados na busca no título ou resumo; (b) artigos publicados em língua portuguesa, francesa, espanhola ou inglesa; (c) artigos de acesso livre; (d) dissertações e teses. Os critérios de exclusão foram (a) duplicidade de artigos; (b) artigos cujo conteúdo integral não atendiam ao tema proposto; (c) artigos com textos não disponibilizados completamente.

O envelhecimento da pele envolve alterações moleculares e histológicas, com consequências no organismo. Para além de visíveis alterações fenotípicas, estéticas, com impacto negativo psicológico e social, a pele envelhecida é mais frágil, mais suscetível a desidratação e posterior maceração dos tecidos. É mais vulnerável ao desenvolvimento de lesões, infecções, feridas crónicas dermatites e doenças malignas, apresentando maior dificuldade na recuperação da sua integridade como barreira.

Uma mais ampla compreensão dos fatores envolvidos no envelhecimento da pele é fundamental para o desenvolvimentos de estratégias que possam minimizar o seu impacto nas populações celulares nela presentes e assim a longevidade deste órgão vital.

Palavras-chave: *pele, envelhecimento, queratinócitos, melanócitos, colagénio, fibras elásticas, fibroblastos, derme*

ABSTRACT

The skin, a vital organ, separates internal homeostasis from the external environment, functioning as a fundamental barrier against infections, UV radiation, water loss and other external stressors.

It is intended to describe the histological characteristics of the skin, characterizing the function of its cell populations and subsequently identify the main changes that occur in the epidermis and in the dermis as a result of intrinsic, chronological or natural aging, which occurs over time.

A narrative literature review was carried out based on articles published online in the last ten years. Articles were surveyed in PubMed and Science Direct databases. The criteria used for inclusion of publications were (a) presence in the title or abstract of the descriptors used in the search; (b) articles published in Portuguese, French, Spanish or English; (c) free access articles; (d) dissertations and theses. The criteria used for exclusion of publications were (a) duplication of articles; (b) articles whose full content did not meet the proposed theme; (c) articles with texts not fully available.

Skin aging involves molecular and histological changes, with consequences for the body. In addition to visible phenotypic and aesthetic changes, with a negative psychological and social impact, aged skin is more fragile, more susceptible to dehydration and further maceration of the tissues. It is more vulnerable to the development of injuries, infections, chronic wounds, dermatitis and malignant diseases, presenting greater difficulty in recovering its integrity as a barrier.

A broader understanding of the elements involved in skin aging is fundamental for the development of strategies that can minimize its impact on the cell populations present in the skin and thus the longevity of this vital organ.

Keywords: *skin, aging, keratinocytes, melanocytes, collagen, elastic fibers, fibroblast, dermis.*

DEDICATÓRIAS

Esta dissertação representa o término do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas na Universidade Fernando Pessoa. Mas o término deste mestrado é a ponta de um *iceberg* e, como todos sabemos, a ponta do *iceberg* é apenas a parte visível de algo muito maior que pouca gente tem a sagacidade e a astúcia de se aperceber sequer da sua existência. Este *iceberg* engloba muitas horas de estudo e muitas horas em transportes públicos. Muitas horas a pé, à noite, sozinha e com frio. Engloba poucas horas com a família e poucas horas de sono, serões passados em salas frias de temperatura e serões não passados em salas quentes de afeto. Engloba muitos não. Não a saídas com amigos, a férias, a mais um episódio na Netflix, a mais umas páginas daquele livro, não a passeios à beira-mar, a descanso e aconchego. Não a abraços e ao amparo dos melhores. Mas engloba muitos sim, também. Sim ao desafio, ao estudo, ao trabalho duro. Sim ao cansaço extremo. Um grande sim à dúvida interior constante. Sim à perseverança, à firmeza e à paciência.

Ter uma vida laboral, ao mesmo tempo que escrevia uma dissertação e frequentava um estágio, a par com a tentativa de manter uma vida familiar e social nos mínimos aceitáveis, foi o objetivo mais desafiante a que me propus.

Tive contratempos pelo caminho, ultrapassei várias vezes os limites inóspitos da ansiedade, pensei em desistir inúmeras vezes, deparei-me com desafios que achei que não ia superar. Mas o mais difícil de ultrapassar foi a impertinente e persistente questão “será que vai valer a pena?”.

Por tudo isto e por tudo aquilo que ainda fica por escrever, esta dissertação é dedicada à Joana do futuro. À Joana que vai usufruir de tudo isto. E que merece. Merece muito.

“A smooth sea never made a skilled sailor.”

Franklin D. Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Agradeço gentilmente à Professora Doutora Teresa Sequeira, por ter conduzido a minha dissertação com maestria e profissionalismo e por ter sido bússola para as minhas dúvidas e questões. Foi fonte de otimismo e boa energia e por isso agradeço honestamente.

Agradeço ao Bruno. Por me ajudar a regar os sonhos que semeio. Por nunca me deixar desistir.

Agradeço ao meu pai, à minha mãe e à minha irmã, pelo tempo que abdicaram perto de mim e por nunca terem questionado a pertinência de tudo isto.

A equipa do Hospital da Arrábida teve um papel basilar em todo este percurso. Por essa razão, agradeço à Dra. Alexandra Madureira, pela confiança que depositou em mim, por me ter dado uma oportunidade e por me ensinar todos os dias a ser uma melhor profissional.

Agradeço à Helena Alvarenga, colega e amiga de todos os dias, pela paciência e compreensão, por cobrir as minhas falhas e por me valorizar e aceitar. Sem ela, teria sido mais difícil. Agradeço à Sara Pinto, colega e amiga de todas as horas, por me fazer sair da zona de conforto, por me ensinar tudo o que sabe, por me segurar as lágrimas quando eu não o conseguia fazer sozinha. Um obrigada também à Isabel Neves, pela amizade, pela partilha e pela gargalhada que me anima os dias. E obrigada pelos docinhos que me alimentam a alma. Tenho muita sorte em ter-vos.

Agradeço ainda à equipa da Farmácia d'Arrábida, pois todos eles foram essenciais no meu percurso e todos eles influenciaram positivamente o meu caminho, quer tenha sido pela alegria, pela boa disposição ou pela transmissão de conhecimentos.

Agradeço em especial à Carolina Alexandre que muito me ensinou. Acerca da farmácia e acerca da vida. Obrigada, Carolina. Levo-a no coração.

Agradeço com especial admiração ao Dr. Ricardo Aranha, à Dra. Cecília Silva e à Dra. Ana Moura por terem sido bússolas no caminho para a minha maestria profissional. Responderam incansavelmente e com a maior paciência a todas as minhas dúvidas e

questões. São inesgotáveis fontes de conhecimento e são, acima de tudo, modelos da profissional que ambiciono ser.

Ao Rui, um obrigada não chega. Levo comigo para a vida a tua amizade, a tua alegria, a tua capacidade de trabalho, a tua resiliência e o teu ombro nas horas difíceis. Deixo contigo uma admiração sem tamanho.

À Raquel Valqueresma, à Rute Gonçalves, à minha Ji, à minha querida Ana Hau e ao irrepetível Miguel Ribeiro, os meus amigos não de sempre, mas para sempre, obrigada pela coragem que me transmitiram ao longo deste tempo. Obrigada por me incentivarem, por compreenderem, por não desistirem de mim.

Agradeço a todos aqueles que contribuíram para a minha chegada ao trecho final deste longo caminho.

Agradeço àqueles que contribuíram amavelmente com grandes doses de paciência, amor e compreensão, mas agradeço também àqueles que colocaram rochedos neste trilho já de si tão sinuoso. Todos eles fizeram a diferença. Todos eles contribuíram para o crescimento que se deu na minha vertente científica, profissional e pessoal. Todos eles me direcionaram para o espetáculo que é passível de ser observado do cume da montanha. Obrigada.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
I. INTRODUÇÃO	1
II. MATERIAIS E MÉTODOS.....	5
III. DESENVOLVIMENTO.....	6
1. EPIDERME.....	6
i. QUERATINÓCITOS	6
ii. MELANÓCITOS.....	13
iii. CÉLULAS DE LANGERHANS.....	15
iv. CÉLULAS DE MERKEL.....	16
2. DERME	17
i. JUNÇÃO DERME-EPIDERME.....	17
ii. DERME	18
a) Matriz Extracelular.....	19
Fibras	19
Substância Fundamental Amorfa	20
b) Células.....	21
Fibroblastos.....	21
Outros tipos celulares.....	22
iii. ESTRUTURAS ANEXAS.....	23
3. ENVELHECIMENTO	24
i. EPIDERME.....	25
ii. DERME	29
IV. CONCLUSÃO.....	34
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE ABREVIATURAS

AGEs – produtos finais da glicação (*advanced glycation end products*)

BMP – proteína morfogenética (*bone morphogenetic protein*)

CCN – *cysteine-rich angiogenic protein 61*

DEJ – junção derme-epiderme (*dermal-epidermal junction*)

EDC – complexo de diferenciação epidérmica (*epidermal differentiation complex*)

FGF – fatores de crescimento dos fibroblastos (*fibroblast growth factor*)

GAGs – glicosaminoglicanos

IGF-1 – fator de crescimento semelhante à insulina (*insulin-like growth factor 1*)

IL-1 – interleucina-1

K – citoqueratina

KLK – kalikreínas

MEC – matriz extracelular

MMPs – metaloproteinases da matriz

NMFs – fatores hidratantes naturais (*natural moisturizing humectants*)

PGs – proteoglicanos

ROS – espécies reativas de oxigénio (*reactive oxygen species*)

SFA – substância fundamental amorfa

SPRPs – pequenas proteínas ricas em prolina (*small proline-rich proteins*)

TIMPs – inibidores endógenos das metaloproteinases da matriz (*tissue inhibitor of metalloproteinases*).

TLRs – recetores do tipo *toll* (*toll-like receptors*)

UV – ultravioleta

I. INTRODUÇÃO

A pele é o órgão mais externo do organismo e tem uma superfície de aproximadamente 1,8 m². É a grande fronteira entre o ambiente interno e o meio externo, sendo vital para a homeostasia do indivíduo (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020). Funciona como a principal barreira contra infecções, radiações ultravioleta (UV), perda de água e outras agressões externas (Bocheva *et al.*, 2019; Plikus *et al.*, 2015; Russell-Goldman e Murphy, 2020). Está claramente associada à síntese de diversas moléculas biologicamente relevantes, tais como a vitamina D3 que regula processos de crescimento celular, diferenciação, apoptose e reações imunológicas. A pele tem sido ainda associada à produção de neurotransmissores (acetilcolina, catecolamina, glutamato, aspartato), de estrogénios e androgénios (Lehmann, 2009; Slominski e Wortsman, 2000).

A pele divide-se em duas camadas. A epiderme é a camada superior, que se encontra em contacto com a superfície, composta por tecido epitelial estratificado, pavimentoso e queratinizado (Kierszenbaum e Tres, 2019). Esta camada epitelial é maioritariamente composta por queratinócitos, em diferentes fases de diferenciação, e outras populações celulares, bem distintas, como os melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (Csekes e Račková, 2021).

A camada mais profunda é a derme e tem uma natureza bastante distinta da anterior já que é composta por tecido conjuntivo. É composta por células localizadas numa ampla matriz extracelular (MEC), sendo por isso amplamente vascularizada – com vasos sanguíneos e linfáticos – e innervada, alojando ainda anexos cutâneos: glândulas sudoríparas e unidades pilosebáceas (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Costanzo *et al.*, 2015; Nestle *et al.*, 2009; Slominski e Wortsman, 2000; Yazdi *et al.*, 2016).

O desenvolvimento embrionário da pele começa logo após a gastrulação, fase do desenvolvimento embrionário que ocorre na terceira semana após a fertilização. Nesta fase, a invaginação do epiblasto ao longo da linha primitiva, a sua proliferação e migração para baixo das células epiblasticas, resulta na formação de três camadas germinativas de linhagens celulares distintas: a ectoderme, a mesoderme e a endoderme (Arnold e Robertson, 2009).

A ectoderme dá origem tanto ao sistema nervoso como ao epitélio cutâneo. Os destinos neurais e epidérmicos das células ectodérmicas parecem ser resultantes dos

efeitos do Wnt, do fator de crescimento do fibroblasto (*fibroblast growth factor*, FGF) e da proteína morfogenética óssea (*bone morphogenetic protein*, BMP), logo após a gastrulação (Hu *et al.*, 2018). A sinalização de Wnt limita a resposta ectodérmica ao FGF, uma família de fatores de crescimento de polipéptidos necessários para a indução neural (Hu *et al.*, 2018). Esta circunstância conduz à expressão de BMPs, que também inibe o destino neural (Bleuming *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2018), comprometendo assim as células a diferenciarem-se em epiderme, inicialmente formada por uma única camada de células epiteliais multipotentes (Hu *et al.*, 2018).

A espessura da epiderme e da derme varia consoante o local anatómico e também é dinâmica ao longo da vida. Pode ainda alterar-se quando é afetada por fatores externos ou condições inflamatórias (Russell-Goldmann e Murphy, 2020; Slominski e Wortsman, 2000). A espessura média da epiderme é de 0,1 mm, embora possa chegar a 1,6 mm nas zonas de pele grossa (palma das mãos e planta dos pés). A pele grossa apresenta glândulas sudoríparas, mas não apresenta estruturas pilossebáceas, enquanto a pele do rosto tem inúmeros folículos pilosos aos quais estão associadas as glândulas sebáceas (Russell-Goldmann e Murphy, 2020; Slominski e Wortsman, 2000). As axilas e a zona genital apresentam vasto número de glândulas sudoríparas, enquanto o couro cabeludo tem folículos pilosos muito profundas, que chegam a atingir a hipoderme. A existência das estruturas pilossebáceas e sudoríparas é essencial para a manutenção da integridade da barreira física que a pele constitui, assim como para a regulação do equilíbrio eletrolítico e o controlo da evaporação de água. A derme, para além do seu papel estrutural, é também importante para conferir proteção mecânica e está ainda associada ao controlo térmico do organismo, recorrendo à ampla rede vascular nela existente (Russell-Goldmann e Murphy, 2020; Slominski e Wortsman, 2000).

O envelhecimento é o somatório de danos celulares, cumulativos, que ocorrem ao longo do tempo, podendo conduzir ao desenvolvimento de doenças. O envelhecimento de células é designado de senescência celular ou envelhecimento celular. As células senescentes vão-se acumulando com a idade e caracterizam-se pela capacidade de produzir fatores que promovem a inflamação e a deterioração dos tecidos. Na pele, as células senescentes limitam as competências de regeneração e por isso resultam na perda de funcionalidade e integridade fisiológica (Csekés e Račková, 2021; Höhn *et al.*, 2017; Orioli e Dellambra, 2018).

O envelhecimento da pele não é apenas um problema estético, com um impacto negativo psicológico e social. O envelhecimento da pele é um processo que resulta em alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas, aumentando a suscetibilidade a infecções, feridas crónicas, dermatites e doenças malignas (Csekes e Račková, 2021). A pele envelhecida é mais frágil, mais suscetível à desidratação e posterior maceração dos tecidos. Isto faz com que seja mais vulnerável ao desenvolvimento de lesões e, em pessoas com mais de 80 anos, existe uma grande dificuldade na recuperação da integridade da barreira que a pele constitui (Parrish, 2017). Esta encontra-se comprometida e a incidência de doenças da pele aumenta com a idade devido às alterações que nela ocorrem (Farage *et al.*, 2009; Na, 2012). A maior parte das pessoas com mais de 65 anos tem pelo menos uma doença de pele e, com o aumento da população idosa, as doenças de pele crescem progressivamente tornando-se essencial conhecer a base biológica e histológica do envelhecimento cutâneo (Farage *et al.*, 2013). Ainda, admite-se que o envelhecimento da pele influencie o envelhecimento de outros órgãos e tecidos, contribuindo assim para o envelhecimento global do organismo (Franco *et al.*, 2022).

O envelhecimento demográfico na União Europeia (UE) encontra-se em contínuo aumento há várias décadas (Comissão Europeia, 2021). A 01 de Janeiro de 2019, as pessoas com 65 anos ou mais representavam 20,3 % da população da UE. Itália, Grécia, Portugal e Finlândia registaram as percentagens mais altas nesta faixa etária. As previsões indicam que, até ao ano 2100, a percentagem da população com 65 anos ou mais represente 31,3 %. A percentagem de pessoas muito idosas, com 80 anos ou mais, também é previsto que aumente de 5,8 % para 14,8 %, num universo de 416,1 milhões de pessoas em 2100, na UE (Comissão Europeia, 2021). Tendo em consideração a relação direta entre envelhecimento e saúde, é expectável o surgimento de crescentes desafios e pressão na saúde pública, nomeadamente nas despesas médicas e nos serviços de cuidados continuados para o segmento mais velho da população (Cristea *et al.*, 2020).

O estudo da pele, contextualizada no indivíduo e consideradas as múltiplas funções associadas a este órgão vital, pretende uma compreensão mais alargada da sua organização, funcionamento e evolução ao longo do tempo, o que poderá contribuir para a melhoria da qualidade de vida e sobrevivência humana.

O objetivo desta revisão narrativa é, numa primeira fase, descrever as características histológicas da pele, caracterizando a função das suas populações

celulares. Numa segunda fase, pretende-se descrever as principais alterações que ocorrem na epiderme e na derme como resultado do envelhecimento intrínseco, cronológico ou natural, que ocorre com o passar do tempo.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização da presente dissertação de mestrado, propôs-se uma revisão narrativa sobre a temática em análise. Procedeu-se ao levantamento de artigos na base de dados PubMed e Science Direct considerando preferencialmente os últimos 10 anos de publicação (2012 a 2022). Para além dos artigos da revisão, referências anteriores a 2012 e/ou indexados em outras bases de dados foram utilizadas pela pertinência considerada no alinhamento do texto ou pela sua importância na contextualização histórica. Os termos de indexação utilizados foram *pele*, *envelhecimento*, *queratinócitos*, *melanócitos*, *colagénio*, *fibras elásticas*, *fibroblastos*, *derme* e os termos equivalentes em língua inglesa. Foram utilizados de forma isolada ou em combinação.

Os critérios utilizados para inclusão das publicações foram:

- (a) presença dos descritores utilizados na busca no título ou resumo;
- (b) artigos publicados em língua portuguesa, francesa, espanhola ou inglesa;
- (c) artigos de acesso livre;
- (d) dissertações e teses.

Os critérios de exclusão foram:

- (a) duplicidade de artigos;
- (b) artigos cujo conteúdo integral não atendia ao tema proposto;
- (c) artigos com textos não disponibilizados completamente.

A partir daí, prosseguiu-se com a análise da fundamentação teórica dos estudos. Por fim, realizou-se a apreciação da metodologia aplicada, resultados obtidos e discussão. Para analisar a produção científica identificada, não se utilizaram técnicas qualitativas e/ou quantitativas específicas de tratamento de dados, tendo sido feita a análise de cada um dos textos individualmente. Assim sendo, realizou-se esta revisão selecionando 99 artigos.

Para a redação deste documento foi utilizado o modelo de referências bibliográficas Harvard, sendo redigido segundo as normas do Acordo Ortográfico de 1990, ratificado por Portugal em 2008.

III. DESENVOLVIMENTO

1. EPIDERME

A pele desempenha um relevante papel na separação da atmosfera do ambiente intracelular, na percepção de sensações e na regulação da temperatura corporal. A epiderme, sendo a camada mais externa do organismo, é a primeira barreira contra a desidratação e ameaças externas como patogêneos, radiação UV e flutuações de humidade (Jahn *et al.*, 2021; Slominski e Wortsman, 2000). Dado que não é um tecido vascularizado, recebe nutrientes através da derme, com localização subjacente, via difusão (Kierszenbaum e Tres, 2019).

O desenvolvimento epidérmico em mamíferos é um processo que decorre em várias etapas e consiste em: especificação epidérmica, compromisso, estratificação, diferenciação terminal e crescimento de apêndices epidérmicos. Padrões de sinalização distintos em diferentes fases de desenvolvimento asseguram o crescimento e progressão da epiderme e dos seus derivados. Cada passo do desenvolvimento epidérmico está intimamente ligado ao desenvolvimento da derme e do mesênquima subjacente, com diferenças na derme que contribuem para as heterogeneidades regionais da epiderme sobrejacente (Hu *et al.*, 2018; Rinn *et al.*, 2008).

O desenvolvimento da epiderme inclui a formação dos apêndices epidérmicos, tais como folículos pilosos e glândulas sudoríparas (Hu *et al.*, 2018), formando o designado sistema tegumentar que, por opção, não será abordado neste trabalho – apenas a pele.

Na maior parte das zonas anatómicas de pele fina, a epiderme é composta por quatro camadas: basal, espinhosa, granulosa e córnea. Na pele grossa (zonas palmar e plantar) é ainda descrita uma camada suplementar, a camada lúcida, de transição entre a camada granulosa e a camada córnea. Estas camadas são maioritariamente compostas por queratinócitos – a população celular claramente mais abundante – que acomoda entre si mais três populações celulares minoritárias: os melanócitos, as células de Langerhans e as células Merkel (Csekés e Račková, 2021; Kierszenbaum e Tres, 2019).

i. QUERATINÓCITOS

Os queratinócitos contribuem com 90 a 95 % das células presentes na epiderme, encontrando-se em diferentes fases de desenvolvimento (Scieglinska *et al.*, 2019).

Para garantir as suas importantes funções e manter a homeostase do tecido, as células estaminais na camada basal da epiderme reproduzem-se continuamente para substituir a perda de células durante a sua permanente renovação ou após o trauma (Hu *et al.*, 2018). Assim, os queratinócitos indiferenciados formam-se na camada basal, a camada mais profunda da epiderme, e são permanentemente retirados do ciclo celular, ascendendo para as camadas mais superficiais sempre que ocorre proliferação na camada basal. Durante o processo de afastamento da camada basal que lhes deu origem e da aproximação à superfície, alteram a sua atividade biológica e morfológica, formando as camadas espinhosa, granulosa e córnea (Scieglinska *et al.*, 2019). No Homem, estima-se que o tempo de renovação dos queratinócitos, desde a formação até à descamação, seja 40 a 56 dias (Halprin, 1972).

As células da camada basal são as células epiteliais menos diferenciadas da epiderme. Contêm os organelos típicos presentes nas células de outros tecidos e apresentam ainda estruturas características que as identificam como células epiteliais, como as citoqueratinas (K). Estas são proteínas que integram os filamentos intermédios do citoesqueleto, razão que justifica a sua denominação de queratinócitos (Simpson *et al.*, 2011).

Os queratinócitos expressam recetores tipo-Toll (*Toll-like receptors, TLRs*) cruciais para o reconhecimento de padrões presentes em microrganismos patogénicos. Quando tais recetores são ativados, produzem várias citocinas inflamatórias e iniciam uma resposta imunológica que envolve o recrutamento de leucócitos para o local (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020).

A morte celular programada dos queratinócitos, ou o final da sua diferenciação, designa-se de queratinização ou cornificação. Este processo torna-se um potenciador da construção da barreira da pele e diferentes graus do processo de cornificação dão origem a diferentes estruturas, como pele, unhas, haste do cabelo, entre outras (Costanzo *et al.*, 2015).

No sentido de manter a homeostasia tecidular, existe um constante equilíbrio na diferenciação de queratinócitos, desde a sua formação à sua morte celular. Após décadas de estudo, já se compreende melhor a estratégia de diferenciação. Foram propostos dois modelos para explicar o comportamento das células basais: i) o modelo hierárquico sugere que a epiderme é composta por unidades discretas proliferativas constituídas por

uma célula estaminal de ciclo lento que dá origem a células amplificadoras, transitórias de curta duração que depois saem da camada basal após várias divisões para gerar unidades colunares ascendentes de células diferenciadas e ii) o modelo estocástico que sugere que a epiderme basal é composta por um único tipo de progenitor proliferativo, cujas células filhas escolhem aleatoriamente se se diferenciam ou se permanecem como progenitoras (Fuchs, 2016). O debate prossegue e o controlo desta homeostasia ainda não se encontra totalmente esclarecido, permanecendo a questão como alvo de investigação (Scieglinska *et al.*, 2019).

Os queratinócitos são responsáveis pela re-epitelização, um passo importante da cicatrização de feridas, que leva à restauração da epiderme após dano cutâneo. Isto é possível dada a grande capacidade migratória dos queratinócitos para os bordos da lesão. Durante esta migração para a camada superficial, estas células restringem a sua proliferação, num processo de extrema coordenação. Quando a membrana basal se encontra reconstruída, a migração dos queratinócitos é concluída (Gonzalez *et al.*, 2016; Scieglinska *et al.*, 2019; Tsepkenko *et al.*, 2019).

O processo de diferenciação terminal pode ser morfológica e molecularmente subdividido em quatro fases, identificáveis na camada basal, espinhosa, granulosa e córnea (Hu *et al.*, 2018).

A camada basal ou germinativa da epiderme é a camada mais profunda e está separada da derme por uma membrana basal. Nesta camada, as células apresentam-se cúbicas ou colunares quando mitoticamente ativas e estão firmemente ancoradas na membrana basal através de adesões focais. Estas adesões focais são formadas por proteínas transmembranares heterodiméricas, as integrinas, e hemidesmosomas que resultam da associação das integrinas a filamentos intermédios do citoesqueleto da célula epitelial (Tsuruta *et al.*, 2011; Yousef *et al.*, 2021).

A proliferação de células germinativas epidérmicas recorre a um reservatório de células estaminais pluripotentes, onde se verifica uma intensa atividade mitótica, caracterizadas pela elevada expressão de integrinas e de citoqueratinas 5 e 14, que formam uma extensa rede filamentosa, proporcionando resistência mecânica (Bilousova e DeGregori, 2019; Costanzo *et al.*, 2015; Rinnerthaler *et al.*, 2015). Este reservatório também é encontrado no bolbo dos folículos capilares. Divisões assimétricas possibilitam

a manutenção de uma população germinativa, enquanto as células recentemente formadas vão sofrendo um processo de diferenciação terminal à medida que vão ascendendo nas camadas da epiderme, até à superfície, ficando mais achatadas, devido à perda de organelos, perda de água e alteração do seu conteúdo lipídico e proteico (Costanzo *et al.*, 2015; Rinnerthaler *et al.*, 2015).

Na camada espinhosa, composta por oito a dez camadas de células (em maior número na pele grossa), as células apresentam-se poliédricas, irregulares, com abundantes desmossomas que as ligam intensamente entre si (Yousef *et al.*, 2021). Nesta camada, os queratinócitos saem do seu ciclo de celular, são transcricionalmente muito dinâmicos – sob o controlo da p63 e outros fatores de transcrição – iniciando um processo de diferenciação terminal (Eckhart *et al.*, 2013). Verifica-se uma redução da expressão de K5 e K14 e é induzida a expressão de citoqueratinas 1, 10 e caspase-14. Desta forma, adquirem um citoesqueleto com mais resistência mecânica, sendo favorecida a formação de abundantes desmossomas, especializações da membrana lateral que possibilitam uma intensa ligação entre células vizinhas em pontos específicos e que conferem a morfologia “espinhosa”, característica desta camada (Fuchs, 2016). São compostos a partir de caderinas transmembranes agrupadas, as desmogleínas e as desmocolinas. Estas ligam-se às proteínas intracelulares placoglobina e placofilina que recrutam o ligante desmoplaquina, possibilitando a ligação a filamentos intermediários de queratina. Através desta cadeia de interações, os componentes do desmoplaquina ligam diretamente as junções intercelulares e o citoesqueleto do filamento intermédio que preenche o citoplasma e envolve o núcleo (Kierszenbaum e Tres, 2019; Simpson *et al.*, 2011).

As células assumem um formato poligonal e ligeiramente mais achatado (Costanzo *et al.*, 2015). Nesta camada, são ainda expressas três importantes proteínas – evoplaquina, periplaquina e involucrina – que formam um complexo proteico fundamental para posterior ligação a outras proteínas (Rinnerthaler *et al.*, 2015). Ainda nesta fase, tem início a formação de corpos lamelares a partir do complexo de Golgi. Estes corpos lamelares são vesículas limitadas por membrana que irão acumular no seu interior uma grande diversidade de lípidos, como glicosilceramidas e esfingomielinas, bem como várias lipases, péptidos anti-microbianos, proteases e inibidores de proteases e outras proteínas como a corneodesmosina (Rinnerthaler *et al.*, 2015).

O estrato granuloso, composto por três a cinco camadas de células, é assim designado devidos aos abundantes grânulos de queratohialina e corpos lamelares observáveis ao microscópio ótico (Yousef *et al.*, 2021).

A camada granulosa apresenta também junções de oclusão ou *zonula occludens* formadas por proteínas como a claudina e ocludina. Estas, juntamente com os desmossomas, contribuem para uma barreira epidérmica coesa e que possibilita grande resistência mecânica (Costanzo *et al.*, 2015; Jahn *et al.*, 2021; Simpson *et al.*, 2011).

Nesta camada, os queratinócitos tornam-se mais achatados e é notável a expressão de marcadores de diferenciação tardia, como o complexo de diferenciação epidérmica (*epidermal differentiation complex*, EDC) (Costanzo *et al.*, 2015; Simpson *et al.*, 2011). Este é um conjunto de genes que codifica proteínas responsáveis pela diferenciação de células epidérmicas e inclui a profilagrina, o principal componente dos grânulos de queratohialina a que a camada granulosa deve o seu nome. Após a sua desfosforilação e proteólise, a profilagrina é convertida em filagrina, proteína estrutural, que tem a capacidade de unir os filamentos de queratina, formando feixes de queratina, promovendo a sua compactação e por isso conferindo uma grande resistência mecânica (Sandilands *et al.*, 2008). Estes filamentos estão ligados a desmossomas para que os citoesqueletos das células vizinhas, e mais tarde os corneócitos, estejam também interligados. (Costanzo *et al.*, 2015; Kubo *et al.*, 2012; Simpson *et al.*, 2011).

Dois a três dias após a formação da filagrina, a sua força da ligação com a queratina é reduzida, devido à ação de proteases, e a filagrina é alvo de proteólise parcial, por ação da caspase-14, nos seus correspondentes aminoácidos, que são altamente higroscópicos e, por isso, funcionam como fatores hidratantes naturais (*natural moisturizing factors*, NMFs). O facto de serem capazes de absorver humidade atmosférica também contribui para serem considerados humectantes naturais (Eckhart *et al.*, 2013; Jahn *et al.*, 2021; Starr *et al.*, 2022).

Curiosamente, mais de 85 % do conteúdo proteico das células consiste em queratinas (Eckhart *et al.*, 2013), sugerindo que o citoesqueleto é de importância primordial para a função das mesmas (Eckhart *et al.*, 2013; McLean e Moore, 2011).

O elevado teor de queratina é alcançado não só pela sua produção massiva e estabilização das queratinas durante a diferenciação, mas também, provavelmente, pela remoção de outras proteínas, presentes originalmente quer no citoplasma quer nos organelos. Microscopicamente, a queratinização está associada à desintegração completa

dos compartimentos subcelulares, ou seja, organelos tais como o núcleo, as mitocôndrias, o retículo endoplasmático e os lisossomas (Eckhart *et al.*, 2013). O núcleo é degradado e os organelos celulares desaparecem por um mecanismo desconhecido. Os queratinócitos vivos são assim convertidos em corneócitos. As queratinas permanecem como as proteínas predominantes dentro dos invólucros cornificados contribuindo fortemente para a resistência mecânica da camada queratinizada/cornificada do estrato córneo (Eckhart *et al.*, 2013). A degradação da filagrina provoca o colapso dos corneócitos, contribuindo para o seu achatamento (Simpson *et al.*, 2011; Starr *et al.*, 2022).

À medida que a diferenciação terminal se aproxima do seu ponto final, depois da proteólise (limitada) durante a diferenciação de queratinócitos terminais, um influxo de cálcio ativa as transglutaminases, responsáveis pela formação de diversas ligações cruzadas com os componentes proteicos que formarão um invólucro cornificado (Fuchs, 2016). Os lípidos da camada córnea contribuem para a manutenção dos NMFs dentro dos corneócitos, promovendo a máxima hidratação nesta camada (Rawlings *et al.*, 1994; Starr *et al.*, 2022).

As proteínas expressas pelo complexo EDC – involucrina e loricrina – proteína altamente expressa no estrato granuloso e imediatamente armazenada em grânulos devido à sua elevada insolubilidade – bem como as pequenas proteínas ricas em prolina (*small proline rich proteins*, SPRPs), são consideradas marcadores de diferenciação tardia e alvo de reações catalisadas pelas transglutaminases 1, 3 e 5, especificamente expressas em estruturas cornificantes. As transglutaminases 1 e 3 são responsáveis pelas ligações cruzadas da involucrina e loricrina bem como entre e as loricrinas e a família de proteínas designada pequenas proteínas ricas em repetições de prolina (Candi *et al.*, 2005; Costanzo *et al.*, 2015; Simpson *et al.*, 2011). Estas proteínas são muito solúveis, contribuindo para aumentar a solubilidade da loricrina. O agregado loricrina-SPRPs é então ligado ao complexo periplaquina-envoplaquina-envolucrina na membrana celular, contribuindo para o invólucro proteico (5-10 nm de espessura), com localização sub-membranar e que substituirá a membrana celular (Costanzo *et al.*, 2015; Eckhart *et al.*, 2013; Starr *et al.*, 2022).

De destacar o facto das SPRPs pertencerem a uma família de proteínas com uma elevada capacidade antioxidante e, como tal, conseguem sequestrar espécies reativas de oxigénio (*reactive oxygen species*, ROS). A sua existência na epiderme confere-lhe alta capacidade de resistência a ROS (Rinnerthaler *et al.*, 2015).

À medida que os organelos, incluindo o núcleo, são perdidos, o conteúdo lipídico pré-formado e armazenado nos corpos lamelares intracelulares sofre extrusão pelo lado apical das células. Como os corpos lamelares também contêm enzimas que modificam os lípidos segregados fora das células, as glucosilceramidas e a esfingomiélna são convertidas em ceramidas e os fosfolípidos são convertidos em ácidos gordos livres e glicerol (Afshar e Gallo, 2013; Fuchs, 2016). Os reduzidos espaços intercelulares ficam preenchidos por conteúdo libertado pelos corpos lamelares, que se encontra ligado ao envelope cornificado e toda a estrutura impede a perda transepidérmica de água (Costanzo *et al.*, 2015; Kubo *et al.*, 2012; Simpson *et al.*, 2011).

Nesta fase, os corneócitos ficam assim envolvidos numa matriz lipídica extrudida pelos corpos lamelares, que funciona como repelente à água, e estão fortemente interligados por corneodesmosomas. Estes últimos, asseguram a força física das camadas cornificantes, diferem dos desmosomas pela incorporação extra de proteína corneodesmosina (Eckhart *et al.*, 2013; Jonca, *et al.*, 2011; Kubo *et al.*, 2012). A conversão de queratinócitos em corneócitos está associada a uma redução do volume celular – talvez devido a uma substancial redução do conteúdo de água intracelular (Eckhart *et al.*, 2013).

A camada lúcida, descrita apenas na pele grossa, apresenta apenas duas a três camadas de células repletas de eledeína, um produto da transformação da queratohialina (Yousef *et al.*, 2021).

A camada córnea é a mais externa da epiderme na pele grossa (20 a 30 camadas) e contém queratinócitos em fim de vida, achatados e anucleados, os corneócitos (Scieglinska *et al.*, 2019).

Uma vez concluído o processo de queratinização, ainda é necessária uma extensa atividade de proteases para permitir a descamação, em equilíbrio com a proliferação na camada basal. Para tal, são necessárias as proteases kalikreínas (KLK), armazenadas nos corpos lamelares e extrudidos no lado apical no estrato granuloso (Eckhart *et al.*, 2013). As KLK5 e KLK7 visam a degradação dos corneodesmosomas através da clivagem das proteínas estruturais corneodesmosina, desmocolina e desmogleína (Caubet *et al.*, 2004). Embora o espaço intercelular da camada córnea tenha um baixo teor de água e um pH ácido, esta condição bastante extrema é bem tolerada pelas KLKs (Eckhart *et al.*, 2013). À medida que ocorre a proteólise dos corneodesmosomas, dá-se a libertação dos

corneócitos, a descamação, e com a qual termina o desenvolvimento dos corneócitos (Kubo *et al.*, 2012).

O processo de descamação também é dependente da degradação dos lípidos da camada córnea por lipases, glicosidasas e proteases (Rawlings *et al.*, 1994; Starr *et al.*, 2022). Todo este processo contribui para uma epiderme resistente e íntegra, com função barreira contra agentes externos.

A queratinização ou cornificação é um processo dependente de cálcio, já que este é necessário para a diferenciação dos corneócitos e é essencial para a ação das transglutaminases ao longo de todo o processo (Rinnerthaler *et al.*, 2015). Para garantir as elevadas concentrações de cálcio necessárias, a epiderme apresenta um gradiente deste mineral, o qual se mostra baixo na camada basal e vai aumentando à medida que se aproxima da camada granulosa. Na camada córnea a concentração de cálcio baixa consideravelmente (Rinnerthaler *et al.*, 2015).

ii. MELANÓCITOS

Os melanócitos são células que derivam das células das cristas neurais, os melanoblastos, que migram, por volta da 12^a semana de gestação em humanos, para a epiderme fetal humana e bolbos foliculares onde se encontram armazenados (Hu *et al.*, 2018). Constituem um grupo de células dendríticas que se localizam próximo da membrana basal da epiderme, entre os queratinócitos da camada basal ou germinativa. Relacionam-se com estes últimos através de extensos prolongamentos citoplasmáticos – cada melanócito contacta com 30 a 40 queratinócitos (Cichorek *et al.*, 2013; D’Mello *et al.*, 2016; Maranduca *et al.*, 2019). A sua principal função é a produção de melanina, responsável pela pigmentação da pele, num processo denominado de melanogénese. A melanina é transferida diretamente para os queratinócitos, sendo que a sua passagem é feita de célula para célula, processo que por sua vez é designado de citocrinia (Cichorek *et al.*, 2013; Costanzo *et al.*, 2015; Kierszenbaum e Tres, 2019; Wang *et al.*, 2016).

A diferenciação dos melanoblastos em melanócitos, assim como a produção de melanina e a sua posterior transferência para os queratinócitos é controlada por fatores internos e externos, que incluem genética, etnia, idade, radiações UV, entre outras (Maranduca *et al.*, 2019). A formação de melanina envolve cerca de 125 genes, envolvidos na diferenciação e sobrevivência dos melanoblastos bem como na formação de melanossomas (D’Mello *et al.*, 2016).

Os melanossomas são organelos derivados do complexo de Golgi, onde ocorre a produção e o armazenamento da melanina. A ligação queratinócito-melanócito é feita por proteínas denominadas caderinas e o seu objetivo é o transporte dos melanossomas maduros dos melanócitos para os queratinócitos, auxiliado por processos como a fagocitose (Cichorek *et al.*, 2013; Maranduca *et al.*, 2019). O número de melanossomas em cada queratinócito contribui para as diferenças na tonalidade de pele entre indivíduos (D’Mello *et al.*, 2016). Os melanossomas são degradados num processo que controla a acumulação de melanina nos queratinócitos, mediado pelos lisossomas, verificando-se que indivíduos com a pele mais clara, a melanina é alvo de uma degradação mais rápida (Eckhart *et al.*, 2019; Kierszenbaum e Tres, 2019).

A tirosina é um aminoácido com uma função essencial na melanogênese, já que representa o início do processo de produção da melanina. A tirosinase é uma enzima que medeia o processo de hidroxilação da tirosina em dopa e que se encontra localizada nos melanossomas. Após uma cascata de reações enzimáticas, a dopa dá origem a dois tipos de melanina: eumelanina e feomelanina. O total de eumelanina produzido está relacionado com a intensidade da cor de pele (Cichorek *et al.*, 2013; D’Mello *et al.*, 2016; Maranduca *et al.*, 2019). Enquanto a eumelanina tem a capacidade de dispersar e absorver os raios UV, a feomelanina apresenta toxicidade e promove dano celular quando induzida por raios UV (Lee, 2021). O pH dentro dos melanossomas determina a velocidade de produção de melanina assim como o rácio eumelanina/feomelanina (D’Mello *et al.*, 2016).

Os melanossomas exigem, para além de um pH entre 5 e 6,8, um conjunto de proteínas enzimáticas e estruturais para atingirem o ponto de maturação ideal e para que a transferência para os queratinócitos ocorra (Cichorek *et al.*, 2013; D’Mello *et al.*, 2016; Maranduca *et al.*, 2019). Nestas condições, os melanossomas migram através de microtúbulos para as extremidades das dendrites dos melanócitos. Durante esta migração, ocorre a sua maturação que envolve transformação conformacional e produção de pigmentos (Cichorek *et al.*, 2013; Maranduca *et al.*, 2019). Posteriormente, ocorre a transferência dos melanossomas para os queratinócitos adjacentes (Cichorek *et al.*, 2013; Maranduca *et al.*, 2019). Este processo é dependente de radiação UV (Maranduca *et al.*, 2019). Nos queratinócitos, os grânulos de melanina assumem localização supra-nuclear tendo capacidade de proteção e absorção dos raios UV (Cichorek *et al.*, 2013; Maranduca *et al.*, 2019; Plikus *et al.*, 2015). Este processo de pigmentação tem como objetivo proteger a pele de mutações induzidas pelas radiações UV (Maranduca *et al.*, 2019).

O glutamato é um aminoácido com um importante papel na melanogénese, admitindo-se que esteja envolvido na mediação da diferenciação dos melanócitos. Existem evidências que, quer nos queratinócitos quer melanócitos, existem recetores de superfície para este aminoácido, sendo os queratinócitos capazes de o produzir (D’Mello *et al.*, 2016).

iii. CÉLULAS DE LANGERHANS

As células de Langerhans são células apresentadoras de antigénios do sistema imune, e aparecem na pele fetal humana à 6^a semana de gestação, mas demonstram atividade funcional apenas por volta das 12 a 14 semanas de gestação (Hu *et al.*, 2018).

De origem mielóide, desde há muito tempo associadas a um papel defensivo na pele, evidências recentes indicam estar associadas a uma gama diversificada de efeitos por elas mediados, tais como a transmissão de antigénios virais na infeção por *Herpes simplex*, o recrutamento de eosinófilos na dermatite atópica e a promoção de uma resposta Th17 na infeção por *Candida albicans* (Rajesh *et al.*, 2019).

As células de Langerhans são células dendríticas residentes na epiderme, especializadas na apresentação de antigénios ao sistema imunitário e encontram-se distribuídas por todo o organismo para o proteger contra antigénios externos e encontram-se espaçadamente entre os queratinócitos (Nestle *et al.*, 2009; Tsepkenko *et al.*, 2019; Yazdi *et al.*, 2016). Uma vez estimuladas por fatores externos, as células de Langerhans estendem as suas dendrites, capazes de atravessar a barreira formada pelas junções apertadas existentes entre os queratinócitos (*tight junctions*) e procedem à fagocitose de antigénios, sem danificar a barreira cutânea (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Kubo *et al.*, 2012)

As células de Langerhans expressam claudinas na sua superfície, o que também contribui para não haver dano da barreira, pois elas próprias formam junções apertadas entre as suas dendrites e os queratinócitos adjacentes (De Benedetto *et al.*, 2012; Simpson *et al.*, 2011)

São, assim, as primeiras células dendríticas a contactarem com os antigénios microbianos externos ao organismo e a fazerem a sua apresentação aos linfócitos T no sentido de desencadear uma resposta imune local. Têm ainda a capacidade de deslocação para os nódulos linfáticos, iniciando respostas imunológicas (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Kubo *et al.*, 2012).

iv. CÉLULAS DE MERKEL

As células de Merkel são células associadas às fibras nervosas sensoriais localizadas ao longo da junção dermo-epidérmica, e aparecem na pele fetal humana na 18ª semana de gestação. A origem das células de Merkel é debatida: admite-se que surjam do interior da epiderme ou que migram das células da crista neural (Hu *et al.*, 2018).

As células de Merkel estão envolvidas com a sensação mecânica (Rorteau *et al.*, 2020; Woo *et al.*, 2015). Funcionam como sensores de toques leves na epiderme e nos folículos pilosos. Residem na membrana basal da epiderme, formando estruturas com os queratinócitos designadas de cúpulas táteis (*touch domes*). São dotadas de desmossomas que conferem ligação aos queratinócitos adjacentes e formam complexos com os nervos sensoriais aferentes (Xiao *et al.*, 2014). Após estímulo mecânico, as células de Merkel libertam vesículas serotoninérgicas em fendas sináticas, para que ocorra a transmissão do sinal para um neurónio de primeira ordem (Eckhart *et al.*, 2019).

Para além da função sensorial, outras funções são atribuídas a estas células, como a participação na resposta imunológica da pele a par com as células de Langerhans, bem como o seu envolvimento na regulação do sistema endócrino, embora o seu contributo careça de um esclarecimento mais amplo (Xiao *et al.*, 2014).

2. DERME

i. JUNÇÃO DERME-EPIDERME

A ligação entre a epiderme e a derme subjacente, designada de junção derme-epiderme (*dermal-epidermal junction*, DEJ), é estabelecida pela deposição de uma camada especializada de matriz extracelular (MEC) chamada membrana basal. A membrana basal é observável ao microscópio ótico como resultado do contributo dos queratinócitos (que inclui a lamina lúcida e a lamina densa, distinguíveis apenas com o microscópio eletrónico) e da lamina reticular (apenas visível com recurso a microscópio eletrónico) de contributo conjuntivo da derme (Kierszenbaum e Tres, 2019; Simpson *et al.*, 2011).

Os queratinócitos da camada basal são altamente polarizados, estando a sua superfície inferior ancorada à membrana basal por dímeros integrinas. No lado intracelular, a maioria das caudas de integrina associa-se à actina através de proteínas adaptadoras (vinculina, paxilina e talina). A integrina $\alpha 6\beta 4$ tem um papel único na organização de grandes complexos de integrinas, os chamados hemidesmosomas, pois resultam da ligação a filamentos intermédios, também via proteínas de ligação – a BPGA1e, a BPAG2 e a plectina (Simpson *et al.*, 2011; Tsuruta *et al.*, 2011). Do lado extracelular, os dímeros de integrina ligam-se, via lamininas, a moléculas de colagénio (maioritariamente IV e XVII) na MEC (Kierszenbaum e Tres, 2019; Simpson *et al.*, 2011).

Assim, quer a laminina quer os colagénios IV e XVII são essenciais para a interação e integridade estrutural dos dois tecidos (epitelial e conjuntivo) na DEJ (Roig-Rosello e Rousselle, 2020). Os queratinócitos têm a capacidade de segregar quer laminina 4, quer colagénio IV para auxiliar na organização da MEC, processo dependente das integrinas (Simpson *et al.*, 2011). O colagénio IV apresenta ligações covalentes intermoleculares, o que incrementa a resistência ao stress mecânico (Roig-Rosello e Rousselle, 2020).

Invaginações epidérmicas, as cristas epidérmicas, existentes na camada basal da epiderme, indigitam-se com as papilas dérmicas na DEJ, assumindo uma estrutura ondulada. Estas interdigitações aumentam substancialmente a área da DEJ, assim como o número de hemidesmosomas existente, promovendo uma ligação mais forte entre a derme e a epiderme (Roig-Rosello e Rosselle, 2020).

A estrutura ondulada da DEJ possibilita o aumento da área de acesso a oxigênio e nutrientes da epiderme e permite também, por se tratar de um tecido conjuntivo laxo, maior facilidade de difusão. Cada papila dérmica está dotada de pelo menos um capilar que proporciona assim nutrientes e permite a troca de gases com a epiderme que, sendo um tecido epitelial, é avascular (Roig-Rosello e Rosselle, 2020).

ii. DERME

A derme tem uma densidade inferior à epiderme, já que é composta por uma grande quantidade de MEC (Gruber *et al.*, 2020). É a camada imediatamente em contacto com a epiderme, e é dividida em derme papilar (tecido conjuntivo laxo) e, mais profundamente, em derme reticular (tecido conjuntivo denso, não-modelado) que confere resistência mecânica à pele (Costanzo *et al.*, 2015; Plikus *et al.*, 2015). É irrigada por vasos sanguíneos de pequeno calibre, vasos linfáticos, possui nervos e acomoda folículos pilosos associados a glândulas sebáceas na pele fina e glândulas sudoríparas particularmente mais abundantes na pele grossa (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Costanzo *et al.*, 2015; Gruber *et al.*, 2020; Slominski e Wortsman, 2000).

O tecido conjuntivo laxo da derme papilar possui uma MEC composta por fibras de colagénio intercaladas com fibras elásticas, é rica em substância fundamental amorfa (SFA). Já a derme reticular, composta por tecido conjuntivo denso não modelado, tem na sua composição abundantes feixes de colagénio, fibras elásticas e uma menor concentração de SFA, o que proporciona condições para uma difusão mais lenta.

A derme apresenta diversas células, com diversas origens, sendo genericamente considerados dois grupos, as residentes e de vida longa, tais como os fibroblastos (as células mais abundantes), macrófagos, mastócitos, adipócitos, pericitos e células mesenquimatosas (*stem cells*), bem como células temporárias, geralmente de vida curta, recrutadas mediante estímulos imunológicos, como os leucócitos e monócitos (Kierszenbaum e Tres, 2019). Neste tecido, e numa perspetiva histológica, destaca-se a imensa importância dos fibroblastos, uma vez que são os grandes responsáveis pela produção de toda a MEC, verificando-se serem mais abundantes na derme papilar (Slominski e Wortsman, 2000).

A hipoderme, mais profunda e em continuidade com a derme é também designada de fáscia subcutânea. Contém abundantes células adiposas juntamente com alguns apêndices da pele, como os folículos pilosos, neurónios sensoriais e vasos sanguíneos (Yousef *et al.*, 2021), contudo não é convencionalmente considerada como integrante da pele (Junqueira e Carneiro, 2004), razão pela qual não será abordada neste trabalho.

a) Matriz Extracelular

A MEC, que integra todo o espaço entre as células, assegura força e elasticidade à pele. É composta por fibras – de colagénio e elásticas – e SFA. Toda a MEC é sintetizada pelas células mais abundantes da derme, os fibroblastos (Jahn *et al.*, 2021; Langton *et al.*, 2010; Shin *et al.*, 2019).

Fibras

O colagénio é a proteína estrutural mais abundante na pele, constituindo mesmo 90 % do seu peso seco, o que lhe confere uma grande resistência à tração (Ricard-Blum, 2011; Rittié e Fisher, 2015; Uitto, 1986).

O colagénio integra uma ampla família de 28 glicoproteínas, codificadas por 46 genes no genoma humano. Todo o colagénio dérmico é sintetizado por fibroblastos, no retículo endoplasmático rugoso, sob a forma de procolagénio, caracterizado pela formação de uma tripla hélice de polipéptidos com enrolamento para a direita, estabilizados por pontes de hidrogénio, sendo extensamente modificada pela hidroxilação de prolina e lisina e pela glicosilação de resíduos de hidroxilisina (Sorusanova *et al.*, 2019). Já na MEC, é a remoção parcial dos propéptidos terminais (região não helicoidal) – conversão de procolagénio em colagénio – que possibilita uma diversidade de associações que pode assumir, quer entre si, quer com outras moléculas na MEC. O colagénio I em particular, pode apresentar uma extensa organização supra-molecular, podendo as suas fibrilas associar-se para formar fibras ou feixes de colagénio compostos por mais de 10^7 de fibrilas (Quan *et al.*, 2010; Ricard-Blum, 2011; Shao *et al.*, 2019; Sorusanova *et al.*, 2019; Yamauchi *et al.*, 2018).

Do total de fibras de colagénio, 80 a 90 % são colagénio tipo I, 8 a 12 % colagénio tipo III e menos de 5 % colagénio tipo V (Shin *et al.*, 2019).

Já as fibras elásticas são responsáveis pelas propriedades elásticas deste órgão, ou seja, permitem que, após a deformação por aplicação de uma força externa, possa voltar

à forma original. São moléculas compostas por um centro de elastina (90 % nas fibras maduras), limitado perifericamente por rede de microfibrilas ricas em fibrilina (Heinz, 2021; Rinnerthaler *et al.*, 2015; Shin *et al.*, 2019).

A elastina é composta por monómeros do seu precursor, a tropoelastina, ligados por resíduos de lisina, formando um polímero insolúvel e resistente (Heinz, 2021). A tropoelastina é produzida no retículo endoplasmático rugoso dos fibroblastos e após a sua secreção sofre uma série de reações enzimáticas, que culminam com a formação de agregados de tropoelastina. Tais agregados são depositados em microfibrilas, onde são alinhadas e formadas ligações cruzadas entre si, formando assim a fibra elástica (Langton *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2021a; Moore e Thibeault, 2012; Schmelzer *et al.*, 2020). A elastina já madura tem um tempo de semi-vida de aproximadamente 70 anos, pelo que é bastante estável, não sendo expectável a produção de nova elastina no decurso dos anos (Langton *et al.*, 2010; Moore e Thibeault, 2012; Schmelzer *et al.*, 2020).

As fibrilinas são longas glicoproteínas que se podem associar em microfibrilas, mediante a ligação à fibronectina e ligações cruzadas pela transglutaminase, formam assim o suporte estrutural para as fibras elásticas, com o seu centro de elastina. Existem sob três isoformas (fibrilina 1, 2 e 3), sendo a fibrilina-1 o principal componente das microfibrilas (Heinz, 2021).

Na derme papilar as fibras elásticas apresentam uma localização maioritariamente perpendicular à DEJ; já na derme reticular, são mais abundantes e maduras (teor mais rico em elastina), formando uma rede mais extensa, paralela à DEJ (Langton *et al.*, 2010).

Substância Fundamental Amorfa

A SFA é o componente fluído da MEC e por isso é composto por moléculas hidrófilas que garantem a existência da água necessária ao metabolismo celular. Destas destacam-se os glicosaminoglicanos (GAGs) que são polímeros lineares de dissacarídeos que, em pH neutro, apresentam muitas cargas negativas e por isso são altamente hidrófilos (Kierszenbaum e Tres, 2019). Têm a capacidade de se ligar quer às células, quer a outros compostos da matriz, como o colagénio. Os GAGs são polissacarídeos com um papel importante na manutenção da água no tecido, já que têm a capacidade de absorver água até 1000 vezes o seu volume. Um importante GAG é o ácido hialurónico, o único não sulfatado, que existe essencialmente na derme papilar e é produzido por fibroblastos. A sua principal função é a de ligação a outras proteínas dérmicas, absorvendo choques e preenchendo espaços, conferindo volume ao tecido (Bocheva *et al.*, 2019; Shin *et al.*,

2019). Os GAGs podem associar-se a um eixo proteico, formando os proteoglicanos (PGs), tendo também a capacidade de sequestrar moléculas de água, amortecendo choques mecânicos. Assim que estes choques são detetados pela MEC, os mesmos são comunicados às células da derme, via integrinas (Cole *et al.*, 2018; Shin *et al.*, 2019).

A MEC inclui uma diversidade de moléculas que, para além da sua função estrutural, como por exemplo as fibras descritas, possuem um papel regulador. Destas, destacam-se as metaloproteinases da matriz (MMPs), uma super-família de enzimas proteolíticas, que degradam moléculas da MEC. O seu objetivo é controlar a síntese de colagénio e a sua produção é controlada por inibidores endógenos das MMPs, as TIMPs (*Tissue inhibitor of metalloproteinases*). MMPs e TIMPs são produzidas por fibroblastos e a sua expressão parece controlada de forma a evitar o excesso de atividade das MMPs (Shin *et al.*, 2029; Sorushanov *et al.*, 2019). A expressão de MMPs em pele jovem é baixa (Langton *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2021a; Wlaschek *et al.*, 2021).

b) Células

Fibroblastos

Os fibroblastos dérmicos são células residentes com função estrutural pois são responsáveis pela produção e manutenção de toda a MEC (Bocheva *et al.*, 2019; Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Langton *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2021a; Tsepkolenko *et al.*, 2019). São células multipotentes e com origem embriológica dupla, resultando da diferenciação das células das cristas neurais e da mesoderme cefálica. Dão origem a subpopulações heterogéneas, de acordo com a sua origem, o que determina o local anatómico onde se encontram localizados (Griffin *et al.*, 2020; Lichtenberger *et al.*, 2016; Thulabandu *et al.*, 2018; Woodley, 2017). Os fibroblastos interagem entre si, com a epiderme, bem como com a maioria das moléculas da MEC, em particular com o colagénio (Lynch e Watt, 2018; Orioli e Dellambra, 2018; Tsepkolenko *et al.*, 2019).

Por forma a manter a integridade da MEC, os fibroblastos têm a capacidade de alterar a sua expressão génica, possibilitando uma resposta ativa a deformações mecânicas que possam sofrer (Orioli e Dellambra, 2018; Rittié e Fisher, 2015).

Os fibroblastos dérmicos humanos são, assim, células mecanossensíveis. A transmissão de forças da MEC para o citoesqueleto ocorre através de integrinas e proteínas de aderência focal associadas, percecionando claramente o modo, a magnitude,

a direção e o sentido das tensões mecânicas, sendo capazes de traduzir estas informações em respostas adaptativas específicas (Chiquet *et al.*, 2009; Jaffar *et al.*, 2018; Labat-Robert, 2012; Orioli e Dellambra, 2018; Rittié e Fisher, 2015).

Tal como os queratinócitos, expressam TLRs, que, quando estimulados, conduzem à produção de citocinas inflamatórias, péptidos antimicrobianos, quimiocinas e fatores de crescimento importantes para o desencadeamento da resposta imunológica (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Tsepkenko *et al.*, 2019).

Estão claramente envolvidos na cicatrização de feridas, fibrose, envelhecimento e cancro de pele (Orioli e Dellambra, 2018). Em caso de ocorrência de feridas, os fibroblastos diferenciam-se em miofibroblastos, células altamente contráteis que aproximam os bordos da ferida e produzem a quantidade necessária de MEC para a sua cicatrização (Boismal *et al.*, 2020).

Os fatores de crescimento dos fibroblastos (*fibroblast growth factor*, FGF) são uma família de moléculas que aumentam a proliferação dos fibroblastos e estimulam a produção de colagénio e de elastina, angiogénese, sendo relevantes no processo de reparação celular. Desta forma, são absolutamente determinantes na preservação da homeostasia dos fibroblastos e, por consequência, da pele (de Araújo *et al.*, 2019).

Outros tipos celulares

Os macrófagos na derme têm origem no sistema mononuclear fagocitário, tal como em qualquer outro tecido conjuntivo. Fagocitam células senescentes e uma diversidade de moléculas resultantes da natural modificação MEC. São ainda células apresentadoras de antigénio que detetam a invasão antigénica e estimulam a resposta imune. Os macrófagos contribuem, assim, para a manutenção da homeostase dos tecidos, modulam a resposta inflamatória e participam na cicatrização de feridas (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Tsepkenko *et al.*, 2019).

Na derme também se encontram células dendríticas, as células de Langerhans que, em contacto com antigénios, fazem a sua apresentação a linfócitos T ou migram para nódulos linfáticos para provocarem o início da resposta imunológica (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Tsepkenko *et al.*, 2019). As células dendríticas encontram-se na parte mais superior da derme, enquanto os macrófagos se localizam preferencialmente na derme reticular (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020).

Os mastócitos também são encontrados na derme. Estes possuem grânulos primários, pré-formados, que contêm histamina, heparina, proteases neutras, várias outras enzimas (peroxidase e a superóxido dismutase), o fator quimiotático de eosinófilos e o fator quimiotático de neutrófilos. Os mastócitos sintetizam ainda vários outros mediadores, os mediadores neo-sintetizados, que incluem leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas, podendo libertar, mediante estimulação antigénica, bradicininas, interleucinas (IL-4, IL-5, IL-6), o fator ativador de plaquetas e fator de necrose tumoral alfa. Assim, os mastócitos desempenham um importante papel em reações alérgicas, sendo associados a prurido e irritação cutânea (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020).

Estas células também participam na produção de fatores de crescimento, na apresentação de antigénios ao sistema imunológico e na formação de compostos da MEC (Tsepkenko *et al.*, 2019). Muitas vezes, a sua ativação é provocada por eosinófilos que também são residentes na derme e são um indicador de alergias. Para além desta ação, estudos *in vitro* indicam que os eosinófilos também têm a capacidade de estimular a produção de colagénio pelos fibroblastos e de segregar fatores de crescimento que promovem a migração de queratinócitos na epiderme (Tsepkenko *et al.*, 2019).

iii. ESTRUTURAS ANEXAS

O desenvolvimento da epiderme inclui a formação dos apêndices epidérmicos, tais como folículos pilosos – aos quais estão associadas glândulas sebáceas – e glândulas sudoríparas. Durante o desenvolvimento, as células da camada epidérmica basal formam palacódios epiteliais – as células primitivas do desenvolvimento de órgãos – e invaginam na derme, acabando por formar as glândulas sebáceas, écrinas e apócrinas, assim como os folículos pilosos, as designadas estruturas anexas (Hu *et al.*, 2018).

As estruturas anexas desempenham na pele funções importantes na manutenção da sua homeostase e integridade. Entre elas destacam-se a capacidade anti-inflamatória, antibacteriana e de hidratação do sebo produzido pelas glândulas sebáceas e ainda a termorregulação e a re-epitelização da pele em caso de feridas (Russell-Goldman e Murphy, 2020).

3. ENVELHECIMENTO

O envelhecimento cutâneo intrínseco, cronológico ou natural, diz respeito à acumulação de danos e alterações progressivas a nível molecular com consequências fisiológicas e morfológicas, que ocorrem na epiderme e na derme e que são decorrentes da passagem do tempo. Pode ser provocado por alterações genéticas, alteração da expressão de genes, ou ainda alterações no sistema endócrino, que incluem alterações hormonais (Bocheva *et al.*, 2019; Langton *et al.*, 2010; Swift *et al.*, 2021). Verifica-se um declínio progressivo na capacidade antioxidante e um aumento da produção de ROS, que parece ter um importante contributo para o envelhecimento cutâneo (Csekes e Račková, 2021).

É um processo lento e inevitável que resulta em alterações fenotípicas que culminam em finas rugas e linhas de expressão e distribuição uniforme de manchas pigmentadas. A pele torna-se mais fina e frágil, menos elástica e mais seca (Bocheva *et al.*, 2019; Russell-Goldman e Murphy, 2020; Swift *et al.*, 2021).

Estas manifestações não afetam de igual forma cada indivíduo, nem de igual forma todos os locais anatómicos de um mesmo indivíduo (Bocheva *et al.*, 2019; Langton *et al.*, 2010; Swift *et al.*, 2021). Além disso, o género feminino, dado que sofre uma redução significativa da produção de estrogénio a partir da menopausa, tem tendência a sofrer um envelhecimento cutâneo mais precoce do que o género masculino (Farage *et al.*, 2013).

A pele é um órgão metabolicamente ativo e, como tal, requer um aporte de energia constante e a mitocôndria responde a esta necessidade de ATP através da respiração celular, sendo as ROS um subproduto inevitável desta atividade mitocondrial. As ROS endógenas conseguem provocar danos no DNA mitocondrial e danificar estruturas celulares e macromoleculares (Sreedhar *et al.*, 2020). Sempre que as ROS são superiores à capacidade antioxidante celular, dá-se o stress oxidativo (Lee *et al.*, 2021b; Sreedhar *et al.*, 2020).

O stress oxidativo e a menor capacidade autofágica resultam na acumulação de células senescentes. O aumento de células senescentes está associado a uma acumulação de agregados proteicos intracelulares, mitocôndrias disfuncionais, culminando na produção de mais ROS. Esta produção excessiva de ROS provoca ainda uma cascata de produção de mediadores inflamatórios que contribuem para um ambiente inflamatório

crónico ao nível da pele (Lee *et al.*, 2021b). Ainda, pode resultar no desenvolvimento de agregados insolúveis de lípidos e proteínas, conhecidos como lipofuscinas, de cor amarelo-acastanhado, que são encontrados frequentemente em queratinócitos e fibroblastos (Eckhart *et al.*, 2019; Höhn *et al.*, 2017; Rinnerthaler *et al.*, 2015). A formação de lipofuscinas aumenta gradualmente com a idade, tornando-se visíveis a olho nu em indivíduos idosos (Rinnerthaler *et al.*, 2015). Estes agregados têm a capacidade de se ligar irreversivelmente a alguns metais, como cobre, cálcio e ferro, favorecendo a geração de radicais livres e promovendo assim um círculo vicioso de retroação positiva (Höhn *et al.*, 2017; Rinnerthaler *et al.*, 2015).

A proteostase celular é a manutenção do equilíbrio proteico (Eckhart *et al.*, 2019), o que acontece através de mecanismos celulares, como a degradação proteica e a *clearance* autofágica (Höhn *et al.*, 2017). Ao longo do envelhecimento, os mecanismos de manutenção da proteostase tornam-se menos eficazes, levando a uma perda deste equilíbrio, evidenciada pela acumulação de agregados proteicos intracelulares, como as lipofuscinas e a existência de proteínas oxidadas ou disfuncionais (Eckhart *et al.*, 2019; Höhn *et al.*, 2017).

i. EPIDERME

Em idades avançadas, a epiderme pode apresentar uma espessura 10 a 50 % inferior à epiderme jovem, podendo ocorrer um decréscimo de uma média de 6,4 % por cada década de vida (Bocheva *et al.*, 2019; Farage *et al.*, 2013). Esta diminuição de espessura é mais frequente no género feminino e manifesta-se mais marcadamente no rosto, pescoço, parte superior do peito, mãos e antebraços (Farage *et al.*, 2013). Está relacionada a uma atrofia dos queratinócitos que afeta essencialmente o estrato espinhoso (Bocheva *et al.*, 2019; Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020). No entanto, é verificado um aumento do tamanho dos corneócitos, devido à baixa velocidade de renovação celular, sem haver uma alteração da espessura da camada córnea (Farage *et al.*, 2013; Russell-Goldman e Murphy, 2020).

No processo de envelhecimento intrínseco, é visível ainda a acumulação de células senescentes bem como o aumento da apoptose nas camadas basal e espinhosa (Csekés e Račková, 2021). A apoptose celular é um processo natural e necessário para o funcionamento normal da pele, permitindo a diferenciação dos queratinócitos e a remoção

de células danificadas (Csekes e Račková, 2021). O aumento da apoptose e o natural envelhecimento contribui para a diminuição da quantidade de queratinócitos, afetando as células pluripotentes na camada basal da epiderme. Este facto afeta diretamente a proliferação e diferenciação de queratinócitos, resultando numa diminuição do seu número e da sua atividade (Eckhart *et al.*, 2019).

Os queratinócitos passam a apresentar um padrão alterado e uma distribuição irregular face aos melanócitos (Russell-Goldman e Murphy, 2020). Ao longo do tempo, os queratinócitos parecem apresentar uma semi-vida mais curta (Rittié e Fisher, 2015), tendo-se observado que, em cultura, os queratinócitos de peles maduras apresentam menores taxas regenerativas e proliferativas quando comparados com queratinócitos jovens (Rittié e Fisher, 2015; Rorteau *et al.*, 2020).

Para além da diminuição do número de queratinócitos, com o avanço da idade também se observa uma redução do número de melanócitos, mastócitos, células dendríticas e células de Langerhans, o que contribui para a diminuição da espessura da epiderme (Bocheva *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2021a; Rittié e Fisher, 2015).

Pensa-se que as ROS formadas durante o envelhecimento são indutoras de apoptose nos melanócitos (Cichorek *et al.*, 2013). De facto, a partir dos 30 anos, os melanócitos, decrescem cerca de 8 a 20 % por década de vida, podendo tal redução ser resultado do aumento da apoptose nesta população celular (Csekes e Račková, 2021).

Em idosos verifica-se uma redução da atividade da tirosinase, envolvida no processo de síntese da melanina (Cichorek *et al.*, 2013), o que possibilita que melanócitos senescentes sintetizem menor quantidade de melanina, apresentando também uma degradação de melanosomas superior (Lee, 2021). O decréscimo de melanócitos, o facto de se encontrarem distribuídos anormalmente, bem como a menor quantidade de melanosomas e de melanina, parece resultar no aparecimento de manchas de pigmentação (Cichorek *et al.*, 2013; Farage *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2021a; Rittié e Fisher, 2015).

Quanto às células de Langerhans, para além de o seu número ser reduzido, também perdem a capacidade migratória para os nódulos linfáticos (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Csekes e Račková, 2021; Lee *et al.*, 2021b). Além disso, as células de Langerhans da pele madura expressam uma menor quantidade de beta-

defensina-3, um péptido antimicrobiano (Lee *et al.*, 2021a). Estas alterações reduzem a capacidade de resposta imunológica, comprometendo a defesa antimicrobiana e a capacidade de resposta à vacinação (Csekés e Račková, 2021; Rittié e Fisher, 2015).

A diminuição do número de células de Merkel observada parece estar relacionada com o desenvolvimento de xerose e prurido (Eckhart *et al.*, 2019; Russell-Goldman e Murphy, 2020).

Durante o processo de envelhecimento intrínseco, observa-se uma queda abrupta do gradiente de cálcio nas camadas da epiderme, o que resulta na diminuição da composição de lípidos, que pode atingir os 65 %. Em contraste com a pele jovem que apresenta o pico de cálcio no estrato granuloso, a pele envelhecida apresenta uma concentração similar em todas as camadas da epiderme (Farage *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2020).

Até ao momento, não existem evidências que justifiquem a queda do gradiente de cálcio na idade avançada, embora se saiba que este gradiente afete em grande medida a expressão genética, justificando a queda da expressão de algumas proteínas. Além disso, a diferenciação e proliferação dos queratinócitos é possível em grande medida graças ao gradiente de concentração de cálcio que passa assim a ficar comprometida (Streubel *et al.*, 2017).

Dado que os triglicerídeos são degradados em ácidos gordos que acidificam o estrato córneo, com o decréscimo destas moléculas ocorre uma subida de pH. Para o correto funcionamento das enzimas da epiderme, o pH da pele deve ser de aproximadamente 5. No entanto, a partir dos 55 anos observa-se um aumento do pH no estrato córneo, o que poderá comprometer o processo de diferenciação dos queratinócitos. Após os 70 anos esta subida é ainda mais acentuada (Farage *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2020).

Na última fase do processo de queratinização, é necessária a atuação de proteases para a descamação natural e necessária da pele. A alteração do pH não permite a ação destas proteases, o que leva a uma descamação anormal da pele. Por outro lado, permite a ação de outras peptidases expressas na epiderme que podem provocar o desenvolvimento de lesões atópicas e inflamação cutânea (Rinnerthaler *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2020). As transglutaminases, fundamentais no processo de queratinização e

na coesão das camadas epidérmicas, encontram a sua atividade substancialmente diminuída, dado que são dependentes do gradiente de cálcio (Rinnerthaler *et al.*, 2015).

A redução lipídica, resultado do aumento do pH, tem como principal consequência a alteração da permeabilidade da barreira cutânea, resultando numa inferior capacidade de recuperação após lesões (Wang *et al.*, 2020). No estrato córneo, a dinâmica de movimento de água e a produção de sebo são diminuídas, afetando a hidratação da zona (Russell-Goldman e Murphy, 2020).

A quantidade de proteínas estruturais, como a loricrina e a filagrina encontram-se drasticamente diminuídas (F Farage *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2020). Como alguns dos subprodutos da filagrina são NMFs, a diminuição de tais proteínas contribui para a secura cutânea (Rawlings *et al.*, 1994; Starr *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2020).

Estas alterações do conteúdo lipídico e proteico, bem como de pH, provocam alteração da permeabilidade da barreira cutânea, diminuição da hidratação do estrato córneo e redução dos NMFs. Estes eventos estão diretamente associados ao desenvolvimento de xerose senil e prurido cutâneo (Wang *et al.*, 2020). Outra importante consequência é que a secura desenvolvida provoca um aumento das citocinas inflamatórias e de histamina, que conduzem a um aumento da inflamação cutânea – a sua exacerbação pode levar ao desenvolvimento de dermatite atópica e eczema ou até inflamação sistémica. O prurido noturno pode levar ainda a manifestações de insónia. O alívio do prurido através da coceira pode quebrar a barreira cutânea e consequentemente conduzir à colonização por bactérias patogénicas e ao desenvolvimento de infeções de pele (Wang *et al.*, 2020).

Tendo em conta o ambiente inflamatório crónico na pele madura, os queratinócitos senescentes produzem mediadores inflamatórios em grande quantidade, como a interleucina-1 (IL-1) (Lee *et al.*, 2021b). Os antagonistas da IL-1 encontram-se diminuídos neste tipo de pele, assim como fatores de crescimento epidérmico, queratinas e involucrina. As proteínas relacionadas com o transporte de mediadores inflamatórios encontram-se, por sua vez, aumentadas (Lee *et al.*, 2021b).

ii. DERME

A atrofia dérmica é a alteração na pele que mais se destaca ao longo do tempo, resultante de uma evidente redução da MEC e, muito em particular, das fibras mais abundantes, o colagénio, envolvendo modificações quantitativas e estruturais – as fibrilas de colagénio fragmentadas vão aumentando, apresentando uma distribuição menos regular (Shin *et al.*, 2019; Yasui *et al.*, 2013).

No envelhecimento cronológico, o aumento das ROS e consequente aumento do stress oxidativo, parece constituir a principal força motriz indutora do aumento da expressão de MMPs e da menor expressão das TIMPs, o que resulta num aumento significativo de MMPs (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Rinnerthaler *et al.*, 2015; Rittié e Fisher, 2015). Tem sido assim observado um aumento da degradação de fibras elásticas e, em particular, de fibras de colagénio, acompanhada por uma redução na sua síntese (Shin *et al.*, 2019).

Os maiores produtores de MMPs são os queratinócitos e os fibroblastos dérmicos, podendo ser também produzidas por células endoteliais e macrófagos ativados (Shin *et al.*, 2019; Zhang e Duan, 2018). Os fibroblastos expressam especialmente a MMP-1, que contribui para a degradação de colagénio tipo I e III em fibrilas fragmentadas e desorganizadas (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Rinnerthaler *et al.*, 2015), com o auxílio das MMP-3 e MMP-9 (Lee *et al.*, 2021a).

São várias as evidências que sugerem que fragmentos de colagénio de alto peso molecular são detetados pelos fibroblastos, que, em resposta, inibem a síntese de novo colagénio e promovem a ainda maior produção de MMPs, criando um ciclo que modifica a homeostasia da pele, favorecendo o aparecimento de mais alterações relacionadas com a idade (Rittié e Fisher, 2015; Russell-Goldman e Murphy, 2020). Adicionalmente, os fragmentos de colagénio produzidos pelas MMPs provocam o aumento de oxidantes intracelulares, conduzindo a danos nos fibroblastos (Russell-Goldman e Murphy, 2020).

As MMP-2 e MMP-9 têm a capacidade de degradar elastinas que compõem as fibras elásticas (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Imokawa e Ishida, 2015; Rinnerthaler *et al.*, 2015). Sendo a elastina uma proteína que sofre baixa renovação, após ser degradada e fragmentada, esta proteína não é intensamente reposta, pelo que os danos que sofre poderão manter-se até ao final da vida (Bocheva *et al.*, 2019; Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020). Este facto manifesta-se na menor abundância de fibras elásticas, amplificando a lassidão da rede fibrilar (Rorteau *et al.*, 2020). A fibulina-5,

interveniente na organização das fibras elásticas através da ligação à tropoelastina, encontra-se ausente na pele envelhecida, o que contribui para a desorganização das mesmas (Lee *et al.*, 2021a; Shin *et al.*, 2019). Verifica-se que as fibras elásticas – organizadas perpendicularmente à DEJ – estão ausentes ou extremamente diminuídas em zonas onde se verifica a existência de rugas (Haydont *et al.*, 2019).

Um elevado número de estudos reportou que uma das alterações mais evidentes e significativas que se observa na derme de peles envelhecidas ocorre na DEJ, nomeadamente o seu achatamento que pode ser superior a 30 %. Tal redução da interface entre os dois tecidos – epitelial e conjuntivo – deve-se a uma perda quer de cristas epidérmicas, quer de papilas dérmicas, sendo esta perda mais acentuada a partir dos 60 anos (Farage *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2021a; Libertini, 2014; Roig-Rosello e Rousselle, 2020; Russell-Goldman e Murphy, 2020). Verifica-se uma diminuição da abundância do colagénio existente nesta zona, especialmente o colagénio IV e VII (Haydont *et al.*, 2019). Tendo em conta o elementar papel da DEJ, a sua alteração provocada pelo avanço da idade resulta na baixa resistência a choques mecânicos e na vulnerabilidade a agressões (Farage *et al.*, 2013; Russell-Goldman e Murphy, 2020). Mais ainda, o fornecimento de nutrientes e oxigénio à epiderme fica significativamente reduzido, circunstância também influenciada pelo menor número de vasos sanguíneos na derme papilar (Rittié e Fisher, 2015). A menor coesão entre a epiderme e a derme parece ainda contribuir significativamente para a formação de rugas (Farage *et al.*, 2013; Rittié e Fisher, 2015; Russell-Goldman e Murphy, 2020).

A redução da derme observada com o avanço da idade é acompanhada pela diminuição do número de fibroblastos. Numa pele jovem, os fibroblastos estão ligados a vários componentes da MEC, e em particular ao colagénio I, que exerce forças mecânicas que mantêm a sua forma alongada, forma essa que se encontra associada a um padrão de expressão de genes relacionados com a síntese de vários componentes da MEC, tais como o próprio colagénio I (Shin *et al.*, 2019).

Com a idade, os pontos de contacto dos fibroblastos com as diversas proteínas da MEC, e em particular com a rede de fibras de colagénio, são menores (Rittié e Fisher, 2015). Tais modificações estão associadas a uma redução do número de fibroblastos, a uma redução da sua dimensão e da abundância dos seus alongamentos, bem como à presença de retículo endoplasmático alterado (Russell-Goldman e Murphy, 2020). Além

disso, estas alterações morfológicas parecem estar relacionadas com uma diminuição da atividade proliferativa e metabólica dos fibroblastos, verificando-se uma redução da expressão de vários componentes da MEC (em particular colagénio e elastina), bem como de fatores de crescimento, tais como o FGF (Farage *et al.*, 2013; Roig-Rosello e Rousselle, 2020). Em simultâneo, verifica-se um aumento da expressão de MMPs (de Araújo *et al.*, 2019; Quan *et al.*, 2013) e de ROS de origem mitocondrial (Quan *et al.*, 2015).

Ao longo do tempo, a taxa de degradação do colagénio passa a ser superior à sua natural síntese e a partir da quarta/quinta década de vida, a síntese de elastina diminui acentuadamente (Swift *et al.*, 2021). Admite-se que, na pele madura, a partir dos 80 anos, exista um mecanismo de retroação negativo que diminui a síntese de colagénio (até 75 %), fazendo com que a sua abundância na MEC seja significativamente reduzida, e em particular o colagénio I, alterando assim a proporção colagénio I / III (Csekes e Račková, 2021; Lee *et al.*, 2021a; Roig-Rosello e Rousselle, 2020).

Os fibroblastos senescentes apresentam uma elevada produção de citocinas inflamatórias, que contribuem para o desenvolvimento de um ambiente inflamatório. (Lee *et al.*, 2021b; Wlaschek *et al.*, 2021). Já os fibroblastos jovens têm a capacidade de produzir fator de crescimento semelhante à insulina (*insulin-like growth factor 1*, IGF-1), que atua na epiderme, regulando a proliferação e diferenciação dos queratinócitos. Na pele madura, que apresenta fibroblastos senescentes, a produção de IGF-1 encontra-se reduzida, devido à presença de aniões superóxido, um tipo de ROS, produzidos pelas suas mitocôndrias disfuncionais (Lee *et al.*, 2021b; Wlaschek *et al.*, 2021). Outra característica associada aos fibroblastos senescentes é a sua menor probabilidade de sofrer apoptose, não sendo assim eficazmente removidos pelo sistema imune, o que possibilita a sua sobrevivência, mas com a acumulação de danos (Gruber *et al.*, 2020; Wlaschek *et al.*, 2021). Ficam assim presentes no organismo por longos períodos de tempo, produzindo moléculas pro-inflamatórias e suprimindo a libertação de fatores de crescimento (Gruber *et al.*, 2020; Wlaschek *et al.*, 2021). A existência de fibroblastos senescentes está ainda associada à deposição anormal de lipofuscinas, subjacente ao desenvolvimento de irregularidades de pigmentação associadas à idade (Eckhart *et al.*, 2019).

O colagénio e a elastina madura sofrem, ao longo do processo de envelhecimento, reações de glicação (Boismal *et al.*, 2020; Schmelzer *et al.*, 2020). A glicação consiste na ligação de grupos carbonilo de açúcares a aminoácidos de proteínas. Os produtos

resultantes desta reação denominam-se de produtos finais da glicação avançada (*advanced glycation end products*, AGEs) e são capazes de produzir ROS (Heinz, 2021; Schmelzer *et al.*, 2020). Sofrendo reações de glicação, o colagénio sofre mudanças conformacionais, tornando-se mais rígido e exibindo um diâmetro irregular, o que conduz a uma rede fibrilar desorganizada (Boismal *et al.*, 2020; Haydont *et al.*, 2019). As reações de glicação são também responsáveis pela menor ligação do colagénio aos PGs, perturbando a adesão e ligação a outras proteínas dérmicas (Boismal *et al.*, 2020). Ainda, as reações de glicação têm vindo a ser adversamente associadas ao crescimento, diferenciação, adesão e migração dos fibroblastos, bem como a alterações na estrutura do colagénio IV e da laminina da DEJ (Roig-Rosello e Rousselle, 2020).

As alterações observadas nos fibroblastos, nas fibras elásticas e de colagénio provocam a perda de elasticidade e de firmeza da pele, o que se manifesta fenotipicamente por existência de rugas e flacidez (Lee *et al.*, 2021a; Russell-Goldman e Murphy, 2020), perda de capacidade extensora e elástica, com aumento da vulnerabilidade a danos (Farage *et al.*, 2013). Além disso, as alterações biomecânicas identificadas nos fibroblastos e, conseqüentemente, na MEC, prejudicam a sua migração para os locais de lesão, influenciando negativamente a cicatrização de feridas (Boismal *et al.*, 2020).

Relativamente aos GAGs, destaca-se o ácido hialurónico, tão importante na derme papilar, verificando-se que, com o envelhecimento, ocorre uma redução significativa da proteínas às quais naturalmente se liga, incluindo o colagénio I. Sendo tais proteínas conhecidas por desencadear várias vias de sinalização intracelular que regulam a proliferação, migração e diferenciação, observa-se uma evidente diminuição de tais atividades (Maytin, 2016; Shin *et al.*, 2019).

Relativamente aos GAGs sulfatados, verificou-se que o total se apresenta reduzido durante o envelhecimento intrínseco (Oh *et al.*, 2011). Contudo, estas alterações podem ser específicas para cada tipo de GAG: por exemplo, o sulfato de heparano e sulfato de condroitina diminuem enquanto que o sulfato de queratano e o sulfato de dermatano aumentam. No entanto, este aumento manifesta-se em agregados desorganizados, tornando-se incapazes de regular a hidratação da derme (Shin *et al.*, 2019; Swift *et al.*, 2021).

Foi confirmado que, à medida que a idade avança, ocorre uma menor expressão de PGs (Haydont *et al.*, 2019). Haydon e colaboradores mostraram que a decorina, biglicano e versicano são os PGs mais abundantes na pele humana. A decorina e o biglicano são proteínas centrais do sulfato de dermatano, enquanto que o versicano é uma proteína central do sulfato de condroitina. Verificaram uma redução significativa de sulfato de condroitina na derme papilar e por isso uma redução de água nesta zona (Haydont *et al.*, 2019). Shin e colaboradores identificaram alterações de grandes PGs em peles intrinsecamente envelhecidas, tendo observado que as variações dependiam quer da localização da pele, quer dos métodos de deteção (Shin *et al.*, 2019).

As proteínas CCN (*cysteine-rich angiogenic protein 61*), especialmente a CCN-1, são encontradas em elevadas concentrações na pele envelhecida. Verificou-se que a elevada expressão de CCN-1 está relacionada com redução de procolagénio tipo I, redução da produção de colagénio tipo I e III, aumento de MMPs e aumento de citocinas pró-inflamatórias (Cole *et al.*, 2018; Quan e Fisher, 2015).

No que diz respeito às células de Langerhans existentes na derme, estas parecem encontrar-se em número similar na pele jovem e na pele com idade mais avançada. No entanto, em idade avançada, estas células perdem capacidade migratória, fagocítica e ainda capacidade de estimulação de linfócitos T (Chambers e Vukmanovic-Stejic, 2020; Rittié e Fisher, 2015).

O número de glândulas sebáceas mantém-se constante ao longo da vida, embora a produção de sebo sofra um decréscimo nas mulheres pós-menopáusicas e algum tempo mais tarde no género masculino. As glândulas tornam-se disfuncionais, ocorrendo a sua hiperplasia como forma de compensação da diminuição da produção de sebo. Este facto contribui para a redução da hidratação natural da pele e para o desenvolvimento de xerose e prurido (Russell-Goldman e Murphy, 2020).

As glândulas sudoríparas da pele madura manifestam reduzida produção de suor comparativamente à pele jovem, o que influencia a termorregulação e a tolerância ao calor. A redução do suor à superfície da pele parece influenciar o pH da mesma e, conseqüentemente, altera a permeabilidade da barreira cutânea e o crescimento de organismos comensais (Rittié e Fisher, 2015).

IV. CONCLUSÃO

O envelhecimento intrínseco da pele é um processo complexo altamente influenciado por inúmeros fatores. O conjunto destes fatores exerce um imenso impacto nas estruturas celulares, quer da epiderme, quer da derme. Queratinócitos, melanócitos, fibroblastos, bem como todo o ambiente em que estas células se encontram, sofrem mudanças significativas durante o processo de envelhecimento fisiológico, natural.

Na epiderme, alterações do conteúdo lipídico, proteico e de pH provocam alteração da permeabilidade da barreira cutânea, diminuição da hidratação do estrato córneo e redução de fatores de hidratação natural. Estes eventos estão diretamente ligados ao desenvolvimento de xerose senil e prurido cutâneo.

A população mais abundante na epiderme, os queratinócitos, apresenta um singular processo de morte celular programada que resulta na sua diferenciação terminal. A sua proliferação ocorre ao longo de toda a vida e garante a permanente descamação de que a epiderme é alvo. Com o envelhecimento, surgem alterações neste delicado equilíbrio na população de queratinócitos. O decréscimo de melanócitos e alterações na sua distribuição contribui para o aparecimento de manchas de pigmentação. As células de Langerhans ficam reduzidas, assim como a sua capacidade de migração para os nódulos linfáticos. Desta forma, a capacidade de resposta imunológica encontra-se amplamente diminuída, assim como a defesa antimicrobiana e a capacidade de resposta à vacinação.

A redução das cristas epiteliais e papilas dérmicas resulta num acentuado achatamento da DEJ. Esta perda de área de interface entre os tecidos resulta numa menor troca metabólica entre si, menor resistência a choques mecânicos e maior vulnerabilidade a agressões.

Na derme, os fibroblastos para além de se encontrarem em menor número, revelam tamanho inferior e prolongamentos citoplasmáticos mais curtos. Os fibroblastos senescentes exibem uma alteração do seu padrão metabólico que determina significativas alterações na MEC. Além disso, são responsáveis por uma elevada produção de citocinas inflamatórias, que contribuem para o desenvolvimento de um quadro inflamatório mais amplo.

A produção excessiva de ROS contribui para um ambiente inflamatório crónico na pele. Com o aumento de stress oxidativo e de ROS, dá-se uma maior expressão de MMPs e uma menor expressão de TIMPs, resultando numa maior degradação de fibras de colagénio e de fibras elásticas. Dá-se a perda de elasticidade e de firmeza da pele, o

que se manifesta fenotipicamente por rugas e flacidez, perda de capacidade extensora e elástica e aumento da vulnerabilidade a agressões.

Uma mais ampla compreensão dos fatores envolvidos no envelhecimento da pele é fundamental para o desenvolvimentos de estratégias que possam minimizar o seu impacto nas populações celulares nela presentes e assim prolongar a longevidade deste órgão vital.

A diversidade celular presente na pele, assim como as alterações que nela ocorrem ao longo do processo de envelhecimento, tornam-na ainda num interessante modelo de estudo, quer como órgão, quer como estabelecimento de paralelismos e ligações causais com o envelhecimento de outros órgãos.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afshar, M. e Gallo, R. L. (2013). Innate immune defense system of the skin. *Veterinary Dermatology*, 24(1), p. 32. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01082.x>>. [Consultado em 07/05/2022].

Arnold, S. J. e Robertson, E. J. (2009). Making a commitment: cell lineage allocation and axis patterning in the early mouse embryo. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 10(2), pp. 91-103. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/nrm2618>>. [Consultado em 07/05/2022].

Bilousova, G. e DeGregori, J. (2019). Elimination of unfit cells in young and ageing skin. *Nature*, 568(7752), pp. 318-319. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/d41586-019-00825-3>>. [Consultado em 07/05/2022].

Bleuming, S. A. *et al.* (2007). Bone morphogenetic protein signaling suppresses tumorigenesis at gastric epithelial transition zones in mice. *Cancer Research*, 67(17), pp. 8149-8155. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-4659>>. [Consultado em 07/05/2022].

Bocheva, G., Slominski, R. M. e Slominski, A. T. (2019). Neuroendocrine aspects of skin aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), p. 2798. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms20112798>>. [Consultado em 14/12/2021].

Boismal, F. *et al.* (2020). Vieillesse cutané – Physiopathologie et thérapies innovantes [Skin aging: Pathophysiology and innovative therapies]. *Medecine Sciences: M/S*, 36(12), pp. 1163–1172. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1051/medsci/2020232>>. [Consultado em 07/05/2022].

Candi, E., Schmidt, R. e Melino, G. (2005). The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 6(4), pp. 328-340. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/nrm1619>>. [Consultado em 07/05/2022].

Caubet, C. *et al.* (2004). Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *The Journal of Investigative Dermatology*, 122(5), pp. 1235-1244. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.22512.x>>. [Consultado em 07/05/2022].

Chambers, E. S. e Vukmanovic-Stejic, M. (2020). Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, 160(2), pp. 116-125. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/imm.13152>>. [Consultado em 14/12/2021].

Chiquet, M. *et al.* (2009). From mechanotransduction to extracellular matrix gene expression in fibroblasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1793(5), pp. 911-920. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.01.012>>. [Consultado em 07/05/2022].

Cichorek, M. *et al.* (2013). Skin melanocytes: biology and development. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 30(1), pp. 30-41. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33376>>. [Consultado em 14/12/2021].

Cole, M. A. *et al.* (2018). Extracellular matrix regulation of fibroblast function: redefining our perspective on skin aging. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 12(1), pp. 35-43. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1007/s12079-018-0459-1>>. [Consultado em 07/05/2022].

Comissão Europeia, sítio oficial. [Em linha]. Disponível em <<https://ec.europa.eu/>>. [Consultado em 12/01/2021].

Costanzo, A. *et al.* (2015). Programmed cell death in the skin. *The International Journal of Developmental Biology*, 59(1-3), pp. 73-78. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1387/ijdb.150050ac>>. [Consultado em 14/12/2021].

Cristea, M. *et al.* (2020). The Impact of Population Aging and Public Health Support on EU Labor Markets. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), p.1439. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijerph17041439>>. [Consultado em 23/12/2021].

Csekes, E. e Račková, L. (2021). Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), p. 12641. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms222312641>>. [Consultado em 26/12/2021].

D'Mello, S. A. *et al.* (2016). Signaling Pathways in Melanogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), p. 1144. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms17071144>>. [Consultado em 07/05/2022].

de Araújo, R. *et al.* (2019). Fibroblast Growth Factors: A Controlling Mechanism of Skin Aging. *Skin Pharmacology and Physiology*, 32(5), pp. 275-282. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1159/000501145>>. [Consultado em 12/01/2022].

De Benedetto, A., Kubo, A. e Beck, L. A. (2012). Skin barrier disruption: a requirement for allergen sensitization?. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(3), pp. 949-963. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/jid.2011.435>>. [Consultado em 07/05/2022].

Eckhart, L. *et al.* (2013). Cell death by cornification. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1833(12), pp. 3471-3480. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.010>>. [Consultado em 23/12/2021].

Eckhart, L., Tschachler, E. e Gruber, F. (2019). Autophagic Control of Skin Aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, p. 143. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00143>>. [Consultado em 23/12/2021].

Farage, M. A. *et al.* (2009). Clinical implications of aging skin: cutaneous disorders in the elderly. *American Journal of Clinical Dermatology*, 10(2), pp. 73-86. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.2165/00128071-200910020-00001>>. [Consultado em 23/12/2021].

Farage, M. A. *et al.* (2013). Characteristics of the Aging Skin. *Advances in Wound Care*, 2(1), pp. 5-10. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1089/wound.2011.0356>>. [Consultado em 23/12/2021].

Franco, A. C., Aveleira, C. e Cavadas, C. (2022). Skin senescence: mechanisms and impact on whole-body aging. *Trends in Molecular Medicine*, 28(2), pp. 97-109. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.12.003>>. [Consultado em 07/05/2022].

Fuchs E. (2016). Epithelial Skin Biology: Three Decades of Developmental Biology, a Hundred Questions Answered and a Thousand New Ones to Address. *Current Topics in Developmental Biology*, 116, pp. 357-374. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.11.033>>. [Consultado em 07/05/2022].

Gonzalez, A. C. *et al.* (2016). Wound healing – A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), pp. 614-620. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>>. [Consultado em 07/05/2022].

Griffin, M. F. *et al.* (2020). Understanding the impact of fibroblast heterogeneity on skin fibrosis. *Disease Models & Mechanisms*, 13(6). [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1242/dmm.044164>>. [Consultado em 07/05/2022].

Gruber, F. *et al.* (2020). Cell aging and cellular senescence in skin aging – Recent advances in fibroblast and keratinocyte biology. *Experimental Gerontology*, 130, p. 110780. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110780>>. [Consultado em 07/05/2022].

Halprin K. M. (1972). Epidermal "turnover time" – A re-examination. *The British Journal of Dermatology*, 86(1), pp. 14-19. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1972.tb01886.x>>. [Consultado em 07/05/2022].

Haydont, V., Bernard, B. A. e Fortunel, N. O. (2019). Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mechanisms of Ageing and Development*, 177, pp. 150-156. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.03.006>>. [Consultado em 26/12/2021].

Heinz A. (2021). Elastic fibers during aging and disease. *Ageing Research Reviews*, 66, p. 101255. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101255>>. [Consultado em 23/12/2021].

Höhn, A. *et al.* (2017). Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence. *Redox Biology*, 11, pp. 482-501. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.001>>. [Consultado em 26/12/2021].

Hu, M. S. *et al.* (2018). Embryonic skin development and repair. *Organogenesis*, 14(1), pp. 46-63. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1080/15476278.2017.142188>>. [Consultado em 29/04/2022].

Imokawa, G. e Ishida, K. (2015). Biological mechanisms underlying the ultraviolet radiation-induced formation of skin wrinkling and sagging I: Reduced skin elasticity, highly associated with enhanced dermal elastase activity, triggers wrinkling and sagging. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), pp. 7753-7775. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms16047753>>. [Consultado em 29/04/2022].

Jaffar, J. *et al.* (2018). Greater cellular stiffness in fibroblasts from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 315(1), pp. L59-L65. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1152/ajplung.00030.2018>>. [Consultado em 29/04/2022].

Jahn, M. *et al.* (2021). Cell Volume Regulation in the Epidermis. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 55(S1), pp. 57-70. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.33594/000000330>>. [Consultado em 29/04/2022].

Jonca, N. *et al.* (2011). Corneodesmosomes and corneodesmosin: from the stratum corneum cohesion to the pathophysiology of genodermatoses. *European Journal of Dermatology*, 21(2), pp. 35-42. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1684/ejd.2011.1264>>. [Consultado em 07/05/2022].

Kubo, A., Nagao, K. e Amagai, M. (2012). Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(2), pp. 440-447. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1172/JCI57416>>. [Consultado em 07/05/2022].

Labat-Robert J. (2012). Cell-Matrix interactions, the role of fibronectin and integrins. A survey. *Pathologie-biologie*, 60(1), pp. 15-19. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.10.003>>. [Consultado em 07/05/2022].

Langton, A. K. *et al.* (2010). A new wrinkle on old skin: the role of elastic fibres in skin ageing. *International Journal of Cosmetic Science*, 32(5), pp. 330-339. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2010.00574.x>>. [Consultado em 14/12/2021].

Lee, A. Y. (2021). Skin pigmentation abnormalities and their possible relationship with skin aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), p. 3727. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms22073727>>. [Consultado em 14/12/2021].

Lee, H., Hong, Y. e Kim, M. (2021a). Structural and Functional Changes and Possible Molecular Mechanisms in Aged Skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), p. 12489. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms222212489>>. [Consultado em 14/12/2021].

Lee, Y. I. *et al.* (2021b). Cellular Senescence and Inflammaging in the Skin Microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), p. 3849. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms22083849>>. [Consultado em 14/12/2021].

Lehmann, B. (2009). Role of the vitamin D3 pathway in healthy and diseased skin – facts, contradictions and hypotheses. *Experimental Dermatology*, 18(2), pp. 97-108. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00810.x>>. [Consultado em 07/05/2022].

Libertini G. (2014). The programmed aging paradigm: how we get old. *Biochemistry. Biokhimiia*, 79(10), pp. 1004-1016. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1134/S0006297914100034>>. [Consultado em 14/12/2021].

Lichtenberger, B. M., Mastrogiannaki, M. e Watt, F. M. (2016). Epidermal β -catenin activation remodels the dermis via paracrine signalling to distinct fibroblast lineages. *Nature Communications*, 7, p. 10537. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/ncomms10537>>. [Consultado em 07/05/2022].

Lynch, M. D. e Watt, F. M. (2018). Fibroblast heterogeneity: implications for human disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(1), pp. 26-35. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1172/JCI93555>>. [Consultado em 07/05/2022].

Maranduca, M. A. *et al.* (2019). Synthesis and physiological implications of melanic pigments. *Oncology Letters*, 17(5), pp. 4183-4187. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3892/ol.2019.10071>>. [Consultado em 07/05/2022].

Maytin E. V. (2016). Hyaluronan: More than just a wrinkle filler. *Glycobiology*, 26(6), pp. 553-559. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1093/glycob/cww033>>. [Consultado em 29/05/2022].

McLean, W. H. e Moore, C. B. (2011). Keratin disorders: from gene to therapy. *Human Molecular Genetics*, 20(R2), pp. R189–R197. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1093/hmg/ddr379>>. [Consultado em 07/05/2022].

Moore, J. e Thibeault, S. (2012). Insights into the role of elastin in vocal fold health and disease. *Journal of Voice*, 26(3), pp. 269-275. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2011.05.003>>. [Consultado em 07/05/2022].

Na, C. R. *et al.* (2012). Elderly adults and skin disorders: common problems for nondermatologists. *Southern Medical Journal*, 105(11), pp. 600-606. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1097/SMJ.0b013e31826f5d17>>. [Consultado em 29/04/2022].

Nestle, F. O. *et al.* (2009). Skin immune sentinels in health and disease. *Nature reviews. Immunology*, 9(10), pp. 679-691. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/nri2622>>. [Consultado em 14/12/2021].

Oh, J. H. *et al.* (2011). Intrinsic aging and photoaging-dependent level changes of glycosaminoglycans and their correlation with water content in human skin. *Journal of Dermatological Science*, 62(3), pp. 192-201. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.02.007>>. [Consultado em 29/05/2022].

Orioli, D. e Dellambra, E. (2018). Epigenetic regulation of skin cells in natural aging and premature aging diseases. *Cells*, 7(12), p. 268. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/cells7120268>>. [Consultado em 26/12/2021].

Parrish A. R. (2017). The impact of aging on epithelial barriers. *Tissue Barriers*, 5(4). [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1343172>>. [Consultado em 07/05/2022].

Plikus, M. V. *et al.* (2015). The circadian clock in skin: implications for adult stem cells, tissue regeneration, cancer, aging, and immunity. *Journal of Biological Rhythms*, 30(3), pp. 163-182. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1177/0748730414563537>>. [Consultado em 14/12/2021].

Quan, T. e Fisher, G. J. (2015). Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini-review. *Gerontology*, 61(5), pp. 427-434. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1159/000371708>>. [Consultado em 14/12/2021].

Quan, T. *et al.* (2010). Reduced expression of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates collagen loss in chronologically aged human skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 130(2), pp. 415-424. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/jid.2009.224>>. [Consultado em 14/12/2021].

Quan, T. *et al.* (2013). Elevated matrix metalloproteinases and collagen fragmentation in photodamaged human skin: impact of altered extracellular matrix microenvironment on

dermal fibroblast function. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(5), pp. 1362-1366. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/jid.2012.509>>. [Consultado em 29/05/2022].

Quan, C. *et al.* (2015). Age-associated reduction of cell spreading induces mitochondrial DNA common deletion by oxidative stress in human skin dermal fibroblasts: implication for human skin connective tissue aging. *Journal of Biomedical Science*, 22(1), p. 62. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1186/s12929-015-0167-6>>. [Consultado em 29/05/2022].

Rajesh, A., Wise, L. e Hibma, M. (2019). The role of Langerhans cells in pathologies of the skin. *Immunology and Cell Biology*, 97(8), pp. 700-713. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/imcb.12253>>. [Consultado em 07/05/2022].

Rawlings, A. V. *et al.* (1994). Stratum corneum moisturization at the molecular level. *The Journal of Investigative Dermatology*, 103(5), pp. 731-741. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12398620>>. [Consultado em 07/05/2022].

Ricard-Blum S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1). [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978>>. [Consultado em 07/05/2022].

Rinn, J. L. *et al.* (2008). A dermal HOX transcriptional program regulates site-specific epidermal fate. *Genes & Development*, 22(3), pp. 303-307. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1101/gad.1610508>>. [Consultado em 29/04/2022].

Rinnerthaler, M. *et al.* (2015). Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, 5(2), pp. 545-589. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/biom5020545>>. [Consultado em 26/12/2021].

Rittié, L. e Fisher, G. J. (2015). Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(1). [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015370>>. [Consultado em 14/12/2021].

Roig-Rosello, E. e Rousselle, P. (2020). The human epidermal basement membrane: A shaped and cell instructive platform that aging slowly alters. *Biomolecules*, 10(12), p. 1607. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/biom10121607>>. [Consultado em 14/12/2021].

Rorteau, J. *et al.* (2020). Vieillissement et intégrité de la peau – De la biologie cutanée aux stratégies anti-âge [Functional integrity of aging skin, from cutaneous biology to anti-aging strategies]. *Medecine Sciences: M/S*, 36(12), pp. 1155-1162. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1051/medsci/2020223>>. [Consultado em 23/12/2021].

Russell-Goldman, E. e Murphy, G. F. (2020). The pathobiology of skin aging: new insights into an old dilemma. *The American Journal of Pathology*, 190(7), pp. 1356-1369. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.03.007>>. [Consultado em 23/12/2021].

Sandilands, A. *et al.* (2009). Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *Journal of Cell Science*, 122(9), pp. 1285-1294. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1242/jcs.033969>>. [Consultado em 07/05/2022].

Schmelzer, C. E., Hedtke, T. e Heinz, A. (2020). Unique molecular networks: Formation and role of elastin cross-links. *IUBMB Life*, 72(5), pp. 842-854. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1002/iub.2213>>. [Consultado em 07/05/2022].

Scieglinska, D. *et al.* (2019). Heat shock proteins in the physiology and pathophysiology of epidermal keratinocytes. *Cell Stress & Chaperones*, 24(6), pp. 1027-1044. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1007/s12192-019-01044-5>>. [Consultado em 07/05/2022].

Shao, Y. *et al.* (2019). Physical properties of the photodamaged human skin dermis: Rougher collagen surface and stiffer/harder mechanical properties. *Experimental Dermatology*, 28(8), pp. 914-921. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/exd.13728>>. [Consultado em 07/05/2022].

Shin, J. W. *et al.* (2019). Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), p. 2126. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.3390/ijms20092126>>. [Consultado em 07/05/2022].

Simpson, C. L., Patel, D. M. e Green, K. J. (2011). Deconstructing the skin: cytoarchitectural determinants of epidermal morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12(9), pp. 565-580. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/nrm3175>>. [Consultado em 23/12/2021].

Slominski, A. e Wortsman, J. (2000). Neuroendocrinology of the skin. *Endocrine Reviews*, 21(5), pp. 457-487. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1210/edrv.21.5.0410>>. [Consultado em 07/05/2022].

Sorushanova, A. *et al.* (2019). The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 31(1), [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1002/adma.201801651>>. [Consultado em 29/05/2022].

Sreedhar, A., Aguilera-Aguirre, L. e Singh, K. K. (2020). Mitochondria in skin health, aging, and disease. *Cell Death & Disease*, 11(6), p. 444. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1038/s41419-020-2649-z>>. [Consultado em 07/05/2022].

Starr, N. J. *et al.* (2022). Elucidating the molecular landscape of the stratum corneum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(12). [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1073/pnas.2114380119>>. [Consultado em 07/05/2022].

Swift, A. *et al.* (2021). The Facial Aging Process From the "Inside Out". *Aesthetic Surgery Journal*, 41(10), pp. 1107-1119. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1093/asj/sjaa339>>. [Consultado em 07/05/2022].

Thulabandu, V., Chen, D. e Atit, R. P. (2018). Dermal fibroblast in cutaneous development and healing. Wiley interdisciplinary reviews. *Developmental Biology*, 7(2).

[Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1002/wdev.307>>. [Consultado em 07/05/2022].

Tsepkenko, A. *et al.* (2019). The regenerative potential of skin and the immune system. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 12, pp. 519-532. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.2147/CCID.S196364>>. [Consultado em 07/05/2022].

Tsuruta, D. *et al.* (2011). Hemidesmosomes and focal contact proteins: functions and cross-talk in keratinocytes, bullous diseases and wound healing. *Journal of Dermatological Science*, 62(1), pp. 1-7. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.01.005>>. [Consultado em 07/05/2022].

Uitto J. (1986). Connective tissue biochemistry of the aging dermis. Age-related alterations in collagen and elastin. *Dermatologic Clinics*, 4(3), pp. 433-446.

Wang, J. X., Fukunaga-Kalabis, M. e Herlyn, M. (2016). Crosstalk in skin: melanocytes, keratinocytes, stem cells, and melanoma. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 10(3), pp. 191-196. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1007/s12079-016-0349-3>>. [Consultado em 23/12/2021].

Wang, Z. *et al.* (2020). Aging-associated alterations in epidermal function and their clinical significance. *Aging*, 12(6), pp. 5551-5565. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.18632/aging.102946>>. [Consultado em 23/12/2021].

Wlaschek, M. *et al.* (2021). Connective Tissue and Fibroblast Senescence in Skin Aging. *The Journal of Investigative Dermatology*, 141(4S), pp. 985-992. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.11.010>>. [Consultado em 26/12/2021].

Woo, S. H., Lumpkin, E. A. e Patapoutian, A. (2015). Merkel cells and neurons keep in touch. *Trends in Cell Biology*, 25(2), pp. 74-81. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.10.003>>. [Consultado em 26/12/2021].

Woodley D. T. (2017). Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing. *Dermatologic Clinics*, 35(1), pp. 95-100. [Em linha].

Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.det.2016.07.004>>. [Consultado em 26/12/2021].

Xiao, Y., Williams, J. S. e Brownell, I. (2014). Merkel cells and touch domes: more than mechanosensory functions?. *Experimental dermatology*, 23(10), pp. 692-695. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/exd.12456>>. [Consultado em 26/12/2021].

Yamauchi, M. *et al.* (2018). Analysis of collagen and elastin cross-links. *Methods in Cell Biology*, 143, pp. 115-132.

Yasui, T. *et al.* (2013). In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser. *Journal of Biomedical Optics*, 18(3), pp. 31108. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.3.031108>>. [Consultado em 29/05/2022].

Yazdi, A. S., Röcken, M. e Ghoreschi, K. (2016). Cutaneous immunology: basics and new concepts. *Seminars in Immunopathology*, 38(1), pp. 3-10. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1007/s00281-015-0545-x>>. [Consultado em 23/12/2021].

Zhang, S. e Duan, E. (2018). Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplantation*, 27(5), pp. 729-738. [Em linha]. Disponível em <<https://doi.org/10.1177/0963689717725755>>. [Consultado em 23/12/2021].

Kierszenbaum, A. L. e Tres, L. (2019). *Histology & Cell Biology: An Introduction to Pathology*. Saunders.

Junqueira, L. C. e Carneiro, J. (2004). *Histologia básica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

Streubel, M.K. *et al.* (2017). Changes in the Composition of the Cornified Envelope During Skin Aging: A Calcium Centric Point of View. *In*: Farage M., Miller K. e Maibach H. (eds) *Textbook of Aging Skin*. Berlin, Heidelberg, Springer.

Yousef H., Alhajj M. e Sharma S. (2021). *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing. [Em linha]. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/?report=classic>>. [Consultado em 07/05/2022].